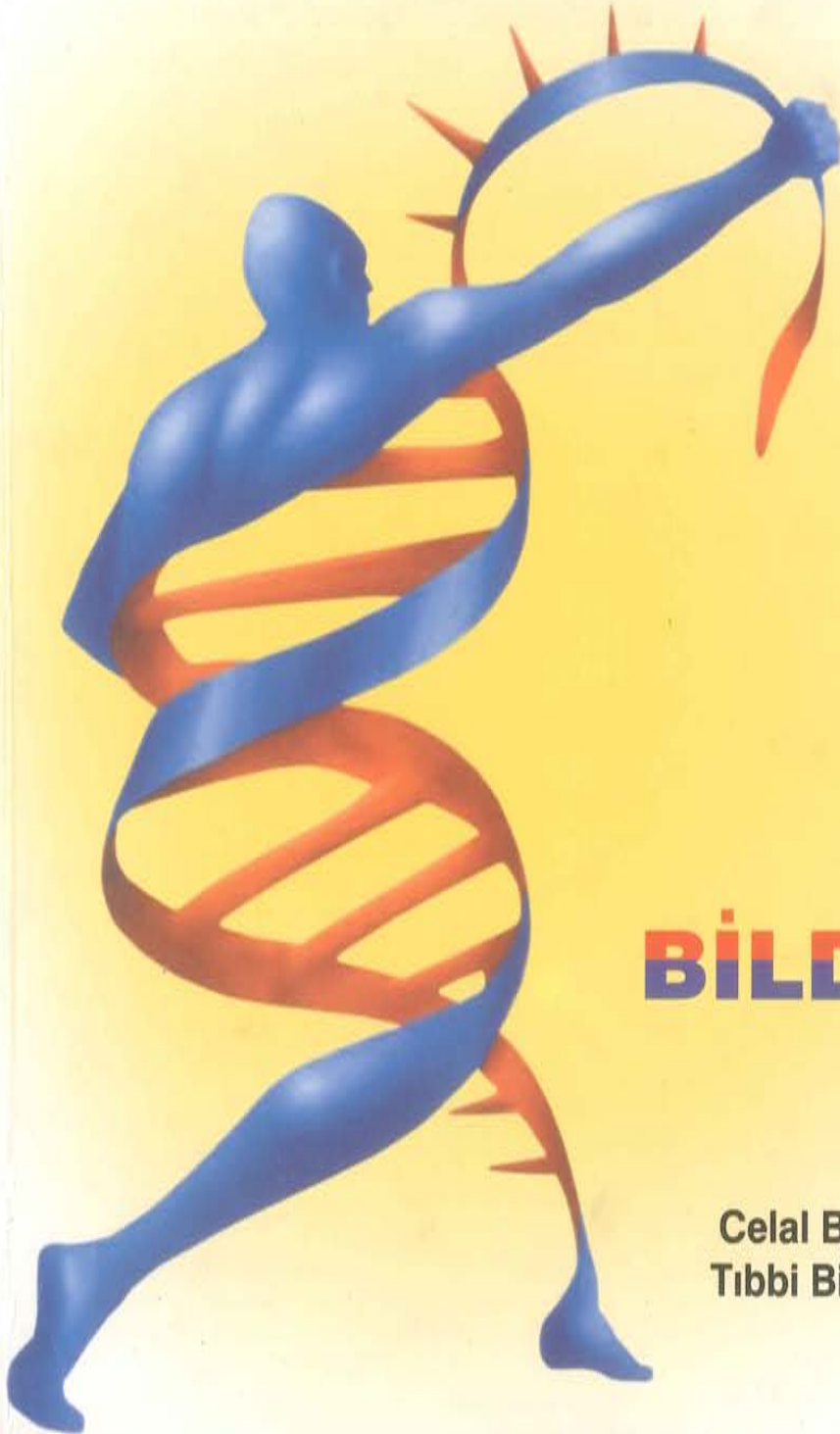




IX. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ KONGRESİ



ANEMON HOTEL / MANİSA

BİLDİRİ KİTABI

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Tıbbi Biyoloji Derneği

Katkılarınızdan dolayı

Teşekkür Ederiz...

Manisa Valiliği

Celal Bayar Üniversitesi Rektörlüğü

Manisa Kültür ve Turizm Müdürlüğü

Manisa'yı, Mesir'i Tanıtma ve Turizm Derneği

Dr. Zeydanlı

Medisa

Taylan

Dateks

Prizma

İncekara

Medsan-Tek

Gen-Mol

Birlik Medikal

Montwel

ATC Medikal

Genomed

İzmir Tıp Kitap Evi

Mercan Mobilya

Halis Helva

Yonca Yağ Sanayii



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

Manisa'ya Hoşgeldiniz

24-27 Kasım 2005 tarihlerinde Tıbbi Biyoloji Derneği ve Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı tarafından ortaklaşa düzenlenen 9. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresinin Manisa Anemon Hotel'de gerçekleşeceği için mutluluk duyuyoruz.

Adana Çukurova Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalının düzenlediği 8. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresindeki gönüllü adaylığımızdan bugüne kadar içimizde taşıdığımız kongre heyecanını sizlerle birlikte Manisa'da paylaşmak istiyoruz. Büyük emeklerle ve özveriyle bu aşamaya gelirdiğimiz kongremizin başarılı geçeceğine inanıyoruz.

Kongrenin içeriğini oluşturan ana konular Hücre Biyolojisi, Moleküler Biyoloji, Moleküler Sitogenetik, Biyoteknoloji ve Avrupa Komisyonu Çerçeve Programlarından seçilmiştir. Kongre programımızda 6 panel, 3 konferans ve 1 sempozyum, 21 sözel bildiri ve 92 poster yer almaktadır. Ağustos 2005'ten itibaren Kongre Bilimsel Programının oluşmasında ve Prof. Altan Günalp Ödülü 27 sayıdaki eserlerin değerlendirilmesinde görev alan kıymetli Bilim Kurulu Başkan ve Üyelerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kongremizde bizi yüreklendiren, desteklerini esirgemeyen meslektaşlarımıza ve katkıda bulunan kurum ve kuruluşlara, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Elemanlarına gönülden teşekkürler. Sevgi ve Saygılarımla.

Manisa'mıza hoş geldiniz.

Yrd. Doç. Dr. Nuray Altıntaş
Kongre Başkanı



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

Manisa'ya Hoşgeldiniz

24-27 Kasım 2005 tarihlerinde Tıbbi Biyoloji Derneği ve Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı tarafından ortaklaşa düzenlenen 9. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresinin Manisa Anemon Hotel de gerçekleşeceği için mutluluk duyuyoruz.

Adana Çukurova Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalının düzenlediği 8. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresindeki gönüllü adaylığımızdan bugüne kadar iğnizde taşıdığımız kongre heyecanını sizlerle birlikte Manisa'da paylaşmak istiyoruz. Büyük emeklerle ve özveriyle bu aşamaya getirdiğimiz kongremizin başarılı geçeceğine inanıyoruz.

Kongrenin içeriğini oluşturan ana konular Hücre Biyolojisi, Moleküler Biyoloji, Moleküler Sitogenetik, Biyoteknoloji ve Avrupa Komisyonu Çerçeve Programlarından seçilmiştir. Kongre programımızda 6 panel, 3 konferans ve 1 sempozyum, 21 sözel bildiri ve 92 poster yer almaktadır. Ağustos 2005'ten itibaren Kongre Bilimsel Programının oluşmasında ve Prof. Altan Günalp Ödülü 27 sayıdaki eserlerin değerlendirilmesinde görev alan kıymetli Bilim Kurulu Başkan ve Üyelerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kongremizde bizi yüreklendiren, desteklerini esirgemeyen meslektaşlarımıza ve katkıda bulunan kurum ve kuruluşlara, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Elemanlarına gönülden teşekkürler. Sevgi ve Saygılarımla.

Manisa'mıza hoş geldiniz.

Yrd. Doç. Dr. Kuray Altıntaş
Kongre Başkanı



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

İÇİNDEKİLER

I	Bilimsel Kurullar	1
II	Bilimsel Program	3
III	Konuşma Metinleri	9
IV	Poster Bildiriler	59
	Kanser	61
	Biyobilişim	77
	Genetik Hastalıklar	83
	Deneyssel Tıp	129
V	Sözlü Sunumlar	161
VI	Prof.Dr. Altan GÜNALP	185
	Ödül Başvuruları	
VII	İndeks	215



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi
24-27 Kasım 2005 / MANİSA

I
BİLİMSEL KURULLAR



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

IX. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ KONGRESİ 24-27 KASIM 2005 Anemon Hotel, MANİSA

KONGRE ONURSAL BAŞKANLARI

Prof. Dr. Cemil ÖZCAN

Celal Bayar Üniversitesi Rektörü

Prof. Dr. Erol ÖZMEN

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı

Prof. Dr. Mehmet Ali ÖZCEL

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Emekli Öğretim Üyesi

KONGRE BAŞKANI

Yrd. Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD Başkanı

KONGRE SEKRETERLERİ

Uzman Bio. Seda ÖRENAY

Araş. Gör. Dr. Hatice KOÇAK

KONGRE SAYMANLARI

Uzman Bio. Mustafa AŞÇI

Araş. Gör. Yalçın AKTAŞ

KONGRE DÜZENLEME KURULU

TIBBİ BİYOLOJİ DERNEĞİ

Başkan

Prof. Dr. Mahmut ÇARİN

Üyeler

Prof. Dr. Şükriye AYTER

Prof. Dr. Mehmet GÜRTEKİN

Prof. Dr. Ayşe ÖZER

Prof. Dr. Turgut ULUTİN

BİLİMSEL KOMİTE

Başkan

Prof. Dr. Beyazıt ÇIRAKOĞLU

Üyeler

Prof. Dr. Ahmet ARSLAN

Prof. Dr. Şükriye AYTER

Prof. Dr. Hüseyin BAĞCI

Prof. Dr. Meral ÖZGÜÇ

Prof. Dr. Meral SAKIZLI

Prof. Dr. Selma YILMAZER

Doç. Dr. Fatma Savran OĞUZ

Yrd.Doç. Dr. Nuray ALTINTAŞ

ÜYELER

Yrd. Doç. Dr. F. Sırrı ÇAM

Ms. Bio. Deniz ERTEKİN

Ms. Bio. Elvan ARSLAN

Ms. Bio. Samet TÜREL

Ms. Bio. Mevlüt ALDIRMAZ

ORGANİZASYON SEKRETERYASI

MDs KONGRE / SEMİNER
ORGANİZASYON

İlknur ÖLMEZ

Kennedy Caddesi No. 93/B Kavaklıdere, ANKARA

Tel : 0.312. 447 38 08 Faks : 0.312. 436 85 25

Web: <http://www.mdsorganizasyon.com>

Mail: biyoloji@mdsorganizasyon.com



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

II BİLİMSEL PROGRAM



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

24 Kasım 2005 / Perşembe

- 09.00 - 17.00** **Kayıt**
- 09.30 - 10.30** **Açılış Konuşmaları**
- 10.30 - 11.00** **Kahve Arası**
- 11.00 - 12.00** **Konferans**
Oturum Başkanı: Mahmut ÇARİN
Sistem Biyolojisi
Betül KIRDAR / İSTANBUL
- 12.00 - 13.30** **Öğle Yemeği**
- 13.30 - 14.45** **PANEL 1**
KANSER MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ
Oturum Başkanları: Şükriye AYTER, Filiz AYDIN

MHC Genlerinin Kanser ile İlişkisi
Mahmut ÇARİN / İSTANBUL

Apoptoz ve Kanser
Melek ÖZTÜRK / İSTANBUL

Kanser Tedavisinde Telomeraz Hedefleyen Stratejiler
Günnur DİKMEN / ANKARA
- 14.45 - 15.15** **Kahve Arası**
- 15.15 - 17.15** **Sözlü Bildiriler**
Oturum Başkanları: Ayşe ÖZER, Hamiyet DÖNMEZ ALTUNTAŞ
- 17.15 - 18.15** **Poster Sunumu**
Oturum Başkanları: Ünal EGELİ, Nurten ÖZÇELİK
- 19.30** **AÇILIŞ KOKTEYLİ**



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

25 Kasım 2005 / Cuma

09.00 - 11.30 PANEL 2

"OMİKS": GENOMBİLİM VE ÖTESİ

Oturum Başkanları: Ahmet ARSLAN, Turgay BUDAK

Transkriptomik- Temporal Lob Epilepsisinde RNA Profilleri

Köksal ÖZGÜL / ANKARA

Fonksiyonel Genomik: Protein Protein Etkileşimleri

Neşe ATABEY / İZMİR

In Sliko Biyolojik Veri Demetlemesi ve İşlevsel Analiz

Rengül ATALAY / ANKARA

Mikroarray Sistemleri

Hilal ÖZDAĞ / ANKARA

Lipidomikler ve Sentetik Hücre Oluşumunda Yaklaşımlar

Ahmet ARSLAN / GAZİANTEP

Renat ZHDENOV / RUSYA

11.30 - 11.45 Kahve Arası

11.45 - 12.35 Oturum Başkanları: Emin ERDAL, Hasan Veysi GÜNEŞ

Konferans

Parkinson Hastalığı ve alfa -Sinükleinler

Ayşe BAŞARAN / ESKİŞEHİR

Konferans

Trombotik Hastalıkların Moleküler Genetiği

Turgut ULUTİN / İSTANBUL

12.35 - 13.30 Öğle Yemeği



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

25 Kasım 2005 / Cuma

13.30 - 15.10 PANEL 3

GEN TEKNOLOJİLERİ VE TANII

Oturum Başkanları: Sevda MENEVŞE, Hüseyin BAĞCI

Moleküler Sitogenetik Uygulamaların Klinikteki Yeri

Cumhur GÜNDÜZ / İZMİR

Preimplantasyon Genetik Tanı Uygulamaları

Muhterem BAHÇE / ANKARA

Tümör Kemosensitivite Testleri (Onkogram) ve Kanserdeki Önemi

Engin ULUKAYA / BURSA

Moleküler Genetik Tanı

Hasan BAĞCI / SAMSUN

15.10 - 15.45 Kahve Arası

15.45 - 17.00 PANEL 4

HASTALIK MODELLEMELERİ

Oturum Başkanları: Ahmet KART, Mustafa SOLAK

Hücre Kültürü Modelinde Antianjiojenik Uygulamalar

Berrin ERDAĞ YÜKSEL / GEBZE

Deney Hayvanlarının Kullanımında Etik Kurallar

Tuncay ALTUĞ / İSTANBUL

17.00 - 18.30 Sözlü Bildiriler

Oturum Başkanları: Güven LÜLECİ, Mülkiye KASAP

18.30 - 19.30 Poster Sunumu

Oturum Başkanları: Engin YILMAZ, Müjgan CENGİZ



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

26 Kasım 2005 / Cumartesi

09.00 - 11.05 PANEL 5

TEDAVİDE YENİ YAKLAŞIMLAR

Oturum Başkanları: Meral SAKIZLI, Mehmet GÜRTEKİN

İmmunoterapi

Beyazıt ÇIRAKOĞLU / İSTANBUL

RNA interferans (RNAi): Gen sessizleştirme Mekanizması ve Tedavide Yeri

Ahmet KARAGÜZEL / TRABZON

Adenovirus Aracılı Ölümcül Ligant Transferinin Gen Tedavisindeki Yeri

Salih ŞANLIOĞLU / ANTALYA

Hücresel Tedavi-Kök Hücre Uygulamaları

Duygu UÇKAN / ANKARA

Kas Dejenerasyonu Myo D Gen Transferi ile Olgun Yağ Dokusunun Kasa Farklılaştırılması

Çetin KOCAEFE / ANKARA

11.05 - 11.20 Kahve Arası

11.20 - 12.10 PANEL 6

AVRUPA KOMİSYONU ÇERÇEVE PROGRAMLARI

Oturum Başkanı: Meral ÖZGÜÇ, Turgut ULUTİN

Proje Başvurularında Önemli Noktalar

Aslı MORAL / ANKARA

Proje Hakemliği

Ahmet ARSLAN / GAZİANTEP

12.10 - 13.30 Öğle Yemeği



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

26 Kasım 2005 / Cumartesi

12.00-13.30 Yeni Teknolojiler ve Yeni Sistemler

Uydu Sempozyumu

Oturum Başkanı: Pervin DİNÇER

**Gene Therapy :Medical promises and scientific, technological
and ethical problems**

Mauro MEZZINA/ FRANSA

13.30-15.30 Sözlü Bildiriler

Oturum Başkanları: Ahmet ÇOLAK, Çetin ALGÜNEŞ

15.30-15.45 Kahve Arası

15.45-16.45 Poster Sunumu

Oturum Başkanları: Mehmet KOYUNCU, İbrahim PİRİM

16.45 -18.00 PROF. DR. ALTAN GÜNALP ÖDÜL TÖRENİ

19.30 GALA YEMEĞİ

27 Kasım 2005 / Pazar

9.00 - 12.00 Kapanış Dilek Temenniler

Manisa Spil Dağında Kahvaltı

12.00 Otelden Ayrılış



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi
24-27 Kasım 2005 / MANİSA

III
KONUŞMA METİNLERİ

SİSTEM BİYOLOJİSİ**BETÜLKIRDAR**

Bogaziçi Üniversitesi Kimya mühendisliği Bölümü, İSTANBUL

kirdar@boun.edu.tr

Sistem Biyolojisi genom sonrası (post genomik) süreçte ortaya çıkan ve hızlı tarama (high-throughput) teknikleri ile elde edilen büyük boyutlardaki bilgi birikiminin kullanılarak, canlıların karmaşık yapılarının organizasyonunun üst düzeyde anlaşılmasını amaçlayan disiplinlerarası bir alan olarak her geçen gün daha fazla ilgi çekmektedir. Sistem biyolojisi alanındaki çalışmalar organizmanın ağyapısı (network) içindeki parçaların tanımlanması, ağyapılarının yeniden şekillendirilmesi, matematiksel modellerin (in silico modeller) geliştirilmesi, modellerin deneysel olarak sınanması ve iyileştirilmesi gibi aşamaları içerir(1,2).

Günümüzde çeşitli 'omik' teknolojilerini (transkriptom, proteom, metabolom, flaksom, interaktom analizi gibi) kullanarak genom, hücre ya da organel düzeyinde işlevi olan komponentleri tanımlamak mümkündür (3-7). Söz konusu gelişmeler, yaşam bilimlerinde son yüzyılın ikinci yarısında egemen olan indirgeyici yaklaşım yerine çok sayıda bilginin bütünleştirilmesi ile elde edilen sistem bazlı bir yaklaşımın benimsenmesine neden olmuştur. Sistem özellikleri hücreyi oluşturan moleküllerin tek tek özelliklerinden farklı, hücrenin/dokunun bütününden kaynaklanan (örneğin proteinlerin, genlerin belirli koşullarda ve zamanda birbirleri ile etkileşiminden) özelliklerdir. Bu paradigma değişikliği yaşambilimleri ile doğrudan ilişkisi olan tüm alanlarda yeni açılımlar getirmektedir.

Sistem biyolojisi önemli bir bilgi bütünleştirilmesi içerir ve bilginin bütünleştirilmesi çeşitli aşamalarda gerçekleştirilir. En üst düzeyde ise değişik kaynaklardan elde edilen bütünleştirilmiş bilgi hücreyi oluşturan ağyapıları üzerine konuşlandırılır. Bu karmaşık ağyapılarının analizi biyolojik süreçlerin moleküler mekanizmalarının anlaşılabilmesi için önemli bir adımı oluşturmaktadır. Son yıllarda metabolik ağyapılarının yeniden yapılandırılması konusunda önemli adımlar atılmıştır (7-9). Kontrol ve sinyal iletişim yolları için ağyapıları oluşturma ve bu bilgileri bütünleştirme konusundaki çalışmalar hızlı bir gelişim göstermektedir (10-12). Yeniden yapılandırılan ağyapılarının matematik modellerinin geliştirilmesi, genom düzeyinde in silico hücre modellerinin oluşturulması yalnızca çok az sayıda organizma için gerçekleştirilebilmiştir ve sadece topolojik ve stokiometrik modeller söz konusudur (13-15). Ağyapılarının modüler hale getirilmesi ve analizi ile gen modülleri ve genlerin anlatımını kontrol eden ağyapıları saptanabilmiştir (16). Modellerin deneysel olarak sınanması aşaması ise gen mühendisliği ve modern biyoloji bilgi ve birikimi kullanılarak kolayca gerçekleştirilebilir.

Sistem biyolojisi ve genom düzeyinde in silico modellerin endüstriyel biyoteknolojideki uygulama alanları Patil, Akesson ve Nielsen' in makalesinde özetlenmektedir (16). Sistem biyolojisinin yalnız endüstriyel biyoteknoloji değil tıpta kanser ve genetik hastalıklar dahil bir çok hastalığın tanı, tedavi ve ilaç geliştirilmesinde önemli olanaklar sağlayacağı kesindir (18). Bu alanda çalışan biyoteknoloji firmalarının sayısı giderek artmakta, özellikle çokuluslu büyük ilaç şirketleri bu alanda önemli yatırımlar yapmaktadırlar.

Kaynakça

1. Klipp E., Herwig R., Kowald A., Wierling C., Lehrach H: Systems Biology in Practice 2005 WILEY-VCH
2. Ideker T, Galitski T, Hood L: A new approach to decoding life: Systems biology. Ann. Rev Genomics Hum Genet 2001, 2:343-372
3. Palsson BO: in silico biology through 'omics'. Nat Biotechnol 2002, 20: 649-650
4. Ge H, Walhout AJ, Vidal M: Integrating 'omic' information: a bridge between genomics and systems biology. Trends Genet 2003, 19: 551-560

5. Çakır T, Kırdar B, Ülgen K: Metabolic pathway analysis of yeast strenghtens the bridge between transcriptomics and metabolic networks. *Biotechnol Bioeng* 2004, 86:251-260
6. Nielsen J., Oliver S.; The next wave in metabolom analysis *Trends in Biotechnol.* 2005, 23:544-546
7. Covert MW, Schilling CH, Famili I, Edwards JS, Goryanin II, Selkov E, Palsson B.O: Metabolic modelling of microbial strains in silico. *Trends Biochem Sci* 2001, 26: 179-186
8. Patil K.R., Nielsen J.: Uncovering transcriptional regulation of metabolism by using metabolic network topology *PNAS* 2005, 102:2685-2689
9. Çakır T., Patil K.R. Önsan Z.İ., Ülgen K, Kırdar B, Nielsen J.: Integration of metabolomics with metabolic network structure allows identification of significant perturbation-specific reactions *Manuscript in preparation*
10. Herrgard MJ, Covert MW, Palsson P: Reconstruction of microbial transcriptional regulatory networks. *Curr Opin Biotechnol* 2004, 15: 70-77
11. Ihmels J, Levy R, Barkai N: Principles of transcriptional control in the metabolic network of *Saccharomyces cerevisiae*. *Nat Biotechnol* 2004, 22:86-92
12. Oda K., Matsuoka Y., Funahashi A., Kitano H.: A comprehensive pathway map of epidermal growth factor receptor signaling *Molecular Systems Biology* 2005 msb4100014-E1-E17
13. Price ND, Papin JA, Schilling CH, Palsson BO: Genome scale microbial in silico models: the constraints-based approach. *Trends Biotechnol* 2003, 21:162-169
14. Forster J, Famili I, Fu P, Palsson BO, Nielsen J: Genome scale reconstruction of the *Saccharomyces cerevisiae* metabolic network. *Genome Res* 2003, 13: 244-253
15. Jeong H, Tombor B, Albert R, Oltvai ZN, Barabasi AL: The large scale organisation of metabolic networks. *Nature* 2000, 407: 651-654
16. Bar-Joseph Z, Gerber GK, Lee TI, Rinaldi NJ, Yoo JY, Robert F, Gordon BD, Fraenkel E, Jaakkola TS, Young RA, Gifford DK: Computational Discovery of gene modules and regulatory networks. *Nat Biotechnol* 2003, 21: 1337-1342
17. Patil RK, Akesson M, Nielsen J: Use of genome-scale models for metabolic engineering. *Curr Opin Biotechnol* 2004, 15: 64-69
18. Davidov J.E., Holland J.M., Marple E.W., Naylor S.; Advancing drug discovery through systems biology, *Drug Discovery Today* 2003, 8: 175-183

Proteom
 Interactom
 Transcriptom
 localizom
 Phenome
 sentetik köprü → Modelene — Sisteme
 pertürbasyon
 Genom düzeyinde hücre modelleri
 Metabolik yapılar / → Stokiyometrik
 → Kinetik modeller

APOPTOZ ve KANSER**MELEK ÖZTÜRK**

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

mozturk@istanbul.edu.tr

Giriş

Fizyolojik koşullarda hücre proliferasyonu ve apoptotik hücre ölümü birbirleri ile yakın ilişkili hücrel işlevlerdir. Hücre proliferasyonu ve hücre ölümü arasında homeostatik dengenin düzenlenmesi, çok hücreli organizmaların gelişim süreci ve doku devamlılığı için çok önemlidir. Aşırı hücre artışı apoptoz ile dengelenir. Apoptozu kontrol eden genlerin ekspresyonlarındaki veya fonksiyonlarındaki değişimler bu dengeyi bozar ve neoplastik hücre çoğalmasına katkıda bulunurlar. Hücre dışı tetikleyici ajanlar, büyüme faktör eksikliği, germ soyu kaynaklı genetik mutasyonlar veya viral kaynaklı sinyal moleküllerinin nedeni ile apoptozu düzenleyen sinyalleşme şelelesinde ortaya çıkan bir bozukluk nörodejeneratif hastalıklardan kansere kadar çeşitli hastalıklara neden olabilir. Apoptoz, diğer adıyla programlı hücre ölümü, hücre proliferasyonunu kontrol için veya DNA hasarına yanıt olarak hücrelerin kullandığı bir ölüm şeklidir. Apoptozun moleküler mekanizmalarının anlaşılması sonucu kanser hücrelerinin hedeflenerek apoptozun uyarılması ile öldürülmesi veya bazı sitotoksik ajanlara ve radyasyona karşı hassasiyetlerinin artırılması yönünde yeni tedavi yöntemleri geliştirilmektedir.

Apoptozun Genel Mekanizması

Apoptozun işleminde iki esas yol vardır; reseptör yolu (veya sitoplazmik yol) ve mitokondriyon yolu. Reseptör yolunda iş gören plazma membranında yer alan ölüm reseptörleri (Fas, TNF-alfa, TRAIL), sitoplazmik bölgesinde ölüm parçasına sahiptir. Reseptör ligand bağının kurulması ile bu ölüm parça prokaspazlardaki bağlanma bölgeleri ile etkileşirler ve prokaspazlar (kaspaz 8) aktif hale gelir. İlk adımda rol alan kaspaz-8, apoptozun ilerlemesinden ve son adımlarından sorumlu olan diğer kaspazların (kaspaz-3,-6 ve -7) aktivasyonunu sağlar. Kaspaz-3 ayrıca alternatif bir yol olarak, mitokondriyon yoluna ait farklı uyarılar ile de aktive edilerek apoptozu ilerletir. Bu yolun düzenlenmesinde rol alan en önemli protein ailesi Bcl-2 dir. Bcl-2 ailesi apoptotozu ilerletici (örn, Bax, Bcl-XS, Bid, Bim) ve apoptotozu engelleyici (örn, Bcl-2, Bcl-XL) proteinler olmak üzere iki önemli gruba ayrılırlar. Apoptotozu engelleyen Bcl-2 üyeleri mitokondriyon membranlarında yaşam faktörleri olarak bulunurlar ve mitokondriyonun megakanallarını kontrol ederek sitokrom-c'nin (sit-c) mitokondriyondan sitoplazmaya geçişine engel olurlar. Apoptotozu ilerleten bcl-2 proteinleri ise p53 yolu ile veya bazı durumlarda kaspaz-8'in alternatif olarak seçtiği bir yoldan kırılan Bid proteini aracılığı ile uyarılır ve sit-c'nin mitokondriyondan salınmasına neden olurlar. Sit-c sitoplazmaya geçtiğinde Apaf-1 (apoptotik proteazları aktive eden faktör) ile birleşir ve prokaspaz-9'u aktive eder. Aktifleşen kaspaz-9, prokaspaz-3'ü aktif hale getirir ve kaspaz şelelesi ile apoptoz ilerletilir. Kaspaz aktifleşmeleri ile nuklear laminlerin ve kromatin materyalinin yıkılması tamamlanır. Apoptoz kontrolünde birçok protein ve birçok yol vardır. NFkB, p53, PI3K ve ubiquitin/proteozom yolu kontrol yollarına örnek olarak verilebilir.

Apoptoz ile Kanser Arasındaki İlişkinin Temeli**Kaspazlar ve kanser**

Son yıllarda apoptozun moleküler mekanizması ile ilgili yoğun çalışmalar sonucu kaspaz ailesinin doğrudan veya dolaylı yollardan apoptozun hem biyokimyasal hemde morfolojik değişikliklerinden sorumlu olduğu ortaya çıkarılmıştır. Kaspazların işlevlerini kontrol eden iç ve dış sinyal iletim yolları ve bu yola katılan proteinlerin apoptozdaki kritik rolleri tektek ortaya çıkarılmaktadır. Apoptozu iç kaynaklı veya dış kaynaklı uyarılar ile harekete geçiren kaspazlar hücre içi proteazlardır. Apoptozda

iş gören en önemli kaspazlar, kaspaz-3,-6, -7, -8 ve -9'dur ve sitoplazmada inaktif (öncül kaspazlar) olarak bulunurlar. Öncül kaspazlar çeşitli uyaranlar ile aktifleşir ve kaspaz şelalesi oluşturarak apoptozun ilerlemesine katılırlar. Apoptozun gerek sitoplazmik gerekse mitokondrium yolunda ortak ve son basamak kaspaz-3'ün aktivasyonudur. Kaspaz-3 aktifleştiğinde nukleusta 'kaspazla aktifleşen DNaz inhibitörünü' keserek nukleusun apoptotik parçalanmasını başlatır. Apoptozun çeşitli aşamalarında kaspaz-5,-10 ve -12'ninde katılımları gösterilmiştir. Kaspazların apoptozdaki önemli fonksiyonları yapılarında bulunan 'CARD, DD ve DED' bölgeleri ile kontrol edilir. Kaspazlar ölüm reseptörlerinin ölüm parçaları (DD) parçaları ile uyarılarak aktifleştirilir. Kaspaz genlerinde ortaya çıkan mutasyonlar ile çeşitli maliniteler arasında ilişki bulunduğu bildirilmiştir. Kaspaz-5'deki çerçeve kayması mutasyonu ailesel nonpoliposis kolorektal kanserlerde, gastrointestinal ve endometrium tümörlerinde gözlenmiştir. Kaspaz-3 geninde homozigot delesyonlar meme kanser hücrelerinde (MCF-7) tayin edilmiştir. Nöroblastoma ve diğer bazı solid tümörlerde kaspaz-8 genindeki nokta mutasyonları veya gen metilasyonu arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir.

IAP'lar ve kanser

Apoptozu baskılayan protein grubu olan endojen IAP ailesinin üyeleri (cIAP-1 ve -2, XIAP, Livin, Survivin) özellikle kaspaz-3,-7 ve -9'u inhibe ederler. Bu aileye ait proteinler antiapoptotik etkileri için önemli olan olan 'BIR' parçası içerirler. Bazı kanser tiplerinde IAP'ların örneğin survivin'in aşırı ekspresyonları gösterilmiştir. Survivin geni geç G2/M fazında aktifleşerek hücre döngüsünde, yaşam ve ölüm arasında önemli bir kontrol noktası olarak çalışır. Kanser hücrelerinde survivin ekspresyonu antisens metodlar ile baskılanırsa poliploidi, anöploidi ve apoptoz oluşur. Renal kanserlerde ve melanomada 'livin'in aşırı ekspresyonu bildirilmiştir. IAP'ların apoptozdaki rollerinin anlaşılmasından sonra kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılabilme yolu da açılmıştır. Kanser hücrelerinde IAP'ların antisens aracılı ekspresyonlarının baskılanması, hücrelerin yeniden apoptik uyarana açık hale gelmelerine neden olur ve böylece kanser hücrelerinin sitotoksik antikanser ilaçlarına karşı hassasiyet kazanmaları sağlanır. IAP'ların endojen inhibitörleri Smac/Diablo ve HtrA2/Omi'dir ve apoptotik uyarı ile mitokondriyondan sitozole salınırlar. Smac ve Omi, IAP'lara bağlanarak kaspazların serbestleşmesi ile apoptozu ilerletici yolda iş görürler. Bu yolun açıklanması yeni bir antikanser ilaç türünün geliştirilmesine yol açmıştır. Smac ve HtrA2'nin sentetik peptidleri üretilmiştir ve sitotoksik antikanser ilaçlara karşı apoptozu hassasiyetin için kullanılmaktadır.

Ölüm reseptörleri ve kanser

Apoptozun çevresel dış uyaranlarını alan plazma membran reseptörleri (TNF ailesi reseptörleri, TRAIL reseptörleri /DR4 ve DR5, Fas/Apo-1/CD95, DR3/Apo2) sinyalleri hücre içine iletirler. Reseptörlerin sitoplazmik uçları ölüm parçası içerir ve bu parça prokaspaz-8 ile etkileşerek aktif kaspaza dönüşümüne neden olur ve apoptozun kaspaz şelalesini aktifler. Bu iletim yollarında çeşitli adımlarda ortaya çıkan hasarlar ile kanser tipleri arasında bağlantılar bulunmuştur. Fas genindeki somatik mutasyonlar multipl myelom ve non-Hodgkin lenfomalarda gözlenmiştir. Bazı lösemi hastaları için Fas ekspresyonu önemli bir prognostik bilgidir. Fas geni, alternatif kırılma ile, iki izoform protein üretir. Normal uzunluktaki Fas bir transmembran proteindir ve membrana yerleşir. Diğer protein kısa formdur ve hücre dışına salınır. Salgılanan bu serbest-Fas, hücreler arası alanda Fas ligandına bağlanarak, bir apoptoz inhibitörü olarak iş görür. T-hücre bazlı lösemilerde, serbest-Fas serum seviyeleri artmış olarak tespit edilmiş ve serbest Fas'ın seviyesindeki artışın hastalığın prognozu ile yakın ilişkisi bildirilmiştir. TRAIL, TNF ailesi üyelerinden bir ligandır ve ölüm parçaları içeren iki reseptöre (TRAILR-1/DR4, TRAILR-2/DR5) bağlanarak apoptozu uyarır. TNF ailesine ait diğer sitokinlerin aksine inflamatuvar reaksiyonları uyarmadığından özellikle DR4'e karşı oluşturulan rekombinant TRAIL kanser tedavisinde ilaç olarak kullanımının fazl klinik çalışmaları tamamlanmıştır.

Bcl-2 ailesi ve kanser

Apoptozun mitokondriyon yolunun ana düzenleyici proteinleri Bcl-2 ailesidir. Bcl-2 ailesi apoptozu ilerletenler (Bax, Bak, Bad, Bid, Bim, Hrk, BclXs, APR/Noxa, Puma) ve apoptozu engelleyenler (Bcl-

2, BclXL, Mcl-1, Bcl-b (Boo-Diva)) olmak üzere iki gruptur. Büyüme faktör eksikliği, hipoksi, antikanser ilaçları, radyasyon, oksidanlar ve Ca iyon artışı Bcl-2 ailesini apoptoz için uyaran faktörlerdir. Bcl-2 ailesine ait proteinlerin en önemli özellikleri membranlarda por oluşturabilmeleridir. Bu por oluşumu Bcl-2 ailesinin homoloji gösteren "BH" (BH1-4) parçaları ile gerçekleşir. Apoptozu uyaran Bcl-2 ailesinin apoptozu iletme fonksiyonları, içerdikleri BH3 parçaları vasıtasıyla antiapoptotik Bcl-2 üyeleri ile heterodimer oluşturmalarına (örn;Bax-Bcl-2) bağlıdır. Ayrıca apoptozu uyarıcı grup üyeleri kendi aralarında da dimer oluşturabilir (örn;Bax-Bak) ve öldürücü etki kazanabilirler. Bu dimerler mitokondriyon membranlarına yerleşerek kanallar oluşturabilir ve mitokondriyondan sit-c, Smac ve Omi kaçışına neden olurlar. BH3 bölgesine ait bir mutasyon Bid ve Bak gibi apoptozu uyarıcı Bcl-2 proteinlerinin dimerizasyonunu, dolayısı ile apoptozu engeller. BH3 ün bu önemli fonksiyonu kanser tedavisinde yeni bir ilacın daha geliştirilmesine neden olmuştur. İlaç olarak hazırlanan BH3 peptidleri ile özellikle Bcl-2 ve BclXL aşırı ekspresyonu olan kanserlerde apoptoza hassasiyetin artırılması için kullanılabileceği çeşitli in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Bcl2 ailesine ait proteinlerin miktarlarındaki değişiklikler ile çeşitli kanser tipleri arasında ilişki bulunmuştur. Major non-Hodgkin lenfomada kromozom translokasyonu ile apoptozu engelleyen Bcl-2 geni aktifleşir. Bcl-2 geninin prostat ve meme kanseri, küçük hücreli akciğer karsinomu ve melanoma gibi solid tümörlerde aşırı ekspresyonu gözlenir. Bunun tersi bir örnekte apoptozu iletten Bax'ın fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlar birçok kanser tipinde özellikle gastrointestinal karsinomlarda gösterilmiştir.

P53 ve kanser

Apoptoz ile ilişkisi saptanan ilk tümör baskılayıcı gen p53 tür. P53 genindeki bir mutasyon veya fonksiyon kaybı kansere neden olur. Büyüme-yaşam faktörlerinin eksikliği, hipoksi, radyasyon gibi hücre dışından kaynaklanan uyaranlar veya hücre içinden kaynaklanan bazı uyaranlar p53'ün apoptotik fonksiyonunu harekete geçirir. Hipoksi, mitojen onkogenler, radyasyon, telomer işlev bozukluğu, onkogenik mutasyonlar ve uygunsuz proliferasyon sinyalleri hücre içi apoptoz uyaranlarıdır ve p53'ü apoptozu iletmesi yönünde. DNA hasarı ile ortaya çıkan hücre içi sinyallerin büyük bir bölümü p53 proteinini aktive ederek apoptozu başlatır. hücre döngüsünün kontrolünde p53'ün önemli rolü vardır ayrıca apoptozda da çok önemli bir kontrol noktası proteini olarak iş görmektedir. DNA hasarı tamir edilemediğinde, apoptozu iletten Bax, Noxa ve Puma proteinlerini aktifleyerek , yaşam faktörü olan Bcl-2 ve BclXL'yi baskılayarak hücreyi apoptoza yönlendirir. p53 ayrıca, Apaf-1 ve kaspaz-9'un ve ölüm sinyallerini alan DR5, Fas, TNF-alfa reseptör proteinlerinin de ekspresyonlarını arttırarak apoptoza katılır. P53 doğrudan mitokondriye yerleşerek sit-c salınımına neden olarak apoptozun mitokondriyon yoluna katılır. Bazı tümörlerde p53'ün transkripsiyonlarını kontrol ettiği apoptoz yolundaki bazı proteinlerin (Mdm-2, ARF, Apaf-1, kaspaz-9, Noxa, Puma ve Bax) mutasyonları gözlenmiştir.

Apoptotik sinyal iletim proteinleri ve kanser

Apoptoz genlerinin ekspresyonunu veya apoptoz proteinlerinin fonksiyonlarını kontrol eden sinyal ileti yollarında iş gören proteinler, apoptoz ve kanser arasındaki ilişkiye doğrudan katılırlar. Transkripsiyon faktörü olan NFkB ve büyüme faktör reseptörü olarak iş gören Akt apoptoz ve kanser ilişkisinde önemli rolleri olan iki sinyal ileti proteindir.

NFkB, apoptozu engelleyen Bcl-2 ailesi üyelerinden Bcl-2 ve BclXL nin ayrıca IAP ailesi üyelerinden c-IAP2'nin ekspresyonlarını uyarır. NFkB'nin aktivitesindeki artış, mitokondriyon yolunda apoptozu engelleyen Bcl-2 ailesine ait proteinlerin artışına veya IAP artışı ile kaspaz inaktivasyonuna neden olarak hücrede apoptoza karşı bir direnç oluşmasına neden olur. NFkB'nin hiperaktivitesi ile hem solid hemde hematopoetik maligniteler arasında yakın ilişki bulunmuştur.

Akt, bir protein kinazdır ve büyüme faktör reseptörüdür. Akt, apoptoz yolunda görev yapan birçok proteini fosforileyerek apoptoza engel olur. Örneğin Akt, antiapoptotik Bcl-2 ailesi üyelerinden Bad'ı fosforillediğinde Bad'ın BclXL ile heterodimer oluşturmalarını engelleyerek , kaspaz-9'u fosforillediğinde ise kaspaz inaktivasyonu ile mitokondriyon yolunu keserek apoptozu engeller. Son

yıllarda yapılan bazı çalışmalar ile meme ve ovaryum kanserleri ile Akt'nin aşırı ekspresyonu arasında bir ilişki saptanmıştır. Akt'nin apoptoza yönlendirme etkileri nedeniyle kanser tedavisinde, apoptoz ile ilişkili ilaç olarak geliştirilmeye başlanmıştır.

Sonuç:

Apoptozun moleküler mekanizmasının her geçen gün hızlı bir şekilde çözülmesi, bir taraftan kanserin patobiyojisine ışık tutmakta, diğer taraftan da apoptotik mekanizmaların kullanılması ile kanser tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

Kaynaklar

- 1- Ferreira CG, Epping M, Krut FAE, Giaccone G. Apoptosis: Target of cancer therapy. Clin Cancer Res. 8: 2024-2034, 2002
- 2- Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. CA Cancer J Clin. 55:178-194,2005
- 3- Garrido C, Kroemer G. Life's smile, death's grin: vital functions of apoptosis-executing proteins. Current Opin Cell Biol 16: 639-646, 2004
- 4- Konstantinidou AE, Korkolopoulos P, Patsouris E. Apoptotic markers for tumor recurrence: Minireview. Apoptosis 7: 461-470, 2002
- 5- Lowe SW, Lin AW. Apoptosis in cancer. Carcinogenesis 21(3),485-495,2000
- 6- McGill G, Fisher DE. Apoptosis in tumorigenesis and cancer therapy. Front Bioscience. 2:353-379,1997
- 7- Reed JC. Apoptosis and Cancer. In Cancer Medicine. Edts: Holland JF, Frei E, et al. 6th Ed. BC Decker Inc. Hamilton, Canada, 2003
- 8- Soini Y, Paakko P, Lehto VP. Histopathological evaluation of apoptosis in cancer. AJP 153:1041-51,1998
- 9- Thonel A, Eriksson JE. Regulation of death receptors: Relevance in cancer therapies. Toxicol Appl Pharmacol. 207:123-132, 2005
- 10- Vermeulen K, Bockstaele DR, Berneman ZN. Apoptosis: mechanism and relevance in cancer. Ann Hematol. Jul 22,2005

KANSER TEDAVİSİNDE TELOMERAZI HEDEFLEYEN STRATEJİLER

Z.GÜNNUR DİKMEN

¹Hacettepe Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı, ANKARA

gülnur@hacettepe.edu.tr

Replikasyon sonu problemine bağlı olarak her hücre bölünmesinde izlenen telomer dizi kaybının zamanla hücre yaşlanmasına yol açtığı ve telomeraz reaktivasyonunun hücrelerin sınırsız çoğalma özelliği kazanmasında rol oynayan önemli mekanizmalardan biri olduğu ileri sürülmektedir. Telomeraz, kendi RNA alt birimini kalıp olarak kullanarak sentezlediği hekzamerik tekrarları (TTAGGGn), kromozom uçlarında yer alan telomer dizilerine ekleyen ters transkriptaz aktivitesine sahip özel ribonükleoproteindir. TRAP (Telomeric Repeat Amplification Protocol) yönteminin 1994 yılında geliştirilmesiyle telomeraz aktivitesinin kanserlerin % 80-90'ında pozitif olduğu, buna karşın somatik hücrelerin çoğunda bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, telomerazı hem kanser tanısında hem de tedavisinde ilgi çekici bir hedef haline getirmiştir. Bugüne kadar telomeraz inhibisyonuna yönelik olarak 'hammerhead' ribozimler, ters transkriptaz inhibitörleri, peptik nükleik asitler ve çeşitli oligonükleotidler geliştirilmiştir.

Telomeraz inhibitörü olarak geliştirilen GRN163L (Geron, Menlo Park, California), hTR'nin kalıp bölgesine (3'-CAAUCCCAAUC-5') komplementer 13 bazlık (5'-TAGGGTTAGACAA-3') N3'P5' tiyo-fosforamidat oligonükleotid olup, 5'-tiyofosfat grubuna kovalent bağlı olan palmitoil grubu (C16) taşımaktadır. Telomerazın aktif bölgesini yarışmalı şekilde inhibe edip, enzimin telomer DNA'sına tutunmasını ve telomer dizilerinin eklemesini engelleyerek etki göstermektedir. Çalışmamızda lusiferaz sentezleyen A549-Luc akciğer ve MDA-MB 231-Luc meme kanseri hücrelerine uygulanan 72 saatlik kısa süreli GRN163L (1µM) tedavisinin telomeraz aktivitesini inhibe ettiği, 1 haftalık GRN163L tedavisinden sonra hücrelerin klon oluşturabilme özelliklerini kaybettikleri, 12 hafta boyunca uygulanan GRN163L tedavisinin ise telomerik uzunluklarda ve hücre çoğalma hızında belirgin azalmaya neden olduğu saptandı. İn vitro şartlarda 4-5 haftalık ön tedaviyi takiben hücrelerin yumuşak agarda oluşturdukları koloni sayılarında ve invazyon kapasitelerinde kontrol grubuna göre belirgin şekilde azalma olduğu tespit edildi.

Oluşturulan ksenograft hayvan modellerinde farklı dozlardaki ilacın (5mg/kg, 15mg/kg, 30mg/kg) in vivo şartlardaki etkinliğini biyoluminesans görüntüleme (BLI) tekniği ile kantitatif olarak değerlendirildiğinde, GRN163L tedavisinin akciğer metastazlarının oluşumunu kontrol grubuna göre belirgin ölçüde azalttığı izlendi. Sonuç olarak, telomeraz inhibitörü GRN163L ile sağlanan telomeraz inhibisyonunun hücreler üzerinde antiproliferatif etkili olduğu, akciğer metastazlarının gelişimini engellediği tespit edildiğinden, 'minimal rezidüel hastalık' tedavisinde telomeraz inhibisyonunun yeni bir tedavi stratejisi olabileceği umut edilmektedir.

MEZİAL TEMPORAL LOB EPİLEPSİSİNDE RNA PROFİLLERİ**RIZA KÖKSAL ÖZGÜL**

Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü & TÜBİTAK, DNA/Doku Bankası, ANKARA

rkozgul@hacettepe.edu.tr

Mezial Temporal Lob epilepsisi (MTLE) insanda en sık rastlanan, semptomatik, lokalizasyon-bağımlı ve belirgin özellik olarak hipokampal skleroz (MTS) patofizyolojisi gösteren bir epilepsi türüdür. Hipokampusta nöron kaybı ve akzonal reorganizasyon gerçekleştiği bildirilmiştir. Bu konuda hasta dokularında transkriptom incelenmesine yönelik yapılan çalışmalar az sayıda olup, insandaki epileptogenezin ve nöropatolojik değişikliklerin anlaşılabilmesi açısından değerlidir. Grubumuz tarafından başlatılan nörogenomik çalışmalar kapsamında, MTLE hastalarından elde edilen hipokampus dokuları ve otopsi kontrol örneklerinde "Serial Analysis of Gene Expression" (SAGE) teknolojisi kullanılarak hipokampusa ait transkriptom tanımlanmıştır ve anlamlı farklılık gösteren 143 transkript saptanmıştır. Bu genler enerji metabolizması, transkripsiyon kontrolü, protein sentezi ve degradasyonu, sinyal iletimi gibi önemli hücresel aktivitelerde rol almaktadır. SAGE verileri değerlendirilerek ekspresyon seviyeleri hasta dokularında kontrole göre anlamlı farklılık gösteren genler in situ hibridizasyon çalışması için aday olarak belirlenmiştir. Bu genlerden Beclin 1 mRNA'sının kontrole göre MTS hipokampus örneklerinde anlamlı düzeyde arttığı gözlenirken, GRIM-19 (gene associated with retinoid-IFN-induced mortality 19) geni ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır. Bu veriler dikkate alınarak hücre ölüm yollarında rolleri olduğu düşünülen Beclin 1 ve GRIM-19 genleri için insan hipokampus doku örneklerinde in-situ hibridizasyon tekniği ile hücre tipi ve lokalizasyona dayalı ekspresyon analizi gerçekleştirilmiştir.

FONKSİYONEL GENOMİK: PROTEİN-PROTEİN ETKİLEŞİMLERİ

NEŞE ATABEY

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

nese.atabey@deu.edu.tr

Otomasyon ve biyoinformatikteki gelişmeler genomik olarak adlandırılan yeni bir disiplinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Genler ve genom hakkındaki bilgilerin oluşturulması ve analizini hedefleyen, tek tek genlerin bulunması ve tanımlanması gibi amaçları olan bu proje kapsamında otomasyon teknolojisinin gelişimi ile dokuz aylık bir süre içinde 14,8 milyar baz çiftinin dizilenmesi gerçekleştirilmiştir. Teknolojideki bu ve benzeri gelişmeler sonucunda insan genomunun haritalanmasının büyük bir bölümü tamamlanmış olup, 2000 yılı Şubat ayında yayınlanan verilere göre insan genomunda yaklaşık 32, 000 geninin bulunduğu belirlenmiştir. Bu rakam *Caenorhabditis elegans*' ta 19,000 gen veya *Drosophila melanogaster*'de 13,600 gen olduğu düşünüldüğünde daha önceki tahminlerin üçte biri düzeyindedir. Bilim adamlarını önce şaşırtan bu veri, daha sonra yüksek ökaryotlardaki farklılıkların gen sayısındaki artış ile değil, proteinlerin fonksiyonel evrimi ile gerçekleşen çeşitlilik nedeniyle olabileceğini düşündürmüştür. Son yıllarda *S.cervisiae* ile yapılan protein-protein ilişkilerini saptamaya yönelik çalışmalar, basit ökaryotik organizmalarda sinyal iletimi yollarının çok az sayıda partner ile ve sınırlı sayıda protein ile gerçekleştiğini göstermiştir. Bunun yüksek ökaryotlar için de doğru olabileceği, hücrede kilit fonksiyonları olan ve pek çok hücresel fonksiyonun gerçekleşmesinde rol oynayan bu tip proteinlerin (örn p53 gibi) saptanması ve bunları hedefleyen ilaçlar ile bozulan hücresel fonksiyonların düzeltilebileceği fikri tartışılmaya başlanmıştır.

Bu gelişmeler ile paralel olarak protein ve protein sistemleri ile ilgili karşılaştırmalı çalışmalara da ilgi artmıştır. Sonuçta proje "fonksiyonel genomik" olarak adlandırılan yeni bir açılım kazanmıştır. Projenin bu bölümünün amacı kısaca genomik sekanstaki bilginin fonksiyonunun ne olduğunun belirlenmesi olarak özetlenebilir. Proje kapsamında genom ekspresyonu ve kontrolünün nasıl gerçekleştiğinin; fare gibi organizmaların genomlarında yaratılan mutasyonlar, kayıp veya değişiklikler ile anlaşılması ve protein analizi için bilgisayar destekli metotların geliştirilmesi hedeflenmiştir. Fonksiyonel genomik araştırmaları "delesyon ve mutagenез" çalışmalarını, "fare-insan karşılaştırmalı dizi analizlerini", hedef proteinlerin tanımlanmasına, hedef gen ekspresyonlarının ve regülasyonlarının belirlenmesine yönelik "proteomik" çalışmalarını, "yapısal genomik" olarak adlandırılan proteinlerin üç boyutlu ve dört boyutlu analizlerini yapmaya yönelik çalışmalarını içermektedir. Bunu hücre doku ve organlardaki tüm metabolitlerin belirlenmesini hedefleyen çalışmaların izleyeceği düşünülmektedir.

"Proteomik" kavramı genom tarafından eksprese edilen tüm proteinler anlamına gelen "proteom" kelimesinden köken almakta, büyük kapsamlı protein ayrımı ve tanımlanması çalışmalarını içermektedir. Günümüzde proteomik araştırmaları iki zıt ancak birbirini tamamlayıcı stratejiyi içermektedir. İlk strateji, "cell-mapping proteomics" olarak adlandırmakta, hücreler arası sinyal iletimi yollarını oluşturan karmaşık şebekenin bir görünümünü oluşturacak protein-protein ilişkilerinin tanımlanmasını hedeflemektedir. İkinci strateji ise "protein expression proteomics" olarak adlandırılmakta, farklı koşullarda, farklı hücre tipleri ve dokular arasında protein ekspresyon paternlerinin tanımlanmasını amaçlamaktadır. Bu bağlamda proteomik kapsamında gerçekleştirilen çalışmalar üç ana alanda toplanabilir:

- (1) Proteinlerin tanımlanması, karakterizasyonu ve post translasyonel modifikasyonlarının belirlenmesi,
- (2) Çok sayıdaki farklı hücre, doku, organ, organizmada ve farklı hastalıklardaki protein ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılmalı analizleri,
- (3) Protein-protein ilişkilerinin analizleri.

Ancak şu anda var olan teknoloji ile proteinlerin çalışılmasında, gen ve transkriptlerin çalışılması ile kıyaslandığında pek çok zorluk vardır. Birincisi, proteinlerin davranışlarını-fonksiyonlarını onların tersiyer yapıları belirler. Şu anda kullanılan protein bağlanması temeline dayanan tüm testler proteinin primer yapısı esas alınarak hazırlanmıştır. Bu protein hedeflerin saptanmasında afinite temelli bir sistem kullanılması sonucunu doğurmaktadır. İkincisi, sistemde milyonlarca farklı protein olduğu varsayıldığında, ortamda çok küçük miktarlarda var olan proteinlerin çalışılmasında yaşanan zorluklardır. Henüz nükleik asitlerin amplifikasyonunu sağlayan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi bir yöntemin, protein hedefler için geliştirilmemiş olması çalışmaları sınırlamaktadır. Ek olarak proteinlerin davranışları her zaman ortamda bulunan proteinlerin kantitatif olarak miktarına bağlı olmayabilir. Protein regülasyonu sıklıkla proteinlerin sentez ve degradasyonlarını değil modifikasyonlarına (örn fosforilasyon) bağlı olarak gerçekleşmektedir. Zorluklara "RNA splicing" ile elde edilen farklı splice varyantlarının son derece benzer yapıya sahip olup, çok farklı fonksiyonlar yapması eklendiğinde bizi bekleyen güçlüklerin boyutu ortaya çıkmaktadır. Ancak genomün başlangıcında nükleik asit çalışmalarındaki zorluklar ve bunların ne kadar hızla çözümlendiği düşünüldüğünde, yakın bir gelecekte bütün bu sorunların üstesinden gelineceği tahmin etmek hiç de zor değildir.

Örnekeleyecek olursak son zamanlara kadar, global protein ekspresyon çalışmalarında iki boyutlu jel elektroforezi (2DE) kullanılmakta idi. Bu teknik binlerce farklı proteinin dikdörtgen şeklinde bir jel üzerinde yük birinci, moleküler ağırlık ikinci boyutta olacak şekilde ayrılmaları, farklı noktalar oluşturmaları ile sınırlı idi. Günümüze kadar bu teknikle pek çok farklı proteinin çalışılması yapı ve fonksiyonlarının analizi mümkün olsa da, yöntemin zorluğu, zaman alıcı olması, sensitivitesinin düşük olması gibi sorunlar devam etmekteydi. Bu sınırlamalar maya iki-hibrit sistemi (Y2H), faj sunumu (PD) tekniği, modifiye kütle spektrometrisi (MS) ve protein array'leri gibi yeni uygulamaların geliştirilmesini sağlamıştır.

Protein-Protein Etkileşimlerinin Tanımlanmasında 'Faj Sunumu'

Faj sunumu teknolojisi, 1985 de yabancı proteinlerin filamentöz bakteriofajların yüzeyinde minör kılıf proteinleri ile füzyon yaparak sunulabildiğinin saptanması ile ortaya çıkmış olup, faj genomunun kapsid proteinlerini kodlayan bölümüne yerleştirilen yabancı DNA segmentlerinin kapsid proteinleri ile beraber faj yüzeyinde sunulması sağlanmaktadır. Yöntem hedef proteinler ile ilişkiye giren yeni peptidlerin identifikasyonunda evrimsel seçim prensiplerine göre çalışmaktadır. Yaklaşık 20 yıllık bir süreçte çeşitli uygulama alanları bulan faj sunum tekniği protein-protein etkileşimlerinin araştırılmasında özellikle de protein yüzeyinde bulunan ve diğer proteinlerle etkileşen yapıların tanımlanması ve analizi, belirli amino asit sekansına bağlanan yeni ligandların (antijenik epitoplar, inhibitörler, antagonistler, agonistler ya da substratlar) izole edilmesi, ligandlar ile hedef yapıları arasındaki etkileşimin afinite ve özgüllüğünü artırılması amacıyla yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır.

Faj genomu genetik olarak memeli hücrelerini transfekte edecek şekilde modifiye edilir. Özellikle bakteriofajların reseptöre bağımlı endositoz (RBE) ile bazı hedef genleri hücre içine aktarabildiğinin saptanması teknikte fonksiyonel ligand seleksiyonunu sağlayan bir modifikasyonun yapılmasına yol açmış ve LIVE (ligand identification via expression) olarak kısaltılan ekspresyon yoluyla ligand identifikasyonu yöntemi geniş kullanım alanı bulmuştur. LIVE seleksiyonunun geleceği son noktanın faj aracılığı ile gen aktarımı ve hedef hücrenin genetik transdüksiyonu olacağı düşünülmektedir. RBE ile internalize edilen faj partikülü bir reporter gen (yeşil floresan protein (GFP), beta galatosidaz veya lusiferaz gibi) veya ilaç dirençlilik geni (neomisin gibi) ekspresyonu ile identifiye edilir, PCR amplifikasyonu ile ligand DNA amplifiye edilir, bu sekanslar faj vektörlere aktararak yenileyen transfeksiyon ve seleksiyon basamakları ile kütüphane zenginleştirilir. LIVE modifikasyonu faj sunumu teknolojisini protein-protein ilişkilerinin belirlenmesinde kullanılan bir yöntemden, hedefe spesifik ilaç geliştirmede, tedavi için hedef belirlemede, terapötik proteinleri kodlayan sekansların belirlenmesinde, gen tedavisinde kullanılabilen bir yöntem dönüşmesini sağlamıştır. LIVE in gen aktarımı için kullanımında hayvan virusları ve sentetik vektörlere göre pek çok avantajı olduğu bildirilmiştir. Bu avantajların en önemlilerinden birisi de transfer edilen ligandların hedefe spesifik

olarak bağlanması ve internalizasyonuna ek olarak hücre içinde istenilen bölgeye hedeflenebilmesinin sağlamasıdır¹⁶. Örneğin LIVE genetik seleksiyonunun faj partikülü üzerindeki hedefleme sinyali üzerinden yapılması ve böylece kütüphaneden spesifik (örn: nükleer lokalizasyon sinyali olan..) partiküllerin seçilimi mümkündür. Bir diğer uygulama da organ spesifik peptidlerin in vivo ortamda seçilimidir. Bu işlemde peptid kütüphanesinin fareye enjeksiyonunu takiben söz konusu organ çıkarılır, yıkanır ve elüe olan faj bir sonraki enjeksiyon ve seleksiyon döngülerinde kullanılır. Bu şekilde seleksiyonu gerçekleştirilen peptidler ile özellikle tümör hücrelerine ilaçların ulaştırılması/götürülmesi amaçlanmaktadır,

Bu sunumda faj sunumu yönteminin sinyal ileti yollarındaki protein-protein etkileşimlerinin belirlenmesinde kullanımına örnek olarak hepatosit büyüme faktörü reseptöründeki protein-protein etkileşimlerinin tanımlanmasında faj sunum yöntemi ile gerçekleştirdiğimiz çalışmalardan ve bu çalışmaların sonuçlarından söz edilecektir.

- 1 Venter JC, Adams MD, Myers EW ve ark. The sequence of human genome, Science 2001;291: 1304-1351.
- 2 Jeong H, Mason SP, Barabási AL, Oltvai ZN. Lethality and centrality in protein networks. Nature 411,41-42,2001
- 3 Simpson RJ, Dorow DS. Cancer proteomics :from signaling networks to tumor markers. Trends Biotechnol, 2001; 19 (Suppl):S40-S48.
- 4 Human Genome Program, U.S. Department of Energy, Human genome news (v10n3-4) Available from: <http://www.ornl.gov/hgmis/publicat/hgn/v10n3/06func.html>
- 5 Oliver S. Guilt by association goes global. Nature 2000; 403:601-603.
- 6 Martin DB, Nelson PS. From genomics to proteomics techniques and application in cancer research, Trends Cell Biol, 2001;11: 560-565.
- 7 Naaby-Haysen S, Waterfield MD, Cramer R. Proteomics-post genomic cartography to understand gene function, Trends in Pharmacol Sci, 2001;22: 376-384
- 8 Simpson RJ, Dorow DS. Cancer proteomics; from signaling networks to tumor markers, Trends Biotechnol, 2001;19 (Suppl):S40-S48,
- 9 12 Eisenberg D, Marcotte EM, Xenarios I, Yeates TO. Protein function in the post genomic era. Nature, 2000;405 : 823-826.
- 10 Blackstock WP, Weir MP. Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins. Trends Biotechnol. 1999;17;121-127.
- 11 Larocca D, Baird A. Receptor mediated gene transfer by phage display vectors: applications in functional genomics and gene therapy, DDT, 2001;6: 793-801.
- 12 Larocca D, Jensen-Pergakes K, Burg MA, Baird A. Receptor targeted gene delivery using multivalent phagemid particles. Mol. Ther 2001;3: 476-484.
- 13 Pasqualini R, Ruoslahti E. Organ targeting in vivo using phage display peptide libraries. Nature 1996;380:364-366
- 14 Arap W, Pasqualini R, Ruoslahti E. Cancer treatment by targeted drug delivery to tumor vasculature in a mouse model. Science 1998;279:377-380

IN SLİKO BİYOLOJİK VERİ DENETLEMESİ VE İŞLEVSEL ANALİZİ

RENGÜL ÇETİN - ATALAY

Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, ANKARA

rengul@bilkent.edu.tr

Son yıllarda moleküler biyoloji tekniklerindeki gelişmeler, bir deney sonucunda binlerce veri elde etmeyi olası hale getirmiştir. Ancak, elde edilen bu verilerin tek gen veya protein seviyesinde tekrar saklamasının yapılması da sonuçların tutarlılığı açısından bir zorunluluktur. Bu nedenle, işlemsel yöntemler kullanarak biyolojik davranışlarla ilgili öngöründe bulunmak, moleküler biyoloji problemlerinde deney yapacak araştırmacının önünde varolan çok sayıda seçeneği anlamlı ve idare edilebilir bir sayıya indirmekte ve laboratuvar öncesinde hipotezler kurmasında yardımcı olmaktadır. Bu bağlamda, DNA ve protein dizi analizi ile genlerin sınıflandırılması ve ilişkilendirilmesi büyük öneme sahiptir. Genom anlamlandırmasına yönelik DNA ve protein dizi analizi için altdizilerin demetlenmesine dayalı yaklaşımların geliştirilip incelenmesi, bunlar için yazılımların geliştirilmesi genlerin işlevlerinin öngörülmesinde gereklidir.

Dizi benzerliği (homology) genom anlamlandırılmasında yaygın olarak kullanılan güçlü bir araçtır. Ortak dizi benzerliği taşıyan protein motifleri, benzer yapıyı ve benzer işlevi ima ederler. Genelde, işlemsel motif bulma araçları doğrudan arama ve belirleme yapmaktadır (Bailey and Elkan, 1994; Blekas et al., 2003). Ancak motifleri oluşturan altdizilerin sürekli olmaması, amino asitlerin arasındaki boşlukların ve hatta sıralarının değişken olmasından nedeniyle protein dizilerinde motif bulunması görüldüğünden daha zordur. Bu nedenle, bir protein anlamlandırma probleminde motif aramak yerine bir dizinin tümünün ya da sadece bir parçasının analizi yapılabilir. PROFILESCAN, BLIMPS ve MAST (Henikoff and Henikoff, 1991; Bailey and Gribskov, 1998) gibi ek işlemlerle birlikte dizi motifleri proteinlerin işlevsel anlamlandırılması için kullanılmaktadır. Ancak çoğu zaman proteinler klasik motifler içermeseler de ortak işlevleri sahip olabilmektedirler. Bu nedenle bizim örtük motif (implicit motif) diye adlandırdığımız protein dizi özneliklerinin dağılımına dayalı yaklaşım, genom ve proteom analizinde işlemsel olarak çok daha pahalı olan motif arama ve çıkartma gerektiren sınıflandırma problemleri için genel bir işlemsel çekirdek olarak kullanılabilir (Atalay and Atalay, 2005). Bu konuşmada DNA ve protein dizi anlamlandırılmasında örtük motiflerin analizi için dizi demetlenmesine ve ardından sınıflandırılmasına dayalı bir melez yaklaşımın geliştirilmesi, ilgili yazılımların gerçekleştirilmesi genom ve proteom seviyesindeki değişik örneklerle anlatılacaktır.

GENETİKTEN GENOMBİLİME GEÇİŞTE DNA MİKRODİZİNLER : İFADE PROFİLLEMESİ, SNP ANALİZLERİ

HİLÂL ÖZDAĞ

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, ANKARA

hilalozdag@gmail.com

Genetikten Genombilime:

Genetik biliminin özellikle 20. yüzyılın son 20 yılındaki ivmesel gelişimi genetik bilimini genombilime taşımıştır. DNA molekülünün tespiti, molekülün kalıtımla ilişkilendirilmesi, yapısının keşfi ile atılan dev adımları rekombinant DNA teknolojisinin ortaya çıkışı takip etmiştir. Genlerin lokasyon ve fonksiyonlarının tek tek disekte edilerek ortaya konduğu hummalı araştırmalar yaşam şifresinin çözümü yolundaki önemli ilk basamakları teşkil etmiştir.

Daha sağlıklı, daha kaliteli ve daha verimli bir hayata ulaşmak için zamanla yarışılan çağımızda diğer sahalarda olduğu gibi yaşam bilimlerinde de araştırmalarda sistematik bir stratejinin takibi esas alınmaktadır. Bu nedenle genombilime geçiş yolunda ilk aşama model organizmaların genom projelerinin başlatılması oldu. Bugüne dek 20'nin üzerinde model organizmanın genom projesi tamamlanıp kataloglandı. Bu şifre döküm işlemi sonucu ortaya çıkan verinin boyutları, bu verilerin ancak yüksek işlem hacimli teknolojilerin yardımı ile analiz edilebilecekleri gerçeğini gözler önüne serdi.

DNA Mikrodizininler:

DNA'daki yapısal yeniden düzenlenmelerin tespiti amacıyla DNA ilk olarak 1975 yılında kalıcı olarak sabit bir ortama aktarılıp "Southern Blot" tekniği ile analiz edilmiştir. Bunu takip eden yıllarda benzer bir yaklaşımla RNA ve protein molekülleri de "Northern" ve "Western Blot" teknikleri ile sabit bir ortama kalıcı olarak aktarılıp analiz edilebilir hale gelmiştir. Nükleik asitlerin elektrokimyasal özelliklerinden hareketle sabit bir ortama bağlanabildiklerinin keşfi ile genom projelerinden akan verilerin biraraya gelmesiyle DNA çiplerinden söz edilmeye başlanmıştır.

DNA çiplerinin kullanımı ile bir anda analiz edilen gen sayısı onlu rakamlardan binli rakamlara fırlamıştır. Böylelikle genom projelerinin ürettiği verilere eşgüdüm hızda sonuç verecek bu analiz yöntemi genombilim araştırmalarına ciddi bir ivme kazandırmıştır.

Mikrodizin teknolojisi:

Mikrodizin teknolojisi kullanılmaya başlandığı günden bu yana sürekli değişim ve gelişim göstermiştir. Mikrodizininler cam slaytlar ve ince katman camlar üzerine dizilen cDNA veya oligonükleotidlerden oluşurlar. cDNA veya oligonükleotidler robot sistemler aracılığı ile slaytlara dokundurma (spotted) veya mürekkep püskürtme (ink-jet) tekniği ile uygulanır.

Dizinde her bir gen parçasını temsil eden cDNA veya oligonükleotidin dokundurulduğu veya püskürtüldüğü alanın netliği ve kesinliği alınacak sonuçların kalitesi ile doğru oranlıdır. Bu anlamda sonuçların kalitesini arttıran diğer bir mikrodizin üretim tekniğinde ince katman camlar üzerine fotolitografi tekniği ile oligonükleotidler sentezlenir.

Genombilim araştırmalarında kullanıcılar kendi mikrodizininlerini "spotter" aracılığı ile dizdikleri mikrodizininleri kullanabilecekleri gibi çözünürlüğü her geçen gün artan ve birçok model organizmanın tüm genomunu içeren kalite kontrolden geçmiş hazır mikrodizininleri de birçok ticari

firmadan temin edebilmektedirler.

İfade mikrodizinleri:

Özellikle multifaktöryel ve poligenik hastalıklarda, sözkonusu hastalıkların nedenlerini ayırtmak zordur. Tek tek yapılacak genetik analiz sonuç alma sürecini tahmin edilemeyecek boyutta uzatmanın yanı sıra elde edilecek verilerin analiz ve yorumunu da güçleştirecektir. Mikrodizin teknolojisi ile genom boyunca profil çıkarmak mümkün hale gelmiştir.

İlgilenilen hastalıkta genomun ifade profili normal bireye göre nasıl değişiyor? Genomdaki hangi genler spesifik olarak bu hastalıkla ilgili? Hastalıkla ilişkilendirilen bu gen grubunun normale göre ifadenmesi nasıl değişiyor? Benzeri sorulara ek olarak biyolojik etkisi sorgulanan bir molekülün ifade profili üzerine olan etkisini ifade mikrodizinleri ile değerlendirmek mümkündür.

SNP mikrodizinleri:

Tekli nükleotid değişimlerine (Single nucleotide polymorphism-SNP) insan genomunda yaklaşık her 1200 bazda bir rastlanmaktadır. Bugüne dek yapılan pozisyonel klonlama çalışmalarında mikrosatellit bölgeleri kullanılırken, 10.000 ile 500.000 SNP içeren mikrodizinlerin üretilmesi ile çözünürlüğü mikrosatellitlerin çok üzerinde olan bir araç bağlantı analizlerine girmiş oldu.

SNP mikrodizinleri bağlantı analizlerinin yanısıra asosiyasyon ve CGH (comparative genome hybridisation) çalışmalarında da yoğun olarak kullanılmaktadır.

POSTGENOME SCIENCES AND TECHNOLOGIES "LIPIDOMICS": TARGETS, SCOPE, METHODS

RENAT ZHDANOV¹, AHMET ARSLAN²

¹Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow 125315 Russian Federation, RUSSIA

²Tıbbi Biyoloji ABD, Tıp Fakültesi, Gaziantep Üniversitesi, 27310, Gaziantep - TURKEY

aarslan@gantep.edu.tr

Lipidomics takes a special place among the other postgenome sciences and technologies: proteomics, transcriptomics, glycomics, signalomics, etc, which are targeted to a creation of artificial cell [1]. The aim of the work is a prediction of cell response to any external treatment. There are more than 1000 types of lipid molecules in cell. The matter is that lipids represent, from one hand, the main components of biomembranes providing a barrier function, and, from other hand, they participate in regulatory chains and in signal transduction, signals being varied from programmed cell death to an activation of cell division [2]. A number of diseases, e.g., Alzheimer disease, atherosclerosis, cardio-vascular, etc, are originated from disturbances in lipid metabolism. According to an analogy with genome and proteome, all lipids present currently in cell form lipidome, and term "lipidomics" structural and functional covers a description of all cellular lipids and their interactions in cell [3]. Lipidomics came of age now.

The first targets of lipidomics as a part of postgenome science are the next: a) development of new analytical techniques for lipidome analysis using HPLC-MS/MS, MALDI and ESI-MS/MS; b) usage of biophysical techniques for the study of lipid-protein interactions, in particular, micro- and nano-technologies for the study of lipids in biomembranes; c) clarifying of lipid signal transduction networks, including lipid mediators for regulation of metabolism and gene expression; d) integration between lipidomics and proteomics for the study and characterization of homeostasis; e) study of chromatin/ and DNA-bound lipids [4, 5].

There are a few national and international projects, e.g., "Lipid Metabolites And Pathways Strategy (LIPID MAPS)", "COBRE in lipidomics and pathobiology" (CIILA), Kansas Lipidomics Research Center (plant lipid signaling), and "Computational Lipidomics" (Vanderbilt University, U.S.A.).

Original results of the study of lipidomics of prokaryotic DNA-bound lipids *Pseudomonas aurantiaca* (pathogenic microorganism) are discussed. The lipid profile of nucleoid lipids of the microorganism was studied by LC-MS/MS technology together with German colleagues [6].

References:

1. Bischoff G., and Zhdanov R.I. (2002) Lipidomic: lipids take a part in complexity of genetic control. Analysis of Biomedical Signals and Images, Proceedings of the 16th Int. EURASIP Conference "BioSignal 2002" (J. Jan, J. Kozumplik, I. Provaznik, eds.), Vutium Press, Brno, Czech Republic, 409-411.
2. Forrester J.S., Milne S., Ivanova P., Brown A. Computational lipidomics: a multiplexed analysis of dynamic changes in membrane lipid composition during signal transduction. *Mol. Pharmacol.*, 2004, 65, 813-821.
3. Lagarde M., Geloën, A., Record, M., Vance, D. and Spener, F. Lipidomics is emerging. *Biochim. Biophys. Acta*, 2003, 1634, 61.
4. Zhdanov R. I. and Kubatiev A. A. (2003) Lipidomics and human genome sciences. There is an additional informational level in genomic DNA lipids. *Pathogenesis* 1, #1, 7-10 (in Russian).
5. Zhdanov R. I., Dyachkov E. P., Strazhevskaya N. B., Shmyrina A. S., Bischoff G., Lorenz W., Dyachkov P. N., Kubatiev A.A. (2003) Structural lipidomics. Cholesterol and its esters in eukaryotic chromatin: biochemical analysis and computer modelling. *Pathogenesis* 1, #2, 4-10 (in Russian).
6. Zhdanov R. I., Kubatiev A. A., Arslan A., Bischoff G. and Lorenz W. (2003) Lipidomics and chromatin lipids: DNA-lipid code or DNA-bound lipoproteins? GEON2003. Proceedings of the Int. Conference devoted to 200th Anniversary of Kazan', Russia, August 25 September 5, 2003, p. 411-416.

PARKİNSON VE α -SİNÜKLEİN

A. BAŞARAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, ESKİŞEHİR

abasaran@ogu.edu.tr

Parkinson hastalığı (PD) yaşa bağlı nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu hastalığın esas nedeni bilinmemekle beraber özellikle substantia nigradaki dopaminerjik nöronların sürekli kaybı ve Lewy Bodylerin (Lewy cisimciği) bulunuşu ile karakterize edilir. Lewy cisimcikleri, nöronlarda görülen, -sinüklein (-SN), tübülin, mikrotübil ve proteoglikanlar gibi yapısal proteinlerden oluşan toksik ve küresel inklüzyonlardır. Bu inklüzyonlar içerisinde biriken -SN proteininin çözünemeyen patolojik fibriller agregatları PD gibi bazı nörodejeneratif hastalıkların oluşumunda dikkat çeker. Mikroskopik olarak tespit edilen bu tip -SN toplulukları nöronlara zarar veren toksik yapılardır.

-SN'ler presinaptik proteinler olup beyin substantia nigra, talamus, hipocampus, amyglada, corpus collosum ve caudal bölgelerindeki kortikal, adrenerjik ve dopaminerjik nöronlarda eksprese edilir. İnsan -SN'i 19-20 kD molekül ağırlığında olup 140 aminoasit rezüdüsu içerir. Kromozom 4q21'de lokalize gen tarafından kodlanır.

-SN; nöronlarda veziküllerin, taşıyıcıların ve belli enzimlerin fizyolojisini düzenler. Dopaminerjik nöronlarda üretilen dopaminin dengeli seviyede olmasını, sinaptik aralığa hızlı ve uygun şekilde salınıp geri alınmasını sağlar. Bu transport görevini sinir akson ucu zarlarında bulunan dopamin transporter (DAT) ile birleşerek yapar.

PD ile ilişkili olarak, -SN geninde oluşan A30P ve A53T mutasyonları önemlidir. A30P mutasyonu, -SN'in por benzeri halka şeklinde protofibrile dönüşmesine ve vezikül zarına fosfolipitlerin kusurlu bağlanarak vezikül zarının geçirgenliğinin bozulmasına neden olur. A53T mutasyonu, -SN'in hızlı bir şekilde hem halka hem de fibriller şekle dönüşmesine ve bunların vezikül zarına bağlanarak yine vezikül zarının geçirgenliğinin bozulmasına neden olur.

Ayrıca her iki mutasyon, -SN yıkılımında görevli proteozom yolunun fonksiyonunun bozulmasına, böylece aşırı -SN birikimine ve -SN'in fibrille olan formlarının Lewy cisimcikleri oluşturmaya neden olur. Lewy cisimciklerinin varlığı da dopaminerjik nöronların %50'den fazlasının kaybına neden olarak PD gelişimini tetikler.

Parkinson gelişimini tetikleyen -SN mutasyonlarına ilave olarak, -SN'in proteozomal yıkılımında rol alan, parkin (PARK2) ve UCH-L1 (PARK5) proteinlerinde meydana gelen hasar da, -SN patolojik formlarının birikimine neden olur. Bu olayda, ubiquitin ligaz (E3) olarak görev yapan parkinin hasarı, -SN'lerin ubiquitin sistemine sunulmasına mani olur ve gereğinden fazla -SN birikir. Hasarlı UCH-L1 ise -SN'in yıkılımı sonunda ubiquitinlerin sisteme geri dönmesini sağlayamadığından proteozom sistemi çalışmaz ve gereğinden fazla -SN birikir.

Sonuç olarak, -SN proteini anomalileri ve birikimi, nöron hasarı ve nöron kaybıyla sonuçlanarak PD gibi nörodejeneratif hastalıkların gelişiminde önemli bir etken olarak yerini korur.

TROMBOTİK HASTALIKLARIN MOLEKÜLER GENETİĞİ**TURGUT ULUTİN**

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

ulutin@istanbul.edu.tr

Normal hemostaz, sağlam duvarlar içinde kanı pıhtısız, sıvı durumunda koruyan, damar zararı olduğunda ise zarar bölgesinde hızla hemostatik tıkaç oluşumu sağlayan bir dizi iyi programlanmış işlemi içermektedir. Hemostazın patolojik boyutu, devamlılığını koruyan damarlarda kan pıhtısının (trombus) oluşumu ile belirlenen trombozudur. Hem hemostaz hemde tromboz genel olarak 3 elemana bağlıdır. Damar duvarı yani endotel, trombositler ve koagülasyon sistemidir.

Endotel hücreleri 10-15 m genişliğinde 20-25 m uzunluğunda, uzamış nukleusları ile damarın uzun eksenini boyunca sıralanmış poligonal hücrelerdir.

Bu hücrelerin kan ve dokuya bakan yüzeyleride birbirinden farklıdır. Kana bakan yüzeyleri 50-60 Angstrom kalınlıkta bir tabaka ile kaplıdır. Bu proteoglikan tabaka antitrombotik yüzeyi oluşturur ve heparan sülfat, dermatan sülfat ve heparin içerir. Heparinini düz kas proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkisi de ateroskleroz patogenezinde önemli bir bulgudur.

Son yıllarda endotel hücrelerin hemostazda önemli fonksiyonlar üstlendiği anlaşılmıştır. Endotel hücreleri salgıladıkları mediatörler ile koagülasyonu, fibrinolizisi, damar tonusunu, dolayısı ile kan akışımı ve kan basıncını etkileyip çeşitli fizyolojik ve patolojik mekanizmalarda rol oynayan son derece aktif hücrelerdir. Endotel hücreleri zar özellikleri ile kan hücrelerinin damar duvarına yapışmasına engel olan nontrombojenik bir yüzey yaratarak trombozise doğal bir oluştururlar. Endotel vasküler vasodilasyon ve vasokonstriksiyonu kontrol eden maddeleri yapar ve homeodinamik dengeyi sağlar.

Endotel hücreleri kuvvetli bir trombosit agreganı ve vazodilatörü olan prostasiklini sentezlerler ve salgılarlar. Prostrasiklinler trombosit zarında bulunan reseptörlerine bağlanarak adenilat siklazı stimule eder ve trombosit c-AMP düzeylerini yükseltirler. Öte yandan endotelden salgılanan prostasiklin ve trombositlerdem salgılanan TX A2 arasında bir denge vardır ve bu denge hemostazda çok önemlidir. Endotelde hasar oluşunca trombositler hasarlı bölgeye tutunur ve kümeleşirler. İşte bu noktada prostasiklinlerin negatif yönde etkisi trombosit agregasyonunu inhibe eder ve bu aterosklerotik süreci yavaşlatır. Endotel hücrelerin prostasiklin sentezi, trombin tripsin, bradikinin, histamin, HDL, hipoksi ve anjiotensin II ile uyarılarak artar. Endotel hücrelerin trombosit agregasyonunu önleyici bir diğer özelliği ise aktif trombosit tarafından salınan ADP ve serotonin plazmadan efektif olarak uzaklaştırabilmeleridir.

Endotel de meydana gelecek bir hasar, bu özelliklerde bir bozulma ve nontrombojenik yüzeyin ortadan kalkmasına sebep olur. Ortaya çıkan subendoteldeki kollagen lifleri de trombosit agregasyonunu ve adezyonuna neden olur. Aktive olmuş trombositlerden salınan ADP ve trombaksan çevredeki diğer trombositleri de aktive ederek trombosit tıkaçının büyümesini sağlar. Buna paralel olarak, subendoteldeki kollagen liflerinin FXII'yi aktive etmesi, XI.faktörün aktif trombosit yüzeyinde aktive olması ve hesaplanmış endotel hücrelerinde salınan bir doku faktörü ile koagülasyon mekanizması işlemeye başlar. Bunlar ise trombusun oluşması ve gelişmesi için en uygun ortam sağlayan süreçlerdir.

TROMBOSİTLER

Hemostazda merkezi rol oynarlar. İki tip spesifik granüle sahiptirler. Alfa granülleri membran yüzeylerinde P selectin adlı adezyon molekülünü eksprese eder ve fibrinojen, fibronektin, FV, VWF, PF4, trombosit kökenli büyüme faktörünü içerir. Diğer granül ise yoğun cisimcik adını alır ve ADP, Kalsiyum, Histamin, Serotonin ve Epinefrin içerir. Vasküler hasardan sonra trombositler ekstraselüler matriks bileşenlerine tutulur bunun sonucunda üç reaksiyon meydana gelir:

Adezyon ve biçim değişimi

Salgilama

Agregasyon

Trombositlerin ekstraselüler matrisli adezyonu trombosit yüzey reseptörleri (GPIb) ve açığa çıkmış kollagen arasında bir köprü olarak etki eden VWF yoluyla olur. Agregasyon ise fibrinojen köprülerinin trombositlerin GPIIb / IIIa reseptörlerine bağlanması ile oluşur. VWF veya GPIb'nin genetik yetersizliği kusurlu trombosit adezyonu ve kanama bozukluğuyla sonuçlanır (Bernard-Soulier Sendromu).

Fibrinojen trombosit agregasyonun önemli bir kofaktörüdür. ADP ile aktive edilmiş trombositler fibrinojene bağlanırlar. Bu durum diğer proteinlerin GPIIb / IIIa yoluyla bağlanarak daha büyük trombosit agregatları oluşturmalarına neden olur. GPIIb / IIIa 'nın konjenital olarak yetersiz veya inaktif olduğu kişilerde kusurlu trombosit agregasyonu ve ciddi kanamalar görülür. (Glanzman trombastenisi)

NORMAL HEMOSTATİK SÜREÇ

Vasküler hasardan sonra bölgesel nörohumoral faktörler geçici bir vasokonstriksiyonu uyarırlar.

Trombosit açığa çıkmış ekstraselüler matrikse VWF vasıtasıyla tutunur ve aktive olur, bu aktivasyon sonunda şekil değişikliği ve ADP ile TXA2 gibi maddelerin granüllerden salınımı trombosit agregasyonunu ilerletir ve hemostatik tıkaç meydana gelir.

Koagulasyon şalesinin bölgesel aktivasyonu (doku faktörü ve trombosit fosfolisidler) fibrin polimerizasyonuna neden olur. Bu durum ikincil hemostatik tıkaçı oluşturur.

Fibrinolitik sistemle ilgili tPA ve koagulasyon şalesini bloke eden trombomodulin gibi karşıt düzenleyici mekanizma maddelerinin salınımı hasar yerinde hemostatik süreci sınırlar.

Damar sisteminin temel korunma yöntemlerinden biri olan pıhtı oluşması endotel hücreleri ile sağlanırken bu işlemin kontrol altında tutulması da önemlidir. Oluşan pıhtının kontrol altına alınmasında da endotel hücrelerin önemli görevleri vardır. Endotel hücre yüzeyinde bulunan heparin tabakası, AT-III için kofaktör görevi görür. AT-III, trombin ve aktif IX, X, XII faktörleri inaktive ederek koagulasyonu kontrol altına alır. Diğer bir koagulasyon inhibitörü de Protein C'dir. Trombin tarafından aktive edilen C, FV ve VIII'i inaktive ederek trombozisi kontrol altında tutar.

Endotel hücresi ile fibrinolitik mekanizma arasında da sıkı bir bağlantı bulunmaktadır. Endotel hücresinde doku plazminojen aktivatörü (t-PA) ve plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI) sentezinin yapılması fibrinolitik aktivitenin regülasyonunda önemli farka bağlı fibrinolitik aktivitenin aterosklerozlarda azaldığı görülmektedir.

TROMBOZ

Trombofilia olarak isimlendirilen trombusa eğilim gösteren durumlarda koagülasyonu hızlandıran faktörler düşünülmekte ise de daha sıklıkla koagülasyonu önleyen faktörlerin azalması önemlidir. Tromboz, hemen her yaş grubunu ilgilendiren multifaktöriyel bir hastalıktır. Tabloda kalıtsal trombotik hastalıklar ve bu hastalıkların normal ve trombozlu bireylerdeki sıklıkları verilmiştir.

Kalıtsal Venöz Thrombosis Riski

	Normal Bireylerde Sıklık %	Thrombosislilerde Sıklık %
AT III eksikliği	0.02	1
Protein C eksikliği(PC)	0.2	3
Protein S eksikliği(PS)	0.1	1.2
APC direnci /FV 1691 G-A	7-10	20
Protrombin 20210 A alleli	1-2	6
Disfibrinojenem i	<0.01	<0.1
HomosistinUria	< 0.01	<0.1
(cystathionemie b-sentaz)		
Thrombomodulin defekti	<0.01	<0.01
Plasminojen eksikliği	?	
heparin cofactor II eksikliği	9	
factor XII eksikliği	?	
factor VIII yüksekliği	II	

KOMBİNE DEFEKTLER:

PC eksikliği ve FV-R560Q.: Bu iki kalıtsal defekti birlikte taşıyanlar da trombosis görülme sıklığı (%70) daha fazladır. Daha erken yaşta ortaya çıkar.

PS eksikliği ve FV-R506Q: Heterozigot PS ile FV birlikteliği % 22.4'dür. VTE görülme sıklığı (% 72) daha fazla ve daha erken yaşta ortaya çıkar.

AT III eksikliği ve FVR506Q: Birlikteliğinde (% 14.1) thrombosis daha da erken yaşta görülür. Tipli ATIII eksikliğinde (heparin bağlanma noktası taşıır) trombosis riski daha düşüktür. Bu tipde FV'in trombosisi artırıcı özelliği ortadan kalkar.

Hiperhomosisteinemi ve FVR506Q: Homozigot homosistinuri'li hastalarda 1/3'ünde arteriel ve VTE'de erken yaşta artış görülmektedir. 6 homozigot ailede 0.2-8 yaş arasındaki çocuklarda thrombosis görülmüştür. FV'leri normal ise (4 birey) thrombosis görülmemiştir. İkisinin birlikteliği thrombosis riskini arttırmaktadır. Ancak bunların karşısında olan çalışmalarda vardır.

Faktör eksiklikleri ve FVR506Q: Faktör eksiklikleri üzerine FVR506Q'nun etkisi tartışmalıdır.

Hom MTHFR677T: FVR506Q: Thrombosis riskini arttırmaktadır. Prothrombin 20210 A ve FV1691A birlikteliği riski arttırmaktadır.

Faktör V 1691 G-A mutasyonu - Protein C direnci

1993 yılında Dâhlback ve arkadaşlarının tanımladıkları aktive Protein C'ye direnç, venöz trombozun oluşumunda en sık rol oynayan kalıtsal risk faktörüdür. FV1691G-A değişiminin büyük oranda APC direncinden sorumludur. FV gen yerleşimi 1q 21-25'dir.

Populasyonlar arasında farklılık olmasına rağmen sıklığı % 2 ile 8.5 arasında değişmektedir. Heterozigotlarda venöz tromboz riski normal popülasyondakinin 5-10 katı, homozigotlarda ise 50-100 katına ulaşmaktadır. İlk kez derin ven trombozu geçirenlerde heterozigot FV1691G-A sıklığı Tablo'da verilmiştir

PROTROMBİN GENİ 20210 G-A DEĞİŞİMİ

Trombozda kalıtsal risk faktörlerinden birisi olan protrombin geni 20210 G-A değişiminin varlığıdır. Protrombin geni kromozom 11'de olup, p11q12 arasında ve 21 kb uzunluğunda, 13 intronla ayrılan 14 eksondan oluşmaktadır. 5 "upstream untranslated" (UT) ve 3' UT bölgeleri ile sınırlanmıştır. Bu

bölgeler genin ekspresyonunda regülatör rol oynamaktadır. Bu PT geninin (20210'daki) GA mutasyonu bireysel ve ailevi venöz trombozisi olanlarda %18; rastgele seçilmiş DVT'li hastalarda %6.2, sağlıklı kontrollerde %2.3 oranında bildirilmiştir. "A" alelini taşıyan bireylerde trombozun oluşma riski 2.8 kat daha fazla olarak hesaplanmıştır. Bu mutasyonun sıklığı, beyaz ırkta %2 oranında bulunurken, Japonya, Uzak doğu ve Afrika kökenlilerde çok nadir olarak görülmektedir. Türk populasyonunda bu mutasyonun sıklığı sağlıklı bireylerde %2.7; Kıbrıslı Türklerde %8.1 ve derin ven trombozu olanlarda %6.25 olarak belirlenmiştir. Bu mutasyonun faktör V Leiden (FV1691 G-A) ile birlikteliği nadirdir (%0, 076).

Bu güne kadar yapılan araştırmalar PT 20210 G-A değişiminin klinik bazda derin ve trombozu; serebral ven trombozu, oral kontraseptiflere bağlı trombüslerde, özellikle kırk yaş altı miyokard infarktüslerinde olmak üzere 50 yaş altı grupta mutlaka araştırılması gerekliliği ortaya koymuştur. Faktör V Leiden veya, Protein C veya Anti trombin III eksik ligi ile birlikte PT 20210 mutasyonu varsa, venöz trombus riski daha da artmaktadır.

HİPERHOMOSİSTEİNEMİ

Yapılan çalışmalarda kan homosistein düzeyi yüksek olan kişiler de bazı faktörlerin etkili olduğunu göstermiştir

Hiperhomocysteinaemi'ye etki eden faktörler:

1. Demografik faktörler: Yaş, Cins, Etnik Köken
2. Genetik: Methionine sentaz, methylenetetrahydrofolat redüktaz ve cystathionine synthase gibi metabolik enzimlerin düzeyleri ve gen değişimleri
3. Akkiz:
B vitamin eksikliği (folik asit, B12, B6) Bazı hastalıklar
Böbrek fonksion bozukluğu
kalp ve diğer organ transplantları
hipotiroidizm
4. Yaşam koşulları:
sigara içimi
aşırı alkol
hareketsizlik
kahve (aşırı)

METİLENTETRAHİDROFOLATDEHİDROGENAZ

5'-10'-methylenetetrahydrofolate'dan 5-10-methenyltetrahydrofolate'a değişimde rol almaktadır.

14q24'de yer alan bu gende bulunan iki mutasyonun plazma homosistein düzeyini etkilediği belirlenmiştir.

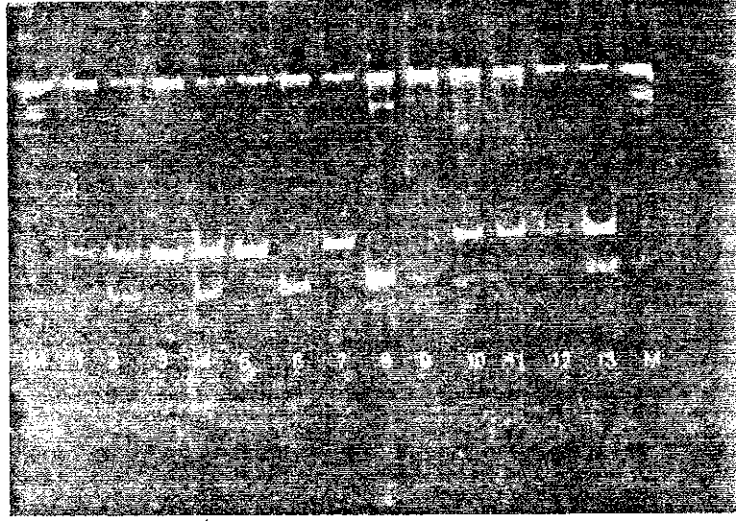
MTHFR homosisteine remetilasyonu azaltır, bu da pürin ve timidin sentezini sağlayarak karbonun açıkta kalmasına yol açar. MTHFR 677 C-T değişimi son yıllarda en çok kullanılan RFLP'dir

Allele sıklığı Avrupalılarda % 24-40; Japonlarda % 26-37; Afrika kökenlilerde % 11 olarak belirlenmiştir. Türk populasyonunda elde ettiğimiz sonuçlar Tablo'da verilmiştir.

MTHFR genindeki (677 C-T, 1298 C-A; 1317 C-T değişimleri ile) homosistein metabolizmasında rolü olan metilentetrahydrofolatdehidrogenaz (1958 A-G); methionine sentaz (2756 A G) ve Cystathionine--sentaz Ex 8 68 bp ins'in thromboz üzerine etkileri çalışılmıştır.

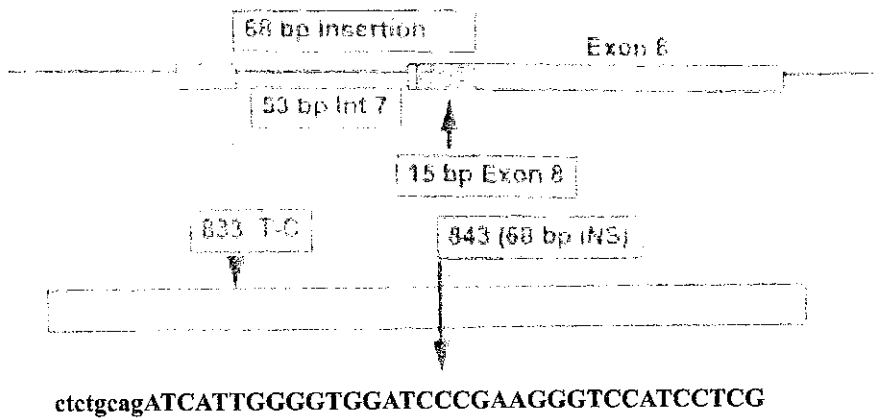
MTHFR 1298 AC

MTHFR geni Ex7 1298 AC değişimi; 677 C-T'den sonra 2. sırada sık olarak bulunan bir mutasyondur. Glutamate-alanine dönüşür. Bu mutasyonda MTHFR enzim aktivitesini azaltır. NTD oluşumunda rolü olduğu öne sürölmüştür. S-adenosylmethionine bağlanarak enzim regölasyonuna etki edebilir. "C" sıklığı 0.33 olarak belirlenmiştir.



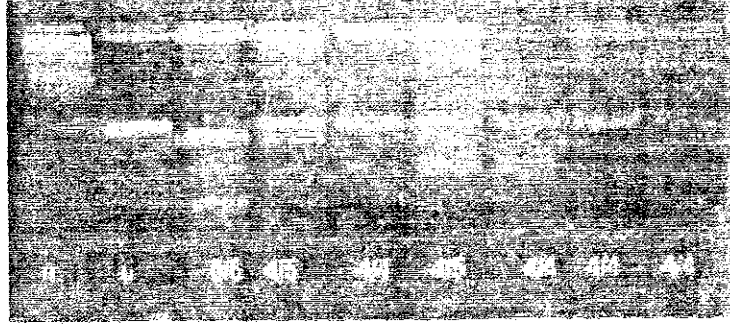
CYSTATHİONİNE SYNTHASE GENİ

CBS geninde tanımlanan mutasyonlardan birisi olan 68 bp'lik insersiyon, sağlıklı ABD popölasyonunda %11,7 (9/77) gibi bir oranda saptanmıştır. Ancak bu mutasyonun olması ile hiperhomosisteinemi arasında bir ilişki belirlenememiştir. Bu mutasyonun olması halinde bile mRNA normal büyüklöktedir. Bu mutasyon, yeni bir "alternate splicing site" oluşturmaktadır.



PAI-1 PROMOTER POLİMORFİZMİ (4G/5G)

-675'de "G" insertion/deletion değişimi ile thrombosis arasında yakın bir ilişki olduğu gösterilmiştir. 4G polimorfizminin pulmoner embolizm ve arteriel thrombosisde Protein S eksikliği de varsa bir risk faktörü olarak göze çarpmaktadır.



Kaynaklar:

1. Ulutin, T., Sönmez, H., Üçışık, N., Süer, S., Bayram, Ç., Kökoğlu, E., Sultuybek, G. : The molecular markers of hemostatic activation on coronary artery disease. Thrombosis Research 88; 329-332, 1997.
2. Arısal, Ö., Deviren, A., Fenerci, E., Hacıhanefioğlu, S., Ulutin, T., Erkmén, S., Buyru, N. : Polymorphism analysis in the COL1A1 gene of patients with thalassemia major and intermedia Haematologica Vol: 32, No.4 460-475, 2002
3. Buyru, N., Altınışık, J., Somay, G., Ulutin, T. : Factor V Leiden mutation in cerebrovascular disease. Clin Appl Thrombosis/Hemostasis 11(2), 2005.
4. Ulutin, T., Altınışık, J., Somay, G., Buyru, N. : Prothrombin G 20210A mutation in patients with cerebrovascular disease. Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis 33/52/03, 2004
5. Buyru, N., Altınışık, J., Gürel, Ç.B., Ulutin, T. : PCR RFLP defection of PAI-2 variants in myocardial infarction Clin . Appl. Thromb. Hemost 9(4): 333-336, 2003
6. Akar N, Akar, E, Mısıroğlu M, Avcu F, Yalçın A, Cin S. Search for Genetic Factors Favoring Thrombosis in Turkish Population. Thrombosis Research 1998: 92: 79-82
7. Akar N, Akar E, Deda G, Sipahi T, Ezer Ü. Cerebral infarct and FV1691 G-A and PT20210 G-A Pediatric Hematology and Oncology 1999: 16(6)
8. Akar N, Mısıroğlu M, Akar E et al : Prothrombin gene 20210 G-A mutation in the Turkish population. Am J Hemat, 58: 249, 1998
9. Akar N, Akar E, Deda G, Sipahi T. FV1691 G-A, PT20210 G-A and MTHFR 677 C-C-T in pediatric Cerebral Infarct Patients. J Pediatr Neurology 1999.
10. Akar N, Akar E, Dalgın G, Avcu F, Yalçın A, Sözüöz A, Cin S. Frequency of FV 1691 G-A in the Turkish Population. Thromb Haemost 1997: 78: 1527.
11. Gürgey A, Hiçsönmez G, Parlak H, Balta G, Çeliker A. Prothrombin Gene 20210 G-A mutation in Turkish Patients with Thrombosis. Am. J. Hematology 1998: 179.

**MOLEKÜLER SİTOGENETİK UYGULAMALARIN
KLİNİKTEKİ YERİ****CUMHUR GÜNDÜZ**

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Bornova İZMİR

cumhur@med.ege.edu.tr

Sitogenetik analiz kromozomal anomalilerin neden olduğu genetik hastalıkların tanısında ana elementtir ve bantlama tekniklerinin geliştirildiği 1970'lerden beri kullanılmaktadır. Bantlama rezolüsyonunun kromozomal anomalilerin tanımlanmasında yetersiz kalmasından dolayı klasik sitogenetikte bu ikilemi çözmek için yeni teknikler geliştirilmiştir. Bu yeni teknik Moleküler Sitogenetik adı altında toplanmaktadır. Sitogenetik ve moleküler tekniklerin bileşiminden oluşan bu yöntemler sitogenetik analizlerin rezolüsyonu artırmıştır. Moleküler sitogenetiğin temel metodu Flüoresan in situ Hibridizasyon (FISH)'dir. Metafaz ve interfazdaki kromozomun belli bölgelerinin spesifik değişimleri tanımlamaktadır. FISH tekniklerini ve onun modifikasyonları olan multicolor FISH (M-FISH, SKY, CCK), Primed In Situ Labelling (PRINS) ve Komparatif Genomik hibridizasyon (CGH), mikrolelesyon ve mikroduplikasyon sendromlarının tanısında, idiyopatik mental retardasyon sendromlarında subtelomerik düzenlenmelerinin saptanmasında, marker ve derivatif kromozomların tanımlanmasında, kromozom sendromlarının prenatal tanısında, kanserlerdeki gen yeniden düzenlenmelerin ve gen amplifikasyonlarının belirlenmesinde, preimplantasyon genetik tanı (PDG)'de embriyonik anöploidilerin saptanmasında kullanılmaktadır.

PREİMLANTASYON GENETİK TANİ UYGULAMALARI

MUHTEREMBAHÇE

GATA Tıbbi genetik AD, ANKARA

bahcem@gata.edu.tr

Preimplantasyon Genetik Tanı (PGT), yardımla üreme teknikleri uygulamaları ile eş zamanlı olarak erken embriyonik dönemde genetik hastalıkların tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. PGT uygulanacak hastalara kontrollü ovaryan stimülasyon uygulanmakta ve in vitro ortamda geliştirilen embriyolar fertilizasyon sonrası üçüncü günde biyopsi edilmektedirler. Elde edilen blastomerlere uygulanan genetik testler sonrasında normal embriyoların uterusu transferi gerçekleştirilmektedir. Embriyolardaki kromozomal anomaliler birinci ve ikinci polar cisimciklerin analizi ile de tespit edilebilmektedir. Her iki yöntemin birbirine avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Ancak bugün için pek çok merkez blastomer çalışmalarını tercih etmektedir.

Yardımla üreme teknikleri ile çocuk sahibi olmak isteyen çiftler arasında en önemli sorunlardan biri anne adayının yaşıdır. İleri anne yaşı ile azalan implantasyon oranları ve embriyolardaki sayısal kromozom anomalilerindeki artış birlikteliği dikkat çekmektedir. Bugün için ileri anne yaşı ve embriyo implantasyon başarısızlığı arasında artan anöploidi sıklığı bilinen tek faktördür. Yaş riski grubu dışında tekrarlayan YÜT denemeleri, tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü, ve ağır erkek infertilitesi olan hasta grupları da endikasyon grubu içinde görülmektedir. Diğer yandan translokasyon taşıyıcısı olan ailelerde de, PGT implantasyon oranlarını arttırması ve oluşan gebeliklerin dengesiz segregasyon ürünlerinden koruması açısından PGT tüm dünyada kabul görerek yaygın olarak kullanılmaktadır. Floresan in situ Hibridizasyon (FISH) tekniği yaşa bağlı anöploidilerin taranması, yapısal kromozomal düzensizliklerin segregasyon ürünlerinin tanımlanması ve cinsiyete bağlı geçiş gösteren hastalıklarda embriyoların cinsiyetinin belirlenmesi amacı ile etkin olarak kullanılmaktadır. Yöntemin sonuçları oldukça tatminkar olup IVF uygulamaları sürecinde genetik testler için ayrılabilen kısa sürelerde uygulanabilmektedir.

Tek gen hastalıklarında bugün için, alınan blastomerde hem hastalık ile ilgili mutasyon analizi hem de varolan hasta kardeşin HLA tiplendirmesine sahip embriyoların tanımlanması yapılabilmektedir. Doku uygunluğu saptanan embriyoların transferi ile gerçekleştirilen gebeliklerin doğumu sonrasında elde edilen fetal kök hücreler önceki hasta çocuğa transfer edilerek talassemi ve Fankoni anemisi gibi pek çok hastalığın tedavisine olanak sağlamaktadır. Ancak PGT uygulamasına başlamadan önce mutlaka ailedeki tek gen hastalığının mutasyon analizinin yapılmış olması ve özgün mutasyonun belirlenmiş olması gerekmektedir.

PGT' nin ilk klinik uygulaması X-e bağlı hastalık taşıyıcısı çiftlere uygulanan embriyonik cinsiyet tanısıdır (Handyside ve ark., 1990). Bu işlem, Y kromozomunun uzun kolundaki tekrar dizilerinin PCR amplifikasyonu ile yapılmıştır. Jel üzerinde Y kromozomuna özgün band olmaması durumunda embriyolar dişi olarak tanımlanmışlardır. HLA ile bağlantılı ilk PGT denemesi ise Fankoni Anemisi olan bir aile için 2000 yılında Verlinsky ve ark.ları tarafından uygulanmıştır ve işlemler zinciri hasta olan birinci çocukta hematolojik değerlerin normale döndürülmesi ile sonuçlanmıştır.

Rutin uygulamalar sürerken diğer yandan da kullanılan yöntemlerin geliştirilmesi ile daha kısa zamanda daha çok kromozom ile ilgili bilgi edinilebilmesi için çalışmalar sürdürülmektedir. Özellikle CGH ve mikroyarray uygulamaları hız kazanmıştır ancak bunların henüz FISH yönteminin yerini alabilecek kadar kısa sürede ve güvenilirlikte olmadığı bildirilmektedir. Diğer yandan tek hücre DNA sının amplifikasyonunun daha etkin olarak gerçekleştirilebilmesi ve buna bağlı hataların önlenmesi için de çalışmalar sürmekte özellikle Multiple Displacement Amplification (MDA) yöntemi üzerinde çalışmalar yoğunlaşmaktadır.

Yardımla üreme teknikleri ile ilgili pek çok yöntemde olduğu gibi preimplantasyon genetik tanı ve özellikle de HLA-bağılantılı PGT uygulamalarında yoğun etik tartışmalar halen sürmektedir. Preimplantasyon genetik tanı uygulamalarında tıbbi etik değerler ve kurallar her zaman temel kurallarından biri olarak hassasiyetle uygulanmalıdır. İnsan embriyolarının tıbbi kabul edilebilir gerekçeler dışında (özellikle cinsiyet tayini gibi) yaşam şanslarının ortadan kaldırılmasının önüne geçecek önlemler alınmalıdır.

Kaynaklar

- Navot D, Drews MR, Bergh PA, et al. Age related decline in female fertility is not due to diminished capacity of the uterus to sustain embryo implantation. *Fertil Steril* 1994; 61:97-101.
- Munné S, Alikani M, Tomkin G, et al. Embryo morphology, developmental rates and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril* 1995; 64:382-391.
- Márquez C, Sandalinas M, Bahçe M, et al. Chromosome abnormalities in 1255 cleavage-stage human embryos. *Reproductive Biomedicine Online* 2000; 1:17-27.
- Munné S, Magli C, Bahce M, et al. Preimplantation diagnosis of the aneuploidies most commonly found in spontaneous abortions and live births: XY, 13, 14, 15, 16, 18, 21, 22. *Prenat Diagn* 1998; 18:1459-1466.
- Delhanty JDA, Griffin DK, Handyside AH, et al. Detection of aneuploidy and chromosomal mosaicism in human embryos during preimplantation sex determination by fluorescent in situ hybridisation (FISH). *Hum Molec Genet* 1993; 2:1183-1185.
- Verlinsky Y, Cieslik J, Ivanhnenko V, et al. Prepregnancy genetic testing for common age-related aneuploidies by polar body analysis. *Genet Testing* 1998; 1:231-235.
- Gianaroli L, Magli C, Ferraretti AP, Munné S. Preimplantation diagnosis for aneuploidies in patients undergoing in vitro fertilization with a poor prognosis: identification of the categories for which it should be proposed. *Fertil Steril* 1999; 72:837-844.
- Munné S, Magli C, Cohen J, et al. Positive outcome after preimplantation diagnosis of aneuploidy in human embryos. *Hum Reprod* 1999; 14:2192-2199.
- Vidal F, Jimenez C, Rubio C, et al. FISH preimplantation diagnosis of chromosome aneuploidy in recurrent pregnancy wastage. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15:310-313.
- Kahraman S, Bahce M, Samli H, et al. Healthy births and ongoing pregnancies obtained by preimplantation genetic diagnosis in patients with advanced maternal age and recurrent implantation failure. *Human Reprod* 2000; 15:2003-2007.
- Munné S, Sandalinas M, Escudero T, et al. Outcome of preimplantation genetic diagnosis of translocations. *Fertil Steril* 2000; 73:1209-1218.
- Sherlock J, Cirigliano V, Petrou M, et al. Assessment of diagnostic quantitative fluorescent multiplex polymerase chain reaction assays performed on single cells. *Ann Hum Genet* 1998; 62:9-23.
- Blake D, Tan SL, Ao A. Assessment of multiplex fluorescent PCR for screening single cells for trisomy 21 and single gene defects. *Mol Hum Reprod* 1999; 5:1166-1175.
- Wells D, Sherlock JK, Handyside AH, Delhanty JDA. Detailed chromosomal and molecular genetic analysis of single cells by whole genome amplification and comparative genomic hybridisation. *Nucleic Acids Res* 1999; 27:1214-1218.
- Joyce C, Harper, Joy A, Delhanty and Alan Handyside: Preimplantation Genetic Diagnosis 2001. John Wiley & Sons, Ltd.
- Staessen C, Platteau P, Van Assche E., et al. Comparison of blastocyst transfer with or without preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in couples with advanced maternal age: a prospective randomized controlled trial. *Hum Reprod*. Vol 19 No: 12 pp. 2849-2858, 2004.
- Hellani A, Coskun S, Tbakhi A, Al-Hassan S. Clinical application of multiple displacement amplification in preimplantation genetic diagnosis. *Reprod Biomed Online*. 2005 Mar;10(3):376-80.

TÜMÖR KEMOSENSİTİVİTE TESTİ (ONKOGRAM)

ENGİN ULUKAYA

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya A.D. 16059, Görükle, BURSA

eulukaya@uludag.edu.tr

Her kanser hastası moleküler düzeyde bir diğerinden farklıdır. Yani tanısı (örneğin, akciğer kanseri) ve hatta histolojik tipi de (örneğin, küçük hücreli akciğer kanseri) aynı olmasına rağmen hastadan hastaya değişebilen moleküler farklılıklar vardır. Hastaya özgü bu karakteristik yapı o kişinin tedaviye olan yanıtını da belirlemektedir. Günümüzde kanser tedavisindeki başarının birçok yeni kanser ilaçlarının kullanıma girmesine rağmen aynı paralelde artmamasının nedenlerinden biri de bu farklı yanıt olasılığıdır. Çünkü günümüzde kullanılan tedavi protokolleri aynı tanıyı almış her hastada aynen uygulanmaktadır. Böylece "farklı hastalıklara aynı tedaviyi uygulamak gibi" bir durumla karşı karşıya kalınmaktadır.

Bu dezavantajı kısmen gidermek artık mümkündür. Hastanın tümörlü dokusundan izole edilen hücrelerin laboratuvar ortamında tümör kemosensitivite testi (onkogram) uygulayarak çeşitli kanser ilaçlarına olan hassasiyeti/direnci test edilebilir. Sonuç olarak, hastanın hangi ilaçlara/ilaç kombinasyonlarına kemosensitif veya kemorezistan olduğu belirlenebilir. Böylece, tedaviyi düzenleyen hekim onkogramın da yardımıyla daha gerçekçi bir tedavi planı uygulama şansına kavuşabilir. Bu şekilde, daha rasyonel tedavilerin seçimine olanak tanıyan laboratuvar yönteminin genel adı ONKOGRAM'dır.

Onkogram kısaca, hastadan alınan dokudan kanser hücrelerini izole ettikten sonra bu hücreleri ilaçlarla muamele ederek hangi ilacın etkili hangisinin etkisiz olduğunu anlamaya yönelik bir laboratuvar yöntemidir. Onkogram yapmak amacıyla kullanılabilecek birçok yöntem bulunmaktadır. Bunların içinde faz III çalışmalara kadar ulaşabilmiş ve kendisinden önceki onkogram yöntemlerinin dezavantajlarını büyük ölçüde giderebilmiş ama diğerlerine göre daha pahalı bir yöntem olan ATP-TCA ve solid tümörlerde aynı başarıyı yakalayamazken hematolojik tümörlerde sık olarak kullanıldığı görülen MTT yöntemi şu anda dünyada en sıklıkla kullanılan yöntemler arasındadır.

Onkogramın tedaviyi düzenleyen hekimin ilaç seçimine yardımcı bir laboratuvar yöntemi olarak görülmesi gerekmektedir. Onkogramın bu bağlamda en önemli faydası, tedavi protokolü düzenlenirken rezistans saptanan ilaçlar önceden belirlenmiş olacağından, hekimin bu ilaçları gereksiz yere uygulamaktan kaçınmasına yardımcı olmasıdır. Böylece, bu ilaçların yaratabileceği maliyetten ve toksisiteden hastayı korumak mümkün olabilecektir. Onkogram sonucuna göre etkisiz (dirençli) olduğu rapor edilen ilaçlara hastanın da yanıt vermeme (tedaviye direnç) olasılığı (negatif prediktif değer) %90-99 gibi çok yüksek bir değerdedir. Bunun hekime ilaç seçiminde ne denli büyük bir fayda sağlayacağı açıktır. Onkogram, henüz klasik tedavi protokolü belirlenmemiş tümörlerin tedavisinde de ilaç seçimine olanak sağlamaktadır. Onkogramın potansiyel faydalarını artırmak mümkündür. Primeri (kaynağı) bilinmeyen tümörlerde tedavi seçeneği sağlaması, rekürrens (nüks eden) olgularda tedavi seçeneği sağlaması, henüz tedavi protokolü bilinmeyen nadir tümörlerde tedavi seçeneği sağlaması, hastaya uzun dönemde ilaç giderlerinde azalma sağlaması diğer faydalarına örnek olarak verilebilir. Onkogramın malign hastalıkların tedavisinde faydalanılan bir yöntem olarak kullanılmaya başlanması, klasik (standart) tedaviler gibi başarı şansı hastadan hastaya değişen (bazen de toksik olduğundan ölüme neden olan) tedaviler yerine hastaya spesifik tedavilerin (tailored-chemotherapy) kullanıma girmesine olanak sağlayacağı düşünülmektedir. Bir onkogram yöntemi olan ATP-TCA metodu, faz III klinik çalışmalara kadar ulaşmış bir yöntemdir. Rekürren over kanserlerinde ATP-TCA sonucuna göre tedavi edilen hastalarda tedaviye yanıt hızının ve hastalıksız yaşam süresinin arttığı gözlenmiştir (Prof. Dr. Ian Cree, henüz yayınlanmamış sonuçlar).

MOLEKÜLER GENETİK TANI

HASAN BAĞCI

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD Başkanı, SAMSUN

hasanb@omu.edu.tr

Moleküler Genetik Tanı başlığı altında sunulacak olan bu konuşmamda esas olarak mutasyon tarama teknikleri tanıtılacaktır. Bunun yanında, son üç yıldır laboratuvarımızda yürütülen Ailesel Akdeniz Ateşi hastalığında genotip-fenotip ilişkilerini çözümlemeye yönelik moleküler genetik tanı testleri de bu panel konuşması bağlamında bir örnek olarak sunulacaktır.

Bu sunumda değerlendirilecek olan mutasyonlar nokta mutasyonları ile kısa (<50 baz) insersiyon ve delesyonlar olup büyük insersiyon, delesyonlar ve duplikasyonlar konu harici bırakılmıştır.

Mutasyon tarama işi, mutasyonun promotor, 5'-UTR (Transle edilmeyen 5' bölgesi), ekzonik, intronik, 3'-UTR gibi bulunduğu bölgeye; mono-, di-, yada tri-nükleotid benzeri insersiyon ve delesyon tiplerine; A:T--->G:C ve A:T--->T:A gibi transisyon ve transversiyon tiplerine; epigenetik mi (metilasyona bağlı) yoksa genetik mi olduğuna; DNA ve RNA düzeyinde oluşuna yada translasyona etkisine ve amplifikasyon yada gen dozuna bağlı olup-olmadığına göre değişik yaklaşımlar gerektirmektedir.

Diğer taraftan, mutasyon tarama teknikleri moleküler genetik tanıyı yapan ekibin sahip olduğu cihaz yada sistemlere ve o zamana kadar kurup, optimize ettikleri mutasyon tarama tekniklerine bağlı olarak ve nihayet yürütülen çalışmanın amacına göre (mutasyon tarama işinin bir kişi yada aileye yönelik oluşu ile toplum taraması yada polimorfizm çalışması oluşuna göre) çok çeşitlilik göstermektedir.

Çok çeşitlilik gösteren bu tekniklerden enzimatik ve kimyasal kırma metodlarından bazıları örnek olarak aşağıda sunulmuştur.

Enzimatik ve Kimyasal Kırma Metodları

Bu metodlardan ilk beklentimiz yabancıl ve mutant DNA dizilerini ayırt edebilmeleridir. Metodların çoğunda bu fark test dizisinin bir referans dizisine hibridleştirilmesi yoluyla yapılır.

“Cleavase Fragment Length” sisteminde tek zincirli alternatif DNA molekülleri endonükleotik kırılmalarla tanımlanırlar. Dizideki herhangi bir değişiklik yanlış bir baz çiftinin oluşmasına ve bunun sonucu olarak ta çift sarmalın lokalize olarak bozulmasına neden olacaktır. Kırma teknikleri bu yapısal bozukluklardan yararlanarak yanlış eşleşen nükleotid çiftinin olduğu yerde DNA'yı kırarak yada modifiye ederek sonuç almamızı sağlar.

Heterodupleks oluşturma yanlış eşleşmiş baz çiftlerini kırma metodlarının en kiritik aşamasıdır ve genelde test yada referans DNA'nın fazlalığında yapılır. Azınlık olan zincir işaretlidir. Bu koşullarda yapılan hibridizasyonda işaretli zincirlerin çoğu hibritleşeceğinden hemen hemen tüm yanlış eşleşecek baz çiftleri heterodupleks oluşturur. Eşit miktarlarda kullanıldıklarında ise atasal zincirlerin yeniden buluşmaları nedeniyle hibritleşen zincirlerin yarısı homodupleksler oluşturacaktır. Bu koşulda, referans örnekler kullanılmadan homozigot yada hemizigot mutasyonlar tanımlanamayacaktır. Diploid canlı DNA'larının kullanımında ise, referans materyal kullanmadan heterozigot mutasyonların tanınması kolaydır ve bu nedenle kırma metodları yaygın olarak kullanılır. Hemizigotluk, homozigotluk ve PCR'da bir allelin “dropout” yapması (çoğalmasının az yada hiç olmaması) bertaraf edilebildiği hallerde bu metod için kalıp DNA elde etmek ekonomik ve hızlıdır.

Metodlar

“Cleavase“ Metodu

Bu metod, 'cleavase' adı verilen bir enzimin, tek zincirli DNA'nın hızlı bir şekilde soğutulması yoluyla oluşturduğu kök-ilmik yapısını kesmesi esasına dayanır. Enzimin kırma ürünlerinin “Denature-eden Jel Elektorezi” yada “Kapiller Elektroforez” ile tanımı yapılarak sonuç alınır. SSCP ile benzerliği vardır. SSCP bu metoda göre daha etkindir.

Ribonükleaz Metodu

Ribonükleaz A DNA:RNA hibritlerini kırar. Duyarlılığı kırılan zincir başına yaklaşık % 60'dır. Bu metodun radyoizotop gerektirmeyen farklı bir çeşiti de (Non-İzotopik RNaz Kırma Deneyi :Non-Isotopic RNase Cleavage Assay, NIRCA) de uygulanmaktadır. Bu deneyde faj RNA polimeraz promotorları bulunduran PCR primerleri kullanılarak bol miktarda RNA elde edilir. 1 Kb'a kadar olan fragmanlar agaroz jel üzerinde analiz edilebilir. Prensip olarak, her iki zincirin de yanlış eşleşmiş baz çiftleri için taranması yoluyla bu metodun duyarlılığı % 80-90'a çıkarılabilir. RNaz 1 ve RNaz T1 gibi RNaz enzimleri kullanılarak metodun duyarlılığı artırılabilir. Büyük fragmanların hızlı ve kolay taranmasına olanak verdiğinden bu metod epey kabul görmektedir. Dezavantajı ise faj polimeraz promotorları içeren primerlerin kullanılması gereği ve duyarlılığının % 100 olmamasıdır. Bununla beraber “protein truncation test” inde 1 Kb'lık DNA'ların çoğaltılmasında sıklıkla faj promotorları kullanıldığından, RNaz kırma metodu için kalıp DNA elde etmede bu tür primerlerin kullanılması ekonomik olabilir.

DNA endonükleazları

T4 endonükleaz VII (T4E7) ve T7E1 enzimleri “Holiday Junction” ları gibi norm dışı DNA yapılarına homodimerler olarak bağlanır ve kırarlar. Bu nedenle bazan “resolvases” olarak da adlandırılırlar. Bu enzimlerin yanlış eşleşmiş baz çiftleri içeren heterodupleksleri tercihen kırıdığı görülmüştür.

MutY ve timin glikozilaz

G:A baz çiftleri içeren bölgelerde etkilidir ve A içeren zincirin kırılmasını sağlar. MutY benzeri fakat G:T ve G:U çiftlerini tanıyan proteinler de tanımlanmıştır. Bu teknikle mutant DNA, mutant ve yabancı DNA karışımındaki mutant DNA oranı % 1-2 bile olsa, başarıyla tanımlanabilmektedir

BESS (Base Excision Sequence Scanning)

Bu metod sınırlı miktarda U (urasil) içeren optimize edilmiş tek bir PCR reaksiyonu ile hedef bölgenin çoğaltılması ile bunu takip eden iki kesip-çıkarma reaksiyonu içerir. İki çeşiti vardır: BESS T-Scan ve BESS G-Scan. BESS T-Scan metodunda, E. coli endonükleaz IV ile birlikte urasil N-glikozilaz urasili uzaklaştırır ve DNA zincirini urasilin bulunduğu noktada kırar. Ortalama her bir PCR ürünü içine bir U yerleştirilir ve sonuçta ürün bir yerden kesilmeye çalışılır. Kesim ürünleri normal dizileme jellerinde okunarak dizideki T nükleotidlerinin yerleri belirlenir.

Urasil glikozilaz ve ışıkla aktive olan G modifiye edici bir kimyasalın kullanıldığı BESS G-Scan metodunda ise G bazlarının kesilmesi sonucu G nükleotidlerinin yerleri belirlenir. Her iki yaklaşımın kullanılması durumunda ise nokta mutasyonlarının % 100'ünü tanımlayabilmek olasıdır.

Yanlış Eşleşmiş Baz Çiftlerinin Kimyasal Olarak Kırılması

Bu metod Maxam-Gilbert DNA dizileme metodunun bir modifikasyonu olarak geliştirilmiştir. Yanlış eşleşen T'ler osmiyum tetroksitle (yada potasyum permanganat ve tetraetil ammonyum asetat) modifiye edilmektedir. Yanlış eşleşen sitozinler ise hidrosilaminle modifiye edilmektedir. Modifiye olan bazlar daha sonra yüksek ısıda piperidinle kırılmaktadır. Bu metodun duyarlılığı ve özgüllüğü kullanılan diğer kırma (sindirim) metodlarına göre oldukça yüksektir.

Özet

Çok yüksek kapasiteli tarama olanağı sunmalarına karşın, çip yada kapiler sistemlerle dizileme yaklaşımlarının büyük yatırımlar gerektirmesi; buna karşın orta kapasiteli tarama olanağı sunan kimyasal kırma metodları düşük mali yatırım gerektirmeleri ve kullanım esnekliği sağlamaları nedeniyle hala tercih edilen metodlardır. Büyük olasılıkla gelecekte de mutasyon tarama çalışmalarında çeşitli metodların kullanımı devam edecektir. Yakın gelecekte SSCP, düşük maliyet; kırma ve dizileme, yüksek duyarlılık; ve çip teknolojisi, yüksek kapasite nedeniyle kullanımları devam eden metodlar olacaktır.

Yararlanılan Kaynaklar

1. Rossiter BF, Caskey CT. Molecular scanning methods of mutation detection. *Journal of Biological Chemistry* 1990;265:12753-6.
2. Cotton RGH. Current methods of mutation detection. *Mutation Research* 1993;285:125-44.
3. Marshall DJ, Heisler LH, Lyamichev V, Murvine C, Olive DM, Ehrlich GD, Neri BP, deArruda M. Determination of hepatitis C virus genotypes in the United States by Cleavase Fragment Length Polymorphism analysis. *Journal of Clinical Microbiology* 1997;35:3156-62.
4. Andersen PS, Larsen LA, Kanters JK, Havndrupp O, Bundgaard H, Brandt NJ, Vuust J, Christiansen M. Mutation detection by cleavase in combination with capillary electrophoresis analysis: Application to mutations causing hypertrophic cardiomyopathy and long-QT syndrome. *Molecular Diagnosis* 1998;3:105-11.
5. Markoff A, Sornbroen H, Bogdanova N, Preisler-Adams S, Ganey V, Dworniczak B, Horst J. Comparison of conformation-sensitive gel electrophoresis and single-strand conformation polymorphism analysis for detection of mutations in the BRCA1 gene using optimized conformation analysis protocols. *European Journal of Human Genetics* 1998;6:145-50.
6. Myers RM, Larin Z, Maniatis T. Detection Of Single Base Substitutions By Ribonuclease Cleavage At Mismatches In RNA-DNA Duplexes. *Science* 1985;230:1242-6.
7. Grange DK, Gottesman GS, Lewis MB, Marini JC. Detection Of Point Mutations In Type-I Collagen By RNase Digestion Of RNA-RNA Hybrids. *Nucleic Acids Research* 1990;18:4227-36.
8. Goldrick MM, Kimball GR, Liu Q, Martin LA, Sommer SS, Tseng JYH. Nirca(Tm) - A Rapid Robust Method For Screening For Unknown Point Mutations. *Biotechniques* 1996;21:106-12.
9. Gibbons RJ, Bachoo S, Picketts DJ, Higgs DR. Identification of mutations in ATRX by RNase mismatch cleavage. *American Journal of Human Genetics* 1997;61:1955-.
10. Pohler JG, Giraudpanis ME, Lilley DJ. T4 endonuclease VII selects and alters the structure of the four-way DNA junction; Binding of a resolution-defective mutant enzyme. *Journal of Molecular Biology* 1996;260:678-96.
11. Youil R, Kemper BW, Cotton RGH. Screening for mutations by enzyme mismatch cleavage with T4 Endonuclease-7. *Proc Natl Acad Sci (US)* 1995;92:87-91.
12. Mashal RD, Koontz J, Sklar J. Detection of mutations by cleavage of DNA heteroduplexes with bacteriophage resolvases. *Nature Genetics* 1995;9:177-83.
13. Youil R, Kemper B, Cotton RGH. Detection of 81 of 81 known mouse beta-globin promoter mutations with T4 Endonuclease-VII - The EMC Method. *Genomics* 1996;32:431-5.
14. Bonfield JK, Rada C, Staden R. Automated detection of point mutations using fluorescent sequence trace subtraction. *Nucleic Acids Research* 1998;26:3404-9.
15. Oleykowski CA, Bronson-Mullins CR, Godwin AK, Yeung AT. Mutation detection using a novel plant endonuclease. *Nucleic Acids Research* 1988;16:4597-602.
16. Lahue RS, Au KG, Modrich P. DNA mismatch correction in a defined system. *Science* 1989;245:160-4.
17. Jiricny J, Su SS, Wood SG, Modrich P. Mismatch-containing oligonucleotide duplexes bound by the escherichia-coli muts-encoded protein. *Nucleic Acids Research* 1988;16:7843-53.
18. Modrich P. Strand-specific mismatch repair in mammalian cells. *Journal of Biological Chemistry* 1997;272:24727-30.
19. Fishel R, Wilson T. MutS homologs in mammalian cells. *Current Opinion in Genetics & Development* 1997;7:105-13.
20. Ellis LA, Taylor GR, Banks R, Baumberg S. MutS binding protects heteroduplex DNA from exonuclease digestion in

-
- vitro - a simple method for detecting mutations. *Nucleic Acids Research* 1994;22:2710-1.
21. Smith J, Modrich P. Mutation detection with MutH, MutL, and MutS mismatch repair proteins. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* 1996;93:4374-9.
 22. Parsons BL, Heflich RH. Evaluation of MutS as a tool for direct measurement of point mutations in genomic DNA. *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 1997;374:277-85.
 23. Smith J, Modrich P. Removal of polymerase-produced mutant sequences from PCR products. *Proc Natl Acad Sci (US)* 1997;94:6847-50.
 24. Neddermann P, Gallinari P, Lettieri T, Schmid D, Truong O, Hsuan JJ, Wiebauer K, Jiricny J. Cloning and expression of human G/T mismatch-specific thymine-DNA glycosylase. *Journal of Biological Chemistry* 1996;271:12767-74.
 25. Lu AL, Hsu IC. Detection of single DNA-base mutations with mismatch repair enzymes. *Genomics* 1992;14:249-55.
 26. Hsu IC, Yang QP, Kahng MW, Xu JF. Detection of DNA point mutations with DNA mismatch repair enzymes. *Carcinogenesis* 1994;15:1657-62.
 27. Hawkins GA, Hoffman LM. Accurate and efficient mutation detection and localization using base excision sequence scanning (BESS). *American Journal of Human Genetics* 1997;61:1279.
 28. Cotton RGH, Rodrigues NR, Campbell RD. Reactivity of cytosine and thymine in single-base-pair mismatches with hydroxylamine and osmium-tetroxide and its application to the study of mutations. *Proc Natl Acad Sci (US)* 1988;85:4397-401.
 29. Roberts E, Deeble VJ, Woods CG, Taylor GR. Potassium permanganate and tetraethylammonium chloride are a safe and effective substitute for osmium tetroxide in solid-phase fluorescent chemical cleavage of mismatch. *Nucleic Acids Research* 1997;25:3377-8.
 30. Rowley G, Saad S, Gianelli F, Green PM. Ultrarapid mutation detection by multiplex, solid-phase chemical cleavage. *Genomics* 1995;30:574-82.
 31. Deeble VJ, Roberts E, Robinson MD, Woods CG, Bishop DT, Taylor GR. Comparison of Enzyme Mismatch Cleavage and Chemical Cleavage of Mismatch on a Defined Set of Heteroduplexes. *Genetic Testing* 1998 in press
 32. *Laboratory Methods for the Detection of Mutations and Polymorphisms in DNA* CRC Press 1997 Ed GR Taylor

HÜCRE KÜLTÜRÜ MODELİNDE ANTİANJİJENİK UYGULAMALAR

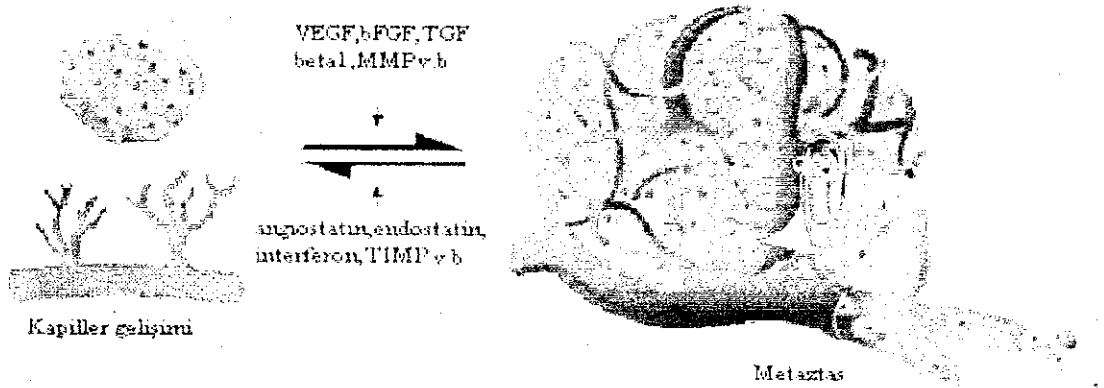
BERRİN ERDAĞ

TÜBİTAK Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü, GEBZE

berrin@rigeb.gov.tr

Anjiyenez, var olan kan damarlarından yeni kapiller damar oluşumu şeklinde tanımlanmaktadır. Sağlıklı yaşamda, yara iyileşmesi, embriyogenez, menstrüel siklus vb. durumlarda normal bir mekanizma olan anjiyenez, kollajen doku hastalıkları (romatoid artrit vb.), retinopatiler, psöriasis ve kanser gibi hastalıklarda da rol almaktadır(1,2). Tümörler kendi kan akımlarını oluşturmak ve 0.2-2.0mm ötesinde büyümek için damarlanmaya ihtiyaç duyarlar. Anjiyenez yeni kan damarlarının gelişmesi olarak anlamı taşımasına rağmen günümüzde, daha önce var olan damarlardan tıpkı bir filiz gibi kanser hücrelerine doğru yeni damarların gelişimini açıklamak için kullanılır. Anjiyenez, büyük oranda tümör hücreleri tarafından salgılanan anjiyogenik faktörlerin damar endotel hücrelerini uyarması ile başlar. Uyarılan endotel hücresi ekstrasellüler matriksi yıkan komşu endotel hücrelerini çoğalmaya ve göçe zorlayan ikincil ana maddeler salgılar. Endotelin çoğalması ve göçü sonucunda, eski damardan tümöre doğru tüp şeklinde yeni kapiller oluşur. Bir kere olgunlaşmamış yeni damarlar uzadığında tam bir vasküler ağ yapısı için vasküler ilmeklerin oluşumu ve dallanması ile birlikte lümen oluşumu başlar. Kapiller gelişimin son evresinde bazal membran komponentleriyle kuşatılmış kapillerlerden oluşan bir yatak ortaya çıkar. Tümör hızla büyür ve tümör hücrelerinin damarlara invaze olarak uzak organlara göç etmesi mümkün olur(Şekil1)(3).

Şekil1: Tümör Angiogenesis (kaynak: www.medscape.com/viewarticle/461038_42)



DENEY HAYVANLARININ KULLANIMINDA ETİK KURALLAR

TUNCAYALTUĞ

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı, İSTANBUL

Altug99@istanbul.edu.tr

Deney hayvanlarıyla ilk araştırmaların yapıldığını M.Ö. 400'lerde yayımlanan Corpus Hippocraticum adlı kitapta görüyoruz. Daha sonra Galen ve birçok araştırmacı deney hayvanlarını çeşitli amaçlarla kullanmıştır. Fakat çalışmaların belirli bir sisteme oturması ve araştırmalar için canlı hayvan kullanımının mutlaka gerektiği 1865 yılında Claude BERNARD tarafından ifade edilmiştir. Fakat anestetik maddelerin bulunmadığı dönemden gelen alışkanlıkla başta eter olmak üzere anestetik maddeler keşfedildiği halde, halen deney sırasında anestesiz uygulamalar yapılıyordu. Buda toplumun dikkatini çekmeye başladı. Toplumda canlı kesime (vivisection) karşı hareketler örgütlendi. 1895 yılında Londra'da "The Victoria Street Society" kuruldu, bunu aynı yıl kurulan "Frances Power Cobbe" izledi. Kurulan derneklerin çalışması sonucunda İngiltere'de 1876 yılında "Royal Commision" kuruldu ve "Hayvanlara İnsancıl Davranma Yasası" adlı ilk etik yasayı yaptı. Bu yasa ile "canlı hayvanlar üzerinde yapılacak denemelerin ancak eyalet sekreterliğinin kontrolü ile, anestezi altında ve yalnızca yararlı bilim için yapılabileceği" karara bağlanmıştır. Bu yasadan sonraki çalışmalarda ortaya çıkan gelişmelere göre yeni alternatifler geliştirilmiştir. Öncelikle kurulan dernek sayısı artmıştır. Önemli dernekleri şöyle sıralayabiliriz:

- 1875'de "Society for the Protection of Animal from Vivisection"
- 1879'da "German League Against Scientific Animal Torture"
- 1882'de "Societe Contre la Vivisection"
- 1883'de "American Antivivisection Society"

Bu hareketlerden sonra özellikle gelişmiş ülkelerde birçok yasa çıkarılmış ve çeşitli

uluslar arası antlaşmalar imzalanmıştır. 1959 yılında yayımlanan "The Principles of Human Experimental Technique" bugün hemen hemen tüm yasaların ortak temelini oluşturan 3 R kuralını ortaya koymuştur. 3 R kuralı halen gerek hayvan refahı savunucuları ve gerekse bilim adamlarınca kabul görmekte ve günümüz bioetik kurallarının temelini oluşturmaktadır.

3 R kuralı, R harfiyle başlayan üç İngilizce kelimeden oluşmaktadır. Bunlar aşağıda sıralanmıştır:

1. REDUCTION
2. REPLACEMENT
3. REFINEMENT

Şimdi sırasıyla bunları ele alalım ve bunların birer birer ne ifade ettiklerini inceleyelim.

1. REDUCTION

Reduction mümkün olduğu kadar az hayvan kullanarak en iyi sonuca varmayı öneren maddedir. Fakat burada az hayvan kullanma önerisini asla deneyin gerektirdiği istatistiksel sayıyı kısarık yapma algılanmamalıdır. Reduction'da boş yere hayvan kayıpları engellenerek az hayvan kullanılması ilke edinilmiştir. Boş yere hayvan kaybının nedenleri arasında ilk sırayı, araştırmayı planlarken ve uygularken iyi bir literatür taramanın yapılmaması olması yer almaktadır. Hele günümüzde bu tip taramaların bilgisayar ortamında bu kadar kolay yapılma olanağı varken literatür taramadan çalışmaya

başlanması çok üzücüdür. Araştırmacı deney bitip de çalışma yazma aşamasında iken literatür tarayınca, seçtiği konunun çoktan klasik bilgi haline geldiğini görüyor ve o çalışma doğal olarak yayımlanmıyor. Bu durumda çalışmada kullandığı hayvanların tümü boşa gitmiş oluyor.

Reduction'da boş yere hayvan harcama nedenlerinden birisi de, çalışmaya başlarken çok iyi literatür deney hayvanları hakkında teorik ve pratik bilgi eksikliğidir. Dünyada bunun önüne geçilmesi için araştırmacının bu alanda bir kursa katılıp orada başarılı olduğunu gösteren sertifikanın alınması şart koşulmaktadır. Ülkemizde bir süredir bu çalışmalar başlamış ve yoğunluk kazanmıştır. Bu kurslar kişilerin teknik hatalarla hayvan kaybetmelerini minimuma indirmektedir. Ayrıca araştırmacının deney hayvanlarının çeşitli özellikleriyle ilgili olarak temel bir bilgiye sahip olması sağlandığı için daha bilinçli davranmaktadır.

Tablo 1. Araştırmacılara Kurslarda Deney Hayvanlarıyla İlgili Kazandırılması Gereken Temel Bilgilerin Başlıkları

1. ÜRETİM ÖZELLİKLERİ
2. FİZYOLOJİK ÖZELLİKLER
3. ANATOMİK ÖZELLİKLER
4. SİSTEMATİK ÖZELLİKLER
5. DAVRANIŞ ÖZELLİKLERİ
6. ÖZEL ÜRETİM TEKNİKLERİ
7. FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLER
8. HAYVAN ÇALIŞMALARINDAN GELEBİLECEK RİSKLER
9. ETİK KURALLAR

Yine en çok rastladığımız reduction kuralına aykırı davranışlardan biriside deneye hayvan seçiminde hatalar veya deneyi daha güvenilir hale getirecek olanaklardan habersiz olma nedeniyle yapılan yanlış seçimlerdir. Deneyimize başlamadan hayvan seçiminde göz önüne alınabilecek olanaklar tablo 2'de sıralanmıştır.

Tablo 2. Deney İçin Doğru Hayvan Seçimi

- a) En uygun tür (Büyüklüğü, kan miktarı, anatomisi)
- b) En uygun soy (Türün içindeki bütün soylarda genetik farklılıklar nedeniyle istediğimiz model oluşmayabilir)
- c) Spontan hastalıklı soy elimizde var mı? (İnsan için daha doğal model)
- d) Transgenik olarak modeli oluşturabiliyor muyuz?
- e) Saf döl hayvanımız var mı? (Bireysel sapmalar sorun oluşturan bir çalışmada)
- f) Patojen free (Özellikle immunolojik ve mikrobiyolojik çalışmalarda)

2. REPLACEMENT

Bu madde eğer bilimsel olarak bir mahsur yoksa deney hayvanı yerine ona alternatif yöntemlerin kullanılmasını önermektedir. Günümüzde bu konu ile ilgili olarak önerilen yöntemleri tablo 3'de görebilirsiniz.

Tablo 3. Deney Hayvanlarına Alternatif Önerilen Yöntemler

1. Doku ve organ kültürleri
2. Bilgisayar modelleri ve veri bankaları

3. Omurgasız hayvanların kullanılması
4. Embriyonlu yumurtanın kullanılması
5. Gönüllü insan veya insan materyallerinin kullanılması
6. Bir hücrelilerin kullanılması
7. Matematik yöntemler
8. Eğitimde deney hayvanlarının yapay modellerinin ve filmlerinin kullanılması

Şimdi bu yöntemler deney hayvanı kullanımı için ne kadar uygunlar ve dolayısıyla onların yerini ne derece tutabilirler, sırasıyla tartışalım. En yoğun olarak önerilen yöntem ve şu anda gerçekten amaca en çok hizmet edebilecek olan doku kültürleridir. Doku kültürlerinin bu alandaki getirdiği avantajlar ve dezavantajlar sırasıyla tablo 4 ve 5'de görülmektedir.

Tablo 4. Doku Kültürünün Avantajları

1. Üretimi tamamen kontrol altındadır. Deney hayvanlarındaki gibi kontrol dışı gelişmeler daha sınırlıdır.
2. Hayvanlarda görülen ve çeşitli koşulların zorladığı bireysel sapmalar kolay kolay olmaz.
3. Çalışmayı etkileyecek koşullar sınırlı olduğu için sonucu doğrudan yorumlayabiliriz.

Doğrudan insan hücresi kullanıma olanağı yaratmaktadır, dolayısıyla elde edilen sonuçlar insana çok uygunluk gösterir (ameliyatlarda alınabilecek dokulardan veya kanserli insan doku bankalarından)

Tablo 5. Doku Kültürünün Dezavantajları

1. Zaman zaman istenmeyen kontaminasyonlarla pasaj kayıpları olabilir.
2. Vücuttan izole edilmiş bir organ diğer sistemlerle olan etkileşimden uzaklaştığı için Doku kültürlerinden elde ettiğimiz sonucu sağlam durumdaki bir organizma için yorumlamamız zor olmaktadır.
3. Doku kültürleri sürekli pasajlarla kullanılıncaya fenotipik değişimlere uğrarlar bu da elde edilen sonuçların standardizasyonu ile ilgili problemler yaşatabilir.

Doku kültürlerinin özellikle canlılığın bütünlüğünün devamlılığını isteyen insan çalışmalarında kullanılması mümkün görülmemektedir. Örneğin bir transplantasyon çalışması veya birçok organın işin içine girdiği olaylarda kullanılması mümkün değildir.

Doku kültürü ile ilgili olarak tablo 5'de gösterilen dezavantajlar olmakla birlikte

günümüzde doku kültürlerinin hayvan deneylerinin özellikle bazı alanlarda yerini almada faydası olmuştur. Örneğin aşı üretiminde deney hayvanları bilhassa maymunlar kullanılırken artık birçok yerde aşı üretimi doku kültürleri tekniğiyle yapılmaya başlandı, bu sayede bazı ülkelerde aşı üretiminde deney hayvanı kullanımı en azından bazı türlerde tamamen ortadan kalktı. Deney hayvanlarının biyolojik testlerde kullanılmasında en çok kozmetiklerle ilgili olanlar eleştiri almaktadır. Özellikle bu tip testlerde tavşanlar çok kullanılmaktaydı. İnsan deri kültürlerinin başarılması sonucu tavşan deri irritasyon testlerinin yerini tamamen doku kültüründe insan deri testlerine bırakmıştır. Ayrıca farelerde yapılan bazı toksisite testleri ile yine tavşanlardaki pirojenite testleri de doku kültürlerine aktarılmaya çalışılmaktadır.

Omurgalı hayvanların evrimsel olarak gelişmiş, omurgasızların ise daha az gelişmiş olması nedeniyle daha az acı çekecekleri düşünülüp, araştırmalarda onların kullanılması önerilmektedir. Sünger, sölemler, solucan, yumuşakça, eklembacaklı ve derisidikenliler (evrimsel sıraya göre) bu bağlamda incelenecek olursa, anatomik, fizyolojik ve hatta histolojik açıdan bizden ne kadar uzak canlılar olduklarını anlayabiliriz. Bizim yapısal özelliklerimizden büyük farklılıklar gösteren bu hayvanların insana yönelik bilgi üretiminde kullanılması gerçekten ne kadar doğru olur tartışmalıdır. Çok sınırlı

çalışmalarda (toksisite, mutajenite gibi) kullanılabilir. Ama onların sorunumuza tam çare gibi sunulması o hayvanların haklarına da aykırıdır. Ayrıca onların evrimde ilkel olmaları nedeniyle bizden daha az acı çektikleriyle ilgili elimizde çok kuvvetli bilimsel kanıtlar yoktur.

Embriyonlu yumurtanın kullanılması önerisinin temelinde de, embriyonun gelişmemiş bir yapı olması nedeniyle acı duyma hissinin çok az olacağıdır. Fakat burada da omurgasızlar için yaptığımız eleştiriyi aynen tekrarlayabiliriz. Yapısal olarak embriyoda omurgasızlar gibi bizden farklıdır. Dolayısıyla sonuçları insana yönelik yorumlamamız yine zor olacaktır. Gerek omurgasızlarda gerekse embriyoda her istediğimiz araştırmayı yapma şansımızda yoktur. Yinede bazı özel çalışmalarda embriyonlu yumurta ile oldukça faydalı çalışmalar yapılabilmektedir. Örneğin Aktuğ ve arkadaşları civciv embriyonlarında gastroşizis modelini başarılı bir şekilde uygulamış, yaptığı çalışmalarla gastroşizisin anlaşılmasına katkılar sağlamıştır. Embriyonlu yumurtalar çok uzun zamandır virus üretim ve çalışmalarında kullanılmaktaydı, ayrıca bunlarda toksisite ve mutajenite çalışmalarında kullanılabilirler.

Bir hücreli canlılarda elde edilmeleri, standardizasyonlarının kolaylığı, ucuz yöntemlerle üretilmeleri ve acı çekme diye bir sorunları olmaması, onların araştırmalarda kullanılması önerilerini gündeme getirmiştir. Tabi ki bunların biyolojik yapıları ve evrimsel olarak çok ilkel olması (prokaryotik hücreler) karşı çıkılan önemli noktadır. Fakat buna rağmen son yıllarda çeşitli kimyasal maddelerin mutajeniteleri dolayısıyla karsinojen olup olmadıkları bakterilerde test edilmektedir. Bu testin adı AMES'dir ve oldukça standardize edilmiştir. AMES testinde Salmonella typhimurium bakterileri kullanılmaktadır. Son yıllarda karaciğerin metabolik aktif hücre komponentlerinin bu teste eklenmesiyle test daha etkin hale getirilmeye çalışılmaktadır. Fakat bu testlerden ne kadar iyi bilgi alırsak alalım elde edilen sonuçlar daha doku kültürlerinde ve en sonunda da deney hayvanlarında verifiye edilmelidir. Bu testin en önemli faydası maddenin toksik dozunun en yakın şekilde tahmin edilmesini sağlamasıdır. Bunun sonucunda çok daha az hayvan kullanarak iyi bir sonuca varabiliriz.

Bilgisayar teknolojilerinin ve elektronik ortamda hızlı iletişimin gelişmesi, bu teknolojinin resmi ve özel birçok kuruluş tarafından yaygın olarak kullanılması, deney hayvanlarını daha az kullanma amacımıza yönelik olanaklar yaratmıştır. Özellikle önceden yapılmış olan birçok biyolojik teste yönelik elde edilmiş veri bankalarının isteyen her araştırmacının ulaşımına açık hale getirilmesi, yeni sentezlenen birçok maddenin test edilmeden önce o sonuçlara, kendi maddelerine yönelik yorumlar yapabilirler. Araştırmak istediğimiz maddelerinin testleri için yeniden belki hiç hayvan kullanma olasılığına karşılık, eğer kendi maddelerinin formülasyonuna yakın bir madde ise geniş bir doz yelpazesinde çalışıp deney hayvanı harcama yerine, oradaki doz baz alınıp daha az hayvanla testler bitirilebilir. Böylece 3 R'nin reduction maddesine uyulmuş olur. Bilgisayarların son yıllarda yeni ilaç tasarımlarında kullanılmaya çalışıldığı da unutulmamalıdır.

Canlı vücudunda meydana gelen metabolik ve benzeri olaylar için çeşitli matematiksel denklemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Elimizdeki biyolojik bilgi zenginleştikçe o biyolojik olayların matematiksel ilişkileri ortaya çıkmaktadır. Bunun en güzel örneklerine reseptörlerle ilgili çalışma alanlarında rastlıyoruz. Ancak formül ne kadar tam ise program o kadar kullanışlı olur, formüllerin tam olabilmesi için biyolojik süreçler ile ilgili temel bilgilerimizin gelişmesi gerekir. Henüz bu alanda bilgi eksikliğimiz oldukça fazladır.

Deneylerde hayvan kullanımını azalacağından umut edilen başka bir yöntemde insan ve insandan elde edilen materyallerin kullanılmasıdır. Bu yöntemde epidemiolojik çalışmalardan ve hasta anamnezlerinden bilgi elde edilir, sonra bunların hayvan deneyleriyle teyidi yapılır. Gerçekten günümüzde üstelik insan için çok yararlı bilgiler epidemiolojik çalışmalarla elde edilmiş sonra bunların doğruluğu hayvan deneyleriyle kanıtlanmıştır. Balık yağının kalp damar hastalıklarından koruyuculuğu, meyve ve sebze tüketimlerinin artmasına paralel kanserin azalması v.b. bu şekilde kanıtlanmıştır. Çeşitli hastalıklardan ölen insanların otopsilerinin iyi bir şekilde yapılması da bilgi üretimine önemli katkılar sağlayabilir. Örneğin Tip I DM'ün otoimmün bir hastalık olduğu, bu hastalıktan ölenlerin pankreaslarının histopatolojik incelenmesinde Langerhans adacıklarındaki lenfosit invazyonu görülerek teşhis edilmiştir.

İnsan materyallerinden faydalanılan bir başka yöntemde insanın bazı hücreleriyle in vitro olarak çalışma yapılabilmesidir. Özellikle kan hücreleri vücut dışına alınıp çeşitli uyaranlar karşısında verdikleri yanıtlar incelenebilir. Başta ilaç araştırmaları olmak üzere etik boyutları iyi belirlenmiş olarak gönüllü insan çalışmaları da yapılabilir.

Deney hayvanlarının oldukça fazla kullanıldığı bir başka alanda eğitimidir. Gerek lisans düzeyindeki eğitimlerde, gerekse sertifika kurslarında kişilere bizzat deney hayvanları üzerinde beceri kazandırılmaya çalışılmaktadır. Bunun yerine deney hayvanlarına çok benzeyen modeller geliştirilmiştir. Ayrıca bazı testlerde hayvan kaybını azaltmak için, bir kere yapılıp videoya alınabilir ve böylece bütün derslerde ve kurslarda kullanılabilir.

Alternatif yöntemlerin deney hayvanlarıyla yapılan araştırmaların yerini alması ile ilgili çalışmaların ortaya çıkmasındaki en önemli etken etik kaygılar olmakla beraber, bu alandaki yöntemler geliştikçe ortaya çıkan başka olanaklarda onlara yönelme eğilimini arttırmaktadır. Bu yöntemlerden doku kültürü bir dereceye kadar pahalı olmakla beraber diğer yöntemlerin birçoğu deney hayvanı üretim ve barındırma tekniğine göre çok daha ucuzdur. Ayrıca hayvan deneylerine oranla standardize etmek çok kolaydır. Yapılması uzun süre alan hayvan deneylerini bazı alternatif tekniklerle daha kısa sürede gerçekleştirmek mümkün olabilmektedir. Ancak bütün bu yöntemlerden elde edilen bulgular organizmayı ve organizmanın içinde gelişen bütün biyolojik olayları temsil etme kapasitesinde değildir. Bazen insan gibi memeli hayvanlar sınıfına dahil olan deney hayvanlarından elde edilen bilgilerin bile insana uyarlanmasında yoğun itirazlar alınırken uzak biyolojik objelerden, hatta canlı olmayan sistemlerden elde edilen sonuçların pratiğe aktarılması çok daha zor olacaktır. Bütün zayıf noktalarına karşılık özellikle gelişmiş ülkelerde çalışma grupları oluşturularak geçerliliği kabul edilebilecek alternatif yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu yönlü projelere özellikle güçlü ekonomik destekler verilmektedir.

3. REFİNEMENT

Bu maddenin kuralı hayvanların doğumlarından, deney bitimine kadar kullanılması sürecince rahat etmelerinin sağlanması ve mümkün olduğu kadar az acı duymalarını sağlamak için önlemlerin alınmasıdır. Bunun için uygulamalar hayvanların konacağı kafesten başlar. Bu hayvanların kafesi hem hayvanların rahatını sağlayabilecek, hem de sağlıklı malzemeden olmalıdır. Deney hayvanlarının sosyal hayvan oldukları düşünülüp otoklavlanabilen şeffaf malzemeden yapılmış kafesler önerilmektedir. Böylece hayvanlar birbirlerini görebilecektir. Kafeslere hayvanların yerleştirilmesinde de dikkat etmemiz gereken etik hakları bulunmaktadır. Her büyüklükteki kafese her istediğimiz sayıda hayvan koyamayız. Etik kurallarda hangi türden, hangi yaşta hayvanın ne kadar taban alanı ve yükseklikte bir kafese konacağı belirlenmiştir siz belirtilen sayının üstünde hayvan koyarsanız o hayvanların hakkını ihlal etmiş olursunuz. Hayvanların rahatı açısından onlar için kullandığımız yataklıklarda çok önemlidir. Yataklıklar şekil verilebilir, tozsuz olmalıdır. Yonga talaşı bu alanda en idealidir.

Hayvanların kafeslerinin konacağı odaların ısı, ışık, nem durumları mutlaka o odada yetiştirilmekte olan türün gereksinimine göre olmalıdır. Ayrıca albino hayvanların odaları çok parlak ışıkla aydınlatılmamalıdır. Aksi halde onların gözlerinde katarakt oluşmasına neden oluruz. Hayvanlarımızın sirkadyen ritimlerinin etkilemesi açısından ışık periyodu da ayarlanmalıdır. Öneri 12 saat karanlık 12 saat aydınlık olmakla birlikte 13/11, 14/10 periyotlarını da kullananlar bulunmaktadır.

Hayvanlara etik davranabilmemizin temel yaklaşımlarından birisi de, hayvan bakıcılarının davranışlarının etiğe uygun hareket etmeleridir. Bu nedenle hayvan bakıcıları mesleklerinde yeterli eğitilmiş olmaları ve etik kuralları bilen kişiler olmalıdır. Onları yapacağı hatalar sonucu hayvan kaybedilebilir, sakat kalabilir veya acı çekebilir.

Hayvan üretim bölümünde mutlaka bir görevli veteriner hekim bulunmalı ve oda sürekli randomize olarak hayvanların sağlık kontrolleri yapılmalıdır.

Deneyler sırasında acı verecek bir girişim varsa mutlaka anestezi yapılmalıdır. Anestezisiz bir cerrahi müdahale etik yasalarla yasaklanmıştır. Fakat anestezi yöntemini ve maddesini seçerken de çok dikkatli olunmalıdır. Anestezi yöntemimiz hayvanın türüne, yaşına, uygulanacak işlemin süresine ve kullanılacak anestetik maddenin araştırma sonuçlarımızı olumsuz etkilemeyecek uygun anestetik seçilmelidir. Buradaki bir yanlış seçim hayvan kayıplarına hatta belkide boş yere bütün deneyin sonuçlarının iptaline kadar gidebilir.

Yaptığımız cerrahi işlemten sonra hayvanlarımızın ağrı duyma olasılığı vardır. Hayvanların bu problemlerinin çözümü içinde bir yaklaşım göstermemiz gerekmektedir. Öncelikle hayvanımızın kafesteki duruşundan, hareketlerinden bize karşı olan tavırlarından ağrı duyup duymadığı teşhis edilmelidir. Daha sonra kullanacağımız analjeziğin deney sonuçlarına yan etki yapmayacağından emin isek analjezik kullanabileceğiz.

Deney bitiminde çoğu zaman hayvanlarımıza ötenazi uygulamamız gerekmektedir. Bu işlemde de sık sık hatalar oluşmakta ve bazen deneyin tekrarlanmasına neden olmaktadır. Öncelikle hayvanlarımıza kimyasal mı yoksa fiziksel mi ötenazi uygulayacağımıza karar vermemiz gerekir. Bu seçimi yaparken yine hayvanın türü ve türe özgü fizyolojik fonksiyonlarla davranışları göz önüne alınmalıdır. Ayrıca ötenazi yöntemi alınacak dokuya uygun düşünülmelidir ve hayvan sayısı göz önüne alınmalıdır (hayvanlarımızın bir bölümüne başka diğer bölümüne başka ötenazi uygulayamayız). Ötenazide hayvanlarımızın yaşı (yeni doğanlar inhalasyon anestetiklerine erişkinlerle kıyaslanmayacak kadar dirençlidirler), anestezi ve analjezide olduğu gibi ötenazi için seçtiğimiz yöntem veya kimyasallar deney sonuçlarını değiştirici olmamalıdır. Ötenazi usta bir kişi tarafından yapılmalı ve ana hedefi olanak olduğunca hızlı bilinç kaybı sağlamaktır. Ötenazide sık karşılaştığımız bir başka hatada kontrollü deney koşullarına uygun zamanlarda yapılmalıdır. Yani eğer tüm hayvanlarımızı bir tek günde ötenazi uygulayamıyorsak o zaman kesinlikle bir gruba bir gün, ikinci grubumuza başka bir gün ötenazi uygulamamalıyız. Aksi halde sonuçlarımıza hayvanların kronobiyojik değişimleri de yansır. Eğer tüm hayvanlarımızı bir günde sakrifiye edemeyeceksek o zaman mutlaka her gün her gruptan eşit sayıda hayvan sakrifiye edilmelidir.

Refinement ilgili maddenin içinde uzun süreli aç bırakma deneylerinin yapılmaması da bulunur (bu hayvanların metabolizması çok hızlı olduğu için açlıktan bizden daha şiddetli etkilenirler).

Kanser araştırmalarında terminal noktaya gelmiş hayvana ölümünü bekleyip daha fazla acı çektirmemek için ötenazi uygulaması önerilmektedir.

Buraya kadar bütün dünyada uygulanan etik kuralların ana ilkeleri anlatıldı. Birazdan ülkemizdeki durumdan söz etmek istiyorum. Yakın zamana kadar ülkemizde kayda degecek bir kanun ve yönetmelik yoktu. Ama dışarı yolladıkları yayınların mecmualardan geri dönme riskine karşılık Üniversiteler, etik komiteler kurmuştu ve projeleri buradan geçirmekteydi. 16.05.2004'de resmi gazetede Tarım ve Köyşleri Bakanlığının "Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Deney Hayvanlarının Üretim Yerleri ile Deney Yapacak Olan Laboratuvarların Kuruluş, Çalışma, Denetleme, Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik", 24.06.2004'de ise 5199 sayılı "Hayvanları Koruma Kanunu" yayımlanarak yürürlüğe girdiler.

Hayvanları Koruma Kanunun Amaç Maddesi: Hayvanların rahat yaşamlarını ve hayvanları iyi ve uygun muamele edilmesini temin etmek, hayvanların acı, ıstırap ve eziyet çekmelerine karşı en iyi şekilde korunmalarını, her türlü mağduriyetlerinin önlenmesini sağlamaktır.

Bu kanunun 9. maddesi hayvan deneyleri ile ilgilidir. Kanunda özellikle üzerinde vurgulanması gereken bölümlerden birincisi "hayvan deneyi yapan kurum ve kuruluşlarda bu deneylerin yapılmasına kendi bünyelerinde kurulmuş ve kurulacak etik kurullar yoluyla izin verilir", ikincisi ise "etik kurulların kuruluşu, çalışma usul ve esasları, Tarım ve Köyşleri Bakanlığı ile Sağlık Bakanlığının ve ilgili kuruluşların görüşleri alınarak Bakanlıkça çıkarılacak yönetmelikle belirlenir" maddesidir.

Kanunun 28. maddesinin ise deney hayvanlarıyla ilgili kanuna uyumsuz araştırma yapıldığında verilecek cezalar belirtilmektedir. Burada çıkarılacak bir yönetmeliklerde belirtilecek hususlara

uymayanlara hayvan başına 250,00 YTL (etik komiteden izin almadan çalışanlar), yetkisi olmadığı halde hayvan deneyi yapanlara ise hayvan başına 1.000,00 YTL (sertifika almadan çalışma yapanlara) idari para cezası uygulanacağı belirtilmiştir. Madde 30 ise Kanunda, ceza hükmü altına alınmış fiillerin tekrarı halinde para cezalarının bir kat daha fazla tekrarında ise üç kat artacağı vurgulanmaktadır.

Konuyla ilgili olarak Tarım ve Köyişleri Bakanlığının amacı ise şöyle özetlenebilir. “Deneyisel ve diğer bilimsel amaçlar için kullanılan hayvanların üretim yerlerinin teknik, sağlık ve hijyenik şartlara uygun kurulması, çalışması, hayvanların refah ve güvenliğini temin edecek şekilde bakımı ve kullanımlarının sağlanması.”

Yönetmelikte belirtilen başlıklar tablo 6'da özetlenmiştir.

Tablo 6. Yönetmeliğin Önemli Başlıkları

1. Hayvanlarının kullanılabileceği deneyisel ve diğer bilimsel çalışmalar
2. Deney hayvanlarının genel bakımları ve barınma koşulları ile ilgili kurallar
3. Deney hayvanlarına uygulanacak işlemlerle ilgili hususlar
4. Deney hayvanlarının satışı ve bilimsel araştırmalar için kullanımları
5. Deney hayvanı üreten veya temin eden kurumların kuruluş ve çalışma izinleriyle ilgili kurallar belirtilmiş

Alınan bilgilere göre Sağlık Bakanlığı ile ilgili olarak yeni bir yönetmelik halen hazırlanma aşamasındadır

Deney hayvanlarıyla uğraşanlar için birçok kanun veya yönetmelikler bulunmakla birlikte sonunda çalışma sırasında hayvanla başbaşa kalan sizlersiniz ve o sırada yanınızda sizi denetleyen sadece sizin vicdanınızdır. Dolayısıyla esas etik kural araştırmacının vicdanının sesi ve onun hayvanlara karşı olan sevgisidir.

Kaynaklar:

1. Aktuğ T., Deneyisel çalışmalar ve gastroşizis. Cerrahi Tıp Arşivi 1998; 3(Supp1): 69
2. Aktuğ T., Biyolojik araştırmalarda deney hayvanı kullanımının ana ilkeleri “Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanlarının Biyolojik Araştırmalarda Kullanılması Kursu” Kitapçığı, Denizli, 2004, 1-17.
3. Balls M, Fentem J. The validation and acceptance of alternative to animal testing. Toxicology in vitro 1999; 13:837.
4. Başaran A. Deney hayvanları laboratuvar teknikleri. Nisan kitabevi, Eskişehir, 2003
5. Bennet BT. Alternative methodologies. In: Bennet BT, Brown MJ, Schofield JC (eds) Essentials for animal research: a primer for research personnel. 2nd Ed. Beltsville, 2004
6. Blaauboer BJ, Necessity of biokinetic information in the interpretation of in vitro toxicology data. ATLA 2002; 30(Supp 2): 85
7. Kalibger W. From mouse to man. Transferability of the results of animal experiments to man. In: Lembeck F (ed), Scientific alternative to animal experiments. Ellis Horwood Limited, Chichester, 1989, 30-34
8. Mukerjee M, Trends in animal research. Scientific American 1997; 276:71
9. Nag J, Balls M, Hendriksen CFM. Laboratuvar hayvanları kullanımının azaltılması ve hayvan deneylerinin alternatifleri. In: İde T, (Çev Ed) (van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC, (eds)) Laboratuvar hayvanları biliminin temel ilkeleri. Medipress, Ankara, 2003; 307.
10. Okur H. Hayvan etik hakları. IV. Deneyisel ve klinik araştırmalar kongresi kongre kitabı, Kayseri 16-18 Mayıs 2003; 23
11. Tritthart HA. What can we learn from cells? Cell cultures and their limits. In: Lembeck F, (ed). Scientific alternatives to animal experiments. Ellis Horwood Limited, Chichester, 1989; 79-86
12. U.S. Congress, Office of technology assesment. Alternative to animal use in research, testing and education OTA-BA-273. 1986

İMMÜNOTERAPİ

BEYAZIT ÇIRAKOĞLU

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

bcirak@tan.net

İmmünoterapi immünmoleküler kullanılarak veya hastanın immünsistemini uyarak hastalıkları tedavi yöntemi olarak tanımlanabilir. Hastalarda immünsistemin uyarılması ve yönlendirilmesi immünomodülasyon olarak adlandırılmaktadır.

Bu sunumda özellikle antikorların kullanıldığı immünoterapi üzerinde durulacaktır.

Antikorlar omurgalı organizmaların bağışıklık sistemlerinde yer alan makromoleküllerdir ve B lenfositleri tarafından üretilerek sıvısal bağışıklığın temelini oluştururlar.

Bir antikor iki işleve sahiptir.

- 1- Antijene özgül bölgelerden bağlanır.
- 2- Bağlandığı antijeni organizmanın hücresel bağışıklık sisteminde yeralan hücrelerle temasa yönlendirir.

Antikoru genel yapısı da bu işlevi yansıtır. Bu yapı çok farklı antijenlere bağlanmasını sağlayan değişken ve organizmanın etkin bağışıklık hücreleriyle ilişkisini sağlayan sabit domenler oluşmaktadır.

Organizmanın bir antijen tarafından uyarılmasıyla üretilen antikorların etkinliklerini ve özelliklerini yitirmeden saflaştırabilmeleri bu moleküllerin yüzyılımızın başından bu yana bilimsel araştırma ve klinikte yoğun şekilde kullanımlarına yol açmıştır.

Poliklonal antikorlar bağışıklanmış hayvanların serumlarından veya tavukların yumurtalarından saflaştırılmaktadır.

Üretim kolaylığına karşın poliklonal antikor bazı dezavantajlara da sahiptirler.

- 1- Aynı hayvanda çalışılsa bile değişik zamanlarda elde edilen antikorların özellikleri aynı olmayabilir.
- 2- Özgüllük immünglobin tipi, etkinlik açısından önemli farklılıklar gösterirler.
- 3- Kaynak sınırlıdır.

1975'te Köhler ve Milstein tarafından geliştirilen hibridoma teknolojisi üstün nitelikli antikorların üretiminde en önemli aşamayı oluşturmuştur.

İmmünize olmuş hayvanlarda elde edilen B lenfositlerin ve myeloma hücrelerinin füzyona tabi tutulması ile oluşan melez hücrelerin seçici ortamda (HAT) geliştirilmeleri sonucunda elde edilen hibridomalar B lenfositlerin özgül antikor üretme özelliğine, tümör hücrelerinde çabuk çoğalma ve ölümsüzlük özelliklerine sahiptirler. Bu hücreler sınırlı seyreltme yöntemleriyle kültür ortamında tek hücre olacak şekilde dağıtıldıklarında tek bir epitopa özgül antikor (monoklonal antikor) üreten hücre soylarının eldesine yol açarlar.

Monoklonal antikorların önemli avantajları şöyle sıralabilir.

- 1- Tek bir hücre kolonisinden elde edildikleri için iyi tanımlanmıştır.
- 2- Kalite ve üretim süreklidir.

3- Saf olmayan bir antijenle de monoklonal antikor elde edilebilir.

4- Özgürlüğü ve etkinliği tam olarak tanımlanabilir.

Bunun yanında Monoklonal antikorların bazı kısıtlamaları da vardır.

1- Tamamen monospesifik değildir. Bir monoklonal antikor aynı epitopu içeren farklı antijenlerle etkileşebilir.

2- Düşük afiniteli monoklonal antikorlar kullanılamazlar.

3- pH ve tuz yoğunluğuna karşı yüksek duyarlılığa sahiptirler.

Son yıllarda immün tedavide yeni ufuklar açan bir teknoloji geliştirilmiştir. Bu teknolojinin adı faj gösterim teknolojisidir.

İleri gen teknolojisinden yararlanan bu yeni yaklaşımda immüno-globulinlerin antijene bağlanan ağır ve hafif zincir değişken bölgelerini kodlayan DNA dizileri polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmakta ve sentetik bir linker DNA sı ile birleştirildikten sonra artık antijene bağlanma özelliğine sahip tek zincirli değişken parça (scFv) yı kodlayan DNA dizisi olarak koşullara göre faj veya plazmid özelliği gösterebilen fajmit vektörlerine aktarılmaktadır.

Bu vektörün bakteriye aktarılması ve ifadesi sonucunda oluşan fajlar vektörün özelliği dolayısıyla scFv'leri yüzeylerinde göstermekte ve bir antikor gibi davranabilmektedirler.

Bu yaklaşım hibridoma teknolojisinin bir çok dezavantajını aşmakta ve gerek tanı gerekse tedavi için yakın gelecekte önemli katkılar vaat etmektedir.,

Bu gelişmenin ötesinde fajmid vektörlere scFv yi kodlayan DNA dizisi yerine rastlantısal peptidleri kodlayan DNA dizilerinin eklenmesi fajların yüzeyinde çok sayıda peptitlerin sergilenmesine yol açmakta ve her hedefe bağlanabilecek bir peptidin elde edilmesi sağlanmaktadır.

Bu şekilde elde edilen ve hayvan modellemelerinde kullanacak tanımlanan peptitler günümüzde birçok hastalığın tedavisini olası duruma getirmiştir.

RNA İNTERFERENS (RNAi) : GEN SESSİZLEŞTİRİLME MEKANİZMASI VE TEDAVİDE YERİ

AHMET KARAGÜZEL

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, TRABZON

akguzel@meds.ktu.edu.tr

“Yazılım sonrası gen sessizleştirilmesi (Post transcriptional gene silencing=PTGS) veya RNA girişimi (RNA interference = RNAi) gen ekspresyonunun durdurulması için kuvvetli bir alettir.”

RNA interferens (RNAi) = RNA girişimi ; modern biyolojide önemli gelişmelere yol açacak bir fenomen olarak düşünülmektedir. mRNA seviyesinde gen ekspresyonunun durdurulması için kullanışlı bir metodun bulunması son 15 yılda moleküler biyologların rüyası olmuştur. RNAi, gen fonksiyonu (fonksiyonel genomiks) araştırmalarında üzerinde durulan yeni bir alandır. ” RNAi , Science dergisi tarafından “2002 yılının en önemli bilimsel hamlesi” seçilmiştir. M.J. T. den Nobel ödüllü Prof. Phillip Sharp, “RNAi, son on yılın en heyecan verici keşfidir” demiştir.

RNAi nasıl Ortaya çıktı ;Genetik transformasyon çalışmaları:

Petunyalarda (boru çiçeği) üzerine yapılan araştırmalarda bilmeden ortaya çıkan bir önemli fenomendir. VAN DER KROL et. Al. (1990) ve JORGENSEN et. Al. (1996.) Bu araştırmacılar, petunyada pigmentasyonu katalizleyen enzimlerin etkilerini gen ilave ederek artırmak istiyorlardı. Ne zaman daha mor petunyalarda elde etmeyi denemişlerse bazen beklenmeyen şekilde beyaz petunyalarda ortaya çıkıyordu. Bu mekanizma sırrını korumasına karşın bunun sebebinin Chalcon synthase (CHS) geni içindeki dsRNA bölgesinin dolayısı ile gen ürününün dejenerasyonu olduğunu ve bunun bir PTGS ile ilgili olabileceğini rapor ettiler. (CHS geninin Over-expression'unun baskılanması).

Daha sonra, Massachusetts Teknoloji Enstitüsünden (MIT) CRAIG MELLO ve Washington Carnegie enstitüsünden ANDREW FIRE bir nematod olan *Caenorhabditis elegans*' ta dsRNA'nın, gen ekspresyonunu spesifik ve selektif olarak inhibe ettiğini ilk defa deneysel olarak gösterdiler, (1998). Son yıllarda yapılan araştırmalar ile, etkili gen sessizleştirilmesi mekanizması birçok türde başarı ile gösterilmiştir, bunlar: Funguslar (*Neurospora*), bitkiler (*Petunia*, *Nicotiana*, *Arabidopsis*), omurgasızlar (*Caenorhabditis elegans*, *Drosophila*, *Paramecium*, *Trypanosoma*) dır. Bu modeller artık memelilere de uygulanmaktadır.

RNAi nedir:

Bir hedef genin transkriptinin, sekans spesifik bir ilişki temelinde, çift zincirli RNA (doublestranded RNA = dsRNA) ile durdurulması olayı RNA interferens (RNAi)= RNA girişimi olarak tanımlanmaktadır, (Fire et.al. 1988). dsRNAi , aslında hücrede normal bir savunma sisteminin katalitik yolunu aktive eder. Bu işlemin temeli, hedef mRNA ya komplementar bir dsRNAi nin tek zincirini kullanmaktır, (anti-sense sequence).

Tabii olarak uzun sekanslı dsRNA küçük interfere edici RNAi lere parçalanır. Bunlara siRNA (small interfering RNA) denir.

RNA interferens aslında bir hücresel mekanizmadır:

Bu interferens, istenmeyen yabancı genlerin (Moleküler parazitler) elimine edilmesi ve aynı zamanda gen ekspresyonunun transkripsiyonel regülasyonunda hücrede kullanılan bir mekanizmadır. Yabancı genler hücrede çok kere çoklu kopiler halinde bulunurlar. Örneğin ; viral genler, taşınabilen (transposonlar) elementler veya deneysel hücre transfeksiyonunda plazmidler gibi. Organizmalarda RNA interferens bir iç prosestir ve bu işlem uzun dsRNA (>50 nt) tarafından gerçekleştirilir. dsRNA dan siRNA lar oluşur. İnterferenste önemli nokta ; hedef mRNA içinde doğru 21 nükleotidlik

komplemetar sekansın bulunmasıdır.

Hücrede oldukça komplike bir regülatör makine ve bunun arkasında ise oldukça komplike bir biyoloji vardır. İnsanda şimdilik 250 civarında genin dsRNA ve mikro RNA ekspresyonu yaptığını biliyoruz. RNAi yolunda birinci adım geniş dsRNAs'ın 21-23 nukleotidli küçük RNA'lara ayrılmasıdır. İkinci adım ise hedef mRNA'nın belirlenmesi ve dejenerasyondur. Meyve sineğinde (*Drosophila*) yapılan çalışmalar göstermiştir ki; RNAase III enzimi (DİCER) ve Ayrıca nukleaz aktiviteli Multiprotein kompleksi (RISC) bu işlemde etkilidir.

RNAi'nin memelilerde uygulanması ve tedavi:

RNAi bir çok omurgasız türünde oldukça aktiftir. Son yıllarda bu teknolojinin memelilere adapte edilmesi bir hayli cezbedici bir alan olmuştur. Bununla birlikte memelilerde viral infeksiyonlara karşı koruyucu fenomenler olarak geliştirilen interferon vevap ve apoptozisin uyarılması problemini aşmak için interferens, uzun dsRNA uyarılmadan yapılmalıdır. Bu yüzden DICER stepi baypas edilerek sentetik siRNA'lar kullanılmaktadır.

Sentetik siRNA'lar bu gün memeli hücrelerinde çok sayıda gen ekspresyon çalışmalarında kullanılmaktadır ve bir çok metotla elde edilebilmektedir:

- 1- Kimyasal sentez,
- 2- İn-vitro transfeksiyon,
- 3- DİCER ile uzun dsRNA'ların kesimi,
- 4- DNA temelli vektör kasetlerle (Plazmid ve viral) hücre içinde üretim,

Seçilen mRNA da hedef bölgeyi bulabilmek için çok sayıda siRNA, mRNA'nın çeşitli bölgeleri için denenmektedir. siRNA ile mRNA'nın hedef bölgesi arasındaki homolojinin derecesini belirlemek için yapılan çalışmalarda bu gün microarray teknolojisi kullanılmaktadır. Bu çalışmalar ile spesifik gene karşı bir siRNA dizayn edilmektedir ve hedef hücre hattı transenfekte edilmek için kullanılmaktadır. Bu günkü uygulamalar iki temel alandadır:

1-RNAi temelli yeni ilaçların dizaynı:

2004 yılında RNAi temelli ilaçların satışından elde edilen gelir 850 milyon \$'dır. 2015 yılında beklenen satış ise 6 milyar \$.olarak düşünülmektedir. Öncelikle hedef genler için geniş bir RNAi kütüphanesinin oluşturulması gerekmektedir.

2-RNAi temelli tedavi:

Kanser, HIV infeksiyonu, SARS, romatizma, grip, astım, hepatit-C, kas distrofileri, moleküler dejenerasyonlar, Alzheimer, çiçek v.b.hastalıklarda tedavi çalışmaları ve araştırmalar devam etmektedir.

ADENOVİRÜS ARACILI ÖLÜMCÜL LİGAND TRANSFERİNİN GEN TEDAVİSİNDEKİ YERİ

SALİH ŞANLIOĞLU^{1,2}

¹Gen Tedavi Ünitesi,

²Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANTALYA

salioglu@akdeniz.edu.tr

2005 yılının başında yapılan bir araştırmada, şimdiye kadar resmi olarak onay aldığı bildirilen 1010 tane klinik gen tedavi denemesinin olduğu bildirilmiştir. Bu klinik gen tedavi denemelerin çoğu (% 67) Amerika Birleşik Devletleri tarafından yürütülmektedir. Bunların sadece % 28' inin Avrupa ülkelerinde uygulandığı bildirilmiştir. Daha spesifik olmak gerekirse; bu denemelerin % 11' i Birleşik Krallık'da, % 6.4' ü Almanya'da, % 3.4' üde İsviçre'de yapıldığı saptanmıştır. Konu olarak düşünüldüğünde klinik denemelerin % 66' sı kanser gen tedavisini ilgilendirirken, % 9.4' ü monogenik hastalıkları ve 8.1' ide damar hastalıklarını alakadar eder. Bunların yanında infeksiyöz hastalıkları hedefleyen klinik gen tedavi denemeleri bile (% 6.6) mevcuttur. Adenovirüsler (%26) ve retrovirüsler (% 26) klinik gen tedavi denemelerinde en fazla kullanılan gen transfer araçlarıdır. Klinik gen tedavi denemelerinin pek çoğu Faz I (% 63), % 13' ü Faz II ve yalnızca % 1.7 si (18) Faz III aşamasındadır. Bu durum, klinik gen tedavi denemelerinin halen başlangıç safhasında olduğunu düşündürmektedir. Radyoterapi ve kemoterapi, günümüzde kanserli hastaların tedavisinde en sıklıkla kullanılan tedavi yöntemleri arasındadır. Her iki yöntemin çalışması için hücrede mutlaka fonksiyonel P53 tümör baskılayıcı genin sentezine ihtiyaç vardır. Ancak tümör gelişimi sırasında insan tümörlerinin yarısından fazlasında P53 kaybı gerçekleşir. Ölümcül ligandlar ise kanser hücrelerinde P53 den bağımsız olarak apoptozisi indüklerler. Bu nedenle ölümcül ligandlarla yapılan gen tedavi yöntemlerinin radyasyona ve kemoterapiye dirençli kanser hastalarında denenmesi oldukça mantıklı bir seçenek olarak kabul görmektedir. Tumor Necrosis Factor (TNF)-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL) normal hücrelere zarar vermeden kanser hücrelerini apoptozise uğratan ölümcül bir ligandır. Tumor Necrosis Factor (TNF) ve FasL gibi diğer ölümcül ligandların aksine sistemik toksisitesi olmayan bir moleküldür. Bu nedenle özellikle kanser gen tedavisinde etkili olacağı düşünülmektedir. Ancak TRAIL ölümcül liganının doku atılımında, oto immünite gelişiminde de rol aldığı saptadığımızdan dolayı, bu liganın Tip 1 Diabet, Romatoid Artrit gibi hastalıkların tedavisinde de etkili olabileceğini düşünüyor ve çalışmalarımızı bu gerçekler ışığında yönlendiriyoruz.

KÖK HÜCRE VE HÜCRESEL TEDAVİ

DUYGU UÇKAN ÇETİNKAYA

Hacettepe Çocuk Hastanesi Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi, ANKARA

duckan@hacettepe.edu.tr

Son yıllarda kök hücre araştırmaları sayesinde, halen tedavisi olmayan kronik ve/veya ciddi ve hasar oluşturan birçok hastalığın tedavisi için ümit ışığı doğmuş ve bu yöndeki in-vitro ve in-vivo hayvan çalışmalarını takiben klinik ön çalışmalar başlatılmıştır.

Kök hücreler; bölünerek birbirinin aynı iki hücre meydana getirir. Bunlar da organizmada (aynı zamanda hücre kültür ortamında) çoğalma ve farklılaşma potansiyeline sahiptir. Mikroçevre koşullarının da uygun olması halinde kök hücreler çoğalıp farklılaşarak olgun fonksiyonel hücreler meydana gelir. Bu özellikleri nedeniyle kök hücreler; transplantasyon ve hücre replasman tedavileri için çok uygun hücrelerdir. Kök hücrelerden farklılaşmış hücrelerin gelişmesi için gerekli uyarı, in vivo ortamda, doku veya organ hasarı olması yani ihtiyaç hali bulunmasıdır. Kültür ortamında ise büyüme faktörü veya diğer uyaranların eklenmesi ile kök hücreden istenilen yönde farklılaşma sağlanabilmektedir.

Kırk yıldan uzun süredir başarı ile uygulanmakta olan kemik iliği transplantasyonu (KİT) (veya daha genel anlamda hematopoetik kök hücre nakli / HKHN) halen yaygın kullanımda olan tek kök hücre tedavi şeklidir. Dolayısıyla en iyi tanımlanmış ve karakterize edilmiş kök hücre tipi hematopoetik kök hücrelerdir. Son yıllarda kök hücre biyolojisi alanındaki çok hızlı gelişmeler sonucunda hücresel tedavi alanında yeni bir çılgır açılmakta olduğu gözlenmektedir. Hematopoetik kök hücrelerin sadece olgun hematopoetik hücrelere değil gerektiğinde diğer doku hücrelerine (karaciğer, kalp kası, sinir sistemi hücreleri, hatta böbrek gibi) de farklılaşabileceğinin (plastisite) gösterilmesini takiben HKH'lerin sadece kemik iliği transplantasyon alanında değil rejeneratif tıp alanında da kullanım potansiyeli doğmuştur. Bu konu ile ilgili özellikle son yıllarda klinik çalışmalar başlatılmış, kemik iliği veya periferik kandan (granülosit koloni stimüle edici faktör GCSF- ile mobilize) elde edilen HKH'ler myokard enfarktüsü, spinal kord, nörolojik hasar gibi hallerde rejeneratif amaçlı kullanılmaya başlanmıştır. Bu konu büyük ilgi uyandırmakla birlikte klinik uygulamalar henüz çok erken evrededir ve, genel anlamda erişkin tipi kök hücre tedavisi ile elde edilen klinik kazanımların kök hücrenin doku spesifik hücreye farklılaşması yanında kök hücre/ doku hücresi füzyonuna bağlı olabileceği; veya mikroçevre rolü oynayarak hasarlı hücre tamirine katkıda bulunduğu, ya da kemik iliğinden elde edilen kök hücrenin aslında baştan beri o dokuya-spesifik kök hücre (ör.kardiyak kök hücre) olduğunu ileri süren çalışmalar da vardır.

Hematopoetik kök hücre yanında birçok erişkin dokuda da yine aynı şekilde çok geniş farklılaşma potansiyeline sahip kök hücrelerin bulunduğu gösterilmiştir (erişkin/adult kök hücre). Ayrıca birçok dokunun stromasında bulunan, özellikle de kemik iliğinden kolaylıkla elde edilen mezankimal kök hücreler (MKH) ise yüksek farklılaşma potansiyeli ve in-vitro kültür ortamında kolaylıkla çoğaltılabilmeleri nedeniyle hücresel tedavi için çok uygundur. Ayrıca immunosupresif olmaları ve kemik iliği destek dokusunu (mikroçevre) oluşturmaları nedeniyle KİT hastalarında komplikasyonların önlenmesinde (greft reddi ve greft versus host hastalığı); farklılaşma potansiyeli sayesinde rejeneratif tıpta, organ/doku hasarının onarımında; gen transferi kolaylığı ile de gen tedavisinde kullanım için ideal hücreler olarak gözükmektedirler. Mezenkimal kök hücreler hücre replasman tedavisinde ve doku tamirinde kullanılabilecek potansiyeli nedeniyle doku mühendisliği uygulamalarında da potansiyel kullanım alanı bulabilecek bir hücre tipi gibi gözükmektedir. Bütün bu özellikleri nedeniyle MKH'ler çok ilgi uyandırmakta ve giderek artan bir hızla; transplantasyondan doku/organ hasarı olan yaygın hastalık hallerine (myokard enfarktüsü, iskelet sistemi, eklem hasarı, spinal kord, santral sinir sistemi hasarları gibi) kadar çok geniş bir yelpazede hücresel tedavi amaçlı kullanım alanı bulmaktadır.

Mezankimal kök hücrelerin potansiyel çok yönlü klinik kullanım alanına rağmen bu uygulamayı kısıtlayan önemli bir konu, bu hücrelerin tedaviye uygun hale getirilmesi için in-vitro, kültür ortamında haftalarca çoğaltılması gerekesidir. Bu da ancak uluslararası kabul edilmiş standartlarda GMP (Good manufacturing practice) koşullarında laboratuvarlarda deneyimli ekip ve çok yüksek maliyet ile mümkün olabilmektedir. Bu nedenle klinik uygulama Avrupa ve A.B.D de sayılı birkaç merkezle sınırlıdır. Halen, MKH'lerin klinikte kullanımı daha ziyade KİT hastalarında hematopoetik kök hücrelerin engraftmanını güçlendirmek (kemik iliği reddini önlemek), immunosupresif özellikleri nedeniyle graft versus host hastalığını (GVHH) önlemek veya tedavi etmek; bir de kalıtsal hastalığı bulunan ve KİT yapılan hastalarda organ hasarını düzeltme (ör. osteogenesis imperfektada kemik gelişimini artırmak) amacıyla yönelik uygulamalardır. Transplantasyon dışında, rejeneratif tıp amaçlı uygulamalar da giderek artan hızla ilerlemektedir.

Kök hücrelerden doku-organ oluşturma çabaları çok ilgi uyandırır da KİT alanı dışında kök hücrelerin rejeneratif amaçlı klinik uygulamalarında; veriliş şekli, implantasyon bölgesi (ör. intrakardiyak uygulamada aritmi gelişmesi), dozu, verilecek kök hücrenin tipi gibi konular netlik kazanmamıştır. Ayrıca bu uygulamalara bağlı ciddi yan etkilerle karşılaşılacağı da akılda tutulmalıdır. Embryonik kök hücreler ise farklılaşma kapasiteleri çok yüksek olmakla beraber neoplastik potansiyeli (teratoma) ve elde edilişindeki etik sorunlar nedeniyle şu an için klinik kullanıma uygun hücreler olmayıp araştırma amaçlı kullanılmaktadır. Mezankimal kök hücreler de in-vitro kültürde uzun sürede çoğaltılmış hücreler olduklarından sitogenetik değişim, neoplastik potansiyel veya hedeflenen doku yerine başka doku hücrelerine farklılaşma potansiyeli teorik olarak bulunsun da çok az sayıda klinik ve çok sayıda deneysel araştırmalar sonucunda güvenilir hücreler gibi gözükmemektedir. Kültür ortamında kullanılan FCS (fetal calf serumu) nun klinik kullanım için potansiyel sakıncaları nedeniyle serumsuz ortam veya otolog serum kullanımı gibi alternatif yöntemler üzerinde araştırmalar devam etmektedir.

Mezankimal kök hücrelerin mesodermden köken alan konnektif doku hücreleri (kemik, kıkırdak, tendon, kas, yağ) yanında ektoderm kökenli hücrelere (nöronal hücreler) de dönüşebildiği gösterilmiştir. Hacettepe Tıp Fakültesi Pediatrik Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi çalışmalarında da, sağlıklı KİT vericilerinin kemik iliğinden elde edilen MKH'ler in-vitro çoğaltılarak osteoblast, adiposit, kondrosit, nöronal hücre gelişimi sağlanmaktadır. Bu hücrelerin özellikle kalıtsal hastalıklarda kullanımına ağırlık verilmek üzere de çalışmalar devam etmektedir. Çocukluk çağı kalıtsal hastalıkları önemli derecede organ hasarına yol açmaları, gen tedavisi adayı olmaları, ve KİT'un terapötik rolü olması nedeniyle MKH tedavilerinden yararlanacak hastalıklar içinde başta gelmektedir. Türkiye'de akraba evlilikleri nedeniyle kalıtsal hastalıkların artmış sıklıkta görülmesi ülkemizde bu tip hücre tedavilere öncelik verilmesi gereğini düşündürmektedir. Halen, bu tür hastalıkların çoğunluğunda ilaçla tedavi şansı yoktur ve hemoglobino patiler dışındaki çoğu progresif seyirli hastalıkta KİT ile elde edilen sonuçlar yetersiz kalmaktadır. KİT uygulananlardan özellikle ciddi organ hasarı bulunanlarda (ör. Talasemi Class III) ise morbidite/ mortalite riski çok yüksek olduğundan alternatif tedavilere ihtiyaç vardır. Bu kapsamda MKH tedavilerinden beklenen başlıca yararlar; kemik iliği transplantasyonunda greft reddinin önlenmesi, GVHH önlenmesi, tedavisi ve altta yatan organ hasarlarının onarılması dolayısıyla KİT morbidite ve mortalitesinin azaltılmasıdır. Bu konu ile ilgili olarak, kalıtsal hastalıklarda mikroçevre defektlerinin (mezankimal kök hücre defektlerinin) araştırılarak MKH tedavilerine aday olacak hastalık gruplarının belirlenmesi ve daha ileri aşama için de GMP koşullarında laboratuvar kurularak hücre tedavisi yönelik girişimler başlatılmış; bu amaçla multidisipliner ekip kurulmuştur (Hacettepe yürütücülüğünde birkaç üniversite, devlet hastanesi ve sanayi kuruluşu katılımı ile ve Avrupa'dan iki merkez işbirliği ile). Kalıtsal hastalığı olan hastaların kemik iliğinden izole edilen ve in-vitro ortamda çoğaltılan MKH'lerin biyolojik özellikleri, fenotipi, farklılaşma kapasitesi, sekresyon profili ve moleküler özelliklerinin (pathway screening) dolayısıyla kemik iliği mikroçevresinin incelenmesi hedeflenmektedir. Böylelikle halen dünyada çok az araştırılmış ve hakkında çok az bilgi sahibi olunan mikroçevre defektlerinin tanımlanmasının hastalıkların tedavisinde MKH tedavilerini gündeme getirebileceği düşünülmektedir. Araştırmalar devam ederken de KİT hastalarında ve pediatri (kalıtsal hastalıklarda) mezankimal kök hücre kullanımına imkan verecek bir alt yapı (Pedi-stem) oluşturulması amaçlanmaktadır.

Referanslar:

- Anderson DJ, Gage FH, Weismann IL (2001) Can stem cells cross lineage boundaries? *Nat Med* 7:393-395.
- Baksh D, Song L, Tuan RS. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Mol Med*. 2004 Jul-Sep;8(3):301-16.
- Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HM (2000) From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 290:1775-1779.
- Chan J, O'Donoghue K, de la Fuente J, Roberts IA, Kumar S, Morgan JE, Fisk NM. Human fetal mesenchymal stem cells as vehicles for gene delivery. *Stem Cells*. 2005;23(1):93-102.
- Fatterman LG, Lemberg L. Cardiac repair with autologous bone marrow stem cells *Am J Crit Care*. 2004 Nov;13(6):512
- Horwitz EM. Bone marrow transplantation: it's not just about blood anymore! *Pediatr Transplant*. 2003;7 Suppl 3:56-8.
- Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, Koo WW, Pyritz RE, Brenner MK. Transplantation and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in children with osteogenesis imperfecta. *Nature Med*. 1999; 5: 309-13.
- Jiang, Y., Jahagirdar, B. N., Reinhardt, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. 2002; *Nature* 418, 41-49
- Kan I, Melamed E, Offen D. Integral therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells. *Curr Drug Targets*. 2005 Feb;6(1):31-41.
- Kassem M, Kristensen M, Abdallah BM. Mesenchymal stem cells: cell biology and potential use in therapy. *Basic and Clin. Pharmacol Toxicol*. 2004; 95: 209-14.
- Kawada H, Fujita J, Kinjo K, et al. Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood*. 2004 Dec 1;104(12):3581-7.
- Koc ON, Gerson SL, Cooper BW, Dyhouse SM, Haynesworth SE, Caplan AI, Lazarus HM. Rapid hematopoietic recovery after coinfusion of autologous-blood stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy. *Clin Oncol*. 2000 Jan;18(2):307-16.
- Koc O, Day J, Nieder M, Gerson SL, Lazarus HM, Krivit W. Allogeneic mesenchymal stem cell infusion for the treatment of metachromatic leukodystrophy (MLD) and Hurler syndrome (MPS-IH). *Bone Marrow Transplantation* 2002; 30: 215-22.
- Krivit W. Springer Semin Immunopathol. 2004 Nov;26(1-2):119-32. Allogeneic stem cell transplantation for the treatment of lysosomal and peroxisomal metabolic diseases)
- Lakshminath U, Verfaillie C. Stem cell plasticity. *Blood Rev*. 2005 Jan;19(1):29-38.
- Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, et al. Cotransplantation of HLA-Identical Sibling Culture-Expanded Mesenchymal Stem Cells and Hematopoietic Stem Cells in Hematologic Malignancy Patients. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005 May;11(5):389-98.
- Le Blanc K, Ringden O. Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005 May;11(5):321-34.
- Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Götherström C, Hassan M, Uzunel M, Ringden O Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *The Lancet* 2004; 363(1): 1439-41.
- Owen ME. The marrow stromal system. In *Marrow Stromal Cell Culture*. Eds. Beresford JN, Owen ME. 1-10, Cambridge Univ. Press, 1998.
- Phinney DG, Isakova I. Plasticity and therapeutic potential of mesenchymal stem cells in the nervous system. *Curr Pharm Des*. 2005;11(10):1255-65.
- Pomerantz J, Blau HM. Nuclear programming: A key to stem cell function in regenerative medicine. *Nature Cell Biol* 2004;6(9),810.
- Zipori D. Mesenchymal stem cells: harnessing cell plasticity to tissue and organ repair. *Blood Cells Mol Dis*. 2004 Nov-Dec;33(3):211-5.

MyoD Gen TRANSFERİ İLE OLGUN YAĞ DOKUSUNUN KAS DOKUSUNA FARKLILAŞTIRILMASI

ÇETİN KOCAEFE

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, ANKARA

kocaefe@hacettepe.edu.tr

Kronik kas hasarı gösteren patolojilerde doku yıkımı ile birlikte ortaya çıkan ve sağlıklı dokuda yer almayan iki önemli hücre tipi makrofajlar ve adipositlerdir. Dejenere kas dokusunu infiltire eden adipositlerin kökeni bilinmemektedir. Ancak bu hücrelerin kas dokusuna dönüştürülebilmeleri ile kontraktıl fonksiyonun artırılması sağlanabilir.

MyoD transkripsiyon faktörü hem kas embriyogenezinde hem de tamirinde rol oynayan bir farklılaşma faktörüdür. MyoD, fibroblast gibi plastik hücrelerde kas farklılaşma programını başlatabilmekte ancak farklılaşma programını tamamlamış adipositler gibi olgun hücreler üzerinde etkisi bilinmemektedir. Bu çalışmada, viral vektörlerle MyoD gen transferi ile olgun adipositlerde kas farklılaşma programını tetikleyerek miyogenezin fenotipik ve moleküler belirleyicilerini gözlemeyi amaçladık. Adenoviral MyoD viral vektörü ile, in vitro ve in vivo deneylerde, bu hücrelerin MyoD etkisi ile sitoplazmik yağ miktarlarını azalttıkları gözlenmiştir. Bu adipositlerde beklenmeyen morfolojik değişiklikler de gözlenmiştir: Yağ içeriğini azaltan adipositlerin zaman içinde yuvarlak şekillerini terk ederek limon benzeri şekil kazandıkları ve polarite geliştirdikleri anlaşılmıştır. Transdüksiyonun 15. gününden itibaren adipositler, polar uçlarından geliştirdikleri sitoplazmik uzantılar aracılığı ile birbirleri ve çevrelerindeki diğer hücrelerle füzyon geliştirmektedir. In vivo deneylerde MyoD transdüksiyonu sonrasında adiposit sitoplazmalarında yağ içeriği kaybını takiben miyojenik farklılaşma programına ait yapısal proteinler de gözlenmiştir.

Bu bulgular, MyoD transkripsiyonunun adipositlerde kas farklılaşma programını başlatabildiğini göstermiştir. Farklılaşma programını tamamlamış hücrelerin başka dokulara da dönüşebilme yeteneklerini koruduğunu göstermesi bakımından kök hücre kavramını da sorgulamaktadır. Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında deney hayvanlarında yağlı dejenerasyon modeli oluşturarak yağ dokusuna özgül ekspresyon vektörleri ile tedavi yaklaşımlarının denenmesi amaçlanmaktadır.

ÇERÇEVE PROGRAMLAR KAPSAMINDA SUNULACAK PROJELERDE DİKKAT EDİLECEK NOKTALAR

ASLI MORAL

Tubitak Avrupa Birliği 6. Çerçeve programı Ulusal Koordinasyon Böl. ANKARA

info@fp6.org.tr

Avrupa Birliği Çerçeve Programları kapsamında sunulan projeler AB Üye ve Aday Ülkelerindeki dağınık Ar-Ge potansiyelini bir araya toplamayı hedeflediği için uluslararası işbirliği özelliği taşımaktadır. Projeler farklı kültür ve dillere sahip ortakların bir araya gelerek oluşturdukları konsorsiyumlar ile Avrupa Komisyonuna İngilizce olarak sunulmakta ve Komisyonu'nun bilim ve teknoloji denetiminde bağımsız değerlendiriciler/hakemler tarafından değerlendirilmektedir. Bu nedenle proje teklifiniz Avrupa Araştırma Alanı'nın (European Research Area-ERA) ve AB'nin genel Ar-Ge hedeflerinin temel mantığını yansıtmalı, sadece sizin çalıştığınız bölge ile sınırlı kalmamalı ve Avrupa seviyesinde bir fikir ve Avrupa'ya katma değer sağlayacak bir çalışma olmalıdır.

Proje fikrinizin kurum/kuruluşunuz tarafından destekleniyor olması çalışmanız sırasında size kolaylık sağlayacaktır. Kontrat imzalandıktan sonra Komisyon'dan paranızın gelmesi 6-12 ay alabileceği için projelerinizin bu süre içerisinde kendini besleyebilmesi gerekmektedir. Söz konusu desteği de kurumunuz sağlayacağı için proje fikrinizin kurumunuz tarafından desteklenmesi önemlidir.

AB ile yapılacak böyle bir işbirliğinin, sizin projeniz için getirilerinin ne olacağına önceden karar vermeniz gerekmektedir. Yapacağınız çalışma gizlilik gerektiren bir çalışma ise (askeri projeler gibi) Çerçeve Program kapsamındaki bir ortak çalışma sizin için uygun olmayacaktır. Bu nedenle Çerçeve Programlara başvuru yapmadan önce projenizi yürütebilmek için kullanabileceğiniz başka kaynaklar olup olmadığını araştırmak gerekmektedir. Çerçeve Program projelerini kar amaçlı projeler olarak görmeyiniz, projede yer almak için gerçek amacınızı belirlemeniz gerekmektedir.

Teklifinizi hazırlamaya başlamadan önce proje fikrinizin Çerçeve Program kapsamındaki etkinlik alanlarından hangisine uygun olduğunu belirlemeniz gerekmektedir. Bunun için söz konusu etkinlik alanının çalışma programını detaylı olarak incelemeniz ve sizin konunuz ile ilgili açık bir çağrı olup olmadığını kontrol etmeniz gerekmektedir. Daha sonra seçtiğiniz etkinlik alanına ve çağrıya göre doğru uygulama aracını/proje tipini seçerek, bu alana özel değerlendirme kriterlerini de göz önünde tutarak projenizi hazırlayabilirsiniz.

Daha önce de belirttiğimiz gibi proje teklifinizi AB Üye ve Aday ülkelerinde sizinle aynı konuda çalışan üniversite, KOBİ ve araştırma merkezleri ile oluşturacağınız konsorsiyumlarla sunmanız gerekmektedir. Dolayısıyla ister koordinatör, ister ortak olarak görev alın projeniz için seçeceğiniz ortakların niteliği, projenin başarısı açısından çok önemlidir. Projeniz için doğru ortaklar bulmaya çalışın. Çerçeve Program projeleri üniversite-sanayi işbirliğini hedefler bu nedenle proje ortaklarınız arasında üniversite ve KOBİ'ler arasında dengeli bir dağılım olmalıdır. Ayrıca bayan araştırmacı sayısının fazla olması projeniz açısından çok önemli bir artı puan olacaktır.

Proje teklifinizin doğru adrese, tam ve zamanında ulaştırılması hayati önem taşımaktadır. Projeleriniz artık EPSS (Electronic Proposal Submission System) yolu ile sunulmaktadır. CORDIS veri tabanında sizin için açılan alanda dilediğiniz çalışmayı yapabilirsiniz. Sistem çok dolu olacağı için yığılmaları da göz önüne alarak projenizi sunmayı son ana bırakmayınız.

CORDIS'ten proje sunacağınız alanda daha önceden verilmiş projeleri kontrol ediniz. Benzer projelerin daha önceden desteklenip desteklenmediğini sürekli olarak takip ediniz. Önemli olan "farklılık yaratabilmek, yenilikçi olabilmek"tir. Araştırma değil, geliştirme üzerine yoğunlaşmış bir proje maalesef ki Komisyon'dan destek alamayacaktır. Politik olarak doğru olabilecek uygulamaları tercih edin. Avrupa Komisyonu sizin çalıştığınız konuda nasıl bir politika izliyor, bu konuyla ilgili bundan önce neler yapmış, hangi kararları almış, bundan sonra nereye ulaşmak istiyor ve siz bu

resimde nerede yer alıyorsunuz, buradaki hangi boşluğu nasıl kapatabilirsiniz, Komisyon'un ve o senenin öncelikleri ile sizin öncelikleriniz birbirini tutuyor mu? gibi soruların cevabını vermeniz gerekmektedir.

Dışarıdan birine projenizi yazdırmak istiyorsanız eğer iyi derecede İngilizce bilen, ÇP'ye proje yazma deneyimine sahip, tercihen değerlendiricilik/hakemlik deneyimi olan, ilgili bazı teknik konularla bilgiye sahip, titiz ve düzenli, proje yönetme yeteneğine sahip, Brüksel'de kilit kişilerle kişisel bağlantıları olan, size yardımcı olacak ancak sizinle işbirliği halinde olan bir danışman olmalıdır.

Proje yönetimi ve planlanması çok önemlidir. Proje sonuçlarını nasıl uygulayacağınız nerede ve nasıl kullanacağınızı baştan ayrıntılı bir şekilde planlamanız ve açık, az ve öz bir üslupla yazmanız gerekmektedir. Uygun bir yönetim yapısı ve süreçleri, proje izleme ve kontrol yöntemleri, karar alma mekanizmaları, teknik yönetim ve uygulama yönetiminden oluşur. İyi bir iş planında bulunması gerekenler ise iş paketleri, kilometre taşları, çıktılar ve şemalardır.

Gerekenleri açıkca ve net bir şekilde söyleyerek gereksiz laf kalabalığından kaçınınız. Hakemlere konuyu öğretmeye çalışmak yerine aradıkları bilgiyi direk verin. Onlar zaten o konuda uzman kişiler. Sayfa sayısını limitlerini çok aşmayın. Gerekli ek bilgileri proje sonunda eklerde (annex) verin. Projeniz iyi yapılandırılmış, rahat okunan bir metin olmalıdır. Önemli noktaları yan yazarak belirtin. Sadece ilgili bilgileri ekleyin. Grafikler kullanarak görünüş olarak etkili bir hale getirin. Unutmayın en önemli ürününüzü satışa sunuyorsunuz. Vitrininiz gösterişli olmalı. UIN'den ya da AB Bilgi Masası'ndan projenizi sunmadan önce yardım alınız ve onları projeniz ile ilgili olarak bilgilendirin. Meslektaşlarınıza veya daha önceden hakemlik yapmış uzmanlara proje teklifinizi gösterin. Son teslim tarihinden önce proje teklifiniz tamamlayın.

Bütçe hesabı yapılırken tüm teklifler için, Brüksel ya da Lüksemburg'a en az 1 seyahat masrafı gözden kaçırılmamalı. Çağrının toplam bütçesi ile doğru orantılı gerçekçi bir maliyet çıkarılmalıdır.

Güçlü bir proje başlığı ve proje özeti yazın. A1 formundaki proje özeti projenin hedeflerini, sonuçlarını, Ar-Ge yaklaşımını, ortaklıkları, sonuçların faydasını ve yayılımını anlatmalıdır.

Sonuç olarak, fazla abartılı, gerçekçi olmayan, açık ve net ifadeler içermeyen; çalışma programı ve çağrıya uygun olmayan; çalışılan konuya hiç bir yenilik getirmeyen; hedefleri, methodları ve yaklaşımları açık olmayan; açık ve ölçülebilir sonuçlara sahip olmayan; yaygınlık etkisi olmayan; tamamlayıcı olmayan; gerçekçi olmayan maliyet tahminlerine sahip; dengesiz bir konsorsiyuma ve yetersiz proje ortaklarına sahip; yönetim yapısı ve süreçleri uygun olmayan projeler Avrupa Birliği Çerçeve Programları'ndan destek almaları mümkün değildir.



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

IV POSTER BİLDİRİLER



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

KANSER

METİLKOLANTREN VE BUTİLENMİŞ HİDROKSİTOLUEN İLE İNDÜKLENMİŞ RAT AKCİĞER DOKUSUNDA P53 GENİ EKSON-8'İN OLASI ROLÜ

İ. SEZGİN², **A. ÇOLAK**¹, M. R. DEMİRKOL²

¹Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

²Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı SİVAS

Bu çalışmada, 3-Metilkolantren (3-MCA) ve Butillenmiş Hidroksitoluen (BHT)'nin rat akciğer dokusunda mutajenik etkisi incelenmiştir. Bu amaç için bir grup rata (*Rattus norvegicus wistar albino*) bir kanser indükleyici ajan olan 3-MCA haftada bir kez 40 mg/kg olmak üzere altı hafta ile verilmiş, ikinci grup rata antioksidan olan BHT 200mg/kg haftada bir kez olmak üzere yine altı hafta verilmiştir. Üçüncü grup rata ise tek doz 40mg/kg 3-MCA ve sonra BHT 200 mg/kg intraperitoneal yolla altı hafta süre ile verilerek, 26 hafta sonra ratlar öldürülerek genomik DNA izolasyonu ve gen tipini belirlemek için akciğer dokusu alınmıştır. Ayrıca diğer bir grup da kontrol olarak kullanılmıştır. P53 geninin ekson-8'nin mutasyon analizi için PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) - SSCP (tek zincir konformasyon polimorfizmi) temel yöntemi uygulanmıştır. Olası tumor lezyonları için dokular radyolojik ve sintigrafik olarak da değerlendirilmiştir. Sonuçta yapılan incelemede hem bütün deney gruplarında hem de kontrol grubu ratlarda histolojik olarak tumor saptanamamıştır. Yüksek doz 3-MCA uygulanan grupta enjeksiyon bölgesinde %55.55 oranında malign sarkom belirlenmiştir. Yine deney ve kontrol gruplarında yapılan genotip analizlerde ne tümöre ve ne de mutasyona rastlanamamıştır.

OVARYUM KANSERİ VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-1 PROMOTÖR BÖLGE POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

E.DİKER¹, M.ÖZTÜRK¹, M. ARVAS², P. ÇAĞATAY³, D. KÖSEBAY²

¹ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, ² Kadın Hastalıkları ve Doğum AD- Jinekolojik Onkoloji BD, ³ Biyoistatistik Bilim Dalı, İstanbul.

ebrudiker@hotmail.com

Matriks metalloproteinazları (MMP), hücrelerarası matriksi yıkan proteolitik enzimlerin oluşturduğu bir ailedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, MMP'lerin insanda birçok tümör tipinde aşırı olarak eksprese edildiğini göstermiştir. Bu çalışmada MMP-1 promotör polimorfizmi ile ovaryum kanseri arasındaki ilişki araştırıldı.

Çalışma olguları, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Jinekolojik Onkoloji Bilim Dalı'na başvurup, klinik ve patolojik olarak ovaryum kanseri teşhisi konulan 42 hastadan ve yaş bakımından hasta grubuna uygunluk gösteren 43 sağlıklı bireyden alınan kan örneklerinden oluşturuldu. MMP-1 promotör polimorfizmi PZR ve RFLP teknikleri kullanılarak araştırıldı.

Genotipler ovaryum kanserli grupta 2G/2G %78.6 ; 2G/G % 21.4 ; G/G % 0 , kontrol grubunda ise 2G/2G %79.1 ; 2G/G % 20.9 ; G/G % 0 olarak belirlendi. Hastalar ve kontroller genotiplerine göre karşılaştırıldıklarında genotip dağılımlarının anlamlı bir fark göstermediği tespit edildi (p>0.05). Çalışılan hasta ve kontrol gruplarındaki 2G allel sıklığı incelendiğinde, sağlıklı bireylerde %89.5, ovaryum kanserli bireylerde %89.3 olarak bulundu. Ayrıca tümör histopatolojik tiplerinde MMP-1 promotör polimorfizmi dağılımları tespit edildi. İnvazif ve invazif olmayan grup, ayrıca ileri evre ve erken evre karşılaştırıldığında, MMP-1 polimorfizmi genotipleri açısından aralarında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Bulgular Türk toplumunda MMP-1 promotör polimorfizmi ile ovaryum kanseri gelişimi ve yayılımı arasında bir ilişki olmadığını göstermektedir. Genotip dağılımlarının daha fazla sayıdaki gruplarda incelenmesi ilişkinin tam olarak açığa çıkarılabilmesine yardımcı olacaktır.

RESVERATROLÜN İNSAN EPİDERMOİD LARENKS KANSERİ HÜCRE DİZİSİ (HEP-2) ÜZERİNDEKİ APOPTOTİK ETKİSİ

E. YURTCU¹, D. TÜRKMEN², M.A. ERGUN³, A. MENEVŞE²

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hematoloji Laboratuvarı

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara

e-mail:erkan_yurtcu@yahoo.com

Resveratrol ilk kez Japonlar tarafından Polygonum cuspidatum bitkisinde belirlenmiştir. Resveratrolün, programlanmış hücre olarak da tanımlanan apoptozisi uyardığı, çeşitli hücre serilerinde gösterilmiştir. Apoptozis çeşitli yollarla gösterilebilir. Bu yollardan birisi de apoptotik hücrelerin DNA'sında görülen tipik ladder patternin elektroforezde gösterilmesidir. Bu çalışmada, resveratrolün insan epidermal larinks karsinoma hücre serisinde (HEp-2) apoptoz üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

HEp-2 hücreleri 6'lı kültür kaplarında, herbiri için hücre sayısı 1105'e ulaşıncaya kadar 37 C'de %5 CO₂'li nemlendirilmiş inkübatör içerisinde inkübe edilmiş ve resveratrol final konsantrasyonu 2 ml'de 25, 50, 75, 100 ve 150 M olacak şekilde kültür ortamına eklenmiştir. Daha sonra hücreler 6, 12 ve 24 saatlik sürelerde inkübe edildikten sonra hücre morfolojilerinin değerlendirilmiştir. Hep-2 hücre serisinde resveratrolün uyardığı apoptozis DNA fragmentasyonu metoduyla araştırılmıştır.

Hücrelerde en yüksek apoptozis oranı % 31,33 olarak, 24 saat 100 µM resveratrol uygulaması sonucu gözlenmiştir. Inkübasyon sürelerinin tümünde 25 ve 150 µM resveratrol konsantrasyonlarındaki apoptozis oranları diğerlerine kıyasla düşük bulunmuştur. Test edilen tüm süreler için apoptozis oranlarının en yüksek seviyede gözlemlendiği konsantrasyon değerlerinin 100 µM'lar olduğu belirlenmiştir. 100 µM'a kadar, artan resveratrol konsantrasyonuna bağlı olarak apoptozis oranlarında da artış olduğu belirlenmiştir.

Resveratrolün, doza bağlı olarak Hep-2 hücre serisinde apoptozisi uyardığının gösterilmesi, kanser tedavisine yönelik klinik yaklaşımlara katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

KARACİĞER KANSERİ HÜCRELERİNDE GRB-2 ADAPTÖR PROTEİN İNHİBİSYONUNUN HGF İLE UYARILAN PROTEİN-PROTEİN ETKİLEŞİMLERİNE ETKİSİNİN T7 FAJ SUNUMU YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

G. BULUT, N. ATABEY

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, Inciraltı, İZMİR

gulay.bulut@deu.edu.tr

Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF), embriyogenez, doku rejenerasyonu, karsinogenez ve anjiogenez gibi karmaşık birçok biyolojik olayda önemli rolü olan pleotrofik etkili bir büyüme faktörüdür. Bu etkilerini, transmembranal reseptör tirozin kinaz olan reseptörü c-Met aracılığı ile gerçekleştirmektedir. Daha önceki çalışmalarımızda c-Met reseptöründeki çoklu bağlanma bölgesine (MDS) Grb2 adaptör proteininin bağlanmasını engelleyen Grb2 inhibitör moleküllerin varlığında, HGF/c-Met yolağının etkilendiğini, özellikle HGF stimüle hücre motilitesi, invazyon, dallanma morfogenezini ve anjiogenezini blokladığını ancak hücre mitojenitesini etkilemediğini tanımlamıştık.

Bu çalışmada, Grb2 inhibitörlerine bağlı olarak baskılanan hücresel yanıtlardaki bloklanmanın hangi mekanizma ile gerçekleştiğini saptayabilmek için c-Met multisubstrat bağlama domaini üzerinden gerçekleşen protein-protein etkileşimlerinin tanımlanması amaçlandı. Bu amaçla karaciğer karsinoma hücre dizisi Huh7 hücrelerinden Grb2 inhibitörü (16 saat, 1µM) muamelesi ve HGF (40 ng/ml) uyarımı sonrasında cDNA kütüphanesi hazırlandı. Kütüphane üyeleri c-Met'in MDS bölgesini temsil eden P1356, FIGEH {pTYR} VHVNA ve P1349, HVNAT {pTYR} VNVKC sentetik peptid dizilerinin hedef olarak kullanıldığı T7 cDNA faj sunumu deney sisteminde tarandı. Hedef dizilere bağlandığı belirlenen pozitif klonlar Koloni-PCR ile çoğaltıldı ve DNA dizi analizi ile hedef proteinlerin DNA dizileri belirlendi. Bu dizilerin ait olduğu proteinler BLAST ve EXPASY programları ile tanımlandı.

Analiz edilen 1300 protein arasında SH2 ve PTB bölgeleri aracılığı ile hedef dizilerimize bağlandığı düşünülen sekiz aday protein tanımlandı. Bu aday proteinlerden yedisinin transkripsiyonel analizi devam etmekte olup bir tanesinin transkripsiyonunun Grb2 inhibitörü ve HGF varlığında değiştiği RT-PCR ile doğrulandı.

HCC gelişimindeki rolleri tam olarak bilinmeyen, HGF/c-Met yolağındaki rolleri henüz tanımlanmamış bu aday proteinlerin, HGF tarafından uyarılan hücre motilitesi, invazyonu ve anjiogenez gibi biyolojik süreçlerde rol oynayabilecekleri ve gelecekte önemli tedavi hedefleri olabilecekleri düşünülmektedir. Aday proteinlerin bu yolaktaki biyolojik önemlerine yönelik fonksiyonel analizlerimiz devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: HGF, c-Met, Grb2 SH2 inhibitör, faj sunumu, cDNA kütüphanesi, HCC, sinyal iletimi

Not: Bu çalışma DEÜ Bilimsel Araştırmaları Destekleme Fonu (02.KB.SAG.010) ve TUBİTAK (SBAG 2778) tarafından desteklenmiştir. Grb2 inhibitörlerini sağladıkları için NIH, NCI dan Dr. T.Burke ve Dr. DP. Bottaro'ya teşekkür ederiz.

MEME KARSİNOMLARINDA POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU VE ENZİM KESİMİ İLE p53 GEN MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI VE DOKUDA İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK p53 PROTEİNİNİN GÖSTERİLMESİ*

M. AYDIN ÖZGÜR¹, H. ŞAMLI¹, M. SOLAK¹, H. DİLEK²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, AFYON

Amaç: Tümör supressör genlerden olan ve kanser oluşumunda etkili olan genlerin başında p53 gelmektedir. p53 meme kanserinin gelişiminde oldukça etkilidir. Bu yüzden, p53 gen mutasyonlarının tespitinin hastalığın takibinde ve erken tanısında önemli bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda, meme kanserlerinde p53 genindeki ekson 5 ve 7'ye ait mutasyonların görülme sıklığının ve immunohistokimyasal yöntem ile p53 protein üretim oranının tespitini amaçladık.

Materyal-Metod: Çalışmamızda meme kanseri tanısı konmuş olan olgulara ait parafine gömülü tümör dokularından “ksilen-tuzla uzaklaştırma” yöntemiyle DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA'lardan p53 geninin 5. ve 7. eksonları PCR ile amplifiye edildi. PCR ürünleri kullanılarak 5. eksonda yer alan 175. kodon HaeII ve 7. eksonda yer alan 249. kodon HaeIII enzimleri kullanılarak enzim kesimi yapıldı. Ayrıca belirlenen hastalara ait doku kesitlerine immunohistokimyasal yöntem ile p53 antikoruna uygulandı. Bunun sonucunda p53 pozitifliği ile meme kanseri arasındaki ilişkiye bakıldı.

Bulgular: Çalışma sonunda 20 olguya ait p53 genindeki ekson 5 ve 7'ye ait mutasyon oranı toplam %30 olarak bulundu. Ekson 5'e ait mutasyon oranı %20 ve ekson 7'ye ait mutasyon oranı %11,8 olarak tespit edildi. Aynı örneklerle immunohistokimyasal yöntem ile p53 antikoruna uygulandı. Boyanma sonrasında 4(%20) olguya ait örnekte %90 ve üzeri, 1(%5) olguda %3, 2(%10) olguda %1 ve 2(%10) olguda %0,5 p53 protein pozitifliğinin varlığı tespit edildi. Olguların 11(%55) tanesinde p53 protein varlığı gözlenmedi.

Sonuç olarak mutasyonların her zaman protein ekspresyonuna yansımayacağı göz önünde bulundurularak p53 geni mutasyon taramaları için gen analizi yapmanın daha sağlıklı olacağı kanısına varılmıştır.

*Bu çalışma Yüksek Lisans Tezi olarak yapılmıştır.

AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA GSTM1 VE GSTT1 POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

N. BUYRU, J. ALTINIŞIK, T. ULUTİN

İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı İSTANBUL

Glutasyon S-transferazlar; 7 grupta toplanmış bir izoenzim ailesidir, bu izoenzimlerden iki tanesinin insanlarda genetik polimorfizm gösterdiği bilinmektedir. GSTT1 ve GSTM1 gen delesyonuna sahip bireylerin, akciğer, meme, kolon, larinks, idrar kesesi, deri kanserlerine eğilimlerinin arttığı ve anormal karaciğer fonksiyonlarına sahip oldukları bildirilmiştir

GSTM1 geninin homozigot delesyonunun bazı akciğer kanseri tiplerinin gelişimi ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca mesane kanseri gelişimi, cilt kanseri, mide ve kolonun adeno karsinoması ve hipofizer adenomlarla da ilişkisi olduğunu gösteren pek çok çalışma vardır. Akciğer ve mesane kanserlerinin %17'sinin nedeni GSTM 1 eksikliği ile açıklanmaktadır.

Akciğer kanseri tanısı konmuş 94 hasta ve 32 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubuna ait kan örneklerinden genomik DNA izolasyonunu takiben polimeraz zincir reaksiyon yöntemi ile GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmleri araştırıldı. GSTM1 açısından 94 hastanın 29'unda (%30.85) ve 32 sağlıklı bireyin 5'inde (%15.6) delesyon saptanırken 65 hastada (%69.14) ve 27 sağlıklı bireyde (%84.37) delesyon gözlenmedi. 72 hasta (%76.59) ve 24 sağlıklı kişide (%75) GSTT1 açısından delesyon gözlenmezken, 22 hasta (%23.40) ve 8 sağlıklı bireyde (%25) delesyon saptandı.

KRONİK MYELOSİTER LÖSEMİ'DE HERPES SİMPLEX VİRÜS İNFEKSİYONU

F. ŞAHİN¹, M. TASPINAR², D. KARASARTOVA¹, D. GERÇEKER¹, A. SUNGUROĞLU²

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji A.D. ANKARA

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D. ANKARA

AMAÇ: Kronik Myelositer Lösemi(KML), matür myeloid hücrelerin aşırı proliferasyonu ile kendini gösteren bir lösemi tipidir. Enfeksiyon etmenleri tüm kanser vakalarının %20'sinden sorumlu tutulmaktadır. Son yıllarda, diğer bir çok kanser türünde olduğu gibi KML etiyolojisi ve patogeneğinde de virüslerin rollerinin araştırılması önem kazanmıştır. Bu çalışmada, KML ile Herpes Simplex Virüs 1 ve 2 (HSV1/2) arasındaki epidemiyolojik ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD: KML tanısı konmuş 70 hastanın periferik kanından DNA'lar izole edilmiştir. HSV1 ve HSV 2 DNA polimeraz genine spesifik primerler kullanarak PZR tekniği ile HSV1 ve HSV2 gen varlığı izole hasta DNA'larında araştırılmıştır. Elde edilen PZR ürünleri %1,5'lik agaroz jelde yürütülerek, PZR ürünleri görüntülenmiştir.

BULGULAR: Değerlendirilen 70 KML hastasının 5'inde(%7,14) HSV1 DNA'sı saptanmıştır. Ancak, bu hasta grubunda HSV2 DNA'sı saptanmamıştır. Çalışmamızın devamında HSV1 pozitif çıkan hastaların PZR ürünleri PZR klonlama vektörlerine klonlanıp DNA dizi analizi işlemleri yapılarak HSV1 DNA varlığı doğrulanacaktır.

1 MEME KANSERİNDE HER 2 PROTOONKOGENİ VE HER 2 ÖLÇÜMÜNDE FISH YÖNTEMİNİN İHC İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Y.KILIÇ¹, S.CİNGÖZ¹, O.ALTUNGÖZ¹, T.CANDA², M.SAKIZLI¹

¹DEÜTF Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD

²DEÜTF Patoloji AD İZMİR

yalin.kilic@deu.edu.tr

Giriş: HER2/neu veya c-erbB-2 olarak da isimlendirilen İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (HER2) protoonkogeni HER2 reseptör proteinini kodlar. HER2 ekspresyon artışı, her yıl bildirilen 30.000'den fazla yeni vaka ile ülkemizde de kadınlar arasında en sık görülen malignan hastalık olan meme kanseri hastalarının yaklaşık %25'inde görülmektedir. Meme kanseri tedavisinde anahtar rol oynayan HER2 ölçümleri için imünohistokimyasal teknik (IHC) veya floresan in situ hibridizasyon (FISH) kullanılmaktadır.

Olgular ve Yöntem: Bu uyumu değerlendirmek açısından Aralık 2003 - Ekim 2005 arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Polikliniğinde izlenen ve kemoterapi alan 27 hastanın 20'sinin formalinde sabitlenmiş, parafin içindeki dokularından yapılan FISH, IHC sonuçları ile karşılaştırıldı. IHC için proteine özgün antikorlar yolu ile çalışan DAKO HercepTest® kullanıldı ve test sonuçları boyanma kuvveti ve hücre membranı boyanması bütünlüğüne göre 0, 1+, 2+, 3+ şeklinde puanlandırıldı. Pozitif sonuç alan hastaların FISH çalışması ise Vysis PathVysion® kullanılarak yapıldı. Ekstra kromozom kopyalarını saptayabilmek için 17. kromozomun sentromerine özgün CEP17 probunu kontrol olarak kullanan teste farklı renk floresanlarla işaretli HER2 sinyallerinin sayısının CEP17 sinyallerinin sayısına oranı alınarak değerlendirildi. 2.0 altı oranlar normal (FISH) olarak kabul edilirken 2.0 ve üstü oranlar HER2 amplifikasyonu (FISH+) olarak kabul edildi.

Bulgular: Parafine gömülü 20 dokudan yapılan FISH, IHC sonuçları ile karşılaştırıldı. Hastaların önemli bölümünü invazif duktal ca(%50) ve invazif lobüler ca(%25) oluşturmaktaydı. Hastaların %100'ü dişi idi. Çalışmada IHC sonuçları ve FISH(+) oranları sırasıyla; 1+, %0; 2+, %67; 3+, %57 şeklinde saptanmıştır.

Sonuç: Saklanmış spesimenlerde DNA molekülü, proteinlerden daha kararlı olduğu için, FISH yöntemi IHC tekniğinde doku sabitleme aşamasının sonucu olarak ortaya çıkabilecek bazı yanlış sınıflandırma hatalarının engellenmesinde yardımcı olacaktır. HER2 incelemesinin sadece IHC kullanılarak yapılması durumunda hastaların %37'sinin önerilen Trastuzumab tedavisi gereksiz yere alacağı gözlenmektedir.

MEME TÜMÖRÜ DNA, RNA VE PROTEİN BANKASININ VE KLİNİK VERİ TABANININ OLUŞTURULMASI

A.ÇAVUŞOĞLU¹, DEÜ MEME TÜMÖR GRUBU², M.SAKIZLI³, G.GÜNER⁴, A.SEVİNÇ⁵, T.EKİCİ⁵, B.AYDOĞAN⁵, Y.KILIÇ³, S.KIZILDAĞ³

¹DEÜ Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji AD - SB İzmir Eğitim Hastanesi Biyokimya Bölümü

²Mehmet Alakavuklar (Klinik Onkoloji AD), Serdar Saydam, Ömer Harmancıoğlu, Mehmet Ali Koçdor (Genel Cerrahi AD), Tülay Canda (Patoloji AD), Münir Kınay, Hilmi Alanyalı, İlknur Görken (Radyasyon Onkolojisi AD), Pınar Balcı (Radyodiyagnostik AD), Binnaz Demirkan (İç Hastalıkları AD)

³DEÜTF Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD

⁴DEÜTF Biyokimya AD

⁵DEÜTF Genel Cerrahi AD İZMİR

aydanc@hotmail.com, yalin.kilic@deu.edu.tr

Giriş: Son on yıldır her geçen gün birçok ülkede içerdiği örneklerin fazlalığı, bunlardan yapılan araştırmaların bilimsel değerini arttırması ve elde edilen verilerin uygulama alanlarının teknolojik ilerleme ile birlikte sürekli genişlemesiyle, DNA bankalarının sayıları artmaya başlamıştır.

Bu proje ile Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF)'nde meme tümörlü olguların kan ve ameliyat materyallerinden elde edilecek DNA/RNA/protein bankası ve klinik veri tabanlarının oluşturulması amaçlanmıştır. DEÜ Meme Tümör Grubu tarafından izlenen olgulardan oluşturulan bu banka; meme kanseri biyolojisi ve kanser moleküler genetiği üzerine yapılacak olan araştırmalar için iyi bir kaynak oluştururken, ulusal gen bilgilerimizin derlenmesi ile patentli ürünlerin ve verilerin eldesi mümkün olacaktır.

Olgular ve Yöntem: DEÜ Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda meme kanseri tanısı ile opere edilen ve DEÜ Meme Konseyi tarafından takipleri yapılan gönüllü olgular çalışmaya dahil edilmektedir. Proje, İnsan Genetiği Avrupa Topluluğu'nun (ESHG) biyomedikal araştırmalarda DNA'nın bankalanması ve verilerin saklanması esaslarına göre oluşturuldu. Cerrahi dokunun çıkarılmasının hemen ardından patolojik incelemesi yapılan taze dokudan alınan tümör ve çevresindeki normal doku, optimum izolasyon sağlayacak şekilde sıvı azot içerisinde şok dondurma işleminden geçirilip izolasyon anına kadar -80°C'de saklanmaktadır. Bu dokuların lizatından DNA, RNA ve protein ve ayrıca EDTA'lı tüpe alınan kandan da DNA ve RNA'sı izole edilmekte, kodları verilmekte ve porsiyonize edilip -80 °C'de depolanmaktadır. Ayrıca oluşturulan veri tabanında her bir olgunun; Demografik verileri, Aile öyküsü, Tümörün histopatolojik tanısı, Tümörün büyüklüğü, evre ve derecesi, Lenf nodlarının durumu, Östrojen ve progesteron reseptörü seviyesi, HER2 ekspresyonu ve amplifikasyonu (İmmunhistokimya ve FISH), Ultrason ve mammografi raporları, Tedavi ve izlem notları bulunmaktadır.

Sonuç: Halen devam eden çalışmada protokollerin, yöntemlerin standardizasyonun ardından 31.8.2005 tarihine kadar farklı klinik evre ve patolojik tanıya sahip 26 olgunun genetik materyali izole edilip, 12-40 adet arası porsiyonize edilmiş ve kodlanmıştır.

KML ve ALL OLGULARINDA REAL TIME PCR ile KİMERİK GENLERİN SAPTANMASI

Ö.ŞİMŞEK, S.KIZILDAĞ, H.O.SERCAN, M.SAKIZLI

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

Anabilim Dalımız 1998'den beri Hematolojik malinitelerde (KML ve ALL) moleküler genetik rutin hizmeti vermektedir. KML (Kronik Myeloid Lösemi) ve ALL (Akut lenfositik lösemi) hastalarında kromozomal translokasyonlar sonrası oluşan gen yeniden düzenlenmelerine bağlı olarak ortaya çıkan kimerik gen ürünleri, RT-PCR yöntemi ile saptanmaktadır. Bugüne kadar 316 KML ve 352 ALL tanılı olmak üzere toplam 668 hastaya bu konuda hizmet verilmiştir.

KML hastalarında BCR/ABL t(9;22)(q34;q11) P210kDa ürün veren mRNA ; ALL hastalarında BCR/ABL t(9;22)(q34;q11) P190kDa ürün veren mRNA, MLL/AF4 t(4;11)(q21;q23), TEL/AML t(12;21)(p13;q22) kimerik gen mRNA ürünlerinin varlığı RT-PCR ile tespit edilmektedir. 1998-2003 yılları arasında tanımlanan analizler için klasik RT-PCR yöntemi uygulanırken 2003 yılından bu yana rutin hizmet kapsamında real time RT-PCR kullanılmaya başlanmıştır. Bir yıl boyunca iki yöntem paralel olarak kullanılmıştır, bu süreçte sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu tespit edilmiştir. 2004 yılından bu yana tanımlanan mRNA analizlerinde Real-Time PCR kullanılmaktadır. Kromozomal translokasyonların belirlenmesinde sitogenetik analiz altın standart olarak kullanılsa da, RT-PCR ile daha az başlangıç materyali ile sonuca varılabilir olması, hastalara daha kısa sürede sonuç verilebilmesi hastalığın tanısının konması, tedavi sürecinin takibi açısından oldukça önemlidir.

Bugün için Real time PCR tekniği temel olarak klasik PCR yöntemini kullanmakla beraber gelişen teknolojilerin yansımasıyla daha hızlı, yüksek spesifiteye ve sensitiviteye sahip, daha az hasta materyali gerektiren ve prob kullanma avantajlarıyla daha güvenilir sonuçların alınmasını sağlamaktadır.

SARIMSAĞIN BCR-ABL (+) FARE MYELOİD HÜCRE SERİSİ ÜZERİNDEKİ ANTİPROLİFERATİF VE APOPTOTİK ETKİSİ

G.GÜMÜŞ AKAY¹, P.ÖZKAL¹, N.VAROL¹, D.AKÇORA¹, B.ALTINOK¹, İ.DURAK², A.SUNGUROĞLU¹

¹ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D.,

² Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D., ANKARA

AMAÇ: Sarımsak (*Allium sativum*) yüzyıllardır gerek yemeklere lezzet katmak gerekse çeşitli hastalıkları tedavi etmek amacıyla kullanılan bir bitkidir. Epidemiyolojik çalışmalar artan sarımsak tüketimine bağlı olarak kanser insidansında azalma olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada sarımsağın 32Dp210 (BCR-ABL füzyon geni taşıyan fare myeloid hücre serisi) ve 32D (yaban tip fare myeloid hücre serisi) hücre serileri üzerindeki antiproliferatif ve apoptotik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD: Hücre serilerinin kültürü için, % 20 FCS içeren RPMI 1640 besiyeri kullanılmıştır. Hücreler final konsantrasyonu %1 (w/v) ve %0,4 (w/v) olacak şekilde sarımsak ekstresi ile 0, 24, 48 ve 72 saat muamele edilmiştir. Hücre proliferasyonu oranı belirtilen sürelerde MTT testi ile saptanmış ve ışık mikroskopunda değerlendirilen 1000 hücrede apoptotik hücre oranı hesaplanmıştır.

BULGULAR: Sarımsağın farklı iki konsantrasyonunun da her iki hücre serisi üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği saptanmıştır. Sarımsağın hücreler üzerindeki apoptotik etkisine bakıldığında en etkili konsantrasyonun %0,4 (w/v) olduğu belirlenmiştir ve bu konsantrasyonun 32Dp210 hücrelerini yaban tip hücrelere oranla 24. ve 48. saatte apoptoza daha fazla indüklediği gösterilmiştir ($p<0.001$). Aynı konsantrasyonda apoptotik hücre oranı bakımından 72. saat için iki hücre serisi arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Ayrıca sarımsağın [%0,4 (w/v)] her iki hücre serisinde akut apoptotik etkisini 24. saatte gösterdiği ve bu etkinin 48. ve 72. saatte gerilediği saptanmıştır.

İLERİ EVRE PROSTAT KARSİNOMA'DA YALANCI RESEPTÖR GEN EKSPRESYONU, TRAIL DİRENÇLİLİĞİNİN ORTAYA ÇIKMASINDA ÖNEMLİ BİR FAKTÖRDÜR

AD.ŞANLIOĞLU^{1,2}, İT.KÖKSAL^{1,3}, B.KARAÇAY^{1,4}, M.BAYKARA^{1,3}, G.LÜLECİ^{1,2},
S.ŞANLIOĞLU^{1,2}

¹ Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gen Tedavi Ünitesi,

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

³ Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, ANTALYA

⁴ Iowa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Departmanı, Iowa, USA

Amaç: Adenovirus aracılı TRAIL gen transferini içeren yaklaşımlar, ileri evre prostat kanserinin tedavisinde ümit verici potansiyel tedavi metodlarıdır. Ancak, bazı prostat kanseri hücre hatlarında gözlenen TRAIL dirençliliği, TRAIL'ın kanser gen tedavisinde kullanım potansiyelini sınırlamaktadır. Bu nedenle, TRAIL' a dirençlilik mekanizmalarının araştırılması, ileri evre prostat kanserli hastalar için yeni ve etkin tedavi metodlarının geliştirebilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Daha önceki deneylerimizde, farklı seviyelerde TRAIL dirençliliği gösteren üç farklı ileri evre prostat kanseri hücre hattında (DU145, LNCaP, PC3) yüksek seviyede bazal ve TRAIL aracılığıyla indüklenen NF-kB aktivitesi gözledik. Ayrıca, IKKbeta'nın dominant negatif mutantını (AdIKKbetaKA) ve insan TRAIL proteinini (hTRAIL) kodlayan adenovirüslerin kullanıldığı ikili bir vektör sisteminin prostat kanser hücrelerini TRAIL aracılı apoptozise duyarlı hale getirdiğini gösterdik. Bu çalışmamızda, TRAIL reseptör kompozisyonlarının prostat kanseri hücrelerinde TRAIL dirençliliğinin ortaya çıkmasındaki potansiyel rolünü araştırdık.

Materyal ve Metod: Prostat kanseri hücrelerinde TRAIL reseptör gen ekspresyonları, transkript düzeyinde Real Time RT-PCR ile ve protein düzeyinde Flow Sitometri ile belirlendi.

Bulgular: TRAIL'a dirençli DU145 ve LNCaP hücreleri ile TRAIL'a duyarlı PC3 hücrelerinde, TRAIL reseptörlerinin ekspresyon profilleri açısından önemli farklılıklar gözlemlendi. Özellikle, TRAIL'a dirençlilikte rol oynayabilecek önemli bir faktör olan TRAIL yalancı reseptör 4'ün (TRAIL-R4) DU145 ve LNCaP hücrelerinde yüksek oranda eksprese edildiği, PC3 hücrelerinde ise hücre yüzeyinde eksprese edilmediği belirlendi.

Sonuç: Sonuçlarımıza göre, hücre içi NF-kB aktivitesi yanında TRAIL yalancı reseptör gen kompozisyonu da, prostat kanseri hücrelerinde TRAIL dirençliliğine katkıda bulunan önemli bir faktördür.

"IMATINIB MESYLATE" TEDAVİSİ GÖREN KML OLGULARINDA ARTMIŞ TRİZOMİ 8 SIKLIĞI VE KLİNİK ETKİSİ

Y. TUNCA¹, Ş. GÜRAN²

GATA, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik BD¹,
Tıbbi Biyoloji AD² ANKARA

Son yıllarda kronik myelositer lösemi (KML) olgularında kullanılmaya başlanan "Imatinib Mesylate (Gleevec)" hedefe yönelik ilk moleküler tedavi yöntemi olma özelliğine sahiptir. İlaç molekülleri özgün olarak BCR-ABL tirozin kinaz aktivitesini inhibe etmektedir. Bu ilacın hemen tüm KML olgularında tedavi protokollerine girmesi ile klinik takipte remisyonun izlenmesi önem kazanmıştır.

Takipteki KML hastalarımızdan "Imatinib Mesylate" tedavisi gören ikisinde philadelphia kromozomu (Ph-) gözlenmeksizin trizomi 8 saptanmıştır. Miyelodisplastik sendrom ve akut myelositer lösemi olgularında sık saptanan bu anomali KML takibinde sık gözlenen bir anomali değildir. Literatürdeki yayınlanmış az sayıdaki benzer bulgular ile birleştirildiğinde "Imatinib Mesylate" ile tedavi edilen KML olgularında özellikle trizomi 8 saptanma sıklığının arttığı görülmektedir.

Bu nedenle "Imatinib Mesylate" ile tedavi gören KML olgularında sitogenetik tam remisyonun sağlanmasında sitogenetik takibin önemi daha artmaktadır. Bu bulgular KML' de tam remisyonun sağlanması için "Imatinib Mesylate" tedavisine eklenecek farklı ilaçlarla kombine bir tedavinin gerekliliğini de düşündürmektedir.

(*) Yazı bu hali ile Experimental Hematology' de [33(2); 151, 2005] yayınlanmıştır.

TÜRK TOPLUMUNDA OVARYUM KANSERİNDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ-1 (MMP-1) PROMOTÖR BÖLGE POLİMORFİZMİ

E.DİKER¹, M.ÖZTÜRK¹, M.ARVAS², P.ÇAĞATAY³, D.KÖSEBAY²

¹ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

² İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Jinekolojik Onkoloji Bilim Dalı,

³ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyoistatistik Bilim Dalı, İSTANBUL

ebrudiker@hotmail.com

Matriks metalloproteinazları (MMP), hücrelerarası matriksi yıkan proteolitik enzimlerin oluşturduğu bir ailedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, MMP'lerin insanda birçok tümör tipinde aşırı olarak eksprese edildiğini göstermiştir. Bu çalışmada Türk toplumunda MMP-1 promotör polimorfizmi ile ovaryum kanseri arasındaki ilişki araştırıldı.

Çalışma olguları, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Jinekolojik Onkoloji Bilim Dalı'na başvurup, klinik ve patolojik olarak ovaryum kanseri teşhisi konulan 42 hastadan ve yaş bakımından hasta grubuna uygunluk gösteren 43 sağlıklı bireyden alınan kan örneklerinden oluşturuldu. MMP-1 promotör polimorfizmi PZR ve RFLP teknikleri kullanılarak araştırıldı.

Genotipler ovaryum kanserli grupta 2G/2G %78.6 ; 2G/G % 21.4 ; G/G % 0 , kontrol grubunda ise 2G/2G %79.1 ; 2G/G % 20.9 ; G/G % 0 olarak belirlendi. Hastalar ve kontroller genotiplerine göre karşılaştırıldıklarında genotip dağılımlarının anlamlı bir fark göstermediği tespit edildi (p>0.05). Çalışılan hasta ve kontrol gruplarındaki 2G allel sıklığı incelendiğinde, sağlıklı bireylerde %89.5, ovaryum kanserli bireylerde %89.3 olarak bulundu. Ayrıca tümör histopatolojik tiplerinde MMP-1 promotör polimorfizmi dağılımları tespit edildi. İnvazif ve invazif olmayan grup, ayrıca ileri evre ve erken evre karşılaştırıldığında, MMP-1 polimorfizmi genotipleri açısından aralarında anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Bulgular Türk toplumunda MMP-1 promotör polimorfizmi ile ovaryum kanseri gelişimi ve yayılımı arasında herhangi bir ilişki olmadığını göstermektedir. Genotip dağılımlarının daha fazla sayıdaki gruplarda incelenmesi ilişkinin tam olarak açığa çıkarılabilmesine yardımcı olacaktır.



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

BİYO BİLİŞİM

TÜRK NADİR HASTALIKLAR VERİTABANI
tr-raredis.org

A. OKTAY, U. ARICAN, Ç KOCAEFE, M ÖZGÜÇ

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANKARA

afsinoktay@yahoo.com

Nadir hastalıklar düşük prevalansa sahip hastalıklara verilen genel bir addır. Bir bilimsel konsensus olmamakla birlikte, 5/10000 prevalans, “nadir görülen hastalık” tanısı için kriter olarak kabul edilmektedir. Nadir hastalıklar, etiyolojiden bağımsız olarak, genetik, gelişimsel, enfeksiyöz kökenli olabilmekle beraber diğer birçok hastalık grubunu da içermektedir. Ülkemizde yüksek akraba evliliği oranına bağlı olarak genetik hastalıkların görülme sıklığı Batı toplumlarından çok daha yüksektir. Genetik kökenli nadir hastalıklar, bu hastalık grubunun büyük bir kısmını oluşturmaktadır.

Nadir hastalıklarla ilgili ulusal boyuttaki bilgileri ve Türkiye'deki akademik araştırmacı verilerini içeren “online” bir veritabanı oluşturmak ve devamlılığını sağlamak amacıyla “tr-raredis” projesi hayata geçirilmiştir. Proje kapsamında <http://www.tr-raredis.org> internet sitesi hazırlanmıştır. İlk aşamada Hacettepe Üniversitesi Hastanelerinden toplanan verilerle, genetik hastalıkları içerecek şekilde oluşturulan sitenin ulusal düzeyde yaygınlaştırılarak, tüm hastalık gruplarını içerecek şekilde geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Bu veritabanı genetik alanında ulusal ve uluslararası ortak çalışmalara yeni kaynaklar sağlayacak ve yeni araştırma olanakları yaratacaktır. Anadolu popülasyonunda görülen nadir genetik hastalıkların epidemiyolojisini tanımlamak, insidans ve prevalanslarını hesaplamak amacıyla da işlev görmesi öngörülmektedir. 2004 senesi içinde başlayan projenin kayıt sisteminde 60'dan fazla nadir genetik hastalık ve araştırmacı bilgisi yer almaktadır. Bir “canlı döküman” olarak düşünülen ve sürekli gelişen bu kayıt sistemine nadir hastalıklarla ilgili çalışmalar yürüten tüm Türk araştırmacıları katılmaya davet ediyoruz. Uluslararası bilim platformunda Türk araştırmacıların çalışma alanlarının tanıtımı ve araştırmacılarımızın uluslararası çalışmalara katılımlarının desteklenmesi amaçlanmaktadır. Bu projenin hayata geçirilmesi için, 2004 yılında “Institute Superiore di Sanita, İtalya” kurumundan maddi destek sağlanmıştır.

DENİZLİ SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ KAYITLARINDA YER ALAN MAJÖR KONJENİTAL ANOMALİLER

A.G. TOMATIR¹, H. DEMİRHAN², H. ÇETİN SORKUN², A. KÖKSAL², F. ÖZERDEM³,
N. ÇİLENGİR³,

¹ Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

² Pamukkale Üniversitesi Denizli Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu,

³ İl Sağlık Müdürlüğü, DENİZLİ

Amaç: Majör konjenital anomalilerin, yıllara, sistemlere, cinsiyete, anne yaşına, akrabalık ilişkisine göre değerlendirilmesi.

Yöntem: İl genelinde, 2000-2004 yılları arasında tüm sağlık ocaklarındaki Bebek ve Çocuk İzlem Fişlerinde kayıtlı toplam 63159 canlı doğum retrospektif olarak incelendi. Anomalililer belirlendi ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sınıflamasına göre gruplandırıldı. Ayrıca fenilketonüri kayıtları da değerlendirildi. İstatiksel olarak ki-kare testi kullanıldı, ortalama ve yüzde değerleri hesaplandı.

Bulgular: Majör anomalili yenidoğan oranı yıllara göre artmakla birlikte, toplam 183 olguda % 0.29 oranında tek veya multipl konjenital anomali saptandı. Majör anomali olgularının %14.3'ünün kaybedildiği belirlendi. En yaygın anomaliler; sinir sistemi (% 31.1), yarık damak ve dudak (% 18.6), kas iskelet sistemi (% 14.2), kromozom anomalisi (% 13.1) olarak bulundu ($p < 0.01$). Anomalili doğumların; %54.1 erkek, %14.3 akraba evliliği, % 7.1 ileri yaştaki ($35 <$) anneleri kapsıyordu. Anomalilerle; cinsiyet, akraba evliliği ve ileri anne yaşı istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Son beş yılda toplam beş fenilketonüri vakasına rastlandı.

Sonuç: Denizli'de son beş yılda en sık rastlanan majör konjenital anomaliler sırasıyla; sinir sistemi, yarık damak ve dudak, kas-iskelet sistemi ve kromozom anomalileridir. Anomalilerde; cinsiyete, akrabalığa ya da anne yaşına bağlı anlamlı bir artış yoktur.

Anahtar kelimeler: Majör konjenital anomali, doğum kayıtları.

DENİZLİ SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ 2000-2004 KANSER KAYITLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

A. KÖKSAL¹, H. ÇETİN SORKUN¹, H. DEMİRHAN¹, A.G.TOMATIR², T.ALAN,³F. ÖZERDEM³

¹Pamukkale Üniversitesi Denizli Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu,

²Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

³İl Sağlık Müdürlüğü, DENİZLİ

Amaç: Kanser vakalarının sistemlere göre dağılımının incelenmesi.

Yöntem: Erken Tanı Merkezi'ne 2000-2004 yılları içinde bildirilen toplam 2185 kanser vakasının; cinsiyet, yaş, doğum yeri, eğitim, meslek, sigara kullanma alışkanlığı, sistemlere göre dağılımı, kanser tanısı ve ailesel yatkınlığı değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmede ki-kare ve varyans analizi kullanıldı.

Bulgular: Toplam 2185 vakanın; %56.0'ı erkek yaş ortalaması 60.6714.9, %44.0'ü kadın yaş ortalaması 55.0915.8. Doğum yerleri; %30.8 merkez, %48.9 ilçe, %18.9 ise diğer illere aitti. Vakaların %60.6 eğitimi ilköğretim düzeyindeydi. Mesleklerde ilk sırayı erkeklerde %39.3 ile tarım, kadınlarda ise %84.5 ile ev hanımı aldı. Vakaların %45.1'inin bir dönem sigara içtiği ve sigara içenlerde akciğer kanserinin on, üriner sistem kanserlerinin ise yaklaşık dört kat arttığı saptandı ($p<0.001$). İlk üç sırayı üreme (%26.4), sindirim (%19.2) ve solunum (%18.9) sistemi kanserleri alırken; yıllara göre sindirim sistemi, kan ve deri kanserlerindeki artış dikkat çekiciydi ($p<0.001$). Kanser vakalarının %34.4'ünün lokalize, %27.9'unun regional yayılım, %21.8'inin ise uzak metastaz evresinde tanılandığı belirlendi. Ailede kanser varlığında; üreme, sindirim ve solunum sistemi ve deri kanserlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

Sonuç: Denizli'de son beş yılda en çok üreme, sindirim ve solunum sistemi kanserlerinin görüldüğü, yıllara göre sindirim sistemi, kan ve deri kanserlerinde bir artış olduğu, her beş kanser vakasından birinin uzak metastaz evresinde tanılandığı belirlendi.

Anahtar kelimeler: Kanser, epidemiyoloji

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI 2002-2005 YILLARI ARASINDAKİ SİTOGENETİK SONUÇLARIMIZ

N. ALTINTAŞ¹, S. ÖRENAY¹, **H. KOÇAK¹**, M. AŞÇI¹, Y. AKTAŞ¹, E. ARSLAN¹, S. TÜREL¹

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı MANİSA

Amaç: Anabilim Dalımızın Sitogenetik Laboratuvarında 2002 - 2005 yılları arasındaki toplam 415 hastada kromozom analizi yapılmıştır. Bu hastaların 338 tanesi periferik kan, 77 tanesi kemik iliği materyali olarak gönderilmiştir. Bu olgular klinik endikasyonlarına göre ; Down sendromu, motor mental retardasyon, cinsiyet kromozom anomalileri ,spontan abortus, habitiüel abortus, ektopik gebelik, konjenital anomali, Spina bifida, KML, AML, ALL, MDS gibi semptom ve/veya sedromlardan oluşmaktadır.

Materyal-Metod: Gönderilen materyallere standart periferik kan kültürü , direkt ve 24 saatlik kısa süreli kemik iliği kültürü uygulanmış ve GTG yöntemi ile bantlanıp Sitogenetik Nomenklatürü için ISCN kriterlerine göre 15-20 metafaz değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışılan hastalardan yapısal kromozomal anomali olarak 4 olguda 46,XX, inv(9) (~%1), 3 olguda 46,XY,inv(9) (%0,7), 1 olguda 46,XX, fra(X) (%0,24), 1 olguda 46,XY,t(8;21) (%0,24), 1 olguda 46,XY,t(9;22) (%0,24) saptanırken; sayısal anomali olarak 1 olguda 47,XXY (%0,24), 1 olguda 47,XX,+21 (%0,24); 6 olguda 47,XY,+21 (%1.44), 1 olguda 46,XY/ 47,XY,+21 (%0,24), 3 olguda 45,X (%0,7) ve 1 olguda da 46,Xi(X)/45,X/46,XX (%0,24) karyotipleri tespit edilmiştir.

Sonuç: 2002 -2005 yılları arasındaki toplam 415 hastada laboratuvarımızda saptanan genel anomali yüzdesi % 5.5 olarak belirlenmiştir.

YENİ YASAL DÜZENLEMELER VE MOLÜKER GENETİK İNCELEMELER

Y. ARISOY^{1,2}, Ç. ERESEN², V. Ö. ÖZBEK³

¹ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı,

² Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,

³ Dokuz Eylül Üniversitesi Hukuk Fakültesi Ceza Hukuku Anabilim Dalı, İZMİR

Bütünüyle değiştirilen Türk Ceza Yasası ve Ceza Muhakemeleri Yasaları 2005 yılının haziran ayında yürürlüğe girdi. Sağlık personelinin tümünü ilgilendiren bu değişikliklerin moleküler genetik çalışanları tarafından da bilinmesinde yarar görülmektedir.

Daha öncesinde adli amaçlı moleküler genetik incelemelerle ilgili herhangi bir düzenleme yokken Ceza Muhakemeleri Yasası ve Beden Muayenesi yönetmeliğinde bu tür incelemeler ile ilgili kesin hükümler yer almıştır. Moleküler genetik incelemeler ancak soy bağının veya elde edilen örneklerin kime ait olduğunun araştırılması için zorunlu olması halinde sadece hakim kararı ile yapılabilir. Sağlık personeli tarafından yapılması zorunludur. Alınan örnekler üzerinde başka amaçlarla inceleme yapılamaz. Yapılan incelemelerle elde edilen bilgiler kişisel veri niteliğinde olup açığa vurulamaz, yasal sürelerin sonrasında saklanamaz.

Bu yasal değişiklikler moleküler genetik incelemelerle ilgili ayrı bir yönetmelik ve DNA bankası kurulmasını zorunlu kılmıştır.



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

GENETİK HASTALIKLAR

PREMATÜRE SENTROMER BÖLÜNMESİ SAPTANAN HASTALARIMIZ

F. SILAN^{1,2}, **C. ZAFER**¹, U. G. ARSLAN³, İ. ÖZTÜRK⁴

¹ Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D.

² Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D.

³ Atatürk Lisesi, Biyoloji Öğretmeni,

⁴ Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD DÜZCE

cansuzafer@yahoo.com

Prematüre sentromer bölünmesi (Premature centromere division, PCD) kromatidlerin erken ayrılması ile karakterize sitogenetik bir anomalidir. Subfertilite, anöploid, spontan abortus, mikrosefali, konjenital santral sinir sistemi anomalileri, pre-postnatal büyüme geriliği, erkek hastalarda ambiguous genitalia ve malignite için risk faktörü olabileceği bildirilmiştir.

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Tıbbi Genetik AD. Sitogenetik laboratuvarında farklı endikasyonlarla periferik kan lenfositlerinden kromozom analizi yapılan dört hastada tam PCD saptanmıştır. PCD oranının kolşisinden etkilenebileceği bildirildiği için hastaların analizleri kolşisinsiz olarak tekrar edilerek doğrulanmıştır.

Olgu 1: 34 yaşında kadın hasta, primer infertilite ve tekrarlayan IVF ve ICSI uygulamalarında döllenmiş yumurtaların kısa sürede dejenere olması, gebelik oluşmaması nedeniyle refere edildi. İncelenen 100 metafazın %15 inde PCD saptanmıştır. Ebeveynlerin analizi annede %25 oranında PCD göstermiştir. Probandın kardeşlerinde konjenital anomali olmadığı, ancak kızkardeşinin konjenital santral sinir sistemi anomalileri olan iki çocuğu olduğu öğrenilmiş ve kromozom analizi önerilmiştir.

Olgu 2: Gelişme geriliği ve mental retardasyon nedeniyle refere edilen 9 yaşında erkek hastada %32 oranında PCD saptanmış, ebeveynlere de analiz önerilmiştir.

Olgu 3: Nöral tüp defektli bebeklerinin tahliyesi sonrası genetik danışma için başvuran çiftin kromozom analizi sağlıklı babada %43 oranında PCD göstermiştir. Ebeveynlerine de analiz önerilmiştir.

Olgu 4*: Konjenital tümör nedeniyle refere edilen kız bebekte %30 oranında, babasında %3 oranında PCD saptanmıştır.

Standart yöntemlerle kromozom analizi sırasında düşük oranlarda sık rastlanan bir bulgu olan PCD'nin sayım artırılarak ve kolşisinsiz kültürle Otozomal Dominant kalıtsal PCD den ayrılması, tekrarlayan düşükler, konjenital sinir sistemi anomalileri ve çocukluk çağı tümörleri açısından artmış risk nedeniyle önemlidir.

*Olgu yayınlanmıştır. Prenat Diagn. 2005 Aug;25(8):687-9

TEKRARLAYAN DÜŞÜK ÖYKÜSÜ OLAN BİR AİLEDE PATERNAL t(1;9) TRANSLOKASYON NEDENİYLE OLUŞAN PARŞİYAL TRİZOMİ 1p

O. DEMİRHAN¹, D. TAŞTEMU¹

¹Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ADANA

Kromozom 1 anormallikleri, meningiomas oluşumundan sorumlu önemli bir faktör teşkil etmektedir. Kromozom 1p trizomisi, nadir olarak gözlenen klinik bir durumdur ve açık olarak tanımlanmış belirli bir fenotip henüz bulunmamaktadır. Ancak, kromozom 1 kaynaklı genetik materyalin fazlalığı oldukça erken gebelik kayıplarına ve/veya zayıf fetal gelişimine yol açmaktadır.

Çalışmamızda, dengeli translokasyonu taşıyan baba normal olup, yüksek oranda tekrarlayan düşüklere neden olan dengesiz kromozom oluşturma riskine sahiptir. Bu nedenle korionik villus örneği (CVS) ve periferik kan lenfositlerinden yapılan kromozom analizleri standart sitogenetik tekniklere göre uygulanmıştır.

Bu çalışmada, kromozom 1 ve 9'un dengeli ve dengesiz rearanjmanlarını taşıyan bir çiftteki üretkenlik riski saptanmaya çalışılmıştır. Çiftin yenidoğan infantının prenatal ve postnatal karyotipleri; yenidoğanın, babası ile aynı karyotipi taşıdığını göstermiştir [46, XY, der (9) t (1:9) (p34.2; q34.3)] ve fenotipik olarak normal olduğu görülmüştür. Annenin daha önceki düşükle sonuçlanan gebeliklerinden birinde, anormal fetusun fazladan bir derivatif 9 kromozom kuruluşuna sahip olduğu rapor edilmiştir [46,XY,der(9)t(1:9)(p34.2;q34.3)fat].

Parsiyal trizomi, fetal kayıplar ile ilişkilidir ve ailelerde gözlenen düşüklere etiyolojisinde önemli bir rol oynayabilir. Kromozomal anomalileri olan çiftlerin saptanması, anomalili infantların doğmasını önlemek için önemli ölçüde yardımcı olabilir. Bu bulgular, genetik danışmanlıkta ve çocuk sahibi olmak isteyen ailelere yardımcı olabilmeyi de içeren geniş bir alanda kullanılabilir.

MATERNAL t(7;14) (q34;pter) SONUCU İKİ KARDEŞTE 7q34 DELESYONU VE CURRARINO SENDROMU

F. SILAN^{1,2}, C. ZAFER¹, D. KURU³, K. MAHMUTYAZICIOĞLU⁴, S. HACIHANEFİOĞLU³

¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

²Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, DÜZCE

³İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

⁴Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyodiagnostik AD, ZONGULDAK

Mental retardasyonlu iki çocuğu olan ebeveyn, kardeşinin eşinin hamile olması nedeniyle genetik danışma için AİBÜ Düzce Tıp Fakültesi Genetik polikliniğine başvurdu. Ebeveynler teyze çocuklarıydı. Çocukların her ikisi de hiç konuşmıyor, düzgün yürüyemiyor ve çevreye saldırmıyorlardı. 15 yaşındaki erkek hastada, mikrosefali, yassı oksiput, büyük kulaklar, dar palpebral aralık, enoftalmus, ezotropia saptandı. Kronik konstipasyon nedeniyle 3 kez ameliyat edilmişti. Aile radyolojik tetkik yapılmasını kabul etmedi. 13 yaşındaki kız hastada mikrosefali, büyük kulaklar ve kalın dudaklar vardı. Kronik konstipasyon nedeniyle bir kez ameliyat edilmişti. Sakrumda konjenital hipoplazi, tethered kord, nörojenik mesane ve hidronefroz saptandı. MRI ile beyin taraması normal bulundu. Holoprosensefali yoktu.

Periferik kan lenfositlerinden 72 saatlik kültür ve GTG bantlama sonrası kromozom analizi ile 46,XY,der(7)t(7;14)(q34;p13)mat ve 46,XX,der(7)t(7;14)(q34;p13)mat saptandı. Ebeveynlerin analizi sonucunda annede 46,XX,t(7;14)(q34;p13) dengeli translokasyon tespit edildi. Painting prob kullanarak yaptığımız FISH ile de bulgularımız doğrulandı. Hastalar bu sitogenetik ve klinik bulgular ile Currarino Sendromu olarak değerlendirildi.

Ebeveynler akraba olduğu için eşi hamile olan amcaya da analiz yapıldı ve normal bulundu. Ebeveynlere sonraki gebelikleri için tekrarlama riski ve prenatal tanı olanaklarını da içeren genetik danışma verildi. Ebeveynler translokasyon taşıyıcısının hangisi olduğunu öğrenmek istemedi.

ANESTEZİK GAZLARIN KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ (SCE) ÜZERİNE ETKİSİ**F. CELEP¹, A. EROĞLU², A. KARAGÜZEL¹, N. ERCİYES²**¹ Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD,² Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon ABD, TRABZON

Anestezi hekimlerinin ameliyathanede maruz kaldığı Nitröz-oksit, haloten ve izofloran gibi anestezi gazlarının periferik lenfositlerde kardeş kromatid değişimini (SCE) arttırdığı bilinmesine karşın, bu gazlara kronik maruziyetin taşıdığı riskler tam olarak açık değildir. SCE analizi şüpheli mutajen ya da karsinojenlerin çalışılmasında kullanılan hassas bir yöntemdir. Tekniğin hassasiyeti ve güvenilirliği bu tekniğin toksikolojide kullanılan popüler bir yöntem olmasını sağlamıştır. Araştırmamızda; anestezi hekimlerinin, ameliyathanede aktif çalıştıkları dönem ile dışarıda geçirilen dönem arasındaki SCE değişimleri değerlendirilip elde edilen sonuçlar anestezi olmayan hekimlerden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmış ve önemli farklar (11.9 ± 4.4 ve 4.2 ± 1.1 , $p < 0.001$) elde edilmiştir. Anestezi hekimlerinin ameliyathane dışında geçirdikleri dönem sonunda elde edilen SCE değerleri ameliyathane dönemindeki sonuçlarla karşılaştırılmış ve önemli farklar (4.8 ± 1.8 ve 11.9 ± 4.4 , $p < 0.001$) elde edilmiştir.

İNKOMPLET CURRARİNO SENDROMU: OLGU SUNUMU

M. TURGUT¹, C. TEKİN¹, E. ÇULLU², H. ULUCAN³

¹Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji AD,

²Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji AD,

³Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, AYDIN

Sakral kemik defekti, presakral kitle ve anorektal bir malformasyon triadı ile karakterize Currarino sendromu çok nadir rastlanan bir konjenital antitedir. Etyolojisinde, embriyonun gelişmesinde gastrula devresi esnasında kaudal çıkıntıya ait barsak endoderminden dorso-ventral separasyonundaki bir yetersizlikten kaynaklanan otozomal dominant geçişli hastalığın homeobox geni olan HLXB9'daki mutasyonlar sonucunda oluştuğu gösterilmiştir. Yürüme güçlüğü ve sfinkter inkontinansı yakınmalarıyla hastanemize başvuran 10 yaşındaki kız çocuğunun 3 yıl önce başka bir merkezde cerrahi girişime alındığı öğrenilmiştir. Çekilen direkt grafilerde bilateral parsiyel sakral kemik defektinin mevcut olduğu görülmüştür. Manyetik rezonans görüntüleme tetkikinde ise, tüm spinal kord boyunca uzanan syringo-hidromiyelik kavitasyonlar ile anterior sakral meningesel ve düşük yerleşimli konus medullaris saptanmıştır. Literatürde belirtilen 7q36 bölgesini içeren kromozom düzensizliğinin hastamızda bulunmadığı ve pedigrî analizinde anne ve baba ile kız ve erkek kardeşlerinin sağlıklı olduğu saptanmış olup, olgumuz daha önce rapor edilmeyen spinal kord bulgularıyla de novo mutasyona bağlı yeni bir Currarino sendromu varyantı olarak değerlendirilmiştir.

EVLİ BİR ÇİFTTE PERİSENTRİK İNVERSİYON 9

N. ALTINTAŞ¹, S. ÖRENAY¹

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı MANİSA

Amaç: Literatürlerde perisentrik inversiyonların genellikle anormal fenotipik etkisi bulunmamaktadır. Ancak dengesiz gamet üretme olasılığı nedeniyle taşıyıcı bireylerde anormal çocuk sahibi olma riski oluşmaktadır. Çalışmamızda tekrarlayan gebelik kayıpları nedeniyle laboratuvarımıza başvuran akrabalık ilişkisi bulunmayan çiftin her ikisinde de saptanan perisentrik inversiyon inv(9)(p11q12)'un gösterilmesi amaçlanmıştır. Tekrarlayan düşüklerle ilgili bağlantısı tartışılmıştır.

Materyal-Metod: Sitogenetik laboratuvarımıza başvuruda bulunan çift (Kadın 24 yaş, erkek 28 yaş) periferik kan lenfosit kültüründen standart kromozom analizi uygulandı. Sitogenetik Nomenklatürü için ISCN kriterlerine göre 15-20 metafaz değerlendirildi.

Bulgular: Çiftin her bir bireyinde de perisentrik inversiyon inv(9)(p11q12) saptandı.

Sonuç: Bu kapsamda perisentrik inversiyon taşıyıcılığının çiftin her ikisinde de gözlenmesi çiftin tekrarlayan gebelik kayıplarıyla ilişkisini, çiftlerin ailesel geçişlerinin de incelenmesi gerekliliğini ve genetik danışma açısından önemini ortaya çıkarmaktadır.

HEMOROID TANISI KONMUŞ HASTALARDA DERMATOGLİFİK ÖRNEKLERİNLERİN İNCELENMESİ İLE İLGİLİ ÖN ÇALIŞMA

N. ALTINTAŞ¹, Y. AKTAŞ¹, S. ÖRENAY¹, E. ARSLAN¹, O. YUMUS², A. SAKARYA²

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

²Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı MANİSA

Amaç: Bu çalışma Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında hemoroid tanısı konmuş hastaların kontrol grubuyla karşılaştırılarak dermatoglifik örneklerinin analizlerini araştırmak amacıyla planlandı.

Materyal-Metod: Çalışmada 25 hemoroidli hastanın ve 25 kontrol grubunun parmak ucu örnekleri röntgen filmi metodu ile alındı. Alınan parmak ucu örnekleri parmak ucu örneklerinin çeşitliliği, toplam çizgi sayıları ve atd açıları yönünden değerlendirildi.

Bulgular: Hemoroidli hastalara ait dermatoglifik örnekler kontrol grubuyla karşılaştırıldığında parmak ucu örneklerinde, toplam çizgi sayısında ve atd açılarında anlamlı bir fark saptanmadı. Çalışmamıza hallukal bölge dermatoglifik örnekleri de eklenecektir. İstatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar elde edilebilmesi için olgu sayımız artırılacaktır.

İNFERTİL TANISI KONMUŞ ERKEK HASTALARDA SİTOGENETİK BULGULAR

N.ALTINTAŞ¹, Y.AKTAŞ¹, B. GÜMÜŞ², S. ÖRENAY¹

¹ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD

² Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD MANİSA

Amaç: İnfertilite; toplumdan topluma değişmekle birlikte genel olarak evli çiftlerin %10-15'de rastlanan bir sorundur. İnfertilitede kadın erkek faktörü yaklaşık olarak yarı yarıya paylaşılmaktadır. Erkek infertilitesinin etiyolojisinde kromozomal anomaliler ve Y kromozom mikrolelesyonları önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada; Manisa ve yöresindeki infertil erkek hastaların sitogenetik açıdan incelemesi amaçlandı.

Materyal-Metod: Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji kliniği tarafından infertil tanısı konmuş toplam 20 erkek hasta incelemeye alındı. Bu olguların 5 tanesi oligospermi, 20 tanesi azospermi tanılı idi. Periferik kandan yapılan hücre kültürü ile elde edilen metafazlar rutin GTG bantlama ile incelendi.

Bulgular: Hastalardan alınan periferik kandan yapılan lenfosit kültüründe üreme ve kromozom elde etme oranı %100'dür. Çalışılan hastaların % 4'inde anöplodiye rastlanmıştır. %96 oranında 46,XY karyotipi gözlenmiştir. Olgularda yapısal kromozom anomalisine rastlanmamıştır.

Sonuç: İnfertil erkeklerde yapılan genetik çalışmalarda infertilite ile ilgili olduğu bilinen Y kromozomundaki mikrolelesyonların belirlenmesi açısından Y kromozomunun belirli bölgelerini hedef alarak mikrolelesyon taraması yapmanın yerinde olacağını düşünmekteyiz.

ŞİZOFREN TANISI KONMUŞ HASTALARDA SİTOGENETİK BULGULAR

N. ALTINTAŞ¹, E. ARSLAN¹, S. ÖRENAY¹, Y. AKTAŞ, H. TEMİZ², A. ESEN DANACI³

¹ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

² Manisa Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi

³ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı MANİSA

Amaç: Şizofreni, genç yaşta başlayan, insanı kişiler arası ilişkilerden ve gerçeklerden uzaklaşarak, kendine özgü bir içe-kapanım dünyasında yaşadığı; düşünüş,duyuş ve davranışlarda önemli bozuklukların görüldüğü bir psikozdur.

Bu araştırmada şizofreni tanısı konmuş olgularda kromozom anomalilerinin polimorfik varyant kromozom, kalıtsal anomaliler ve de novo değişiklikler açısından değerlendirilmesi amaçlandı.

Materyal Metod: Manisa Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesinde Şizofren tanısı konmuş 25 hastadan alınan periferik kandan çalışma materyali oluşturuldu. Sitogenetik Analiz için standart periferik kan kültürü yöntemi uygulandı ve Giemsa Tripsin bantlama yöntemi (GTG) uygulandı. Karyotip analizi Sitogenetik Nomenklatürü için ISCN kriterlerine göre 15-20 metafaz değerlendirilerek yapıldı..

Bulgular: Sitogenetik olarak incelenen 25 şizofren olgusunda bir kadında 6 alanda 45,X karyotipi, bir kadında 2 alanda 46,X, fra(X) karyotipinin saptanmıştır.

Sonuç: Literatür taramasında 45,X karyotipi ile ilgili bilgilere ulaşılmadığından, bulgularımızın önemli olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamız Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Kliniği ve Manisa Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesindeki familiyal şizofren hastalarda sitogenetik değerlendirmeler olarak devam etmekte olup bu veriler ön çalışma niteliğindedir.

ŞİZOFRENİ TEDAVİSİNDE KULLANILAN NORODOL'UN KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

N. ALTINTAŞ¹, S. ÖRENAY¹, E. ARSLAN¹, H. TEMİZ², A. ESEN DANACI³

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

²Manisa Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi

³ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı MANİSA

Amaç: Hücrelerin fiziksel ve kimyasal mutajenlere maruz kalmalarıyla Kardeş Kromatid Değişimi (Sister Chromatid Exchange- SCE) oranında artış olabileceği belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda tedavide kullanılan ilaçların bir kısmının hücrelerde SCE değerinde artış meydana getirdiği gösterilmiştir. Norodol şizofreni gibi belirli psikotik hastalıkların uzun süreli tedavisinde geniş kullanım alanı bulan antipsikotik olarak uygulanan bir ilaçtır ve hastalarda oral damla veya tablet olarak uygulanmaktadır. Hastalığın şiddetine göre de bu doz artırılabilir.

Bu çalışmada, Norodol'un uzun süreli - yüksek doz ve normal dozda tedavi alan hastalarda gözlenen SCE değerlerinin, kontrol gruplarında gözlenen SCE değerleri ile kıyaslanması amaçlandı.

Materyal Metod: Şizofren tanısı konmuş 25 hastada Norodol'un uzun süre - yüksek dozda tedavi olan hastalardan, normal dozda tedavi alan hasta grubundan ve kontrol grubundan alınan periferik kandan lenfosit hücre kültürü yapıldı. SCE deney metodu uygulandı. Kardeş kromatid değişimi 1'li 2'li 3'lü ve 4'lü kırıklar bazında değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmamızda Norodol'un uzun süreli - yüksek doz ve normal dozda tedavi alan uygulanan hasta grubu ile kontrol grubu arasında hücre başına düşen SCE değerleri posterde tartışılacaktır.

ŞİZOFREN TANISI KONMUŞ OLGULARIN EL VE AYAK DERMATOGLİFİK ÖRNEKLERİN İNCELENMESİ

N. ALTINTAŞ¹, **E. ARSLAN**¹, Y. AKTAŞ¹, S. ÖRENAY¹, H. TEMİZ², A. ESEN DANACI³

¹ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

² Manisa Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi

³ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı MANİSA

Amaç: Dermatogliflik analizler hastalığın tanısını koymada yardımcı tanı yöntemi olmakla birlikte, etiyolojiye yönelik araştırmalarda önemli bir yeri bulunmaktadır. Çalışmamızda kullanılan dermatogliflik yöntemin amacı, şizofren hastaların dermatogliflik örneklerindeki değişikliklerin kontrol grubuyla karşılaştırılarak istatistiksel olarak gösterilmesidir.

Materyal Metod: Manisa Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi'nde 25 şizofren hastanın el ve ayak dermatogliflik örnekleri Röntgen Filmi metodu kullanılarak alındı. Hastaların el ve ayaklarına röntgen film solüsyonu sürüldükten sonra röntgen film kağıtlarına bastırılıp solüsyonun film kağıdına geçmesi sağlandı. Daha sonra film kağıdı yıkama solüsyonundan geçirilerek çeşme suyunda yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Metod kullanılarak elde edilen örnekler parmak ucu örneklerinin çeşitliliği, toplam çizgi sayıları, avuç içi atd açısı ve hallukal bölge yönünden incelendi.

Bulgular: Çalışmamızda şizofren hasta dermatogliflik örneklerini kontrol gruplarıyla karşılaştırdığımızda şizofren hastalarda parmak ucu ulnar ilmek örneklerinde artış gözlenmiştir. Total çizgi sayısı açısından bakıldığında kontrol grubuna göre artış saptanırken, kontrol grubuna göre sol IV parmakta bir artma saptanmıştır.

Sonuç: Şizofren hastalarda dermal örneklerin kontrol grubuna göre önemli farklılıklar taşıdığını, hasta sayısının artırılmasıyla da şizofren hastalarda etiyolojik yönden yararlı olabilecek bulgular elde edilebileceğini düşünmekteyiz.

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI 2004-2005 YILLARI ARASINDAKİ FETAL AMAÇLI SİTOGENETİK ÇALIŞMA SONUÇLARIMIZ

N. ALTINTAŞ¹, **S. TÜREL¹**, S. ÖRENAY¹, H. KOÇAK¹, Y. AKTAŞ¹, E. ARSLAN¹, F.M. KOYUNCU², Ü. İNCEBOZ SUNGURTEKİN², Y. BÜLBÜL BAYTUR²

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

²Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı MANİSA

Amaç: Anabilim Dalımızın Prenatal tanı laboratuvarında Aralık 2004- Ekim 2005 yılları içinde laboratuvarımızdaki toplam 23 gebede prenatal tanı amacıyla fetal sitogenetik inceleme yapılmıştır. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinden gönderilen hastaların 11 tanesi kord kanı, 6 tanesi amniyotik sıvı, 1 tanesi CVS, 1 tanesi küretaj materyali, 4 tanesi düşük materyali olarak gönderilmiştir. 12 olgudaki prenatal tanı endikasyonları ileri anne yaşı, yüksek üçlü test riski, patolojik USG bulgusu, habitüel abortus ve anembriyonik gebeliktir. 11 kordosentez olgusundaki en yaygın prenatal tanı endikasyonu olarak patolojik USG bulgusu oluşturmaktadır.

Materyal-Metod: Gönderilen materyallere standart fetal doku kültürü yöntemi, kord kanı materyali için periferik kan kültürü yöntemi uygulandı. Her materyal için 2 kültür yapılmış ve ortalama 10 preparat hazırlanmıştır. Bu preparatlar GTG metodu ile bantlanarak karyotip analizi yapılmıştır.

Bulgular: Çalışılan hastalarda % 7.4 kromozom anomalisi tespit edilmiştir. Sayısal kromozomal anomalisi olarak 1 olguda 47,XY,+mar (%3.7), 1 olguda 47,XY,+21 (%3.7) karyotipi saptanmıştır. 47,XY,+mar saptanan kordosentez olgusunda marker orjini FISH yapılarak araştırılmış, 21. kromozom olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Çalışılan hastalarda sayısal kromozom anomalileri tespit edilmiş olup, yapısal kromozom anomalisi gözlenmemiştir.

46,X,del(Xp) (p11.21@pter)/45,X GÖZLENEN TURNER SENDROMLU BİR OLGU

N. KARA¹, A. GÜVEN², S. GÜNEŞ¹, G. ÖKTEN¹, T. ÖZGEN², S. YİĞİT¹, Ö. SEZER¹

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD ve Tıbbi Genetik BD

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Endokrinoloji BD, SAMSUN

Boy kısalığı ve adet görememe şikayeti ile OMÜ Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalına başvuran olgumuz 17 yaşındaydı. Soygeçmişinde Anne baba arasında akrabalık yok, sağlıklı dört kardeşi var.

Fizik incelemede, boy: 129.9 cm, boy yaşı: 9, ağırlık: 28.8 (3 persantil altı), kemik yaşı: 12, kulaç: 128 cm, üst/alt segment:1.01. Saç çizgisi düşük, meme başları ayrık, cubitus valgus mevcut, kardiyovasküler sistem muayenesinde 1/6. dereceden sistolik üfürüm mevcut, solunum, gastrointestinal ve nörolojik sistem muayenelerinde patolojik bulgu ile karşılaşılmaı. Ellerde 4. metakarpta kısalık mevcut, ayaklarda ikinci parmak uzun. Genitoüriner sistem muayenesinde meme gelişimi Tanner evre I, pubik kıllanma Tanner evre II. Laboratuvar incelemesinde tam kan sayımı, biyokimya ve tam idrar analizi normal, LH: 14.43 mIU/ml, FSH: 86.59 mIU/ml. Abdominal USG: normal, pelvik USG mesane normal her iki over görülemedi. Abdominal MR'de ise uterus ve overler izlenmedi. Üretra posteriorunda hipoplazik kısa bir segmentte takip edilen vajenle uyumlu görünüm dikkati çekti.

Olgumuzun periferik kan kültüründen elde edilen ve GTG ile bantlanan metafaz plaklarında 450 bant düzeyinde yapılan inceleme sonucunda 46,X,del(Xp) (p11.21@pter)/45,X, modal kromozom sayısının 46,X,del(Xp)(%70)/45,X(%30) ve X-kromatinin %8 olduğu saptanmıştır. Anne ve babadan yapılan kromozom incelemesinde ise her iki sininde normal kromozom kuruluşuna sahip olduğu belirlenmiştir.

TEKRARLAYAN DÜŞÜKLERİ OLAN 46,XX, t(3;7) (p21;q36) DENGELİ TRANSLOKASYON TAŞIYICISI ANNE VE KIZ İKİ OLGU

N. KARA¹, İ. KOÇAK², S. GÜNEŞ¹, G. ÖKTEN¹, Ö. SEZER², S. YİĞİT¹

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD ve Tıbbi Genetik BD,

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, SAMSUN

Yapısal kromozomal yeni düzenlenmeler, genel populasyonda yaygın olarak gözlenmektedir. Dengeli translokasyon taşıyıcısı bireylerin, dengesiz kromozomlu çocuklara sahip olma riskleri vardır. Bu yüzden tekrarlayan düşüklere sahip çiftlerde translokasyon sıklığı, genel popülasyondakinden daha yüksektir.

Bu çalışmada OMÜ Tıp Fakültesi KDP'den tekrarlayan düşük nedeniyle gönderilen 20 yaşında anatomik olarak normal ve sistemik bir hastalığı olmayan, ilk trimestri 10, 8,12 ve 8 haftalık dört düşüğü ve yaşayan hiç çocuğu olmayan kadın olgu genetik incelemeye alınmıştır. Probandın aile öyküsünde 50 yaşında 13 düşüğü ve yaşayan 4 kızı bir oğlu olan annesi ve bir kız kardeşinde mental retardasyon belirtilmiştir. GTG bantlama yöntemi ile yapılan analiz sonucunda proband ve annesinin 46,XX, t(3;7) (p21;q36) dengeli translokasyon taşıyıcısı oldukları saptanmıştır. Probandın MR'li kızkardeşinden henüz sitogenetik analiz yapılamamıştır.

Aile öyküsünde tekrarlayan düşüklerin ve mental retardasyonun olduğu olgumuzda, dengeli translokasyon taşıyıcılarının doğacak çocuklara verdikleri dengesiz kromozomlarla düşük ve anomalili doğum riskinin arttığı gözlenmektedir.

BÖLGEMİZDEKİ AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ (FMF) HASTALARINDA MEFV MUTASYONLARININ TARANMASI VE KLİNİK FENOTİPLERİN GENOTİPLERLE İLİŞKİSİ

S.YİĞİT¹, H. BAĞCI¹, K. CENGİZ²

¹ Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

² Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD SAMSUN

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) karın ağrısı ile tekrarlayan ateş, peritonitis, pleuritis ve artiritis ile karakterize otozomal resesif kalıtmımlı bir hastalıktır. Birçok farklı ülkede rapor edilen bu hastalık özellikle Araplar, Yahudiler, Ermeniler ve Türkler'in dahil olduğu Akdeniz popülasyonunda sık görülmektedir. AAA'ne kromozomal lokalizasyonu 16p13 olan 3.7 kilobazlık bir transkript kodlayan MEFV genindeki mutasyonların yol açtığı saptanmıştır. Bu gen 781 amino asit içeren Pyrin (Marenostrin) adlı proteini kodlar. Bu çalışmanın amacı hastanemize rutin kontrol veya tedavi amaçlı gelen FMF hastalarında, birinci derece yakınlarında ve kontrol grubunda Türklerde sık görülen E148Q, P369S, F479L, M680I(G/C), M680I(G/A), I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H mutasyonlarının taramasını yapmaktır. Metot: Bu çalışmada Tel-Hashomer Kriterlerine göre sınıflandırılan 800 ön tanı AAA hastası, 165 birinci derece hasta yakını ve 100 sağlıklı kontrol yer aldı. MEFV mutasyonlarından M694V, M680I(G/C) ve V726A Amplification Refractory Mutation System (ARMS), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Restriksiyon Fragment Gen Polimorfizmi (RFLP) ve agatoz jel elektroforezi tekniği ile ve bu mutasyonları da kapsayan 12 mutasyon FMF StripAssay yöntemi ile tarandı. Sonuçlar: Strip testi ile ARMS testi sonuçları ($\tau c=0.538$), Strip ile RFLP arasında $\tau ac=0.539$, $P<0.001$, RFLP ile ARMS testleri arasında Kappa=0.963, $P<0.001$ düzeyinde önemli uyumluluk vardı ($\tau c=0.805$, $P<0.001$). Fenotip genotip ilişkilendirmesi çalışmalarımız istatistik aşamasındadır. Tartışma: RFLP tekniği gold standart olarak alındığında ARMS tekniği RFLP ile %97.25 düzeyinde uyumluluk göstermektedir (Kapa=0.963, $P<0.001$). Ancak RFLP ile Strip testinin uyumluluğu %100'dür.

VARİKOSELİ OLAN HASTALARDA Y KROMOZOMU MİKRODELESYONU - İNFERTİLİTE İLİŞKİSİ

S. BOZDOĞAN¹, A. DURSUN¹, Ç. YEŞİLLİ², İ. SEÇKİNER², F. ÇABUK², K. ALTAN²,
G. BOZDOĞAN²

¹ Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıbbi Genetik AD

² Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Üroloji AD ZONGULDAK

Giriş: Varikozel hastalarında spermatogenezi etkileyen patolojik faktörler henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu hastalarda varikosele eşlik eden testiküler patolojilerin yanı sıra, Y kromozomunun uzun kolunda bulunan mikroadesyonların da spermatogenezi etkilediği bilinmektedir. Y kromozom mikroadesyonlarının, oligozoospermi ve azospermiden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, varikozeli olan hastalarda, Y kromozom mikroadesyonlarının infertilite gelişimine katkısının araştırılması amaçlanmıştır.

Hastalar ve yöntem: Çalışmaya 18'si infertil, 14'ü fertil toplam 32 varikozel hastası dahil edilmiştir. Tüm hastaların spermogramları yapılmış ve Y kromozomunun AZF-a, AZF-b, AZF-c bölgeleri mikroadesyon varlığı açısından değerlendirilmiştir.

Bulgular: 3'ü azospermik olmak üzere 18 hastadan oluşan infertil grubun sperm sayısı 0-104 milyon/ml arasında değişmekte iken (ortalama 37.1 milyon/ml) 14 hastadan oluşan fertil grubun sperm sayısı 7.5-192 (ortalama 75.8) milyon/ml arasında bulunmuştur. İnfertil gruptaki hastaların 4'ünde AZF-a ve AZF-b bölgesinde mikroadesyonlar tespit edilmiş iken fertil grupta Y kromozom mikroadesyonuna rastlanmamıştır. Y kromozom mikroadesyonu olan hastaların birinin azospermik olmak üzere ortalama sperm sayıları 24.8 milyon/ml olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Y kromozomu mikroadesyonları varikozelli hastalarda da görülebilen ve fertilitiyi etkileyen nedenlerden biridir. Varikozeli olan hastalarda fertilitiyi değerlendirmesi yapılırken, Y kromozom mikroadesyon olasılığının göz önünde bulundurulması uygun olacaktır. Özellikle post-operatif sperm sayısında artış olmayan varikozelli hastalarda, infertilitenin sebebinden Y kromozom mikroadesyonları sorumlu olabilir. Bu şekilde hem infertilite nedeni ortaya konabilecek, hem de varikoselektomi sonrası fertilitiyi sağlamak için kullanılacak en uygun yardımcı üreme tekniğinin seçiminde yol gösterici olacaktır.

45, X/46, X, i(Xq) KARYOTİPE SAHİP İKİ MOZAİK TURNER SENDROMLU OLGU

S. GÜNEŞ¹, N. KARA¹, B. SÜRÜCÜ², G. ÖKTEN¹, S. YİĞİT¹, Ö. SEZER¹

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

²Samsun Kadın Hastalıkları ve Doğumevi, SAMSUN

Turner sendromu en sık görülen cinsiyet kromozomu anöploidisidir. Yaşayan kız çocuklarında 1/4000 sıklıkta görülmekte olup, olguların yaklaşık %5'inde 45,X/46,X,i(Xq) mozaik kuruluşu gözlenmektedir. Bu çalışmada on sekiz yaşındaki iki kız hasta adet görememe nedeniyle Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğinden sitogenetik laboratuvarına sevk edildi. Olgulardan birinin fizik muayenesinde kilo 37 kg, boy 147 cm, elde 4. ve 5. parmakların kısa olduğu görüldü. Hastanın meme gelişimi Tanner evrelemesine göre evre 1-2 olarak değerlendirildi. Pubik kıllanma minimal olup koltuk altı kıllanma yoktu. Hymen saat 6 hizasında kaideye inen çentik vardı. Pelvik USG'de uterus rudimenter (35x20 mm) olup overler izlenememiştir. Hastanın anne ve kız kardeşinde normal kromozom yapısı gözlemlendi. Diğer hastanın da benzer klinik verileri vardı. Hastaların periferik kan kültüründe GTG bant yöntemiyle yapılan sitogenetik incelemede mozaik 46, X, i(Xq) [%60] / 45, X [%40] ve 46,X,i(Xq)[%77]/45,X[%23] kromozom yapısı tespit edildi.

21q22q TRANSLOKASYONU SAPTANAN BİR OLGU

S. GÜNEŞ¹, N. KARA¹, N. GÜNAL², Ş. KÜÇÜKÖDÜK², G. ÖKTEN¹, Ş. TURHAL¹, E. TAŞKIN¹

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

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri AD, SAMSUN

Down sendromlu hastaların yaklaşık %4'ünde Robertsonian translokasyon görülür. Robertsonian tipte de novo translokasyonlara bağlı trizomik olguların maternal orijinli olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Aralarında akrabalık olmayan, 26 yaşındaki annenin, 2. gebeliğinden sezaryenle ile 36 haftalık, 3300 g ağırlığında doğan 2 yaşında erkek olgu. Altı yaşında sağlıklı bir kız kardeşi var. Yapılan aile incelemesinde anne ve babada normal kromozom yapısı tespit edildi. Hastanın fizik muayenesinde; burun kökü basık, gözleri birbirine yakın, hipoaktif, sol elde simian çizgisi olduğu gözlendi. Hareket kısıtlılığı ve deformite yoktu. Kardiyovasküler muayenesinde komplet AVSD, endokardit ve mezokardial odakta minimal sistolik üfürüm olduğu saptandı. Hastanın periferik kan kültüründe GTG bant yöntemiyle yapılan sitogenetik incelemede 46,XY,rob(21q22q)(q10;q10),+21 kromozom tespit edildi.

69,XXX KARYOTİPE SAHİP BİR TRİPLODİ OLGUSU**S. GÜNEŞ¹, Y. AÇIKGÖZ², N. KARA¹, G. ÖKTEN¹, Ö. SEZER¹, S. YİĞİT¹**¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Tıbbi Genetik BD, SAMSUN² Gazi Devlet Hastanesi, SAMSUN

Triploidi genellikle iki spermle birden döllenmeye bağlı olarak görülür. Bununla beraber mayoz bölünmelerden birindeki diploid yumurta veya spermle sonuçlanan hatalar da triploidiye neden olabilir. Triploidilerde, canlı doğum oranı 1/50 000'dir. 24 yaşındaki annenin 2. gebeliğinden sezaryen ile miadında, 1300 g ağırlığında doğan 4 günlük hasta. Annenin ilk gebeliğinin 3 haftalık spontan abortus ile sonuçlandığı öğrenildi. Hastanın anne ve babası akraba değildi. Prenal takibinde IUGR ve cranial ventrikülomegali tanısı konulmuş. Aın çıkık, düşük kulak, bilateral el bileklerinde fleksiyon deformitesi var. Bilateral 3. ve 4. el parmaklarında sindaktili, ayak parmak boylarında asimetri, bilateral ayaklarda fleksiyon kontratüktörü vardı. Dinlemekle kalbinde 1/6'dan sistolik üfürüm. Laboratuarda böbrek fonksiyon testlerinde bozukluk tespit edildi. Bebek solunum sıkıntısı nedeniyle tedavi altına alınmış ve doğumundan 12 gün sonra eks olmuştur. Hastanın periferik kan kültüründe GTG bant yöntemiyle yapılan sitogenetik incelemede 69, XXX kromozom yapısı tespit edildi. Yapılan aile incelemesinde anne ve babada normal kromozom yapısı gözlemlendi.

POLİKİSTİK OVER SENDROMLU HASTALARDA PRO12 ALA GEN POLİMORFİZMİ SIKLIĞI

E. YURTCU¹, M.A. ERGUN², M. YILMAZ³, A. KARAKOÇ⁴, N. ÇAKIR⁴, M. ARSLAN⁴

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Laboratuvarı,

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,

³Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı
KIRIKKALE

⁴Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, ANKARA

erkan_yurtcu@yahoo.com

Polikistik Over Sendromlu (PKOS), premenapozal kadınları etkileyen endokrinolojik bir hastalıktır. Peroksizom proliferator-aktif reseptör-g (PPAR-g) geninin Pro12Ala polimorfizmi insülin direncinin gelişiminde rol oynamaktadır. Bu polimorfizmin PKOS'lu hastalarda obezite ve DM'nin gelişiminde rol aldığı önerilmektedir. Bu çalışmada, Türk toplumundaki PKOS'lu hastalarda Pro12Ala polimorfizmi PCR-RFLP metoduyla araştırılmıştır.

Çalışma kapsamına 120 PKOS hastası ve 80 sağlıklı kontrol alınmıştır. Pro12Ala polimorfizminin belirlenmesi için bölgeye spesifik primerlerle hasta ve kontrol olguların kanlarından elde edilen DNA'lar amplifiye edilmiştir. PCR ürünleri BstUI restriksiyon enzimi ile kesilerek genotipleme yapılmıştır.

Genotipleme sonucunda, PKOS'lu olgularda Pro12Ala polimorfizmi sıklığını düşük olarak saptanmıştır. Diğer çalışmalarda da gösterildiği gibi Pro12Ala polimorfizmi DM gelişimi ve insülin direnci oluşumunda rol oynayan bir etkidir. Bu bulgular, PKOS'da DM gelişim riskinin yüksek olmasında Pro12Ala polimorfizminin bir etken olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, Pro12Ala polimorfizminin PKOS'lu hastalarda insülin direnciyle ilişkisi olduğu belirlenmiştir.

ŞİZOFRENİK HASTALARDA DOPAMİN D2 RESEPTÖR (DRD2) GENİ 141C İNSERSİYON/DELESYON POLİMORFİZMİ*

A. BAŞARAN¹, M. DİKMEN¹, Ç. YENİLMEZ², H. KURT¹, İ. DEĞİRMENCİ¹, H.V. GÜNEŞ¹

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

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Psikiyatri Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR

Şizofreni dünya nüfusunun yaklaşık % 0.5-1'ini etkileyen kronik ve nöropsikiyatrik bir hastalıktır. Bu hastalarda dopamin ve dopamin D2 reseptör (DRD2) gen ürünü sentezinde artış olduğu bilinmektedir. Dopaminerjik hiperaktivite ve hücrel iletişim arasındaki ilişkinin araştırıldığı bazı çalışmalarda anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Şizofreni ve DRD2 reseptör geni arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalara ilgi artmaktadır. Amacımız, şizofreni alt tiplerinde görülen şizofrenik semptomlar ve bu semptomların şiddeti arasındaki ilişkiyi DRD2 geni -141C insersiyon/delesyon (Ins/Del) polimorfizmi yönünden belirleyebilmektir.

Çalışmamızda 73 şizofreni hastası ve 60 sağlıklı kontrollerde 141C Ins/Del polimorfizmi, bu bölgenin PCR ile çoğaltılması ve BstNI restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucu elde edilen fragmentler etidyum bromid ile görünür hale getirilmesi ile belirlendi.

Bu çalışmada hasta ve kontrol gruplarında, DRD2 geni -141C Ins/Del polimorfizminin allelik sıklıkları sırasıyla I aleli için % 79.5 ve % 77.5; D aleli için % 20.5 ve % 22.5 olarak bulunmuştur. İki grup arasında alleller ve genotiplerin sıklıkları açısından önemli bir farklılık belirlenmedi.

Sonuç olarak şizofreni hastaları ve kontrol örneklerinde, -141C Ins/Del genotipleri ve alelleri arasında, şizofreni tipleri ve hastalığın şiddeti arasında önemli bir ilişki bulunamadı.

* Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

ADENOVİRUS ARACILI TRAIL GEN TRANSFERİNİN ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALIKLARDAKİ TERAPÖTİK ETKİSİ

A. BISGIN^{1,2}, AD SANLIOGLU^{1,2}, MÜLKER^{1,3}, S. TUZUNER^{1,4}, E. TERZIOGLU^{1,3}
S. SANLIOGLU^{1,2}

¹Gen Tedavi Ünitesi, ²Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, ³Romatoloji-İmmunoloji,

⁴Ortopedik Cerrahi ABD, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye 07070

e-mail: atilbisgin@yahoo.co.uk

Amaç: Bu çalışmada, Romatoid Artrit'li hastalarda adenovirus aracılı insan TRAIL (Ad5.hTRAIL) gen transferinin terapötik etkisi araştırılmıştır.

Özet: Romatoid artrit kronik inflamasyonla karakterize, sinoviyal hücrelerin hiperplazisi ve sinoviyal eklemlerin lenfositler, makrofajlar ve plazma hücrelerince infiltrasyonu sonucu oluşan bir hastalıktır. Günümüzde halen ne RA'nin etyolojisi bilinmekte ne de hastalığın seyrini yavaşlatıp eklem hasarından koruyucu bir tedavi metodu bulunmaktadır. Son günlerde, sinovyal hücrelerin TNF, FasL ve TRAIL gibi öldürücü ligandlar aracılığıyla apoptozise uğratılması yeni bir tedavi seçeneği olarak gündeme gelmiştir.

Materyal Metod: Sinovyal hücrelerin adenovirus transduksiyon düzeyleri sinovyal hücrelerin yeşil floresan protein kodlayan adenoviruslar ile infeksiyonuyla floresan mikroskop kullanılarak saptanmıştır. Sinovyal hücrelerin TRAIL reseptör profilleri ise her bir TRAIL reseptör subtipine spesifik antikorlar kullanılarak flow sitometri ile gösterilmiştir. Prolifere olan RA sinovyal hücrelerinin gen tedavi yaklaşımı ile elimine olup olmayacağının kontrolü için sinovyal hücrelere adenovirus aracılı insan TRAIL (Ad5.hTRAIL) gen transferi yapılmıştır.

Bulgular: Tüm hastaların sinovyal hücrelerinin %90' dan fazlası hücre başına 5000 AdEGFP DNA partikülü verildiğinde etkin bir şekilde transduksiyona uğratılmıştır. Bu durum adenovirusların sinovyal hücrelere gen transferinde çok etkin olduklarını göstermiştir. Flow sitometri analizi sonucunda RA sinovyal hücrelerinde TRAIL ölüm reseptörü 2 (TRAIL-R2)'nin yüksek oranlarda sentez olduğu bulunmuştur. Adenovirus aracılı insan TRAIL (Ad5.hTRAIL) gen transferi ile Romatoid Artritli hastalardan izole edilen sinovyal fibroblast ölümünün indüklendiği gösterilmiştir. Bu nedenle adenovirus aracılı TRAIL gen transferi Romatoid Artritli hastaların tedavisinde yeni bir tedavi metodu olarak kullanılabilir.

PREEKLAMPSİLİ GEBELERDE TNF-ALPHA GEN POLİMORFİZMLERİ

A. PAZARBASI¹, M. KASAP¹, A.İ. GÜZEL¹, H. KASAP¹, M. ONBAŞIOĞLU², E. GÜRTUNÇ¹, F.T. ÖZGÜNEN².

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

² Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, ADANA

GİRİŞ: Preeklampsia (PE), gebeliklerin yaklaşık %5-10'unda görülür ve çoğu hafif seyreder. Gebe kadınların preeklampsie yakalanmalarına neden olan genetik temel hala bilinmemektedir. Aday genlerden biri olarak önerilen TNF- geninin preeklampsia ile ilişkili olduğunu bildiren bazı çalışmalar mevcuttur. Multifonksiyonel bir sitokin olan TNF-, immün ve inflamatuvar cevapta potansiyel bir modülatördür. Genin regülasyonunu direk olarak ve transkripsiyonal başlama bölgesinde promotörün 308. nükleotidinde lokalize bir polimorfizm PE'de dahil olmak üzere birçok hastalıkla, 850. nükleotidinde lokalize bir polimorfizm ise eklampsia ile ilişkilendirilmektedir.

AMAÇ: Bu çalışmada TNF--308^{G/A} ve 850^{C/T} polimorfizmleri ve PE arasında bir ilişki olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Bu amaçla 103 PE ve 46 normotensif kontrol olgusu TNF--308^{G/A} ve 850^{C/T} polimorfizmleri açısından RFLP yöntemi ile genotiplendirilmiştir.

SONUÇ: 308^{G/A} polimorfizminin varyant alleli olan TNF2 nin frekansının çeşitli hastalıklarda arttığı rapor edilmiştir. Çalışmamızda PE ve normotensif kontrol olgularının TNF2 polimorfizm frekansları karşılaştırılmıştır. PE gurubunda TNF2 polimorfizm yüzdesinin kontrol gurubuna göre önemli oranda arttığı fakat istatistiksel olarak frekanslar arasındaki farkın önemli olmadığı bulunmuştur (Kontrol: %6.5, PE: %13.6; $\chi^2 = 1.57$, $p = 0.21$). PE ve kontrol gurubu arasında 850^{C/T} polimorfizmi açısından da önemli oranda farklı bir genotip dağılımı gözlenmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında (%24) varyant T allelinin PE gurubunda (%17.5) önemli oranda azaldığı görülmüştür ($\chi^2 = 13.01$, $p = 0.001$).

TARTIŞMA: Sonuçlarımız TNF2 allelinin PE oluşumuna katıldığı ve T allelinin de komplikasyon gelişimine karşı koruyucu bir etki ile bireysel PE riskini modifiye edebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Preeklampsia, TNF-, TNF2, C850T, Polimorfizm

ESANSİYEL HİPERTANSİYONDA METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ C677T POLİMORFİZMİ

Ç. ÇİFTÇİ¹, B. SÜSLEYİCİ DUMAN², P. ÇAĞATAY³

¹ Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı,

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

³ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, İSTANBUL

Esansiyel hipertansiyon günümüzde halen kardiyovasküler ölümlerin başlıca sebebidir. Majör risk faktörü olarak bilinen esansiyel hipertansiyonun moleküler nedenleri ise halen tartışmalıdır. Hipertansiyon tek başına bir hastalık olmaktan çok, bir risk faktörü olarak kabul edilen arteriyel kan basıncı yüksekliğinin devamlılık halidir. Multifaktöryel olan bu hastalıkta pek çok sebep bulunmasına rağmen sorumlu olabileceğini düşündüğümüz metilentetrahidrofolat redüktaz gen polimorfizminin hastalıkla ilişkisini araştırmayı amaçladık. Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi homosistein metabolizmasında rol oynar. Amacımız, MTHFR C677T polimorfizminin hipertansiyon ile ilişkili olup olmadığının belirlenmesi ile birlikte homosistein ve lipid profili üzerine etkilerini araştırmaktır. Çalışma grubumuz *Joint National Committee*'nin 7. raporuna göre kan basıncı 120/80mmHg'nın üzerinde olan 53 esansiyel hipertansiyonlu hasta ve kan basıncı 120/80mmHg'nın altında olan angiografik olarak koroner arterleri normal 54 sağlıklı kişiden oluşturuldu. MTHFR genotipleri, PZR-RFLP yöntemlerinin uygulanması ile belirlendi. MTHFR genotipleri hipertansif ve kontrol gruplarında sırasıyla Hinfl kesim bölgesi her iki allelede bulunan (T/T) kişiler için %17 ve %24.1, her iki allelede bulunmayanlar için (C/C) %1.9 ve %3.7 ve heterozigotlar da (C/T) %81.1 ve %72.2 olarak bulundu. Hasta ve kontrol gruplarında CT genotiplerinin TT genotiplerine kıyasla homosistein, LDL-kolesterol, Total-kolesterol, ve trigliserid düzeyleri daha yüksek ($p>0.05$); HDL-kolesterol düzeyleri ise daha düşük ($p>0.05$) bulundu. Ayrıca CT genotipindeki kişiler TT genotipindekiler ile kıyaslandığında kontrol grubunda daha yüksek ($p>0.05$) diyastolik kan basıncı ve daha düşük ($p>0.05$) sistolik kan basıncı değerlerine; hasta grubunda ise daha yüksek ($p>0.05$) sistolik kan basıncı ve daha düşük ($p>0.05$) diyastolik kan basıncı değerlerine sahip bulundu. Lojistik regresyon analizi ile risk faktörlerinin hipertansiyon oluşumuna katkıları incelendiğinde, MTHFR genotiplerinin hipertansiyon için bağımsız risk faktörü olmadığı ancak yüksek homosistein düzeylerinin hastalığı artırıcı ($p<0.05$) etkileri saptandı. Sonuç olarak MTHFR gen polimorfizminin hipertansiyon ile ilişkili olmadığını ancak yüksek homosistein varlığında MTHFR gen polimorfizminin etkili olduğunu düşündük.

MINOR HA-1 ALLELLERİNİN TÜRK POPÜLAYSONUNDAKİ SIKLIKLARI

Ç. KEKİK, Y. ÖĞRET, G. KARAHAN, F.S. OĞUZ, M. ÇARİN

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Minör histokompatibilite antijenleri (mHAg), Major Histokompatibilite Kompleksi (MHC) sınıf I ve II molekülleri ile ilişkide olan peptit fragmanlarıdır. İlk tanımlanan mHAg'lerden olan HA-1 geni 19. kromozom üzerinde kodlanmaktadır. Peptit HLA-A2 tarafından sunulur. HA-1 geninin 504. pozisyonundaki polimorfizmine bağlı olarak HA-1H (immunojenik) ve HA-1R (immunojenik olmayan) olmak üzere iki alleli tanımlanmıştır. Son yıllarda, minör H antijen genetiği üzerine yapılan çalışmalar, mHAg polimorfizmi ve bunların protein ve genlerine dair yeni yaklaşımlar oluşturmıştır. Bu bilgi, minör H antijenlerinin transplantasyonda ve özellikle de immunoterapi uygulamalarındaki rollerinin anlaşılmasına ışık tutmuştur. AMAÇ: Çalışmamızda HLA-A*02 antijenine sahip sağlıklı bireylerde minör HA-1 allellerinin dağılımını tespit ederek, daha ilerde hasta grupları ile yapılacak olan çalışmalara ışık tutmayı amaçladık. MATERYAL-METOT: Aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 163 sağlıklı (K/E: 74/89, ortalama yaş:31) bireyin HLA doku tiplerini saptadıktan sonra HLA-A*02 antijenine sahip 82 (K/E: 43/39, ortalama yaş:21) bireye ait DNA örneklerini minör HA1 tiplendirme kiti (One lambda, USA) ile PCR SSP yöntemi uygulayarak HA-1 genotiplerini belirledik. SONUÇ: Çalışmaya dahil edilen 163 sağlıklı bireyin 82'si (%50) HLA-A*02 antijenine sahiptir. HLA-A*02 (+) bireylerin 10'u (%12) HA-1HH, 41'i (%50) HA-1HR ve 31'i (%38) de HA-1RR allellerini taşımaktadırlar. Kadınlarda ve erkeklerde bu genotipler aynı sıklıkla görülmektedir. HA-1HR genotipi %50'lik oranla bu çalışma grubunda görülen en sık genotiptir. Sonuç olarak çalışmamızın bu antijenlerin Türk toplumundaki sıklığının ortaya çıkarılması ve kök hücre naklinden sonraki süreçte minör H antijenlerinin aktarılan doku üzerine etkilerine yönelik çalışmalara kaynak teşkil edeceğini düşünmekteyiz.

ALLOJENİK HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİNDEN SONRA GVHH VE MİNÖR HANTİJENLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Ç. KEKİK¹, S. BEŞİŞİK², F.S. OĞUZ³, Y. SEYHUN¹, D. SARGIN², M. ÇARİN¹

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

² İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Hematoloji BD, İSTANBUL

Hematopoetik kök hücre naklinin en önemli komplikasyonu, HLA (İnsan lökosit antijeni) antijenlerine karşı gelişen alloimmün cevabın neden olduğu graft kaybı veya Graft Versus Host Hastalığı (GVHH)'dır. Son yıllarda, mHAg (minör histokompatibilite antijeni) genetiği üzerine yapılan çalışmalar, mHAg polimorfizmi ve bunların protein ve genlerine dair yeni yaklaşımlarını oluşturmuştur. Bu bilgi, mHAg'lerinin transplantasyonda ve özellikle de immunoterapi uygulamalarındaki rollerinin anlaşılmasına ışık tutmuştur. HA-1 alleli, HLA-A*02 molekülü ile sınırlı bir peptittir. 504. pozisyondaki polimorfizm sonucu HA-1H ve HA-1R olmak üzere iki alleli vardır. HA-1 allelinin HLA identik kardeş transplantasyonlarında GVHH ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

AMAÇ, MATERYAL-METOT: Nakil olan hastalarda gelişen GVHH ile alıcı ve vericiler arasındaki mHAg'leri arasındaki ilişkiyi incelemek amaçlı çalışmamızda 1998-2005 tarihleri arasında İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalında tanı ve tedavisi yapılmış hastalarda HA-1 alleli PCR-SSP yöntemi ile tiplendirildi. 29 HLA-A2 pozitif HSCT alıcı ve HLA-identik donörlerinden 58 örnek çalışmaya dahil edildi.

BULGULAR: RR, RH, HH genotiplerinin sıklığı sırası ile alıcılarda %38, %41, %21 vericilerde ise %35, %62 ve %3'dür. Çalışmaya dahil edilen 29 hastanın 7'sinde evre II veya III GVHH gelişmiştir. GVHH'li 7 hasta ve onların vericileri arasında mHAg'leri açısından uyumsuzluk vardır. 29 alıcı ve verici çiftinin 12'sinde mHAg'leri uyumsuz bulunmuştur.

SONUÇ: mHAg'lerin saptanması; bu antijenlere karşı oluşan immün yanıtın aydınlatılmasında, GVHH riskinin ve GVL etki olasılığını belirlemede, en uygun verici adayının seçiminde ve adoptif immunoterapi ihtimalinin belirlenmesinde önemlidir.

TÜRK TOPLUMUNDA OBEZ VE TİP 2 DM'Lİ HASTALARDA MELANOKORTİN-4 RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

E. YURTCU¹, M.A. ERGUN², M. YILMAZ³, A. YILMAZ⁴, İ. YETKİN⁵, A. MENEVSE⁴

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Laboratuvarı,

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,

³Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı
KIRIKKALE

⁴Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,

⁵Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, ANKARA

erkan_yurtcu@yahoo.com

Obezite genetik ve çevrenin birbirlerini etkilemesiyle oluşan kompleks bir hastalıktır. Obezitenin genetik bileşenini tanımlamaya yönelik çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Bir çok araştırmacı MC4R polimorfizmlerinin insanlarda monogenik obezitenin nedeni olabileceğini bildirmiştir. T2DM'li bir çok hastada obezite de görülmesi, her iki hastalığın ortak genetik kökeni olabileceğini akla getirmektedir. MC4R'nin T2DM'un nedeni olabileceği öne sürülmektedir. Bu çalışmada Monogenik, nonsendromik obezitenin nedeni olarak öne sürülen ve Türk toplumunda MC4R'ye ait daha önce araştırılmamış dört polimorfizm ve daha önce dizi analiziyle belirlenmiş bir polimorfizm araştırılmıştır.

Bu çalışmamıza 203 obez (123 diyabetik olmayan-80 diyabetik) ve sağlıklı 110 olgu alınmıştır. DM tanısı American Diabetes Association (Amerikan Diabet Derneği-ADA) ölçütlerine göre konulmuştur. İnsülin direnci HOMAIR ile ölçülmüştür. MC4R genine ait Ser58Cys, Val50Met, Ile102Ser, Val103Ile ve Asn274Ser bölgelerini çoğaltmak için özgül primerler kullanılarak PCR yapılmıştır. Ser58Cys polimorfizmi için, Alu I, Val50Met polimorfizmi için Bsu 36 I, Ile102Ser polimorfizmi için Bsr I, Val103Ile polimorfizmi için Hinc II ve Asn274Ser polimorfizmi için Ple I restriksiyon enzimleri kullanılmış ve genotipler belirlenmiştir.

Bu bölgelerden Val50Met ve Val103Ile sıklığı obez olgularda kontrol olgulardan anlamlı yüksek bulunmuştur. Ser58Cys ve Ile102Ser polimorfizmleri ile kontrol grubu arasındaki fark anlamsız olarak bulunmuştur. Asn274Ser mutasyonuna ait sıklık PCR-RFLP metodu ile taranmış ve obez olgularda kontrol olgulara göre anlamlı yüksek çıkmıştır. Çalışma kapsamına alınan diyabetik obezler ve diyabetik olmayan obezler arasında MC4R sıklığı açısından bulunan fark anlamsızdır.

TÜRK TOPLUMUNDA DM HASTALARINDA CALPAIN10 GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

E. YURTCU¹, M.A. ERGUN², M. YILMAZ³, H.DEMİRCİ⁴, İ. YETKİN⁴

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Laboratuvarı,

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,

³Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı
KIRIKKALE

⁴Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, ANKARA
erkan_yurtcu@yahoo.com

Tip 2 DM genetik ve çevresel etkenlerle ortaya çıkan multifaktöryel hastalıklardandır. Calpain10 geni Tip 2 DM hastalarıyla ilişkilendirilmiştir. Bu hastalarda, calpain10 genine ait SNP-19, 43, 44 ve 63 bölgelerine ait polimorfizmlerle Tip 2 DM arasındaki ilişki bildirilmiştir. Bu polimorfizmler, genin kodlanmayan bölgesinde olup transkripsiyonun düzenlenmesiyle ilişkilidir. Aynı zamanda bu gen insulin duyarlılığı ve salınımını etkilemek yoluyla DM riskini artırmaktadır. Bu çalışmada, Tip 2 DM hastalarında calpain10 genine ait SNP 19, 43, 44 ve 63 polimorfizmleri araştırılmıştır.

Bu çalışmaya 204 Tip 2 DM ve 80 sağlıklı kontrol olgu alınmıştır. Hedef gen bölgeleri için özgül primerler kullanılarak PCR gerçekleştirilmiştir. SNP 19 bölgesinde insersiyon/delesyon polimorfizmi araştırılmıştır. SNP 43 ve 44 genotiplemesinde FauNDI ve BstFNI restriksiyon enzimleri, SNP 63 genotiplemesi için HhaI enzimi kullanılmıştır.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, SNP 19 polimorfizmi için hastaların %33'ü yabancı genotipe sahipken % 67'sinin polimorfizm taşıdığı saptanmıştır. SNP 44 polimorfizminde hasta grubunun % 75'i yabancı tip taşıırken % 25'i polimorfik olarak bulunmuştur. SNP 63 polimorfizmi için hasta grubunun %86'sı yabancı tipken % 14'ü polimorfik olarak belirlenmiştir. Son olarak, SNP 43 bölgesine ait polimorfizm bu çalışma grubunda bulunamamıştır.

KÖK HÜCRE NAKLİ SONRASI PCR-STR YÖNTEMİ İLE KİMERİZM İZLENMESİ

Y. DUVARCI ÖĞRET¹, **FS. OĞUZ¹**, SK. BEŞİŞİK², D. SARGIN², M. ÇARİN¹

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

² İç Hastalıkları Hematoloji BD, İSTANBUL

Allogeneik kök hücre nakli (allo-KHT) sonrası kan ve kemik iliği hücrelerinin donör ve alıcı orijini ayırt etmek için informatif genetik markerlar kullanılır. Kök hücre naklinden sonra kimerizm tayininde yaygın olarak FISH ve DNA amplifikasyonuna dayanan moleküler metodlar uygulanmaktadır. Kısa dizi tekrarları (short tandem repeat = STR), oldukça polimorfik, alelik varyasyonlara sahip kopya tekrarları içerirler. Multiplex PCR-STR analizi, donör hücre engraftmanının tayininde kullanılan hızlı, güvenilir, kullanışlı bir methodur.

Amaç: Çalışmamızda kemik iliği transplantasyonu uygulanmış 61 hastanın, STR analizi ile kimerizm durumları izlenerek Graft versus Host hastalığı (GVHH) ve relaps gelişimi üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve method: Kimerizm analizi, genomik DNA izolasyonundan sonra Multiplex PCR-STR yöntemi ile 15 STR lokusu ve cinsiyete özgü amelogenin ABI Prism 310 Genetic Analyzer cihazı ile kapiller jel elektroforezi uygulanarak 'gene scan' programında analiz yapılmıştır. (Amp FI STR identifiiler - Applied Biosystems Foster City, CA).

Bulgular: Altmışbir hastanın 58 tanesi HLA tam uyumlu kardeş vericiden, 3 tanesine ise akraba dışı vericiden nakil yapılmıştır. Hastaların 31 tanesine cinsiyet uyumsuz nakil yapılmıştır. 61 hastanın 51 tanesinde tam kimerizm (TK), 10 tanesinde karışık kimerizm (KK) saptanmıştır. Hastaların 26 (%42,62)'sında GVHH gelişimi gözlenirken, 10 (%16,93)'unda relaps gelişimi gözlenmiştir. Dördünde (%6,55) ise hem GVHH hem de relaps gözlenmiştir. TK saptanan hastaların 22'sinde GVHH, 3'ünde relaps saptanırken, KK saptanan hastaların 4'ünde GVHH, 7'sinde relaps gelişimi gözlenmiştir.

Sonuç: Kimerizm takibi klinisyene hastalarda ortaya çıkabilecek GVHH ve relapsın erken dönemde göstergesi olması nedeni ile değerli bir incelemedir

ALLOGENEİK KÖK HÜCRE NAKLİ SONRASI EKSTRAMEDÜLLER NÜKS OLGUSUNDA DONÖR LÖKOSİT İNFÜZYONU SONRASI DOKUDA KİMERİZM TAYİNİ İLE NÜKS KAYNAĞI VE DONÖRE AİT HÜCRE YERLEŞİMİNİN GÖSTERİLMESİ

S. KALAYOĞLUBEŞİŞİK¹, **FS. OĞUZ²**, F. AYDIN², Y. DUVARCI ÖĞRET², D. SARGIN¹,
M. ÇARİN²

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Hematoloji B.D., Tıbbi Biyoloji AD,
İSTANBUL

Allogeneik kök hücre nakli sonrası kemik iliği (Kİ) dışı dokularda lösemik hücre infiltrasyonu (ekstramedüller tutulum) şeklinde nüks gelişmesi nadirdir. Nüks sırasında hala donöre ait hücreler bulunmakta ise (karışık kimerizm: KK) graft versus lösemi etkisi amacıyla aynı donörden lökosit infüzyonu (DLI) tedavide önemli rol oynar.

Amaç: Akut miyeloid lösemi ekstramedüller tedaviye dirençli lösemik tutulum tanısıyla erkek kardeşinden çevre kanı kaynaklı kök hücre nakli yapılan bir hasta izlendi. Bu hastada kısa süreli remisyondan sonra ekstramedüller nüks sırasında Kİ ve dokuda gerçekleştirilen kimerizm tayini sonuçları yorumlanarak sunuldu.

Materyal-Metod: Nakil sonrası +14. ayda histopatolojik olarak deride lösemik tutulumu belirlenen hastanın Kİ remisyonda iken Kİ ve lezyondan biyopsi materyali alındı. Multiplex PCR- STR yöntemi ile 15 STR lokusu ve cinsiyete özgü amelogenin ve FISH ile CEP XY (Vysis) prob kullanılarak cinsiyet kromozomu çalışması yapıldı.

Bulgular : Her iki yöntem ile donör kaynaklı hematopoezin devam ettiği gösterildi. Aynı zamanda lezyondan yapılan biyopsi örneklerindeki kimerizm analizi ile hastaya ait alellerin varlığı gösterildi. Bunun üzerine miyeloablatif dozda olmayan kemoterapiyi (KT) takiben aynı donörden G-CSF ile mobilize edilmiş DLI yapılan hastanın deri lezyonları tamamen kayboldu. Ancak 19. ayda yeniden deri ve lenf düğümünde lösemik tutulum nedeniyle değerlendirildi. Kİ morfolojik olarak remisyondan sınırlarında blast içermekte iken kimerizm çalışmalarında KK saptandı. Nüks olarak değerlendirilen lenf düğümü dokusundaki kimerizm çalışması ise hem alıcı hem de vericiye ait allel varlığını ortaya koydu. Hastanın yaşam kalitesini olumsuz etkileyecek tedavileri red etmesi nedeni ile düşük doz KT'yi takiben DLI yinelenildi. Hematopoetik toparlanma sırasında lezyonlar kayboldu, Kİ morfolojik remisyonda bulundu, KK tam kimerizme döndü.

Yorum: Allogeneik kök hücre nakli sonrası epitelyal dokuda donör hücre popülasyonu bildirilmiştir. Ancak hastamızda lenf düğümü dokusunda donöre ait allel saptanması, allogeneik lökositlerin (lenfositlerin) transfüze edildikten sonra sağ kalımı ya da donör kaynaklı hematopoezin dolaşan lenfositleri ile ilişkili durmaktadır.

ALLOGENEİK KÖK HÜCRE NAKLİ SONRASI KİMERİZMİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE FISH VE STR-PCR YÖNTEMLERİ

F. AYDIN¹, S. KALAYOĞLU², F. OĞUZ¹, Y. DUVARCI¹, S. TEMURHAN¹, D. SARGIN², M. ÇARİN¹

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, ¹Tıbbi Biyoloji A.B.D., ²İç Hastalıkları Hematoloji B.D., İSTANBUL

Allogeneik kök hücre nakli (allo-KHN) sonrası kimerizm tayini engraftmenti kanıtlamak, nüks ya da graft kaybını belirlemek için kullanılır. Kimerizm analizinde halen altın standart yöntem tanımlanmamıştır. Mevcut araştırmalarda sonuçlar FISH yönteminde allo-KHN sonrası cinsiyet kromozomlarına özgül problemlerin kullanımı ile kimerizmin miktarını ortaya çıkarmak ve STR-PCR ile doğruluğunu ölçmeyi kapsamaktadır.

Amaç: Bu çalışmada 13 cinsiyet uyumsuz allo-KHN olgusunda kimerizm durumu iki yöntem ile birlikte değerlendirildi.

Hastalar ve yöntem: Hematolojik habis hastalığı olan 13 hastada cinsiyet uyumsuz kök hücre nakli sonrası engraftment gerçekleştikten sonra kimerizm hem FISH (CEP X/Y (Ysis) problemleri kullanılarak) hem de multiplex STR-PCR yöntemi ile (15 STR lokusu ve cinsiyete özgü amelogenin primeri kullanılarak) araştırıldı. Yöntemlerin herhangi birinde karışık kimerizm (KK) elde edilmesi halinde kimerizm mutlaka 3 ayda bir izlendi. Kimerizm analizi, tam kimerizm (TK) saptanmış hastalarda klinik şüphe olduğunda yinelenildi.

Bulgular: 13 hastada PCR-STR ile 25, FISH ile 25 kimerizm analizi değerlendirildi. Nakil sonrası ilk kimerizm analizlerinde PCR ile 12'sinde TK, FISH ile 11'inde TK saptandı. İki hastada PCR-STR ile TK saptandı iken FISH ile KK gösterildi. Bu farklılık hastaların farklı zamanlardaki örnekleri ile çalışılmasından kaynaklanmıştır. TK saptanan iki olguda KK'e dönüşü klinikte nüks, bir olguda ise graft kaybı ve ilaç toksisitesini ölüm izledi. Bir hastada ekstramedüller nüks dokuda lösemik hücrelerin alciya ait olması, kemik iliğinde (Kİ) TK'in sürmesi ile gösterildi. Aynı hastada hastalığın ilerlemesi ile Kİ'nde de KK gelişti.

Yorum: Kimerizmin kantitatif değerlendirilmesi graft akıbeti takip imkanı böylelikle klinikte tedavi edici uygulamalara yönlendirici olmaktadır. Cinsiyet uyumsuz allo-KHN sonrası kimerizm analizi olarak FISH hızlı ve güvenilir bilgi sağlayan bir yöntemdir. Multiplex PCR-STR ve amelogenin lokusu ancak kantitatif olarak değerlendirilmesi de aynı şekilde yön gösterici olacaktır.

OTOZOMAL RESESİF CHARCOT-MARIE-TOOTH HASTALIĞI TANISI KONMUŞ BİR TÜRK AİLEDE PCR-SSCP YÖNTEMİ İLE *GDAP1* GEN MUTASYONLARININ TARANMASI

N.ŞAHİN-CALAPOĞLU¹, M.SOYÖZ¹, M.CALAPOĞLU², N.ÖZÇELİK¹

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

²Kafkas Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretimi Bölümü, KARS

Amaç: Charcot-Marie-Tooth (CMT) hastalığı klinik ve genetik çeşitlilik gösteren motor ve duyu nöropatilerindendir. Hastalığın görülme sıklığı 1/2500'dir. Hastalarda yaşamlarının birinci veya ikinci yarısında genellikle bacaklarda distal kas atrofisi, refleks kaybı, ayak deformiteleri ve yürüyüş bozuklukları görülür. CMT vakalarının büyük çoğunluğu otozomal dominant veya X'e bağlı dominant kalıtılır. Otozomal resesif CMT (ARCMT) nadir görülür ve dominant formlarına klinik olarak benzer fakat erken yaşlarda ortaya çıkar ve daha ağır seyreder. ARCMT için sorumlu 10 loci ve 5 şüpheli gen tanımlanmıştır. ARCMT'den sorumlu olduğu belirlenen ilk lokus (CMT4A) Tunuslu bir ailede 8q13-q21 kromozom bölgesinde haritalanmıştır. Bu bölgede yer alan *GDAP1*'in (*ganglioside-induced differentiation-associated protein-1*) ARCMT'den sorumlu major gen olduğu tanımlanmış ve vakaların %25'inde *GDAP1*'e ait mutasyonlar saptanmıştır. Çalışmamızda klinik olarak ARCMT tanısı konmuş bir Türk ailede PCR-SSCP yöntemi ile *GDAP1*'in kodlayan bölgesindeki mutasyonların taranması amaçlanmıştır.

Materyal-Metod: Yedi hasta bireyin bulunduğu altı kuşaklı otozomal resesif Charcot-Marie-Tooth hastalığı tanısı konmuş ailedeki bireylerin standart metodlarla saflaştırılmış DNA'larından PCR ile *GDAP1* geninin altı ekzonu çoğaltıldı ve non-denaturan poliakrilamid jel elektroforezi ile SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) analizi yapıldı.

Bulgular: Genin bütün ekzonları için yapılan PCR-SSCP analizi neticesinde ailedeki hasta ve normal bireyler ile kontrol bireyin poliakrilamid jel üzerindeki bant paternleri arasında herhangi bir fark gözlenmedi. Bunun sonucunda ailedeki ARCMT hastalığının *GDAP1*'in kodlayan bölgesindeki herhangi bir mutasyon neticesinde gerçekleşmediği kanaatine varıldı.

LEPTİN GENİ 5' UCUNDAKİ G-2548A POLİMORFİZMİNİN PSORİAZİS İLE İLİŞKİSİ

N. KARA¹, F. AYDIN², N. ŞENTÜRK², S. GÜNEŞ¹, H. BAĞCI¹, Y. BEK³, A. Y. TURANLI²

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

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dermatoloji AD,

³Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik AD, SAMSUN

Psoriasis, epidermal keratinositlerin hiperproliferasyonu ve tam olmayan differansiasyonu ile karakterize inflamatuvar bir deri hastalığıdır. Dermisteki nötrofillerden ve aktive T hücrelerinden zengin infiltrat ve proinflamatuvar sitokinlerin artmış ekspresyonu psoriasisde immunolojik prosesin etkilendiğini göstermektedir.

Ob gen ürünü olan leptin, enerji alımını regüle etmenin yanı sıra, overler, kan damarları, kemik iliği ve son zamanlarda da T lenfositler üzerine etkili olduğu gösterilmiştir. Leptinin helikal sitokinlere olan yapısal benzerliği, reseptörünün class I sitokin reseptör ailesi ile olan homolojisi ve ob-Rb nin CD4 lenfositler üzerinde eksprese edilmesi nedeniyle leptinin T hücre aracılı yanıtta rol oynadığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada etyopatogenezinde immunolojik ve genetik faktörlerin rol oynadığı düşünülen psoriasisde Leptin geni 5' ucu G-2548A polimorfizminin inflamatuvar mediatörlerde değişiklik yaparak inflamasyon üzerine rol oynayıp oynamadığının saptanması amaçlanmıştır. Psöriazisli 109 ve sağlıklı kontrol grubu 125 kişi üzerinde, PCR ve RFLP teknikleri uygulanarak yapılan DNA analizi sonucunda, genotip [(GG,GA, AA), OR= 0.74(0.39-1.38), P= 0.308] ve allel frekansları [(G, A), OR= 0.86(0.59-1.26), P= 0.429] kıkare testi yapılarak karşılaştırılmış ve Leptin geni polimorfizmi ile psöriazis arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Bir populasyon çalışması olan bu çalışmamız ilk kez yapılmıştır. Farklı populasyonlarda yapılacak çalışmaların artması sonucunda leptin geni polimorfizmi ile psöriazis arasındaki ilişki daha kesin bir şekilde ortaya konacaktır.

BEHÇET HASTALARINDA CTLA-4 VE CD28 GEN POLİMORFİZMLERİ SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

R. GÜNEŞAÇAR, E. ERKEN, H. ÖZER

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji-Romatoloji Bilim Dalı, ADANA

GİRİŞ: Behçet hastalığı oral ve genital ülserler, cilt lezyonları, üveit, artrit ve nörolojik tutulumlarla karakterize olan multisistemik bir hastalıktır. CTLA-4 ve CD28 T hücreleri yüzeyinde eksprese olan ve antijenle uyarılmış T hücre aktivasyonunu düzenleyen kostimülatör moleküllerdir. CD28 molekülü antijenik uyarımdan sonra T hücrelerinin aktivasyonunu sağlarken, CTLA-4 molekülü T hücre aktivasyonunun negatif regülatörü olarak fonksiyon görmektedir. CTLA-4 genindeki varyasyonlarla romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus ve Graves hastalığı gibi çeşitli otoimmün hastalıklar arasında ilişki bulunduğu gösterilmiştir.

AMAÇ: Çalışmamızda CTLA-4 +49 A/G ve -318 C/T ile CD28 IVS3 +17 T/C gen polimorfizmlerinin Behçet hastalığının gelişimine katkısı ve hastalığın bazı klinik bulgularıyla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT: Çalışmaya 64 Behçet hastası ve 132 sağlıklı kontrol dahil edildi. CTLA-4 ve CD28 gen polimorfizmlerinin belirlenmesinde PCR-RFLP tekniği kullanıldı.

BULGULAR: Behçet hastalarında CTLA-4 +49 GG, -318 CT ve CD28 IVS3 +17 CC genotipleri sıklığı sırasıyla %3.1, %3.1 ve %6.2; kontrol grubunda ise %10.6, %7.5 ve %11.3 olarak belirlendi. Behçet hastalarında CTLA-4 +49 GG, -318 CT ve CD28 IVS3 +17 CC genotipleri sıklığı, sağlıklı kontrol grubuna göre oldukça düşük olmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Behçet hastalığının bazı klinik bulgularıyla çalışılan polimorfizmler arasında da ilişki bulunamadı.

SONUÇ: Çalışmamızda CTLA-4 ve CD28 gen polimorfizmleri ile Behçet hastalığı arasında anlamlı istatistiksel ilişki bulunmamakla birlikte, Behçet grubunda CTLA-4 +49 GG, -318 CT ve CD28 IVS3 +17 CC genotipleri sıklığının sağlıklı kontrol grubuna göre oldukça düşük bulunması, bu polimorfizmlerin Behçet hastalığındaki rolünün daha iyi anlaşılması için daha geniş bir hasta grubunda çalışılması gerektiğini düşündürmektedir.

BEHÇET HASTALARINDA MEFV MUTASYONLARININ İNCELENMESİ

S. YİĞİT¹, N. KARA¹, N. ŞENTÜRK², S. GÜNEŞ¹, H. BAĞCI¹, K. CENGİZ³, A. TURANLI²

¹ Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

² Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD,

³ Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, SAMSUN

Behçet Hastalığı (BH), tekrarlayan oral ve genital aft ve ülserler, üveit, cilt lezyonları, damar bozuklukları, gastrointestinal sistem ve santral sinir sistemi tutulumu olan etiyolojisi tam olarak bilinmeyen multifaktöriyel bir hastalıktır. Behçet Hastalığı, Dünya genelinde gözlenmekle birlikte özellikle Türkiye, Ortadoğu, Doğu ve Güney Akdeniz Ülkeleri, Güney Asya ve Japonyada sık bildirilmektedir. Görülme sıklığı Türklerde yaklaşık 80-300/100.000, Japonlarda 10/100.000 , Batı Avrupa'da 0.64/100.000 'dir.

Metot: Biz çalışmamıza Uluslararası Behçet Çalışma Grubu Kriterleri'ne göre Behçet tanısı konan 105 hasta ve 100 sağlıklı birey kontrol grubu olarak kattık. Bu çalışmada MEFV mutasyonlarından M694V, M680I(G/C) ve V726A Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) , Restriksiyon Fragment Boyu Polimorfizmi (RFLP) ve agatoz jel elektroforezi tekniği ile ve bu mutasyonları da kapsayan 12 mutasyon (E148Q, P369S, M680I(G/C), M680I(G/A), I692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R761H) FMF StripAssay yöntemi ile tarandı. Sonuçlarımız hasta grubu ile kontrol grubu arasında gözlenen mutasyonların sıklığı açısından fark olduğunu göstermektedir. İstatistiksel analiz için SPSS 10.0 programı kullanıldı. Sonuçlar hem iki yöntemin kıyaslanması hem de mutasyon frekansı açısından değerlendirildi. Tartışma ve Sonuç: Behçet Hastalarında toplam 48 mutasyon ve kontrol grubunda ise 21 mutasyon saptanmıştır.

Behçet hastaları ile sağlıklı kontroller arasında mutasyon frekansı açısından fark vardır. Ancak istatistik değerlendirme aşamasındayız ve daha anlamlı sonuçlar için çalışılan hasta ve kontrol sayısının artırılması yönünde çalışmalarımız devam etmektedir.

HEMOKROMATOZİSLİ HASTALARDA HFE GEN MUTASYONLARININ (C282Y, S65C, H63D) PCR-RFLP YÖNTEMİYLE TARANMASI

S. ÖZTÜRK¹, H. DİKİCİ², F. SILAN³, D. DİNÇER², G. LÜLECİ¹, İ. KESER¹

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

² Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, ANTALYA

³ Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, DÜZCE

Kalıtsal hemokromatozis, intestinal yolla emilen fazla miktardaki demirin karaciğer, pankreas, kalp, eklem bölgeleri ve hipofiz bezi gibi organlarda birikmesi ile karakterize, otozomal resesif bir hastalıktır. Avrupa populasyonlarında, en yaygın genetik hastalıklardan birisi olan kalıtsal hemokromatozis, çoğunlukla demir metabolizmasında görevli HFE gen mutasyonları (C282Y, H63D ve S65C) ile ilişkilidir. Bu çalışmada, 11 kalıtsal hemokromatozis hastası ve 141 sağlıklı kontrol bireyinde HFE gen mutasyonlarının (C282Y, H63D ve S65C) hastalık üzerine etkisini ve mutasyon sıklığını belirlemeyi amaçladık

Çalışmada, hasta ve kontrol gruplarından elde edilen DNA örneklerinde HFE geninin ekzon 2 ve ekzon 4 bölgeleri PCR ile çoğaltıldı ve mutasyonlar, *Rsa I* (C282Y), *Nde II* (H63D) ve *Hinf I* (S65C) restriksiyon endonükleaz enzimleri ile kesilerek, RFLP yöntemi ile belirlendi. Çalışmanın sonucunda, hasta ve kontrol grubundaki tüm bireylerin C282Y ve S65C için homozigot normal genotipte oldukları görüldü. Buna karşın, H63D mutasyonu açısından 2 hasta ve 30 kontrol bireyinin heterozigot taşıyıcı (H63D/Normal), 2 hasta ve 2 kontrol bireyinin ise homozigot mutant (H63D/H63D) olduğu belirlendi. H63D mutasyonu alel frekansının hasta grubunda % 27.27, kontrol grubunda ise %12.06 olduğu bulundu.

Sonuç olarak bu çalışmada elde etmiş olduğumuz bulgular, Türk populasyonunda HFE geni C282Y ve S65C mutasyonlarının görülmediğini veya nadir görüldüğünü, H63D mutasyon sıklığının Asya populasyonlarından daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, kalıtsal hemokromatozisli hasta ve sağlıklı kontrol bireylerinde HFE gen mutasyonlarının analiz sonuçları, biyokimyasal demir parametreleri (serum demir bağlama kapasitesi, ferritin ve transferin doygunluğu), yaş ve cinsiyet gibi faktörler karşılaştırılmış ve H63D mutasyonunun kalıtsal hemokromatozis hastalarında araştırılması gereken genetik faktörlerden birisi olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

TİP 2 DİABETLİ HASTALARDA SERUM PARAOKSONAZ DÜZEYLERİ VE PON1(192) POLİMORFİZMİ

S. GÖKÇEN¹, M. CENGİZ¹

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

Paraoksonaz (PON1), insan serumunda apo-AI içeren yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkili kalsiyuma bağlı bir esterazdır. Serum paraoksonaz lipid peroksidleri hidroliz ederek, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu önleyebilmektedir, bu yüzden anti-aterojenik bir etki göstermektedir. PON1 proteininin kodon 192'deki polimorfizmi, arginin (R alleli) ve glutamin (Q alleli) aminoasitlerinin değişimini içermektedir.

Çalışmamızda İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dahiliye Anabilim Dalı'nda takipleri yapılan 50 tip 2 diabetli hasta ve 30 diabetik olmayan sağlıklı kontrolde, PON1(192) polimorfizminin serum PON1 aktivitesi üzerindeki etkisini araştırdık. İnsan paraoksonaz gen polimorfizmi polimeraz zincir reaksiyonu/restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (PCR/RFLP) yöntemiyle çalışıldı. PON1 geninin genetik analizinde AlwI enzimi kullanıldı.

Buna göre QQ, QR ve RR genotiplerinin sıklıkları tip 2 diabetli hastalarda sırasıyla %36, %50 ve %14, kontrol deneklerde ise %26.67, %46.66 ve %26.67 olarak bulundu. Paraoksonaz aktivitesi, paraokson eklenmesini takiben oluşan p-nitrofenolün spektrofotometrik analizi ile ölçülmüştür. Paraoksonaz aktivitesi diabetiklerde kontrol grubuna göre daha düşük bulundu. PON1(192) genotiplerinin serum PON aktivitesi üzerinde önemli bir etkisi olduğu gösterildi. Kontrol ve tip 2 diabetli hastalar arasında PON1(192) RR homozigotlar, QR ve QQ genotiplere göre anlamlı derecede daha yüksek PON aktivitesine sahipti (p0.005). Kontrol ve tip 2 diabetli hastalarda PON1 aktivitesi RR genotipinde en yüksekti ve QR genotipi orta düzeyde aktiviteye sahipken QQ en düşük aktiviteye sahipti. Sonuç olarak, bizim bulgularımız, tip 2 diabetes mellitus hastalar ve kontrollerde paraoksonaz aktivitesinin, PON1 genetik çeşitliliğinden etkilenebileceği fikrini vermektedir.

AİLESEL AKDENİZ ATEŞİ (FMF): AKRABA EVLİLİĞİ OLMAYAN AİLELERDE ANALİZ SONUÇLARI

S. BOZDOĞAN¹, F. ÇABUK¹, A. DURSUN¹

¹ Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıbbi Genetik AD ZONGULDAK

Giriş: Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF), otozomal resesif geçişli ve klinik olarak ateşle birlikte tekrarlayan akut peritonit, plörit ya da artrit atakları ile kendini gösteren bir hastalıktır. Hastalık en sık Türklerde, Araplarda, Yahudilerde ve Ermenilerde görülür. Sorumlu gen olarak bildirilmiş MEFV (pyrin) geninde bugüne kadar pek çok mutasyon tanımlanmıştır.

Hastalar ve yöntem: Bu çalışmamızda akraba evliliği olmayan ve FMF'ten etkilenmiş 4 proband ve ailesi ele alınarak, taşıdıkları Türk toplumunda en sık görülen 5 mutasyon (M680I, M694V, M694I, V726A ve E148Q) açısından araştırılmıştır.

Bulgular: Araştırma sonucunda; birinci ailede, annenin M680I ve V726I mutasyonlarını compound heterezigot olarak taşıdığı tespit edilirken babanın V726I mutasyonunu heterezigot olarak taşıdığı, ailenin bir kızlarının V726I mutasyonunu homozigot ve ikinci kızlarının M680I ve V726I mutasyonlarını compound heterezigot olarak taşıdığı tespit edilmiştir. İkinci ailede anne ve baba M694V mutasyonunu heterezigot olarak taşıırken bir çocukları M694V mutasyonu açısından homozigot, diğer çocukları normal olarak tespit edilmiştir. Üçüncü ailede; anne, baba ve bir çocukları M694V heterezigot olarak tespit edilmişken bir çocuk M694V mutasyonu açısından homozigot ve üçüncü çocukları normal olarak tespit edilmiştir. Dördüncü ailede baba M680I, V726A compound heterezigot, anne normal olarak tespit edilirken bir çocuklarının V726A heterezigot, ikinci çocuklarının M680I heterezigot olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: FMF'in otozomal resesif geçişli bir hastalık olmasına ve ailelerde akraba evliliği olmamasına rağmen, Türk toplumundaki yüksek taşıyıcı sıklığı mutasyon analizinin yalnız probanda değil, diğer aile bireylerinde de uygulanmasını gerektirmektedir. Böylece subkliniği olan homozigot bireyler ile asemptomatik heterezigot bireyler belirlenebilecek ve oluşabilecek komplikasyonların erken dönemde önlenmesi mümkün olacaktır.

TÜRK TOPLUMUNDA KORONER ARTER HASTALIĞI İLE ÖSTROJEN RESEPTÖRÜ ALFA GENİ İNTRON 1 POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

S. MENEVSE¹, A. YILMAZ¹, M.A. ERGÜN², A. ÇENGEL³, R. YALÇIN³

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

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

smenevse@gazi.edu.tr

Koroner arter hastalığı (KAH) dünya çapında kardiyovasküler kökenli ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir. KAH ve ateroskleroz gelişimindeki cinsiyete bağlı büyük farklılıklar, östrojenin miyokard, vasküler düz kas hücreleri ve endotel hücreleri üzerine olan doğrudan etkilerine olduğu kadar kolesterol seviyesi, glikoz metabolizması ve insülin seviyesi gibi risk faktörlerine olan dolaylı etkilerine de bağlanmaktadır.

Östrojenler, etkilerinin çoğunu Östrojen Reseptör (ÖR) proteinleri aracılığı ile gerçekleştirmektedir ve ÖR ile ÖR olmak üzere iki tipi vardır. Doku ve hücrelerel dağılımları farklılık gösteren bu reseptörlerin ikisi de farklı genlerden şifrelenmekte ve farklı fizyolojik rollere sahiptir. ÖR'yı şifreleyen genin 1. intronunda XbaI ve PvuII olarak adlandırılan iki polimorfizm tanımlanmıştır. Bu çalışmada, toplumumuzdaki KAH yaygınlığı ve ciddiyeti ile ÖR XbaI ve PvuII polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi çalışmayı amaçladık.

Bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalında koroner anjiyografi geçiren 168 hastadan alınan periferik kandan elde edilen genomik DNA örneklerine, ÖR XbaI ve PvuII polimorfizmine ait genotiplerin belirlenmesi amacıyla, PCR-RFLP yöntemi uygulanmıştır. Son olarak, elde edilen genotipler ile klinik bulgular arasındaki ilişki istatistiksel yöntemlerle değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak; KAH olan bireyleri PvuII polimorfizmi açısından değerlendirdiğimizde, PP genotipli bireylerde hastalığın yaygınlığının ve ciddiyetinin Pp ve pp genotiplilere oranla daha fazla olduğu belirlendi. Ayrıca PP genotipinin tek başına KAH yaygınlığı ve ciddiyetini önemli bir şekilde arttırdığı ve bu ilişkinin risk faktörlerinden bağımsız olduğu saptandı. XbaI polimorfizminin ise tek başına KAH büyüklüğü ve şiddeti ile ilişkili olmadığı bulundu. Ek olarak KAH için risk faktörleri olan hipertansiyon, diyabet, sigara ve pozitif aile hikayesi dahil edildiğinde yine önemli bir ilişki gözlenmedi.

ACE I/D VE AGT M235T POLİMORFİZMLERİNİN BELİRLENMESİNDE KONVANSİYONEL VE REAL TIME PCR TEKNİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

S. MENEVSE, E. ALMAYANLAR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü, ANKARA
smenevse@gazi.edu.tr

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) ve Anjiyotensinojen (AGT) renin-anjiyotensin sisteminin anahtar bileşenleridir. Renin-anjiyotensin sistemi kan basıncını düzenler ve elektrolit dengesini ayarlar. ACE İnsersiyon/Delesyon (I/D) ve AGT M235T polimorfizmlerinin birçok klinik çalışmada kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu polimorfizmler konvansiyonel PCR ve Real Time PCR yöntemleriyle belirlenebilir. Bu çalışmada, bu polimorfizmlerin belirlenmesinde konvansiyonel PCR ile Real Time PCR tekniklerinin karşılaştırılması ve bu iki yöntemin birbirlerine göre üstünlüklerinin belirlenmesi amaçlandı.

Yapılan çalışmada 32 yetişkin bireye ait kan örneklerinden izole edilen DNA' lar bölgeye özgü ACE primerleri ile genotiplendirildi ve DD genotipini doğrulamak için bütün DNA örnekleri insersiyona özgü primerler ile çoğaltıldı. Daha sonra aynı örnekler Real Time PCR tekniği ile genotiplendirildi. AGT M235T polimorfizmi içinde PCR-RFLP tekniği uygulanarak sonuçlar Real Time PCR ile karşılaştırıldı.

Yaptığımız çalışmada, ikinci tur PCR sonucunda iki hastaya ait olan DD genotiplerinin yanlış genotiplendirildiği, bunların aslında ID genotipli olduğu tek turda Real time PCR ile belirlendi. Diğer örnekler de Real time PCR ile çalışılarak ID, DD ve II genotipleri tek tepkimede doğru olarak belirlendi. AGT M235T polimorfizmi için ise PCR-RFLP ve Real Time PCR sonuçları birbirleriyle uygunluk gösterdi. Ancak Real Time PCR tekniği tek tepkimede PCR-RFLP yönteminden daha hızlı sonuç vermektedir. Bu nedenle Real Time PCR birçok yönden daha hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak son zamanlarda tercih edilmektedir.

ZEKA GERİLİĞİ OLAN EPİLEPSİ HASTALARINDA ARX GENİNDE MUTASYON ANALİZLERİ

S. OĞUZKAN¹, A.İ. DAİ², B. GÖÇEBAKAN¹, Ş. GÖRÜCÜ¹, A. ARSLAN¹

¹Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

²Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Nöroloji Bilim Dalı, GAZİANTEP

oguzkan@gantep.edu.tr

Zeka geriliği ve epilepsi santral sinir sisteminde fonksiyon kaybına bağlı sendromlar olup sıklıkla bir arada görülmektedir. Zeka geriliğine neden olan 50'ye yakın gen tanımlanmıştır, bu genler X kromozomu üzerinde bulunmaktadır ve X'e bağlı zeka geriliğinden sorumludur. Bunun yanında tek genin sorumlu olduğu otozomal kalıtım özelliği gösteren 40'a yakın epilepsi sendromu tanımlanmıştır. Her iki hastalığın da özellikle genetik bir bozukluk sonucunda olduğu durumda, bu hastalıkların gelişmesine neden olan ortak mekanizmalar bulunmaktadır. Zeka geriliği ve epilepsi hastalıklarının ortak nedeni olarak tanımlanan ilk gen X kromozomu üzerinde bulunan ARX (Aristaless-related homeobox gene) genidir. ARX "Aristaless-related paired-class homeodomain" olarak adlandırılan ve omurgalıların embriyonik gelişiminin erken dönemlerinde transkripsiyonun kontrolünden sorumlu olan protein ailesinin yeni tanımlanan bir üyesidir. ARX proteini fetal ve erişkin beyin hücrelerinde ve iskelet kasında baskın olarak sentezlenmektedir. Serebral kortekste, sinir hücrelerinin bölünmesinde, farklılaşmasında ve göçünde önemli bir rolünün olduğu düşünülmektedir. Bu araştırmanın, toplumda sık görülen zeka geriliği ve epilepsi hastalıklarının bir arada olduğu durumda ARX gen mutasyonları ile olası ilişkisinin ortaya konulması amaçlandı.

Araştırmada epilepsi ve zeka geriliği tanısı almış olan fragil X negatif 39 erkek çocuk çalışma kapsamına alındı. Genomik DNA örnekleri, ARX geninde sıklıkla tekrarlayan ekzon 2'de 1058 C>T transisyonu ve intron 4 ile ekzon 5'i kapsayan IVS4-816_EX5071del mutasyonları için PCR-RFLP yöntemi ile analiz edildi ve bu mutasyonlara rastlanmadı. Sonuç olarak ARX geni üzerinde ekzon 2 ve ekzon 5'te bulunan ve tekrarlayan mutasyonlar olarak bilinen bu bölgelerin dışında başka bölgelerin de etkili olabileceği düşünüldü ve çalışmalarımızın bu yönde devam etmesi planlandı

ERKEN YAŞLANMA SENDROMLARINDA DNA HASARLARINA EĞİLİM ARTMIŞTIR

S.B. ÖZDAS¹, N.ELÇİOĞLU², İ. ONARAN³, G. KANIGÜR³

¹ Kimya ve Biyoloji Mühendisliği, Koç Üniversitesi,

² Pediatrik Genetik Bilim Dalı, Marmara Tıp Fakültesi Hastanesi,

³ Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İSTANBUL

Hücre ve organizmaların yaşlanma sürecinde, oksidatif stresin oluşturduğu birikici DNA hasarları önemli bir rol oynamaktadır. Sürekli ve yüksek konsantrasyondaki reaktif oksijen türevleri; okside bazlar, DNA zincir kırıkları, DNA ve protein molekülleri arasında çapraz bağların oluşumu gibi çeşitli DNA hasarlarını indükler. Oluşan DNA kırıklarının, post-translasyonel nuklear bir protein olan poly (ADP-Ribose) polymerase (PARP-1) tarafından katalize edilen poly-ADP ribosilasyonu uyardığı bilinmektedir. Bu protein, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve transformasyonu yanında DNA hasarlarının onarımında da rol oynar. Çeşitli genotoksik ajanlar yoluyla memeli hücrelerinde oluşan DNA hasarlarının en erken yanıtlarından biri PARP-1 aktivasyonudur ve bu reaksiyon kolaylıkla ölçülebilmektedir.

Erken yaşlanma sendromlarından, Lamin A'daki bir denovo mutasyon sonucu oluşmuş Hutchinson-Gilford Progeria Sendromu (HGPS) ve ReQL2 genindeki resesif mutasyonlarla oluşmuş olan Werner sendromu (WS) sırasıyla hızlanmış erken yaşlanma tablosunun çocukluk çağında ve erişkinlik döneminde görüldüğü nadir genetik hastalıklardır. Bu hastalıkların klinik tabloları pek örtüşmediği halde, hücresel düzeyde her iki hastalık da genomik dengesizlikten kaynaklanmış olup belli dokularda hızlanmış yaşlanma belirtilerini gösterirler. Nadir görülen bu erken yaşlanma sendromlarının model olarak incelenmesi doğal yaşlanma sürecinin anlaşılmasına da yardımcı olacaktır.

Çalışmamızda yaşlanma süreci, DNA kırıkları ve PARP-1 (DNA onarımı) arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla, erken yaşlanma hastaları ile sağlıklı genç kontrolleri hücresel düzeyde antioksidan enzim düzeyleri, DNA kırık ve onarım kapasiteleri açısından araştırdık. Verilerimizi daha önce yapılan sağlıklı yaşlı grupla ilgili bir çalışmanın sonuçları ile karşılaştırarak değerlendirdik.

Sonuç olarak HGPS ve WS'lu hastalardan elde edilen lenfositlerin sağlıklı genç ve sağlıklı yaşlı kontrol grubu ile kıyaslandığında patolojik yaşlı grubunda antioksidan enzimlerde belirgin bir azalma ve PARP aktivitesinde ise anlamlı bir artış saptanmıştır. Lenfositlerdeki PARP-1 enzim aktivitesindeki artış oranı ilginç bir şekilde yaşlanma sürecinin hızı ile doğru orantılı idi. Comet metodu ile bakılan DNA'da kırık oluşma oranı ise ancak kırık indüksiyonundan sonra, progeria sendromlarında genç ve yaşlı kontrollere göre düşük bir oranda artmıştır.

MESANE KANSERLİ HASTALARDA GSTT1, GSTM1 VE MnSOD POLİMORFİZMİ

M. CENGİZ¹, A. ÖZAYDIN¹, A. C. ÖZKILIC¹, G. DEDEKARGINOĞLU²

¹ İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

² SSK Okmeydanı Hastanesi Üroloji Kliniği, İSTANBUL

GST, (GSTT1, GSTM1, GSTP1) endojen ve endojen ajanların detoksifikasyonunu aktive eden enzimlerdir. Bu genlerdeki polimorfizmin, kişilerin çevresel ve toksik ajanlara verdikleri cevabı değiştirebileceği varsayılır. GSTT1, GSTM1, GSTP1 genetik polimorfizmleri büyük ölçüde kişilerin kanser riskini saptamak amacıyla çalışılmaktadır. Bazı çalışmalar GST polimorfizmi ile SOD enzimi arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda 104 hasta ve kontrol grubunda GSTT1, GSTM1, MnSOD polimorfizmi sıklığı ile mesane kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Deneylerde polimeraz zincir reaksiyon (PZR) yöntemi kullanılmıştır. Hasta grubunda GSTT1 (-) polimorfizm sıklığı %35 (18/51), kontrol grubunda ise %21 (11/53) dir. GSTM1 null genotipi kontrol grubunda %42 (22/53), hasta grubunda %67 (34/51) dir. SOD AA genotipinin hasta grubundaki sıklığı %36 (17/51), kontrol grubunda ise %33 (19/53) dür. GSTT1 ve SOD polimorfizmi ile mesane kanseri sıklığı arasında bir ilişki bulunamamıştır. Çalışmamızda GSTM1 null genotipi sıklığının mesane kanserli grupta kontrollere göre arttığı bulunmuştur. (OR.1.755 ,95 % CD 1.119-2.751)



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

DENEYSEL TIP

KIF15 MOTOR PROTEİNİN MOLEKÜLER DİSEKSİYONU

A. DİLSİZÖĞLU¹, P. W. BAAS², A. KARABAY¹

¹İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İSTANBUL

²Drexel University, College of Medicine, Neurobiology and Anatomy Department, PA, USA

dilsizoglu@itu.edu.tr

karabaya@itu.edu.tr

Kinezin motor protein ailesinin bir elemanı olan Kif 15, mitotik hücrelerde bölünme sırasında diğer motor proteinlerin yarattığı kuvvetlere karşı koyarak mitoz mekiğinin stabilitesini sağlar. Bölünme özelliklerini kaybetmiş, terminal olarak özelleşmiş hücrelerin, motor proteinlerini kaybetmedikleri, onlara yeni görevler atadıkları düşünülmektedir. Kif15'in motor bölgesinin mikrotübüllerle etkileşirken, kuyruk kısmının -mitozun evresine bağlı olarak- mikrotübüller veya aktin filamentleriyle etkileştikleri gösterilmiştir.

Sinir hücrelerinde de yoğun olarak bulunduğu gösterilmiş olan Kif15'in bu hücrelerdeki fonksiyonlarına ilişkin pek çok spekülasyonlar yapılmıştır. Mitotik hücrelerde, bölünmenin safhasına göre, kuyruk kısmı farklı bir kargo (aktin veya mikrotübül) ile etkileşen Kif15'in nöronal fonksiyonu hala bir soru işaretidir. Organizmanın gelişimi sırasında merkezi sinir sisteminden menşe alan nöronların hedef yerlerine ulaşması için göç etmeleri gerekmektedir. Kif15'in mitotik hücrelerde gerçekleştirdiği fonksiyonun nöronlardaki karşılığının şu olduğunu düşünmektedir: Nöronların büyüme konileri, akson ve dendritleri hedef yerlerine ulaştığında nöronal göçte etkili olan diğer motorların fonksiyonlarının nötralize edilmesi gerekmektedir. Kif15 de motor kısmıyla mikrotübüllere bağlanıp, kuyruk kısmıyla da diğer mikrotübüller ve/veya aktin filamentleriyle etkileşerek bu ağın stabilizasyonunu sağlar ve böylece nöronal göçün durdurulmasında önemli rol oynar.

Bu çalışmanın amacı Kif15'in moleküler diseksiyonuyla nöronal göç sırasında her bölgesinin etkileştiği hücre elemanlarını tespit etmek ve nöronal göçteki anormalliklerin sebep olduğu Lissencephaly gibi nöronal hastalıkların moleküler mekanizmalarını anlamaktır.

Bu amaçla disekte edilen sıçan beyninden elde edilen cDNA'dan sekansa özel primerler kullanılarak özelleşmiş fonksiyonu olan bölgeler klonlandı. Klonlama vektöründeki alt bölgeler dizileri doğrulandıktan sonra floresan ekspresyon vektörlerine aktarıldı.

Bu vektörlerle primer nöron hücreleri transfekte edilecek ve immunositokimyasal boyamalar yapıldıktan sonra ilgili bölgelerin etkileşimleri lokalizasyonları yolu ile tespit edilecektir.

NÖRONAL GELİŞİM VE REJENERASYONDA KATANİN İLE MİKROTÜBÜL ORGANİZASYONU

A. YILDIZ, A.KARABAY

İstanbul Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü İSTANBUL
Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Programı

yildizay@itu.edu.tr

karabaya@itu.edu.tr

Katanin, 60 ve 80 kDa büyüklüğünde iki alt üniteden oluşan bir protein olup ATP hidrolizleyerek mikrotübülleri parçalamaktadır. p60 enzim aktivitesi ile mikrotübülleri keserken, p80 enzimin lokalizasyonunda görevlidir. Katanin mitotik hücrelerde mikrotübüllerin yeniden düzenlenmesini sağlarken, sinir hücrelerinde aksonların uzaması, şekillenmesi ve dendritlerin dallanmasında görev almaktadır.

Nöronlar terminal olarak farklılaşmış hücreler olduğundan hasara uğradıklarında felçlere sebep olmakta, bölünmeleri mümkün olmadığından yeni nöronlar oluşmamaktadır.

Sinir rejenerasyonları ancak mikrotübül ağının yeniden organizasyonunu gerektiren yeni akson ve dendrit dallanmaları sonucunda mümkün olabilecektir. Bu nedenle, uzun mikrotübülleri keserek kısa mikrotübüller ile yeni akson ve dendritler oluşturabilecek kataninin fonksiyonunun tayini için kullanılacak en uygun model sistem, dallanma özelliği intrinzik olarak mevcut olmayan tavuk embriyo dorsal kanal ganglionları(DRG)dır.

Ayrıca tavuk genomunun büyük ölçüde aydınlatılmasıyla tavuktaki genlerin %60'ından fazlasının insan genomunda karşılığı olduğu anlaşılmıştır. Bu özellikten faydalanılarak insandaki proteinlerin fonksiyonları hakkında daha aydınlatıcı bilgiler elde edilebilecektir.

Bu amaçla disekte edilen tavuk beyninden total RNA saflaştırılmış ve oligo d(T) primeri kullanılarak cDNA elde edilmiştir. Daha sonra p60 ve p80'e ait primerler dizayn edilerek PCR ile klonlanmış ve dizi analizi yapılmıştır.

Klonlanmış p60 ve p80 floresan ekspresyon vektörlerine konularak tavuk embriyosundan elde edilen primer sinir hücrelerine transfekte edilecek ve immunositokimyasal analiz ile incelenecektir.

Ayrıca tavuk embriyosu omurgalı gelişiminin incelenmesi için eşsiz bir modeldir. Bu nedenle tavuk embriolarından kriyostatla alınacak kesitler p60 ve p80 mRNA'larına spesifik olarak hazırlanmış ribo-problarla işaretlenecek ve *in situ* hibridizasyonla p60 ve p80'in hücredeki dağılımları izlenebilecektir.

Elde edilen bilgiler ışığında, zarar görmüş sinir hücrelerinin yenilenmesi konusunda bu proteinden faydalanılabileceği düşünülmektedir.

STREPTOZOTOZİNLE DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA OKSİDAN / ANTİOKSİDANLARIN DURUMU: BÖBREK DOKU HASARINA MELATONİN VE KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE)'İN ETKİLERİ

E. UZ, H.R. YILMAZ, N. ÖZÇELİK

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, ISPARTA

Birçok çalışmada, oksidatif stresin diyabetik nefropatiyi de içeren diyabetik vasküler komplikasyonların gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli rol oynadığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada, STZ ile oluşturulmuş diyabetik sıçan modelinde böbrek antioksidan enzimler ve lipid peroksidasyonu üzerine, propolisin aktif bir komponenti olan kafeik asit fenetil ester (CAPE) ve melatoninin etkinliğini değerlendirmek amaçlandı.

Malondialdehid (MDA) konsantrasyonu, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve ksantin oksidaz (XO) aktivitelerini karşılaştırmak için sıçanlar; kontrol grubu (grup I, n=9), diyabetik grup (DM, grup II, n=8), CAPE uygulanan diyabetik grup (DM+CAPE, grup III, n=9) ve melatonin uygulanan diyabetik grup (DM+Mel, grup IV, n=9) olarak 4 gruba ayrıldı. 35 mg/kg intraperitoneal (i.p.) olarak streptozotolin (STZ) ile diyabet oluşturulan sıçanlara, CAPE (10 micromol/kg/gün) ve melatonin (10 mg/kg/gün) i.p. uygulandı.

Sekiz haftanın sonunda diyabetik grupta MDA seviyesi, XO ve SOD aktivitelerinde artma, CAT aktivitesinde ise azalma gözlemlendi. CAPE'nin, artan MDA seviyesini, XO ve SOD aktivitelerini azalttığı, azalan CAT aktivitesini de anlamlı olarak arttırdığı bulundu. Melatoninin ise, MDA seviyesini, XO, CAT ve SOD aktivitelerini anlamlı olarak azalttığı gözlemlendi. Tüm gruplarda GSH-Px aktivitesinde anlamlı bir değişim gözlemlenmedi.

Sonuç olarak, diyabetik sıçan böbreklerinde oksidatif stresin olduğu, bu stresin CAPE ve melatonin tarafından engellendiği söylenebilir. Melatonin ile CAPE karşılaştırıldığında CAPE'nin daha etkili bir antioksidan olduğu anlaşılmaktadır. Antioksidan tedavi, diyabetik nefropatilerde önemli olabilir.

TİP -1 DİYABETLİ HASTALAR İÇİN GELİŞTİRİLEN PANKREATİK ADACIK TRANSPLANTASYONUNDA ADENOVİRUS ARACILI TRAIL GEN TRANSFERİNİN ETKİNLİĞİ

E. DİRİCE¹, A. D. ŞANLIOĞLU¹, A. OMER¹, M. K. İBALCI¹, S. ŞANLIOĞLU¹

¹Gen Tedavi Ünitesi, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, 07070, ANTALYA

dercument@akdeniz.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada, adacık hücrelerine TRAIL proteini sundurmak suretiyle otoreaktif T hücrelerinin pankreatik adacık hücrelerine saldırısını önleyecek yeni tedavi metodlarının geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Özet: Tip 1 diyabet, insülin üreten pankreatik beta hücrelerinin otoreaktif T hücre aracılı yıkımı sonucu ortaya çıkan otoimmün bir hastalıktır. 2010 yılına gelindiğinde çeyrek milyar kişinin Tip 1 diyabete yakalanacağı tahmin edilirken bugüne kadar hiçbir farmakolojik ajan pankreatik beta hücre ölümünü engelleyememiştir. Tümör hücrelerinde seçici olarak apoptozu indüklerken normal hücrelerde apoptotik bir etki yaratmayan Tumor Necrosis Factor (TNF)-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL)'in son zamanlarda diyabet gelişiminde de rol aldığı bildirilmiştir. Örneğin, TRAIL eksikliği bulunan hayvanlarda pankreasta daha fazla adacık inflamasyonu görülmüştür. Ayrıca, çözünebilir TRAIL reseptörleri kullanılarak TRAIL fonksiyonunun engellenmesi, diyabet gelişimini kolaylaştırmıştır. Bizde Tip 1 diyabet tedavisinde karşılaşılan graft reddi sorununu çözebilmek için adenovirus aracılı yeni gen tedavi metodları geliştirmeye çalışıyoruz.

Materyal Metod: Harvard Tıp Fakültesi Joslin Diyabet Merkezi ile ortak çalışarak pankreas adacık diseksiyon ve transplantasyon protokolleri oluşturuldu. Hücre canlılığını belirlemek amacı ile izole edilen pankreatik adacıklar Propidium Iodide (PI) ve Fluorescein DiAcetate (FDA) ile boyandı. Hücre saflığını belirlemek amacı ile hücreler DiThiZone (DTZ) ile muamele edildi. Daha sonra pankreatik adacıkların adenoviruslarla transdüksiyon etkinlikleri belirlendi.

Bulgular: Pankreas adacık izolasyonu optimize edilen tekniklerle başarıyla gerçekleştirildi. Sonra, adacıkların saflığı ve canlılıkları belirlendi. Ancak, pankreatik adacıkların epitelyal kökenli hücrelere oranda adenovirus transdüksiyonuna oldukça dirençli olduğu saptandı. Şu anda bu engeli aşmak için gen tabancası ve elektroporasyon gibi yöntemleri test ediyoruz.

KISALAN KURBAĞA KUYRUĞUNDA APOPTOZİSE GİDEN İSKELET KASINDAKİ GLİKOZAMİNOGLİKAN DEĞİŞİKLİKLERİ

M. ŞAHİN¹, E. BALCAN²

¹Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Zooloji AD,

²Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji AD, MANİSA.

erdal.balcan@bayar.edu.tr

Yaşamın ayrılmaz bir parçası olan apoptozis, organizma gelişimi, başkalaşımı, doku dengesinin korunması ve organizma için zararlı olabilecek ya da hasar görmüş hücrelerin ortadan kaldırılması gibi çeşitli fizyolojik olaylarda önemli olan bir süreçtir. Bu çalışmada apoptozisin başkalaşımında en iyi gözlenebileceği canlı gruplarından biri olan *Bufo viridis* türü kurbağaların metamorfozu sırasında kuyrukta apoptozise giden iskelet kası hücrelerindeki glikozaminoglikan (GAG) değişiklikleri araştırılmıştır. GAG'lar, hücre yüzeylerinde ve ekstrasellüler matrikste bulunan, matriks organizasyonu, hücre göçü, adezyonu, farklılaşması ve apoptozisi gibi olaylardan sorumlu, tekrarlayan disakkarit ünitelerinden oluşmuş doğrusal polimerlerdir.

İskelet kası hücreleri, multinuklear yapısı ve farklı mitokondriyel özellikleri nedeniyle apoptozis açısından özel bir yere sahiptir. Günümüzde iskelet kasında apoptozisi başlatacak koşulların neler olduğu konusundaki bilgiler yeterli değildir.

Bu çalışmada, apoptotik iskelet kası hücrelerinde GAG değişikliklerini belirlemek amacıyla kuyruk uzunlukları 15mm, 10mm ve 5mm olan üç grup oluşturuldu. Kuyruklar kritik elektrolit konsantrasyonlarında ve farklı pH'larda farklı GAG moleküllerine özgüllük gösteren anyonik bir boya olan Alcian Blue (AB) ile boyandı. Karşıt boya olarak periyodik asit-Schiff kullanıldı. Apoptotik hücreler hematoksilin-eozin ve TUNEL ile belirlendi.

İncelenen farklı boydaki kuyruk yapılarında, çizgili kas dokusunun fragmanlar halinde apoptozise gittiği görülmüştür. Bu fragmantasyon, kuyruğun uç kısımdan başlamak üzere dıştan içe doğru kısalmasına neden olmaktadır. Öte yandan, yapılan AB boyamalarında karboksillenmiş GAG'ların kuyruk boyu kıaldıkça artış göstermesi, böyle bir molekül olan hyaluronik asidin iskelet kası apoptozisinde önemli olabileceğini düşündürmüştür.

GINKGO BILOBA'NIN INSAN LENFOSİTLERİ ÜZERİNDEKİ ANTI APOPTOTİK ETKİSİ

U. ERGUN¹, E. YURTCU², M.A. ERGUN³

¹SB Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Laboratuvarı,

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, ANKARA

erkan_yurtcu@yahoo.com

Ginkgo biloba (EGb 761), hidroksil radikallerinin uzaklaştırılmasında rolü olan bir bitki ekstresidir. Kuvvetli anti-oksidan özelliği sayesinde kültüre edilmiş hücrelerde apoptozisi önler ve ayrıca Alzheimer hastalığında ortaya çıkan demansın engellenmesi için kullanılır. Apoptozis patolojik hücrelerin yok edilmesinde kullanılan bir işlemdir. Bu çalışma ile EGb 761'in gossypol ile apoptozis uyarılmış insan lenfositleri üzerine anti-apoptotik etkisi araştırılmıştır.

Sağlıklı bireylerden alınan periferik kanlardan elde edilen lenfositler %20'lik fetal dana serumu içeren kültür ortamında, 37°C'de kültüre edilmiştir. Lenfosit kültürlerine 10-150 µM konsantrasyonları arasında EGb 761 eklendikten 30-60 dk sonra apoptozisi uyarmak amacıyla 100 µM gossypol eklenmiştir. Daha sonra hücre morfolojileri değerlendirilmiş ve aynı zamanda hücrelerden DNA elde edilerek agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür.

Sonuç olarak, EGb 761'in, 25-75 µg/ml konsantrasyonları arasında gossypol ile uyarılan apoptozisi azalttığı gösterilmiştir.

İYONİZE RADYASYON VE GÜÇLÜ MANYETİK ALAN ETKİSİ ALTINDA BIRAKILAN RAT KEMİK İLİĞİ STEM HÜCRELERİNDE MİKROÇEKİRDEK SIKLIĞI

E. GÜL, H. EĞİLMEZ, Ö. ÖZDEMİR

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik¹, Radyoloji², Genetik³ Anabilim Dalı
58140- SİVAS

Günümüzde tıbbi radyasyonun kullanımı teknolojiye paralel olarak geniş bir çeşitlilikte artmaktadır. X-ray'ın ağır bir mutajen olduğu bilinmekle birlikte diagnostik amaçlı kullanılan X-ray ve MR'ın ne oranda genotoksik oldukları hakkında önemli spekülasyonlar mevcuttur. Bu amaçla rat model sistemi oluşturularak retikülosit hücrelerde X-ray, MR, X-ray ve MR'ın kombine olarak uygulanması sonucu olası *In situ* hücre anomalileri saptandı.

Rat model sistemine tıbbi radyasyon uygulamasından 72 saat sonra ratlar servikal dislokasyon yolu ile öldürülerek kemik iliklerinden direk fırça yayması tekniği yöntemi ile preparatlar hazırlandı. Hazırlanan preparatlar uygun laboratuvar koşullarında bir gün bekletildikten sonra boyama işlemi yapıp ışık mikroskobunda değerlendirildi. Kontrol grubu ve deney grupları Kruskal-Wallis testi ve Mann Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Yapılan değerlendirme sonucunda tüm deney gruplarında MN sıklığında artış tespit edildi. X-ray uygulanan deney grubunda MN sıklığının %1,93 ve AB sıklığında %0,5 oranında arttığı, MR uygulaması yapılan deney grubunda NB sıklığının %3,76 oranında ve X-ray ve MR uygulamasının birlikte verildiği deney grubunda BN sıklığında %0,22 oranında arttığı tespit edildi. Elde edilen bu veriler istatistiksel olarakta önemli bulundu($p<0.05$). Tıbbi radyasyon ve güçlü manyetik alan uygulamasının birlikte verildiği deney grubunda ayrıca nekrotik ve apoptotik hücreler saptandı.

Elde edilen veriler ışığında X-ray ve MR'ın gerek tek tek gerekse kombine uygulanmasının rat kemikiliği retikülosit hücreleri üzerinde genotoksik ve sitotoksik bir etkiye sahip oldukları, genomik instabiliteye neden oldukları saptandı.

YENİ DOĞAN STREPTOZOTOCİN DİYABETİK SIÇANLARDA EXENDİN-4 UYGULAMASININ ADACIK NEOGENEZİ VE APOPTOZ ÜZERİNE ETKİLERİ

F. KAYADAĞISTANLI, M. ÖZTÜRK

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı İSTANBUL

Diabetes Mellitusta, pankreatik beta (β) hücrelerinin kaybı ya da fonksiyonlarının bozulması nedeniyle β hücrelerinin çoğalma kapasitesi yetersiz kalır. Beta hücre kütlesinin yeniden kazanılması üzerine çeşitli rejenerasyon hayvan modelleri ile çalışılmaktadır. Bu uygulamalardan biriside yeni doğan streptozotocin (y-STZ) diyabet modelidir. STZ ve hipergliseminin adacık β hücre apoptozuna neden olduğu ileri sürülür. Kaspaz-3 apoptotik hücre ölümünün gerçekleşmesinde görev alan bir proteazdır. Exendin-4'ün, insülin salınımı ve β hücre proliferasyonunu düzenleyici etkileri vardır. Bu çalışmada exendin -4 uygulamasının adacık hücre rejenerasyonu, organizasyonu ayrıca apoptoz üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık.

Doğumun 2. günü ilk iki gruba 100mg/kg STZ i.p. olarak uygulandı. 1.grup y-STZ diabetik olarak ayrıldı. 2.gruba, doğumun 3.gününden itibaren 3 μ g/ml/gün exendin-4 i.p olarak 5 gün süre ile uygulandı. 3. grup ise diabetik olmayan kontrol grubunu oluşturdu. Deney sonunda eter anestezisi altında alınan dokular %10'luk nötral formalin içerisinde tespit edilerek parafine gömüldü. Doku kesitlerine insülin ve PCNA antikoları kullanılarak ikili immünohistokimya yöntemi uygulandı. Ayrıca glukagon antikor ve kaspaz-3 antikor kullanılarak immün boyama yapıldı.

PCNA/insülin immünreaksiyonunu adacık içerisinde birlikte içeren hücre sayısının exendin-4 tedavisi yapılan grupta y-STZ diabetik gruba göre yüksek olduğu, bunun yanında ekzokrin dokudaki ikili boyanan β hücre sayısı arasında ise anlamlı bir fark bulunmadığını saptadık. y-STZ diabetik grupta adacıklarda glukagon hücrelerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında hem sayıca artmış olduğunu hem de normal yerleşiminin bozulduğunu ve adacık merkezine doğru dağılım gösterdiğini gözledik. Exendin-4 tedavisi uygulanan diabetik grupta ise y-STZ diabetik gruba kıyasla glukagon pozitif hücrelerin adacık yerleşiminin kontrole benzer olduğunu saptadık. y-STZ diabetik grupta yaygın kaspaz-3 ekspresyonu gözlenirken, tedavili grupta kaspaz-3 ekspresyonun belirgin olarak azaldığı görüldü.

Sonuç olarak exendin-4'ün β hücre proliferasyonunu uyararak yeni β hücre kümelerinin oluşumuna yol açtığı, apoptotik yolu engellediği, insülin salınımını düzenlemesi nedeniyle glukagon hücrelerinin artışı engellediği ve normal adacık düzeninin kurulmasında düzenleyici rol oynadığı saptandı..

ŞANLIURFA'DA PLASMODIUM TÜRLERİNİN TESPİTİ VE KLOROKİN TEDAVİ ETKİNLİĞİNİN SEMİ-NESTED MULTİPLEX-POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (SNM-PCR) İLE ARAŞTIRILMASI

F. DİLMEÇ¹, F. AKKAFA¹, M. A. KURÇER², Z. ŞİMŞEK²

¹Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

²Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, ŞANLIURFA

fdilmec@harran.edu.tr

Sıtma, anofel sivrisineklerin taşıdığı *Plasmodium* türleri tarafından insanda meydana getirilen akut ve titremeye başlayan ateşli bir hastalıktır. Sıtma, dünyanın değişik bölgelerinde dört değişik *Plasmodium* türleri ile meydana gelir. Dünyanın farklı bölgelerinde 1940 yılından beri *Plasmodium* türlerinin sebep olduğu sıtma, klorokin (CQ) ile tedavi edilmektedir. Ancak *Plasmodium sp.*'lerin antimalaryal ilaçlara karşı dirençleri her geçen gün dünya çapında artmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, Şanlıurfa'da bulunan *Plasmodium* türlerini ve sıtma tedavisinde kullanılan CQ'nin (25 mg/kg, WHO protokolüne göre) etkinliğini PCR yöntemiyle araştırmaktır. Tedavi öncesi tür tespiti için 214 hasta ve CQ tedavisinin 28. gününde izlenebilen 42 hastadan Whatman kağıtlarına periferik kan alındı. Daha sonra bunlardan Chelex-100 yöntemi ile DNA izole edildi. *Plasmodium* DNA'sı semi-nested multiplex PCR (SnM-PCR) ile tarandı.

Tedavi öncesi taranan 214 kişiden 170'inde amplifikasyon elde edildi, bunların tamamının *Plasmodium vivax* (*P.vivax*) taşıdığı belirlendi ve mix parazitlere rastlanmadı. CQ ile tedavi edilip izlenebilen 42 hastadan (28.gün) 4'ünde (%9.5) *P. vivax* tespit edildi.

Bölgemizde orta derecede CQ tedavi başarısızlığı belirlendiğinden, bunun sebebinin araştırılması için daha ileri çalışmaların yapılması bir zorunluluk haline gelmiştir.

Anahtar kelimeler: *Plasmodium sp.*, klorokin (CQ), semi-nested polymerase chain reaction (PCR), teşhis

STEVIA REBAUDIANA VE NNİTRO-L-ARGİNİN'İN, DENEYSSEL TİP II DİYABETTE HÜCRESEL ANTİOKSİDAN SAVUNMA VE KARACİĞER HİSTOLOJİSİNE ETKİLERİ*

C. ŞİMŞEK¹, **H. KURT**¹, H. ÖZDEN², K. ÇİVİ³, H. V. GÜNEŞ¹, A. BAŞARAN¹, İ. DEĞİRMENCİ¹

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

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR

³Dumlupınar Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Patoloji Bölümü, KÜTAHYA

Bu çalışmanın amacı, streptozotolin-nikotinamid (STZ-NA) ile oluşturulan tip II diyabetik sıçanlarda, *Stevia rebaudiana* Bertoni yaprak ekstresi (SrB) ve N-Nitro-L-Arginin (L-NNA)'in karaciğer histolojisi ve serbest oksijen radikalleri üzerine olan etkilerini belirlemektir.

Bu çalışmada 2-3 aylık dişi Sprague-Dawley soyu sıçanlar kullanıldı. Her bir grupta 12 sıçan bulunan 7 grup oluşturuldu. Bu grupların 3'ü kontrol, 4'ü deney grubu olarak düzenlendi. Deney gruplarına STZ + NA uygulanarak diyabet oluşturuldu ve 15 gün boyunca diyabetik gruplar SrB, L-NNA ve SrB + L-NNA ile tedavi edildi. Deneyden sonra, eter anestezisi altında dokular ve kan örnekleri uygun teknikler kullanılarak toplandı.

Hücrel antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler, antioksidan enzimler olan glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz'ın (CAT) eritrosit hemolizatında ölçülmesiyle belirlendi. Bununla birlikte serumda nitrik oksit sentaz (NOS) ve lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) seviyesi yine eritrosit hemolizatında ölçüldü.

Çalışmamızda, SOD ve katalaz aktivitesi yönünden, kontrol grubuna göre diğer gruplarda fark bulunmamıştır. Deney gruplarımızın MDA düzeylerinde, kontrol grubu ile SrB ile tedavi edilmiş diyabetik grup arasında önemli düzeyde fark bulunmuş olup, MDA bakımından, kontrol grubuna göre diğer gruplarda fark bulunmamıştır. GPx aktivitesi yönünden, kontrol grubu ile diyabetik kontrol grubu arasında önemli düzeyde fark bulunmuş olup, kontrol grubuna göre diğer gruplar arasında fark bulunmamıştır. NOS aktivitesi karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile gruplar arasında fark bulunmamıştır.

Yapılan çalışma sonucunda; kontrol gruplarının karaciğer histolojisinde normal yapılanma gözlenirken, diyabetik grupların karaciğer örneklerinde, nükleer hipertrofi ve binükleer hepatositler gözlenmiştir.

* Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

POTASYUM SORBAT, SODYUM BENZOAT, BENZOİK ASİT VE SODYUM NİTRİT'İN MUTAJENİK ETKİLERİNİN IN VİTRO'DA MİKRONUKLEUS TEKNİĞİ KULLANILARAK İNCELENMESİ

H.ÖZDEMİR¹, A. B. TURHAN¹, H. ARIKOĞLU¹

¹ Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, KONYA

hulya_oz_demir@hotmail.com

Gıda katkı maddeleri; tek başına gıda olmayan ancak gıdalara üretim, işleme, depolama veya ambalajlama gibi aşamalarda katılan madde veya madde karışımlarıdır. Çalışmamızda bu katkı maddelerinden yaygın kullanılan dördünün mutajenik etkilerine bakılmıştır. Benzoik asit (E210); bakteriyostatik, bakteriyosidal, fungistatik ve fungisidal özelliklere sahiptir. Sodyum benzoat (E211) çözeltileri pek çok fermantasyon organizmasının gelişmesini engeller. Potasyum sorbat (E202) kültür ortamında ve gıdalarda çeşitli küf mikotoksinlerinin oluşumunu inhibe etmektedir. Sodyum nitrit (E250), et ve et ürünleri ve balıklarda karakteristik lezzet, renk özelliklerini vermek ve mikrobiyal stabiliteyi sağlamak amacı ile kullanılmaktadır. Son zamanlarda gıda katkı maddelerinin birçoğunun kanserojen olduğu yönünde bilgiler yayınlanmaktadır. Çalışmamızda potasyum sorbat, sodyum benzoat, benzoik asit ve sodyum nitrit katkı maddelerinin kanserojenik etkilerinin olup olmadığı klasik mikronükleus tekniği kullanılarak araştırılmıştır. Her bir gıda katkı maddesi Türk Gıda Kodeksine uygun olarak üç farklı konsantrasyonda hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiler besiyerlerine ekim sırasında ilave edildi. Çalışmaya sigara içmeyen, ilaç kullanmayan, 20-40 yaş arası sağlıklı bireyler dahil edildi. Çalışmanın sonucunda elde edilen değerler kıyaslanarak değerlendirildi.

STEVIA REBAUDIANA EKSTRESİ VE NNİTRO-L-ARGİNİN'İN, DENEYSEL TİP II DİYABETTE BÖBREK FONKSİYONLARI ÜZERİNE ETKİLERİ*

C. ŞİMŞEK¹, H.ÖZDEN², K. ÇİVİ³, H. KURT¹, İ. DEĞİRMENCİ¹, H.V. GÜNEŞ¹, A. BAŞARAN¹,

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

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR

³Dumlupınar Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Patoloji Bölümü, KÜTAHYA

Tip II diyabet, hedef dokulardaki insulin rezistansı ve pankreatik insulin salgılanmasındaki bozuklukların bir sonucudur ve böbrekler diyabette önemli hedef organlardır. Diyabet böbreklerde, glomerüler lezyonlar, renal damarlarda ateroskleroz ve piyelonefrit oluşturmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, streptozotozin-nikotinamid (STZ-NA) ile oluşturulan tip II diyabetik sıçanlarda, *Stevia rebaudiana* Bertoni yaprak ekstresi (SrB) ve N-Nitro-L-Arginin (L-NNA)'in diyabetin erken evresinde meydana gelen renal filtrasyondaki değişiklikler üzerine olan etkilerini belirlemektir.

Çalışmada 2-3 aylık dişi Sprague-Dawley soyu sıçanlar kullanıldı. Her bir grupta 12 sıçan bulunan 7 grup oluşturuldu. Bu grupların 3'ü kontrol, 4'ü deney grubu olarak düzenlendi. Deney gruplarına STZ + NA uygulanarak diyabet oluşturuldu ve 15 gün boyunca diyabetik gruplara SrB, L-NNA ve SrB + L-NNA ile tedavi edildi. Deney sonunda, tüm sıçanlar idrar toplama kafeslerine alınarak 24 saatlik idrarları toplandı ve daha sonra eter anestezisi altında, doku ve kan örnekleri uygun teknikler kullanılarak toplandı.

Renal filtrasyondaki değişiklikler, idrar pH, idrar hacmi, serum kreatinin, idrar kreatinin ve kreatinin klerensi analiziyle belirlendi. Alman dokular H&E boyama yöntemiyle incelendi.

Çalışmamızdaki idrar pH, idrar hacmi, idrar kreatinin ve kreatinin klerensi düzeylerinde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Kontrol gruplarında ve SrB ile tedavi edilmiş diyabetik grubun böbrek örneklerinde normal histolojik yapılanma gözlemlendi. SrB ve L-NNA ile tedavi edilmiş diyabetik grupta daha az olmakla birlikte diyabetik kontrol ve L-NNA ile tedavi edilmiş diyabetik grupta, glomerüler bazal membran kalınlaşması, distal tübüler epitelde sitoplazmik berrak hücre değişikliği ve küçük arterlerde medyal kalınlaşma gözlemlendi.

* Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

***Echinococcus granulosus* PARAZİTİNİN IN VITRO ÇOĞALMA ÖZELLİKLERİ ve PROTOSKOLEKS ile GERMINATİF MEMBRANIN HÜCRESEL ORGANİZASYONU**

H. ARIKOĞLU¹, A. ARSLAN², A.B. TURHAN¹, F. PAYDAK¹

¹Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, KONYA

²Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, GAZİANTEP

e-posta: harikoglu@selcuk.edu.tr

Echinococcus granulosus, dünya çapında yayılım gösteren ve hayat döngüsünü tamamlayabilmek için iki farklı konağa ihtiyaç duyan cestoda sınıfına ait bir parazittir. Erişkin formu son konak olan köpek ve diğer etçillerin ince bağırsağında, larva formu (kist hidatik) ise ara konak olan koyun, sığır ve insanların iç organlarında yaşamını sürdürür. Protoskoleksler uygun şartlar sağlandığı takdirde kültür ortamında da hem erişkin paraziti hem de larval kisti oluşturabilme kapasitesine sahiptir.

Amaç: Sunulan çalışmada, in vitro kültür şartlarında *E. granulosus* protoskolekslerinden larval kistin oluşması, kist oluşumu sürecinde gözlenen basamakların tespit edilmesi ve protoskoleks ile germinatif membranın hücresel organizasyonunun tanımlanması amaçlanmıştır.

Materyal-Metod: *E. granulosus* kistleri, koyun ve sığırların karaciğer ve akciğerlerinden temin edildi. Protoskoleksler ve germinatif membranlar 3-4 kez yıkama solüsyonunda yıkandı. Işık mikroskopunda eosin-Y boyası kullanılarak %90-95 oranında canlılığa sahip olduğu tespit edilen protoskoleksler, içerisinde besiyeri bulunan kültür kaplarına ekildi. Kültür 37°C etüvde karbondioksit verilmeden sürdürüldü. Kültür süresince protoskolekslerin gelişimi inverted ışık mikroskobu ile takip edilerek görüntülendi. Kalan protoskoleksler ve küçük parçalara ayrılan germinatif membranlar ise besiyeri bulunan tüplere ekildi ve 16 saat 37 °C etüvde inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrasında protoskoleksler ve germinatif membranlar hipotonik (0.075 MKCl) ve fiksatif solüsyonları (metanol:asetik asit, 3:1) ile muamele edildi. Hazırlanan preparatlar %5 Giemsa ile boyandı. Preparatlar ışık mikroskopunda değerlendirilerek görüntülendi.

Bulgular ve Sonuç: In vitro kültür şartlarında *E. granulosus*' un protoskoleksten larval kist yönündeki gelişimi başarıyla tamamlandı. Kistik yapıyı tamamen kuşatan laminar membran gelişimi gözlemlendi. Protoskoleks ve germinatif membranın hücresel organizasyonunu ortaya koymaya yönelik yapılan çalışmada ise protoskolekslerin vantuzlar da dahil olmak üzere tüm vücut yüzeyini kaplayan tegümentin tamamen hücrelerden oluştuğu, çengellerin ise hücresel bir yapısının olmadığı gözlemlendi. Germinatif membranlarda ise yer yer hücresel odakların bulunduğu tespit edildi. Hücresel odakların bulunması, bu bölgelerden protoskolekslerin tomurcuklanması yönünde bir hazırlık olabileceğini düşündürmektedir.

***Echinococcus granulosus* PROTOSKOLEKSLERİNDE AKTİN GEN İFADELERİNİN TESPİT EDİLMESİ ve AKTİN GEN ÇOK YAPILILIĞININ (POLİMORFİZM) ARAŞTIRILMASI**

H.ARIKOĞLU¹, A.ARSLAN², A.B. TURHAN¹, B. GÖĞEBAKAN²

¹Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, KONYA

²Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, GAZİANTEP

harikoglu@selcuk.edu.tr

Kistik ekinokokkozis, *Echinococcus granulosus* parazitinin larval formunun sebep olduğu bir hastalıktır. *E. granulosus* protoskoleksinden hidatid kistin gelişimi, laminar membranın sentezlenmesi ve protoskolekslerin üretilmesi olaylarında, bir çok morfolojik, fizyolojik ve metabolik değişiklik gerçekleşmektedir. Aktin proteininin hücre iskeletinin ana bileşeni olması ve hücre iskeletinin organizmaların gelişim ve farklılaşma süreçlerinde, hücrelerde meydana gelen her türlü morfolojik değişikliklerde anahtar rol oynaması nedeniyle aktin gen hedef gen olarak seçildi.

Amaç: Bu çalışma ile protoskolekslerdeki aktin gen profilinin çıkarılması ve aktin gen çokyapılılığının (polimorfizm) ortaya konulması amaçlandı.

Materyal ve Metod: Çalışmada koyun tutulumlu 38 farklı kiste ait protoskoleks ile insan tutulumlu 1 kiste ait protoskoleksler çalışıldı. Protoskolekslerden DNA ve RNA izolasyonları TRizol reagent (Gibco, BRL) kullanılarak başarıldı. Primerler, Gen Bankasından (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer>) temin edilen Aktin 1 ve 2 (*EgactI* ve II) genlerinin nükleotid dizileri dikkate alınarak tasarlandı. RT-PZR tekniği kullanılarak hedef genlerin protoskolekslerdeki ifadeleri tespit edildi. PZR-RFLP tekniği ile aktin gen bölgeleri çoğaltıldı ve *PstI*, *AluI* ve *TaqI* enzimleri kullanılarak olası çeşitlilik araştırıldı. Kesim ürünleri agaroz jel elektroforezde yürütülerek sonuçları değerlendirildi.

Bulgular ve Sonuç: RT-PZR analizleri sonuçlarına göre protoskolekslerde *EgactII* geninin ifade edildiği ve *EgactI* geninin ifade edilmediği tespit edildi. PZR-RFLP analizleri sonucunda ise *EgactI* ve *EgactII* genlerinde iki örnekte nükleotid değişikliği olduğu ve sadece bir örnekte heterozigotluğun bulunduğu tespit edildi. *E. granulosus*'da kendi kendine döllenme sisteminin yaygın olması, tür içinde homozigotluğun hakim olmasına ve heterozigotluğun kaybolmasına yol açmaktadır. Ayrıca çalışılan tüm örneklerde *EgactI* genindeki *AluI* enzimi tanıma bölgelerinden birinin olmadığı tespit edildi. Bu sonuç, analizi yapılan protoskolekslerdeki genomik yapının Anadolu koyun türüne özgün olabileceği ve Gen Bankasında mevcut olan diziden farklı bir genomik yapı gösteriyor olabileceğini düşündürmektedir. Üstelik bu çalışmada *EgactI* gen bölgesinin allelik gen çokyapılılığı gösterdiği de tespit edilmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda *E. granulosus*'da allelik gen çokyapılılığının çok nadir olduğu ifade edilmiştir. Hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasında etkin rol oynadığı bilinen aktin genlerinde görülen bu çeşitlilik ve allelik gen çokyapılılığının, kist hidatidğin büyüme ve gelişmesini etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçların ışığında *E. granulosus* aktin genlerinin, aşı geliştirme çalışmaları için aday gen olabileceği ve epidemiyolojik çalışmalarda türler arası ve tür içi genetik çeşitliliğin belirlenmesinde moleküler belirleyici olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

STREPTOZOTOZİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA PANKREAS B HÜCRELERİNİN İNCE YAPISINA RUMEX PATIENTIA L. (LABADA) VE AKARBOZ'UN ETKİLERİ

İ. DEĞİRMENCİ¹, M.C. ÜSTÜNER¹, Y. KALENDER², S. KALENDER³, H.V. GÜNEŞ¹

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

²Gazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,

³Gazi Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANKARA

Çalışmanın amacı, streptozotozin (STZ) ile diyabet oluşturulmuş sıçanların B hücrelerindeki morfolojik değişikliklere akarboz ve Rumex patientia'nın etkileri araştırılmıştır.

İki günlük Wistar albino türü yeni doğan sıçanlara intraperitoneal olarak 100 mg/kg STZ uygulanmıştır. Bu çalışma kontrol olarak kullanılan (1., 2., ve 3. gruplar) ve STZ uygulanan sıçanlar (4., 5., ve 6. gruplar) olmak üzere 6 gruba ayrılarak yapılmıştır. 1. ve 4. grup sıçanlara normal su, 2. ve 5. grup sıçanlara 40 mg akarboz/100 gr yem ve 3. ve 6. grup sıçanlara da %2 Rumex patientia (Labada) tohumu dekoksasyonu verilmiştir.

Deney süresince periyodik olarak kan glukoz seviyeleri ve deney sonunda da kardiyak kan alınarak HbA1c seviyeleri ölçülmüştür. Pankreas dokusu ise elektron mikroskopunda incelenmiştir. Sonuç olarak, akarboz ve Rumex patientia'nın, diyabette yükselen kan glukoz seviyesini ve HbA1c seviyesini düşürdüğü belirlenmiştir. Morfolojik olarak, diyabetik sıçanlarda B hücrelerinde endoplazmik retikulumda dilatasyon ve mitokondrilerde vakualizasyon ve şişme gözlemlendi. Ayrıca diyabetik sıçanların pankreas B hücrelerinin salgı granüllerinde azalma görülmüştür.

STZ ile birlikte akarboz uygulanan sıçanlarda patolojik bulgulara rastlanmazken, STZ ve Rumex patientia uygulanan sıçanların B hücrelerinin bazı mitokondrilerinde az miktarda şişme gözlemlenmiştir.

YUMURTA AÇIĞINDA KABUKSUZ TAVUK EMBRİYOSU KÜLTÜRÜ (YAKTEK) MODELİNDE ETANOLE BAĞLI EMBRİYONİK GELİŞME GERİLİĞİNİN ALL-*TRANS*-RETİNOİK ASİT VE ALFATOKOFEROL TARAFINDAN GERİYE DÖNÜŞÜMÜ

N.L.ŞATIROĞLU-TUFAN^{1,3}, A.Ç. TUFAN^{2,3}

¹Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

²Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,

³Pamukkale Üniversitesi Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Uygulama Merkezi, DENİZLİ

Etanolün teratojenik etki mekanizmaları, Yumurta Açığında Kabuksuz Tavuk Embriyosu Kültürü (YAKTEK) modelinde etanole bağlı gelişen embriyonik gelişme geriliğinin, all-*trans*-retinoik asit ve alfa-tokoferol tarafından olası geriye dönüşümü hipotezi ile incelenmiştir.

Tavuk embriyoları YAKTEK modelinde tek doz (% 15, % 30, veya % 50) etanole veya % 50 etanol ile birlikte all-*trans*-retinoik asite (10^{-8} M) veya alfa-tokoferole (0.05 M) veya % 50 etanol ile birlikte all-*trans*-retinoik asit (10^{-8} M) ve alfa-tokoferol (0.05 M) karışımına maruz bırakılmışlardır. Uygulama blastodisc'in tam ortasına gelecek şekilde yapılmıştır.

Etanol doza bağımlı olarak embriyonik ölüm oranını ve gelişme geriliğini arttırmıştır. Ayrıca etanol yine doza bağımlı olarak dokuda oksidatif stresin ve hücre hasarının bir göstergesi olarak kabul edilen malondialdehit (MDA) düzeyini arttırmıştır. Etanol ile birlikte uygulanan ve vitamin-A'nın aktif formu olan all-*trans*-retinoik asit ve/veya bir antioksidan olan alfa-tokoferol, etanole bağlı gelişen ölüm oranı artışını ve gelişim geriliğini önemli ölçüde azaltmıştır. Diğer taraftan sadece alfa-tokoferol uygulaması etanole bağlı artan MDA seviyesinde azalmaya yol açmıştır.

Sonuç olarak, etanolün teratojenik etkilerinin dokuda oksidatif stres oluşturmaya ve retinoik asit sinyal yolunu etkilemesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bulgularımız bu iki mekanizmanın birbirinden bağımsız olarak etki gösterdiklerini düşündürmektedir.

PARAOKSONAZ GEN POLİMORFİZMİ İLE TİP II DM KOMPLİKASYONLARI ARASINDAKİ İLİŞKİ

M.A. ERGÜN¹, E. YURTCU², H. DEMİRCİ³, İ. YETKİN³, A. MENEVŞE⁴

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Laboratuvarı,

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı,

⁴Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, ANKARA

ergun@tr.net

Paraoksonaz enzimi bir insektisit olan parationun aktif metaboliti olan paraoksonu hidrolize eder. İnsan plazmasında paraoksonaz aktivitesi 50 yıl önce gösterilmiştir. Bu enzim insanlarda substrata bağlı polimorfizm gösterir, bir izoformunun paraoksonu hidrolize etmesi diğer izoformundan daha hızlıdır. İnsan PON-1 geni 7.kromozom, 7q21-22 bölgesine lokalize edilmiştir. Genin cDNA'sı klonlanmış ve 2 adet polimorfik lokus belirlenmiştir. Birinci bölge 192.kodonda olan (G/A) ve diğer bölge ise 55. kodondaki (T/A) olarak saptanmıştır. İnsanlarda serum paraoksonaz aktiviteleri incelendiğinde 10-40 kat farklılıklar saptanması bu enzimin genindeki polimorfizmlere dikkat çekmiştir. 192.kodondaki (G/A) polimorfizminin Koroner Arter Hastalığının gelişiminde önemli olduğu gösterilmiştir. Kontrollere göre G aleli (Arg kodlayan alel) daha yüksek oranda saptanmış ve NIDDM'li olgularda koroner arter hastalığında bu alel yüksek saptanmıştır. 55.kodondaki diğer polimorfizmin plazma paraoksonaz enzimi varyasyonunda etkili olduğu ve Lösin aleli homozigot olan NIDDM hastalarda koroner arter hastalığı için bağımsız bir risk faktörüdür. Bu çalışmada, toplam 251 Tip II DM hastası ve kontrolde PON-1 geni 55 ve 192. kodondaki polimorfizmler PCR RFLP yöntemi ile incelenerek bunların DM komplikasyonlarından koroner kalp hastalıkları, nefropati ve retinopati, nöropati yönünden ilişkileri belirlendi. Ayrıca paraoksonaz enzim düzeyi ölçülerek Türk toplumunda Tip 2 DM komplikasyonları ile PON-1 55 ve 192 polimorfizmlerinin genotip fenotip ilişkilendirmesi yapıldı.

TİP II DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA RUMEX PATIENTIA L. (LABADA) VE AKARBOZ'UN ANTİOKSİDAN SİSTEMLERE ETKİSİ

M. C. ÜSTÜNER, İ. DEĞİRMENÇİ, H. V. GÜNEŞ, A. BAŞARAN

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

2-deoxy-D-glucose'un N-nitroso-N-methylurea türevi olan streptozotzin, pankreatik beta hücreleri için sitotoksik olup, 1960'lardan beri diyabet modeli oluşturmada kullanılmaktadır. Biz de bu çalışmada, deneysel tip II diyabette, daha önce araştırılmış olan akarbozun yanında, halk arasında diyabet tedavisinde kullanılan Rumex patientia (labada) tohumu deoksiasiyonunun antioksidan sisteme etkilerini karşılaştırmayı planladık.

Bu çalışmada, Wistar albino türü yavru sıçanlarda tip II diyabet oluşturularak akarboz'un ve labada'nın etkileri karşılaştırıldı. Çalışmada, 42 adet yeni doğan (48 saat'lik) Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı. Bu sıçanların 21'ine serum fizyolojik verilerek kontrol grupları (kontrol, akarboz ve labada grupları oluşturuldu), 21'ine de 100 mg/kg STZ i.p. olarak verilerek tip II diyabet grupları oluşturuldu. Tip II diyabet gruplarından biri diyabetik kontrol grubu olarak tutulurken, diğer iki gruba diyabette antioksidan sisteme etkileri araştırılan, bir alfa-glukozidaz inhibitörü olan akarboz (40 mg akarboz/100 gr yem) ve halk arasında diyabet tedavisinde kullanılan %2'lik labada otu tohumu deoksiasiyonu verildi. Yirminci haftaya kadar belirli aralıklarla sıçanların kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve 20. haftanın sonunda da eter anestezisi altında alınan kardiyak kanda HbA_{1c} ölçülerek eritrositlerden de hemolizat hazırlandı. Bu hemolizattan katalaz, SOD ve MDA aktiviteleri belirlendi.

Yapılan çalışma sonucunda, değerlendirmeye alınan parametreler bakımından, kontrol grubu ile labada ve akarboz verilen gruplar arasında fark görülmedi. Akarboz ve Rumex patientia'nın yükselen kan glukoz seviyesini ve HbA_{1c} seviyesini düşürdüğü belirlenmiştir. Tip II diyabet oluşturulmuş grupta, antioksidan enzimlerden katalazi, labada'nın kontrol grubu değerlerine akarboz kadar olmasa da yaklaştırdığı belirlendi. Bunun yanında, STZ'nin düşürdüğü SOD aktivitesini akarbozun daha da düşürdüğü, labadanın ise bu aktiviteyi kontrole göre önemli düzeyde yükseltmiştir. MDA düzeyi bakımından ise istatistiksel olarak gruplar arasında fark görülmedi.

MODİFİYE KARIŞIK LENFOSİT KÜLTÜR TESTİNİN KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYONUNDA GRAFT VERSUS HOST HASTALIĞININ BELİRLENMESİNDEKİ ÖNEMİ

M. GÜRTEKİN¹, H.S. ŞEN², H.Ş. ÇİFTÇİ¹, T.K. AYNA¹, A.S. DİLER¹, M. ÇARİN¹

¹İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

²SSYB İstanbul Bakırköy Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Hastanesi Çocuk Hematoloji Servisi

sMLC test KİT uygulanan vakalarda ortaya çıkabilecek komplikasyonları önceden belirleyebilen bir test değildir. Bu çalışmada 90 vakaya sMLC test yapılmış ve (-) sonuç elde edilmiştir. Aynı vakalara sMLC test yapılırken paralel kuyular açılarak sitokinler ilave edilmiş ve tek yönlü ile iki yönlü mMLC test çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada mMLC testlere ilave edilen sitokinlerle elde edilen sonuçların KİT uygulanan vakalarda gelişebilecek GVHH ile bu komplikasyonların önceden belirlenmesi amaçlanmıştır.

Sitokinlerden IL-2, tek başına ilave edilirken, IL2+IL-4 birlikte uygulandı ve IL-2+IFN γ +TNF α kombine olarak uygulandı. **IL-2** ilave edilen ve 82 vakaya yapılan tek yönlü MLC testte 18 vakada uyumsuzluk (+) belirlendi. Bunlardan 11'ine KİT yapıldı ve 9'unda GVHH gelişti. (-) sonuç alınan ve KİT yapılan 42 vakanın 14'ünde GVHH görüldü. İki yönlü MLCde ise 60 vakaya test yapıldı ve 1. formüle göre 57 vakada (+) sonuç alındı, bunların 40'ına KİT yapıp, 17 vakada GVHH görüldü. (-) sonuç alınan ve KİT uygulanan 3 vakanın 2'sinde de GVHH gelişti. 2. formüle göre de 20 vakada (+) sonuç alındı. Bunlardan 17'sine KİT yapıp, 6 GVHH gelişti. (-) sonuç alınan 40 vakanın 26'sına KİT uygulanıp, 13'ünde GVHH gözlemlendi. Bu grup için yapılan istatistiksel çalışmada tek yönlü MLC test sonuçları anlamlı, iki yönlü MLC test sonuçları ise anlamsız olarak bulundu. **IL-2+IL-4** ilave edilen 39 vakaya tek yönlü MLC test yapıldı. 9 vakada (+) sonuç alınırken, 30 vakada (-) sonuç alındı. Test sonucu (+) olan vakalardan 4'üne KİT yapıldı ve 3 vakada GVHH gelişti. Test sonucu (-) olan ve KİT yapılan 19 vakanın 5'inde GVHH görüldü. İki yönlü MLC test sonuçlarında ise çalışılan 17 vakada 1. formüle göre (+) sonuç alındı, 12 vakaya KİT yapıldı ve 3 vakada GVHH gelişti. 2. formüle göre ise, 3 vakada (+) sonuç alındı, 2 vakaya KİT uygulandı ve komplikasyon görülmeydi. Bu parametre için hem tek yönlü hem de iki yönlü MLC test sonuçları ile komplikasyonlar istatistiksel açıdan irdelendiğinde anlamlı bir sonuç bulunamadı. **IL-2+IFN γ +TNF α** ilave edilen grupta 77 vakaya tek yönlü MLC test yapıldı. 13 vakada (+) sonuç elde edildi. 7 vakaya KİT uygulandı ve hepsinde GVHH ortaya çıktı. İki yönlü MLC, 53 vakaya uygulandı. 1. formüle göre 49 vakada (+) sonuç alındı. Bunlardan 35 vakaya KİT uygulandı ve 16 vakada GVHH ortaya çıktı. 2. formüle göre ise, 15 vakada (+) sonuç alındı. Bu vakalardan 10 tanesine KİT uygulandı ve 2 vakada GVHH görüldü. Bu grup için tek yönlü MLC test sonuçları ile KİT sonrası ortaya çıkan komplikasyon istatistiksel olarak anlamlı, iki yönlü için ise anlamsız bulundu.

Sonuç olarak, KİT ' de alıcıya uygun olan bir vericinin seçilmesinde uygulanan sMLC teste ilave olarak yapılacak sitokin ilaveli çalışmalar testi daha duyarlı hale getirecektir.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma fonu tarafından desteklenmiştir. Proje No: 1004/250897

DENEYSEL DİYABETİK NEFROPATİDE İRBESARTAN'IN APOPTOZ DÜZENLEYİCİ PROTEİNLER ÜZERİNE ETKİSİ

M. TUNÇDEMİR, M. ÖZTÜRK

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

Apoptoz kronik ve akut renal hastalıklarda gözlenen bir olaydır. Diabetes mellitus, tubular atrofi ve interstisyel fibroz ile ilişkili kronik glomerulopatiye neden olmakta, akut nefrotoksik hasar neticesinde renal hücre kaybı ile sonuçlanmaktadır. Angiotensin II (Ang II) diyabette ilerleyici nefron kaybına aracılık etmekte ve apoptotik hücre ölümünü uyarmaktadır. Çalışmamızda Ang II tip 1 (AT1) blokleri olan irbesartan'ın Streptozotocin (STZ)-diyabetik sıçanlarda apoptoz ve apoptozu düzenleyen antiapoptotik (bcl-2) ve proapoptotik (bax) proteinleri üzerine etkileri araştırıldı.

Çalışmada 24 adet erkek Wistar tipi albino sıçandan oluşan 3 grup kullanıldı. 1.grup; sağlıklı kontrol, 2.grup; tedavisiz STZ-diyabetik (60 mg/kg, tek doz, i.p), 3.grup; irbesartan (15 mg/kg/gün, intragastrik, 4 hafta) uygulanan STZ-diyabetik sıçan grubu olarak kullanıldı. Deney süresince tüm gruplardaki sıçanların kan glukoz ve mikroalbuminüri düzeyleri ölçüldü. Deney sonunda alınan böbrek dokuları nötr-formalde tespit edilip parafine gömüldü. Böbrek doku kesitlerine apoptoz tespiti amacıyla TUNEL metodu uygulandı. Bax ve bcl-2 antikörleri kullanılarak immunohistokimyasal boyamalar yapıldı.

İrbesartan uygulanan diyabetik grupta mikroalbuminüri düzeyleri tedavisiz diyabetik gruba kıyasla anlamlı olarak azalmıştı ($p<0,001$). Tedavisiz STZ-diyabetik grupta tubullerde yaygın apoptotik hücreler tespit edildi. İrbesartan uygulanan diyabetik grupta, diyabetik grup ile kıyaslandığında apoptotik hücrelerin sayısında ve proapoptotik bax protein ekspresyonunda belirgin azalma görülürken, antiapoptotik bcl-2 protein ekspresyonunun artışı kontrol gruba yakın artış gösterdiği saptandı.

STZ-diyabeti ile oluşturulan nefropatide, AT1 blokleri uygulamasının renoprotektif etkiye neden olduğu, Ang II aracılı apoptoz artışını engelleyebileceği sonucuna varıldı.

ADENO VİRUSLERLE İNDÜKLENEN FARE LENFOSİT HÜCRELERİNDEKİ MİKROÇEKİRDEK İNDÜKSİYONUNUN BELİRLENMESİ

M. KORKMAZ¹, Özlem GEÇER²

¹Balıkesir Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu 10100- BALIKESİR

²Dr. Refik Saydam Hıfızısıa Enstitüsü- İZMİR

Adenovirüsler yaygın olarak gen tedavisinde kullanılır. Diğer taraftan aynı zamanda hücre ölümü ve apoptozisi de indüklediği bilinir. Burada biz adenovirüslerin mikroçekirdek indüksiyonuna etkilerini araştırdık. Bunun için, İzmir Bölge Hıfızısıhha Enstitüsü'ne gelen polio virüs şüpheli ve akut flask paralizi bulgusu bulunan veya temaslı olan 24 kişiden alınan gaita örneğinde yapılan ön çalışmalarda adeno virus tespit edildi. Bu izolatlar daha sonra Hollanda'daki bölge referans laboratuvarı olan RIVM'e (National Institute for Public Health and the Environment) gönderildi, adeno virus olduğu doğrulandı. Fare lenfosit hücresi orijinli olan T.A hücreleri kullanılarak odacıklı lamalar içinde hazırlanan hücreler üzerine adeno virüs izolatları eklendi ve oluşan sitopatik etkiler değerlendirildikten sonra 20 ve 24 saatlik inkubasyonların ardından preparatlar tespit edilerek May-Greunwald-Giemsa boya yöntemi ile boyandı. Rasgele seçilen sahalardan sayılan 1000 hücre içindeki mikroçekirdek sayıları bulunarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Mikroçekirdek indüksiyonu yönünden, 20 ve 24 saatlik denemeler birbirinden bağımsız olarak kontrole göre anlamlı çıkmasına karşın (p 0.005), deney gruplarının kendi içinde karşılaştırılması anlamlı sonuç vermemiştir (p 0.005). Negatif kontrol olarak virüs eklenmemiş hücre kontrolleri, pozitif kontrol olarak da apoptozu ve mikroçekirdeği indüklediği bilinen Mitomisin C kullanıldı. Başka bir deney düzeneğinde T.A hücrelerinde, adeno virüslerin apoptozu indüklediği gösterildi. Bizim verilerimiz, adeno virüslerin 20 saatlik inkübasyonunun, yeterli oranda mikroçekirdek indüksiyonuna neden olduğu ve apoptozla mikroçekirdek sayıları yönünden aralarında bir ilişileşim (korelasyon) olduğunu düşündürmektedir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Adenovirüs, Mikroçekirdek, Apoptozis, Mitomisin C

SIÇANLARDA OVEREKTOMİ VE TAMOKSİFEN'İN KEMİK DOKU ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ: HİSTOPATOLOJİK VE HİSTOMORFOMETRİK ÇALIŞMA

H. AKTUĞ¹, S. USLU¹, M. Ç. TEREK², H. TERZİ², **M. TURGUT**³, S. ÖZŞENER², O. BİLGİN²

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD,

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları AD,

³Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji AD, AYDIN

Overektomi ve östrojen yetersizliği olan olgularda tamoksifen'in kemik doku üzerinde östrojen agonisti bir etki gösterdiği iyi bilinmektedir. Bununla birlikte, normal bireylerde overektomi ve tamoksifen'in olası etkileri hücresele düzeyde ortaya konulabilmiş değildir. Bu çalışmanın amacı; overektomi ve tamoksifen'in kemik dokuda neden olduğu zararlı etkilerin kemik dansitometrisi ve histomorfolojik analizler aracılığı ile ortaya konulmasıdır. Bu çalışmada, toplam 24 erişkin Sprague-Dawley sıçanının kullanıldığı dört farklı grup mevcuttur: grup 1, intakt kontrol grubu ($n=6$); grup 2, overektomize sıçanlar grubu ($n=6$); grup 3, 2 ay süreyle DMSO içinde çözünmüş olan 1 mg/kg/gün dozunda tamoksifen'in uygulanmış olduğu normal dişi sıçanlar grubu ($n=6$); grup 4, aynı süre boyunca tamoksifen'inkine eşit volümde DMSO'nun uygulanmış olduğu normal dişi sıçanlar grubu ($n=6$). Trabekül kalınlığı, osteoblast ve osteoklast sayımları, trabekül sayısı ve alanı ile kortikal kalınlık ölçümlerinden ibaret histomorfometrik analiz sonuçları değerlendirmeye alınmıştır. Overektomi işleminin femoral ve lomber kemik mineral dansite değeri üzerinde önemli bir etkisi görülmemiştir. Diğer yandan, tamoksifen grubunda femoral kemik mineral dansite değeri kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artış göstermiş ve hücresele düzeyde patolojik değişiklikler saptanmıştır. Ayrıca, osteoblast sayısı üzerine de tamoksifen'in kontrol grubuna kıyasla ciddi bir azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Elde edilen bulgular, tamoksifen'in kemik dokuya ait inorganik komponentler üzerinde olumlu bir etki gösterdiğini, osteoblast ve osteoklast sayıları üzerine ise olumsuz bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, gelecekte tamoksifen'in östrojenik ve anti-östrojenik etkilerinin inceleneyeceği yeni çalışmalarda, hücresele düzeyde proliferasyonla ilişkili değişik parametrelerin dikkate alınması gerektiğini düşünüyoruz.

DENEYSEL SPİNAL KORD HASARINDA Z.DEVD.fmk UYGULAMASININ BCL-2, BAX VE KASPAZ-3 EKSPRESYONLARI VE APOPTOZ ÜZERİNE ETKİLERİ

M.ÖZTÜRK¹, M. TUNÇDEMİR¹, F. KAYADAĞISTANLI¹, Y.A. ÜNLÜ², A.ÇOLAK²

¹ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

² Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, İSTANBUL

Nörodejeneratif hastalıklar, iskemi, ve travmatik yaralanmalardaki patolojik sonuçların ortaya çıkmasında apoptotik hücre ölümünün önemli bir rol oynadığı ileri sürülür. Kaspaz-3, apoptozun son adımına katılan önemli bir hücre içi proteaz olup, spinal kord hasarı ve serebral iskemi sonrası hücre hasarında rolü olduğu bildirilmektedir Bcl-2 antiapoptotik proteindir ve bir yaşam faktörü olarak tanımlanır. Bax apoptozu ilerletici bir proteindir. Çalışmamızda deneysel spinal kord hasarı oluşturulan sıçanlara bir kaspaz-3 inhibitörü olan Z.DEVD.fmk uygulamasının apoptoz ve apoptozu düzenleyici proteinler üzerine etkisi incelendi.

Çalışmada 26 adet dişi Wistar tipi albino sıçandan 3 grup oluşturuldu. (1) Kontrol grup. (2) ağırlık düşürme tekniği ile spinal kord travması oluşturulan grup. (3) spinal kord travması sonrası Z.DEVD.fmk uygulanan tedavi grubu. Tüm gruplardaki sıçanlardan 4. ve 24. saatte alınan spinal kord örnekleri formolde fikse edilip parafine gömüldü. Apoptotik hücrelerin işaretlenmesi için TUNEL yöntemi kullanıldı. Nekrotik ve apoptotik hücre sayımları yapıldı, ayrıca apoptotik indeks hesaplandı. Kaspaz-3, bcl-2 ve bax antikorları kullanılarak immunohistokimyasal boyamalar yapıldı.

Travma gurubunda gri maddede yaygın hemoraji, nekroz ve motor nöronlarda ileri derecede dejenerasyon gözlemlendi. Apoptotik hücreler çoğunlukla lezyon merkezini çevreleyen dokunun çevresindeki motor nöronlar, oligodendrositler ve diğer glial hücrelerde gözlemlendi. Apoptotik hücre sayısının tedavi gurubunda, travma gurubu ile kıyaslandığında anlamlı düzeyde azalmış olduğu saptandı. Tedavi gurubunda, dokuda yer yer hemorajik sahalar gözlemlendi. Kaspaz-3 ekspresyonu travma grubunda artmış olarak gözlenirken, tedavi grubunda ekspresyonun belirgin olarak azaldığı saptandı. Bcl-2 proteininin ekspresyonu kontrol grubunda yüksek gözlenirken, travma gruplarında çok zayıf, tedavi gruplarında ise travma gruplarına kıyasla artmış olarak saptandı. Bax ekspresyonu kontrol grubunda çok zayıf görülürken, travma grubunda kontrol gruba kıyasla artmış, tedavi gruplarında ise azalmış olarak tespit edildi.

Uygulanan deneysel spinal kord travma modelinde apoptotik ölümün belirgin olarak tetiklendiği Z.DEVD.fmk uygulamasının spinal kord da kaspaz-3 ekspresyonunu baskıladığı ayrıca antiapoptotik protein bcl-2' nin ekspresyonunu artırdığı ve apoptotik ölümü belirgin olarak azalttığı sonucuna varıldı.

SERUM NİTRİK OKSİT ÖLÇÜM PARAMETRELERİ İLE KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIKLARI VE ASTİM ARASINDAKİ OLASI İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

N.KORKMAZ, S.UZUNOĞLU

Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı, Muradiye- MANİSA

selim@bayar.edu.tr

Nitrik Oksit (NO), hem insan hücreleri tarafından biyokimyasal yolla sentezi yapılan endojen sinyal molekülüdür, hem de solunum yoluyla kirlenmiş havadan alınan ve zararlı etkilere sahip bir ekzojen gaz molekülüdür. Astımlı hastaların nefesindeki yüksek miktardaki NO'nun kaynağı solunum yolundaki epitel hücreleri ve makrofajlardaki iNOS'ların sentezinden ve aktivitesinden kaynaklanmaktadır. Kronik obstrüktif akciğer hastalarının nefesindeki NO seviyesi astımlı hastalarinkinden düşüktür.

Amaç: Bu çalışmanın birincil amacı, astım tanılı ve değişik ilaç tedavileri almakta olan hasta serumlarındaki ve kontrol grubunun serumlarından elde edilen nitrit, nitrat ve nitrit+nitrat değerlerinin farklı olup olmadıklarını saptamaktır. İkinci olarak, astım hastalarının ilaçla tedavisinde serumdaki NO'nun prognostik bir değeri olup olamayacağını araştırmaktır.

Materyel ve Yöntem: Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi içinde 20 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu ile astım ve/veya kronik obstrüktif akciğer rahatsızlıkları olan 43 kişilik çalışma grubu belirlendi. Bireyler, hastalık derecelerine göre gruplandırıldı. Serumdaki NO'nun son ürünleri Nitrit ve Nitrat, Griess reaksiyonu ile saptandı.

Bulgular: Nitrit ve Nitrat ölçüm değerlerinin, literatürdeki benzer çalışmalarla uyum gösterdiği belirlendi. Oluşturulan grupların nitrit + nitrat düzeylerinin karşılaştırmalı analizinde, istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanamadı.

Sonuç: Serumdaki NO'nun son ürünlerinin ölçüm parametrelerinden daha ziyade, balgamdaki ve solunum yoluyla atmosfere verilen NO'nun, astım hastalığı için daha önemli bir prognostik marker olabileceği sonucuna varıldı.

SIÇAN P60-KATANİN PROTEİNİNİN SPESİFİK BÖLGESİNİN ANTİKOR ÜRETİMİ İÇİN KLONLANMASI VE EKSPRESYONU

A. STONKUTE¹, Ş. KORULU¹, P. W. BAAS², A. KARABAY^{1*}

¹İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Maslak, İSTANBUL

²Drexel University, College of Medicine, Neurobiology & Anatomy Department, PA, USA

korulu@itu.edu.tr

karabaya@itu.edu.tr

Katanin mikrotübülleri parçalayan bir proteindir. 60 ve 80 kDa'luk polipeptidlerden oluşan bu heterodimerik protein, stabil mikrotübülleri parçalayabilmek için ATP'ye ihtiyaç duyar. Katanin, mitozda mikrotübüllerin eksi uçlarının bağlı oldukları sentrozomlardan ayrılmasında aracı olmakta ve böylece mikrotübüllere bağlanmış olan kromozomların akışı sağlanmaktadır. Mikrotübüllerin sentrozomlardan ayrılması sinir hücrelerinde de çok önemlidir. Serbest mikrotübüller uzayan aksonlara taşınmakta ve burada aksona gerekli olan fiziksel desteği sağlamaktadırlar.

Mikrotübül dinamiğinde önemli görevlere sahip olan katanin proteininin karakterizasyonu ve hücredeki görevlerinin aydınlatılması için monoklonal antikor üretimi oldukça gereklidir. Monoklonal antikor tek bir epitopu tanıyabilme özelliği ile poliklonal antikora göre daha spesifik çalışma olanağı sağlamakta bu da üretimini özellikle gerekli kılmaktadır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda p60'ın ekspresyonu gerçekleştirilmiş olmasına rağmen, protein çözünmüş halde elde edilememiştir; bu da monoklonal antikor üretimine olanak sağlayamamıştır.

pCR2.1 klonlama vektöründeki p60-katanin'den ihtiyaç duyulan 600 bazlık spesifik bölge Hind III ve EcoRI enzimleri kullanılarak kesildi ve pET30a ekspresyon vektörüne klonlanarak *E. coli* hücrelerine aktarıldı. Hücreler IPTG ile indüklenerek rekombinant p60 katanin proteinini eksprese etmeleri sağlandı. Proteinin hücrede çözünür halde bulunduğu kesinleştirildikten sonra, Histidin-metal afinite kromatografisi ile saflaştırıldı.

Pilot ekspresyonu ve saflaştırılması tamamlanan proteinin halen antikor üretimine yönelik büyük ölçekte ekspresyonu yapılmaktadır.

K562 HÜCRELERİNDE, GSH S-KONJUGAT TRANSPORTU İLE APOPTOZ ARASINDAKİ İLİŞKİ

S. B. Özdaş¹, G. Kanıgür²

¹ Kimya ve Biyoloji Mühendisliği, Koç Üniversitesi,

² Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İSTANBUL

Reaktif oksijen türleri (ROT) hücre içinde pek çok molekülde olduğu gibi DNA molekülünde de hasara neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar ile çeşitli maddelerin oksijen radikallerinin oluşmasına neden olduğu ve buna bağlı olarak DNA'da hasar meydana getirdiği bilinmektedir. Özellikle Hidrojen peroksidin hasar mekanizmaları iyi bir şekilde açıklanmıştır. Bunun yanında glutatyon konjugat transportunun oksidatif strese karşı hücrel savunmanın önemli bir bileşeni olduğu da bilinmektedir.

Çalışmamızın amacı, hidrojen peroksitle oksidatif strese maruz bırakılan K562 hücrelerinde, GSH S-Konjugat transportu inhibisyonuna neden olan kimyasalların hücrede neden olduğu sitotoksik ve genotoksik etkilerin ortaya çıkarılmasıdır. Bu sayede eritrolösemik bir kanser hücresi soyu olan K562 hücrelerinde apoptosisin uyarılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda ayrıca yüksek konsantrasyonlardaki glukozun K562 hücrelerdeki etkilerine ve GSH S-konjugat transportunun inhibisyonu sonrası hücrelerde meydana gelen değişimlere bakılmıştır.

GSH S-konjugat transportunu inhibe etmek için kullanılan S-Hexyl GSH, Etakrinik Asit ve NaF'in Hidrojen peroksit ile oksidatif stres yaratılmış K562 hücrelerinde ve kontrol hücresi olarak kullandığımız periferik kan lenfositlerinde, oksidatif strese maruz bırakılmış ancak GSH S-Konjugat inhibisyonu yapılmamış gruplara göre lipid peroksidasyonunda ve DNA kırıklarında anlamlı bir artışa neden olduğu gösterilmiştir.

HPLC VE MEIA YÖNTEMLERİ İLE SAPTANAN TAM KAN SİROLİMUS DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

T.K. AYNA, H.Ş. ÇİFTÇİ, H. TOZKIR, A.S. DİLER, M. GÜRTEKİN, M. ÇARİN

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Sirolimus (Rapamisin), immunsupresif etkiye sahip olan *Streptomyces higroscopicus*'dan izole edilen macrolid bir antibiyotiktir. Bu immunsupresif ajan organ transplantasyonlarında rejeksiyonu önlemek amacıyla kullanılmaktadır. Dar teropötik pencereye sahip olduğundan, Sirolimus kan düzeylerinin belirlenmesi önemlidir. High Performance Liquid Chromotography (HPLC) Sirolimus kan düzeylerinin saptanmasında kullanılan yaygın bir yöntemdir. Ancak HPLC çalışmasının güçlükleri ve ölçüm sonuçlarının kısa sürede elde edilememesi gibi bir takım problemler yaşanmaktadır. Bu nedenle de HPLC ile uyumlu, uygulaması daha kolay olan Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) yöntemi kullanılmaya başlanmıştır.

Bu çalışmada İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesinde böbrek transplantasyonu olan ve Sirolimus kullanan 37 hastadan elde edilen 85 kan örneği İ.T.F. Tıbbi Biyoloji İmmunsupresif ölçüm laboratuvarında HPLC ve MEIA yöntemleri ile Sirolimus düzeylerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Kan örneklerinin çalışıldığı dönemde her iki metod için Sirolimus düzeyi bilinen kontroller kullanılarak yöntemlerin doğruluğunu saptamak amacıyla % CV değerleri belirlenmiştir. HPLC için % CV değerleri, 2,5, 5, 10, 15, 25, 50 ng/ml'lik kontroller için % 5,6, % 8,3,

% 9,1, % 6,2, % 7,2, % 5,8 olarak bulunmuştur. MEIA yöntemi için ise, 5, 11, 22 ng/ml'lik kontrollerin % CV değerleri % 6,7, % 7,8 ve % 6,3 olarak belirlenmiştir.

Her iki yöntemle elde edilen Sirolimus kan örneklerinin sonuçlarının lineer regresyon değeri $r^2 : 0,88$, $y: 1,004x + 0,332$ p 0,0001 olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma sonunda MEIA yönteminin, HPLC ile uyumlu, kolay uygulanabilen ve kısa sürede Sirolimus kan düzeyi sonuçlarının elde edildiği görülmüştür. Bu özellikleri ile de MEIA yönteminin güvenilir olması, HPLC yöntemlerine alternatif olarak kullanılabilir.

CLOPIDOGREL'İN APOPTOZİS ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

R. YALÇIN¹, A. ERKAN¹, **M.A. ERGUN**², E. YURTCU³

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı,

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Laboratuvarı, ANKARA

ergun@tr.net

Clopidogrel kardiyovasküler tıpta geniş oranda kullanılan ve bazı kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olduğuna inanılan bir ajandır. Koroner stent uygulanan hastalarda clopidogrel kullanımı sonrası koroner damarlarında tekrar stenoz ortaya çıkmaktadır. Buna clopidogrel'in apoptosis yoluyla neointimal hiperplaziye yol açmasının neden olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, clopidogrel'in aterosklerotik plakların başlangıç ve ilerlemesinde anahtar role sahip olduğu düşünülen insan lenfositleri üzerine olan apoptotik etkisi araştırılmıştır.

Bu nedenle, elektif koroner stent implantasyon yapılmış ve klopidogrel tedavisi alan 10 hasta ve kontrol olgularından alınan periferik kanlarından lenfositler elde edilmiş ve daha sonra 4 gün kültüre edilen hücreler hem hücre morfolojileri hem de DNA fragmentasyonu açısından ayrı ayrı incelenmiştir.

Apoptosis oranları değerlendirildiğinde hasta grubunda bulunan % 28 oranına karşılık kontrol grubunda % 8 oranında bir değer elde edilmiştir ($p=0.0003$). Ayrıca, agaroz jel elektroforezi sonucunda hasta grubunda DNA merdiveni yapısı saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada clopidogrel'in insan lenfositlerinde apoptosisi indüklediği belirlenmiştir. Koroner stent uygulanması sonrası apoptosisin neointimal hiperplazi üzerine etkisi düşünülürse yaygın kullanımı olan clopidogrel'in klinik bulgulara öncü olabileceği ve bu nedenle diğer hücre tiplerinde de (düz kas, endotel ve fibroblast gibi hücreler) clopidogrel'in etkisinin geniş olarak araştırılmasının kesin bir sonuca varılması için gerekli olduğu önerilmiştir.

ALLOXAN İLE TİP II DİYABET OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KEKİĞİN (*Thymbra spicata*) SERUM GLUKOZ, HbA1C, ALT, AST ve LİPİD DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

D. ERKOÇ¹, M. AKSOY¹, F. PAYDAK¹

¹Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, KONYA

dudu_erkoc@yahoo.com

Bu çalışmada halk arasında hipoglisemik etkisinin olduğu düşünülen kekik (*Thymbra spicata*) bitkisinin, diyabetik hale getirilen sıçanlara verilerek serum glukoz, HbA1c, ALT, AST ve lipid düzeyleri üzerine etkisinin olup olmadığının ortaya konması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda Selçuk Üniversitesi Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden sağlanan 4 aylık 200-300 gr ağırlığında 25 adet Sprague Dawley türü erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, Grup 1 (normal kontrol n=5), Grup 2 (diyabetik kontrol grubu n=10) ve Grup 3 (diyabetik kekik grubu n=10) olmak üzere gruplandırıldı. % 5'lik Alloxan 2. ve 3. gruba intraperitoneal enjeksiyon yoluyla verildi. Diyabetik hale gelen grup 3 sıçanlarına 8 hafta süreyle her gün 1 ml dozda kekik ekstresi gastrik gavaj yoluyla içirildi. Haftada iki kez tüm gruplardaki sıçanların kuyruk venalarından kan alınarak serum glukoz seviyeleri otoanalizörde ölçüldü. HbA1c, kolesterol, HDL, LDL, trigliserit, ALT, AST seviyeleri ise çalışma boyunca 4 kere ölçüldü.

Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırılarak değerlendirildi.

BÖBREK TRANSPLANTASYONU ÖNCESİ İMMÜNSUPRESİF AJANLARIN ETKİNLİKLERİNİN HÜCRE KÜLTÜRÜ ORTAMINDA DEĞERLENDİRİLMESİ

H.S. ÇİFTÇİ¹, T.K. AYNA¹, S.A. KAYA¹, A. TÜRKMEN², A.S. DİLER¹, M. GÜRTEKİN¹, M. ÇARİN¹

¹İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

²İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi İç hastalıkları AD, Nefroloji Bölümü, İSTANBUL

Transplantasyon sonrası uygulanan immünsupresif tedavi, nakledilen doku veya organın alıcıda uzun süre yaşaması için önemlidir. Siklosporin A (Cyc-A), Takrolimus (FK506), Mikofenolat Mofetil (MMF), Metilprednizolon (MeP) ve Azatioprin (Aza) bu amaçla kullanılan ajanlardır. Çalışmamızda transplantasyona hazırlık aşamasında olan 30 hastada bu ajanların etkilerinin görülmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle hasta ve vericilerine standart Karışık Lenfosit Kültür (standart Mixed Lymphocyte Culture = sMLC) testi uygulandı. sMLC testine paralel olarak hazırlanan seride, kültürü yapılan lenfositlerin üzerine fitohemaglutinin (Phytohemagglutinin = PHA) eklenerek uyarıldı. Ayrıca PHA ile uyarılarak hazırlanan farklı serilerin üzerine de bu ajanlar eklendi. Lenfositlerin proliferasyon cevaplarını inhibe etme dereceleri değerlendirildi.

Çalışmada değerlendirilen 22 ve 29 no' lu hastaların sadece Cyc-A' ya, 2, 7, 9, 13, 14, 23, 25, 26, 28 no' lu hastaların sadece Aza' ya, 27 no' lu hastanın FK506 ve Aza' ya, 1, 3, 16, 17, 18, 20, 21 no' lu hastaların ise Aza ve MeP' e, 19 no' lu hastanın FK506, Aza, MeP ve MMF' e, 30 no' lu hastanın Cyc-A, Aza, MeP ve MMF' e, karşı dirençli olduğu bulundu. Çalışmamızdaki 10 no' lu hastanın ise tüm ajanlara karşı dirençli olduğu tespit edildi. Çalışmamızdaki 4, 5, 6, 8, 11, 12, 15, 24 no' lu hastaların ise tüm immünsupresiflere karşı duyarlı olduğu bulundu (Tablo1).

Tablo1: Hastaların immünsupresiflere karşı duyarlı ve dirençlilik durumları

No	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
Cyc-A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
FK506	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
MMF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
MeP	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Aza	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+

Not: (-) Duyarlı, (+) Dirençli

Çalışmaya dahil edilen 30 hastanın 21'ine (%70) (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 16, 17, 19, 20, 22, 25, 26, 27, 28, 29) böbrek transplantasyonu uygulandı. Transplantasyonu takiben bir yıl içinde 5 hastada (%23,8) (6, 10, 16, 19, 29) akut rejeksiyon olayı tespit edildi. Transplantasyon sonrası CsA, MMF ve MeP tedavisi alan 6 no' lu hastada çalışmada bu ajanlara karşı duyarlılık tespit edilirken, FK506, MMF ve diltakortil tedavisi alan 10 no' lu hastanın da tüm ajanlara dirençli olduğu tespit edildi. CsA, Aza ve MeP tedavisi alan ve akut rejeksiyondan dolayı graftını kaybeden 16 no' lu hastanın da MeP' e ve Aza' ya karşı dirençli olduğu saptandı. FK506, MMF ve Diltakortil alan ve akut rejeksiyon geçiren 19 no' lu hastanın ise FK506, Aza, MeP ve MMF' e karşı dirençli olduğu tespit edildi. Son olarak CsA, Aza ve MeP alan ve akut rejeksiyon görülen 29 no' lu hastanın da CsA' ya dirençli olduğu saptandı.

Sonuç olarak, böbrek transplantasyonundan önce, hastaların bu immünsupresiflere olan duyarlılığının önceden yapılan sMLC testi ile belirlenerek, transplantasyon sonrası hastalara en uygun immünsupresif tedavinin seçilmesinde kliniği bilgilendirmede yararlı olabilecektir.



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

V SÖZLÜ SUNUMLAR

METİL PREDNİZOLONUN HL-60 HÜCRELERİNDE DR-nm23 GEN EKSPRESYONU ÜZERİNDEKİ ETLİLERİ

A.ÖZCİMEN¹, Ö. HATIRNAZ², H. SAVLI³, Ç. KOCAEFE¹, M. ÇETİN⁴, M. TUNCER⁴,
A. KART¹, G. HİÇSÖNMEZ⁴.

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

² İstanbul Üniversitesi, Tıp Fakültesi, DETAE, İSTANBUL

³ Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, KOCAELİ

⁴ Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatri AD, Pediatrik Hematoloji Ünitesi, ANKARA

GENEL BİLGİ: Metilprednizolon akut miyeloid lösemi (AML)'li hastalarda lösemik hücrelerin farklılaşmasını ve apoptozunu sağlayan steroid türevi bir ilaçtır. Bu çalışmada AML'nin M3 alt grubunun özdeşi olan HL-60 (akut miyeloblastik lösemi hücre hattı) hücrelerinde farklılaşmayı inhibe eden bir gen olarak bilinen non metastatik gen 23 (*nm23*) ailesinden olan *DR-nm23* (differentiation resistance *nm23*) geninin göreceli ekspresyonu Real Time PCR yöntemi ile incelendi.

AMAC: Doz ve zaman bağımlı metilprednizolon uygulanan HL-60 hücrelerinde *DR-nm23* gen ekspresyonunu Real Time-PCR ile araştırılması.

METOD VE BULGULAR: Bu çalışmada HL-60 hücrelerine 48 ve 96 saat sürelerde 10⁻⁶ M (düşük doz) ve 10⁻³ M (yüksek doz) uygulanan metilprednizolonun *DR-nm23* geni üzerindeki etkilerine bakmak için RNA izolasyonu ve cDNA sentezi gerçekleştirildi. Light Cycler kontrol kit DNAsı kullanılarak standartlar oluşturulduktan sonra, standartların Light Cycler cihazında Melting Curve analizleri yapıldı. Bütün standartların Melting Curve derecesi 85 C olarak bulundu. Sentezlenen cDNA'ların, *beta2-mikroglobulin* geni ile birlikte *DR-nm23* gen primerleri kullanılarak SYBR Green-I ile amplifikasyonu yapıldı. İnternal kontrol olan *beta2-mikroglobuline* göre *DR-nm23* genindeki ekspresyon değişimleri göreceli olarak incelendi. SYBR Green-I ile duplike çalışma yapıldı. Roche Light Cycler 3 Run software programındaki inceleme ve ekspresyon oranları hesaplandıktan sonra, 48. saatte 10⁻⁶ M derişimdeki ekspresyon oranı 104.18, 10⁻³ M derişimdeki ekspresyon oranı ise 0.604 olarak; 96. saatte ise 10⁻⁶ M derişimdeki ekspresyon oranı 4.14, 10⁻³ M derişimdeki ekspresyon oranı ise 0.560 olarak bulundu. Sonuçlar değerlendirildiğinde, doz ve zamana bağlı olarak metilprednizolon uygulanan HL-60 hücrelerinde *DR-nm23* geni ekspresyon seviyesinde ANOVA istatistik testine göre anlamlı bir azalma gözlemlendi (p<0.001).

HEPATOSELÜLER KARSİNOMLARDA HÜCRE HATLARININ TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZM ÇİPLERİ İLE ANALİZ KANSER OLUŞUMUYLA İLGİLİ YENİ ADAY KROMOZOM BÖLGELERİ VE GENLERİ İŞARET EDİYOR

Kubilay Demir, M.Cengiz Yakıcıer,

Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, ANKARA

DNA kopya sayısındaki değişimler; delesyon ve amplifikasyonlar, onkogen ve tümör baskılayıcı genlerin etkenleşme yada yetersiz hale gelme mekanizmalarından biridir. Homozigot kayıplar (HOMK) insan epitel kanserlerinde ve hepatoselüler karsinomlarda (HSK) sık görülen ve tümör baskılayıcı genlerin işlev kaybına yol açan genetik değişikliklerdir. Amplifikasyonlar (AMP) ise onkogenlerin etkinleşmesinde rol alabilmektedir.

Kısa bir süre önce geliştirilmiş olan yüksek çıktı genotiplendirme yöntemleri, çok sayıda (10 bin) tek nükleotid polimorfizm (TNP) dizilerini kullanarak genom seviyesinde etkin bir biçimde HOMK ve AMP bölgelerini ortaya çıkarmaktadır. Bu çalışma çerçevesinde, 8 insan HSK hücre hattında (SkHep1, Hep3B, HepG2, PLC, Hep40, Focus, SNU398 ve SNU449) "10K2.0 Xba142 Affymetrix SNP Array" kullanarak HOMK ve AMP bölgelerini araştırdık.

Sonuçlarımız daha önce başka çalışmalarda da gösterilmiş olan CDKN2A ve PTEN gibi tümör baskılayıcı genleri içeren bölgelerdeki HOMK'ları doğrulamaktadır. Bunun yanı sıra, daha önceden literatürde rastlanmamış HOMK ve AMP'ler tespit edilmiştir. Bu çalışmada DNA kopya sayısı anormalliği gösteren bölgeler bazen herhangi bilinen yada öngörülen bir gen içermemekte, bazen de iyi bilinen ancak kanserdeki rolleri henüz bilinmeyen genleri barındırmaktadır. Kromozom 7q21 bölgesindeki GRM3 ve TP53AP1 genleri HOMK, 2p25 bölgesinde yerleşik ADAM17 geni de AMP bölgelerinde yer alan sırasıyla aday tümör baskılayıcı gen ve onkogenler olarak ilk defa bu çalışmada gösterilmiştir. Bu genler HSK oluşumunda etkili olabilecek kuvvetli aday genlerdendir. Yukarıdaki sonuçlara ek olarak, özellikle telomerik bölgelerde yüksek sıklıkta kromozomsal değişimler ve gen içermeyen bölgelerde de yer yer kayıpları tespit ettik.

Bu sonuçlar HSK biyolojisini anlamamıza katkılarda bulunabilir. Bu bildiride sonuçlarımız ve devam eden çalışmalarımız tartışılacaktır.

ÇOCUKLUK ÇAĞI AKUT LÖSEMİLERİNDE SİTOKİN GEN POLİMORFİZMİ

K. ÖZDİLLİ², FS. OĞUZ¹, Y. DUVARCI¹, M. ÇARİN¹, G. GEDİKOĞLU³

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD

²Haliç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İSTANBUL

³Bizim-Lösemili Çocuklar Vakfı

Sitokinler kemik iliğinde normal hematopoez için gereklidir. Lösemik hücreler de sitokinlerin etkisi ile proliferasyon olurlar. Son zamanlarda lösemik hücrelerden salınan sitokinlerin otokrin olarak lösemik gelişimde rol oynayabileceği konusunda çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.

Amaç: Bu çalışmada çocukluk çağında lösemik gelişimde etkisi olabileceği düşüncesi ile sitokin gen polimorfizmleri incelenmesi amaç edinildi.

Hastalar ve yöntem: Akut lenfoblastik lösemi (ALL), akut myeloid lösemi (AML) ve kronik myeloid lösemili (KML) tanıları ile toplam 116 hasta ve 60 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. Hasta ve kontrollerin TNF-a, TGF-b, IL-6, IL-10, IFN-g sitokin gen bölgeleri için 16 farklı primer (One lamda) kullanılarak "PCR-SSP" (diziye özgül primerler ile PCR amplifikasyonu) yöntemi ile araştırıldı. ALL, AML, KML ve kontrol grubu sitokin gen polimorfizmi dağılımı Ki-Kare, Fisher's Exact testleri and Stepwise Logistik Regresyon Analizi (SLRA) kullanılarak karşılaştırıldı.

Bulgular : IL10-GCC/ATA genotip sıklığı her üç lösemi tipinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur. TNFa-GA genotip sıklığı ALL ve AML'li hastalarda, TGFb-TC/GG genotipi ise AML ve KML'li hastalarda yüksek oranda bulunmuştur. Buna karşın TGFb-TT/GG ve TNFa-GG genotip sıklığı kontrol grubunda fazla bulunmuştur.

Sonuç: Çalışmamız özellikle IL-10 GCC/ATT haplotipinin tüm lösemi tiplerinde yüksek sıklıkta olması lösemiye yatkınlık oluşturmaya düşüncesine yönlendirmiştir. Genetik yatkınlığın netleştirilebilmesi için daha geniş çalışma grupları ile çalışmaların sürdürülmesinin doğru olacağına inanmaktayız.

Sitokin	ALL n=45		ALL/ KONTROL	AML n=45		AML/ KONTROL	KML n=26		KML/ KONTROL	KONTROL n=60	
	n	%		n	%		n	%		n	%
TNF-a(GA)	14	31,1	0,003*	10	22,2	0,044*				5	8,3
TNF-a(GG)	31	68,1	0,014*							53	88,3
TGF-b(TC/GG)				22	49	0,03*	15	57,7	0,01*	17	28,3
TGF-b(TT/GG)				7	15,6	0,039*				20	33,3
IL-10 (GCC/ATA)	17	37,8	0,004*	15	33	0,027*	7	27	0,04*	8	13,3

MULTIPLE MYELOMALI HASTALARDA SİTOKİN GEN POLİMORFİZMİNİN TESPİTİ

Ç. KEKİK¹, S. BEŞİŞİK², F.S. OĞUZ¹, Y. SEYHUN¹, G. KARAHAN¹, M. GÜRTEKİN¹, D.SARGIN², M. ÇARİN¹

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Hematoloji BD

Multiple myeloma (MM), kemik iliğinin plazma hücrelerince infiltrasyonu ve Ig moleküllerinin fazla yapımı ile giden, ileri yaş B hücre neoplazisidir. Sitokinler hastalığın patogeneğinde önemli rol oynamaktadır.

AMAÇ: Çalışmamızda, MM tanısı konmuş hastalarda sitokin gen polimorfizmlerinin araştırılması planlandı.

MATERYAL-METOT: 80 MM hastası ve 70 sağlıklı birey dahil edildi. PCR-SSP yöntemi ile sitokin gen polimorfizmleri tiplendirildi.

BULGULAR: Hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında hastalarda IL-4Ra GA, IFN- AT, TGF-CG/CC, TNF- AG/AA ve IL-4 GCC/TCC genotipleri kontrollerde ise IL-4Ra GG, IFN- TT, TGF-TG/CC ve TNF- GG/GG genotipleri anlamlı olarak yüksek bulundu. Birden fazla polimorfik alan içeren sitokinler hasta ve kontrol gruplarında tek tek incelendiğinde TGF- geninin kodon 10 bölgesinde CC, TNF- geninin -308 bölgesinde AA ve 238 bölgesinde GA ve IL-4 geninin 1098 bölgesinde GT, -590 ve 33 bölgelerinde ise CC genotipleri anlamlı olarak yüksek gözlemlendi. Buna karşılık TGF- geninin kodon 25 bölgesinde GG, TNF- geninin -308 ve 238 bölgelerinde GG, IL-4 geninin 1098 bölgesinde TT, -590 ve 33 bölgelerinde ise CT genotipleri anlamlı olarak yüksek gözlemlendi.

SONUÇ: Onüç sitokin tipi ile geniş çapta yapılmış ilk çalışma özelliğine sahip bu çalışmada, hastalar ve kontrollerde sitokin gen polimorfizmleri karşılaştırılmıştır. Daha ileri çalışmalarda tanı sırasındaki, sitokin gen polimorfizmi tespitine ek olarak sitokin gen ekspresyon düzeylerinin ölçülmesinin hastalığın etyopatolojisi altında yatan mekanizmaların aydınlatılmasına ve kişiye özel tedavi stratejilerinin tasarlanmasına katkıda bulunacağı ve hastalığın prognozu hakkında bilgi vereceğini düşünmekteyiz.

TÜRK TOPLUMUNDA AİLESEL MEME KANSER SENDROMLARI VE HEREDİTER MUTASYON ANALİZ SONUÇLARI

S. GÜRAN¹, A. ÖZET², M. DEDE³, J. JP GİLLE⁴, M. C. YENEN³

Meme kanseri kadınlarda en sık gözlenen kanser türüdür. Olguların %5-10' u herediter meme kanser sendromu içinde yer almaktadır.

1996 yılından itibaren 68 olgu ailesel meme kanseri ön tanısı ile refere edilmiştir. Beş ailede (%7.4) klinik olarak ailesel meme-over kanser sendromu tanısı konmuştur. On yedi ailede (%25) iki ve üzeri meme kanseri bulunmaktadır. Bu ailelerde yapılan mutasyon analizinde sadece bir ailede BRCA1 185 del AG mutasyonu tanımlanmıştır. Üç aile (%4.4) Li-Fraumeni sendromu tanısı almış, moleküler genetik analizde TP 53 (Lys 292 Ile, Pro 278 Ser, Pro 278 Thr) germline mutasyonlarını taşıdığı gözlenmiştir. Meme kanserleri de bulunan herediter non-polipozis kolon kanseri tanısı (HNPCC; Lynch sendromu) alan bir ailede MLH1 IVS 17-3 G>C herediter mutasyonu saptanmıştır. Ailelerin çoğu (41 aile-%60.2) tek bir meme kanseri veya kistik adenoma (veya her ikisi) tanısı almış olup, bu ailelere moleküler test yapılmamış olgulara hastalık yönünden danışma verilmemiştir.

Sonuç olarak 68 aileden sadece on ailede (%14.7) herediter bir mutasyon saptanmıştır. Elde edilen sonuç klinik bulguların detaylı pedigree analizinin, herediter mutasyonların saptanmasının meme kanseri genetik danışmasındaki önemini göstermektedir.

* Yazı bu hali ile Cancer Genetics and Cytogenetics' te [160; 164-168, 2005] yayınlanmıştır.

PYRİN-PSTPIP1 (Proline serine threonine phosphatase interacting protein 1) İLİŞKİSİNİN HÜCRE DÜZEYİNDEKİ ÖNEMİ

Banu Balcı Peynircioğlu*^{1,2}, Andrea Waite², Philip E. Schaner², Neil Richards², Engin Yılmaz¹, Deborah Gumucio².

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

² University of Michigan, Department of Cell and Developmental Biology, Ann Arbor, MI, USA

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA); özellikle Musevi, Arap, Ermeni ve Türk toplumlarında yaygın olarak görülen ve otozomal resesif olarak aktarılan bir otoinflamatuvar hastalıktır.

AAA geni MEFV (Mediterranean FeVer) olarak isimlendirilmiştir ve bu gen Pyrin adı verilen bir proteini kodlamaktadır. Pyrin proteininin AAA hastalığında ve inflamasyonun gelişimindeki fonksiyonu henüz iyi anlaşılamamıştır. Proteinin hücre düzeyindeki fonksiyonuna ışık tutmak amacıyla yapılan maya-2-hibrit sistemi çalışmalarında, pyrin proteini ile PSTPIP1 (Proline serine threonine phosphatase interacting protein 1) proteininin

interaksiyona girdiği saptanmıştır. PSTPIP1'i kodlayan gende meydana gelen mutasyonların PAPA (Pyogenic arthritis with pyoderma gangrenosum and acne) sendromuna sebep olduğu bilinmektedir. PAPA sendromu, otozomal dominant geçiş gösteren ve bazı klinik özellikleri açısından AAA'ya benzeyen bir otoinflamatuvar hastalıktır.

Bu çalışmada, bu iki protein arasındaki ilişki immünflorasan boyama yöntemi ile konfirme edilmiştir. Bu interaksiyon açısından önemli olduğu düşünülen pyrin domainleri üzerinde invitro mutagenез yöntemi kullanılarak D330A, R408Q, E474K, H478K, F479L ve Y688X mutasyonları yaratılmış ancak bu mutasyonların Pyrin-PSTPIP1 ilişkisi açısından önemli olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca bu ilişkinin hücre düzeyindeki fonksiyonel öneminin anlaşılabilmesi amacıyla fagositoz deneyi yapılmış ve bu deney sonucunda pyrin ve PSTPIP1 in birlikte 'overeksprese' edildiği hücrelerde fagositoz aktivitesinin azaldığı saptanmıştır.

*Bu çalışma TÜBİTAK NATO A2 bursu desteği ile Michigan Üniversitesi'nde tamamlanmıştır.

SPİNAL MÜSKÜLER ATROFİ'DE RNA İŞLENME HATASININ VE TEDAVİNİN ARAŞTIRILMASI

D. DAYANGAÇ¹, FD. TIZIANO², H. TOPALOĞLU³, C. BRAHE², H. ERDEMYURTER¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

²Istituto di Genetica Medica, Università Cattolica Cuore, Rome, ITALY

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Nöroloji Ünitesi, ANKARA

Spinal müsküler atrofi alfa motor nöronların dejenerasyonuna, simetrik kas zayıflığına neden olan ve otozomal resesif olarak aktarılan bir çocukluk çağı hastalığıdır. Hastaların %95-98'inde SMN1 geninde homozigot delesyonlar görülmektedir. Delesyon olmayan SMN2 geninden ise işlevsel olmayan bir protein sentezlenmekte ve hastalık oluşumunu engelleyememektedir. Ancak SMN2 gen kopya sayısı çok olan bireylerde hastalığın daha hafif seyirli olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda farklı sayıda SMN2 kopyası içeren hastalardan oluşturulan lenfoblastoid hücre hatları üzerinde HDAC inhibitörlerinin etkisini araştırmak amaçlanmıştır. Bir tipI, iki tipII ve iki tipIII SMA hastasından izole edilen lenfositler, EBV ile transforme edilerek lenfoblastoid hücre hatları oluşturulmuştur. Bir adet tipI ve bir adet tipIII hücre hattı 0.05-50mM sodyum bütirat ile 4,8,24,32s inkübe edildikten sonra, doğru uzunlukta bulunan SMN2 mRNA'sı RT-PCR yöntemi ile incelenmiştir. İki tipIII hücre hattı ise 0.05-5mM fenil bütirat ile 8,16,24,48s inkübe edilerek, doğru uzunlukta SMN2 mRNA'sının incelenmesi için kantitatif realtime RT-PCR yöntemi kullanılmıştır. İki HDAC inhibitörünün de doğru uzunlukta bulunan SMN2 transkript miktarını arttırmadığı saptanmıştır. Bunun üzerine SMN2 kopya sayısı ile tedavi arasındaki ilişkiyi araştıramamıştır. Fenilbütiratın SMN protein miktarına etkisini araştırmak için ise iki tipIII hücre hattı 2mM fenilbütirat ile 24,48,72s inkübe edilmiş ve fenilbütiratın SMN protein miktarını arttırmadığı gözlenmiştir.

SMA'da HDAC inhibitörlerinin tedavi edici etkisini araştırmak için EBV ile immortalize edilen lenfoblastoid hücre hatlarının uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Aynı hastaların fibroblast veya kas hücrelerinde HDAC inhibitör etkisinin araştırılmasıyla bu düşüncemiz kanıtlanabilecektir. HDAC inhibitörleri ile SMA tedavisine yönelik kazandığımız tecrübeler sayesinde, ekzon atlama hatalarının neden olduğu diğer hastalıkların farmakolojik tedavi stratejilerinin geliştirilmesi mümkün olabilecektir.

HEPATİT B VİRÜS REPLİKASYONUNUN shRNA İLE IN-VITRO OLARAK BASKILANMASI: HBV TEDAVİSİNDE YENİ BİR STRATEJİ

H. KAYHAN, E. KARATAYLI, A. R. TÜRKYILMAZ, C. YURDAYDIN, A.M. BOZDAYI

Ankara Üniversitesi, Hepatoloji Enstitüsü, ANKARA

GİRİŞ: RNAi ("RNA İnterference": RNA İnterferans) kısaca sekans spesifik mRNA degradasyonu olarak tanımlanabilir. RNAi işlemi siRNA'larla ("small interfering RNA": küçük engelleyici RNA molekülleri) başlar ve aktif bir gen transkriptinin (mRNA) susturulması ("gene silencing") ile sonuçlanır. Bu moleküller çok spesifik olduklarından hedef mRNA dışında başka mRNA'ları yıkıma uğratmazlar. RNAi teknolojisi sadece virüslere ve diğer hastalıklara karşı potansiyel bir tedavi aracı olarak değil aynı zamanda genlerin fonksiyonunu anlamada da yeni ve güçlü bir araçtır. Bu çalışmanın amacı RNAi mekanizmasını HBV'ye karşı kullanmak yoluyla HBV replikasyonunun in-vitro ortamda baskılanmasıdır.

MATERYAL VE METOD: HBV mRNA sekanslarına spesifik, 21 nükleotid uzunluğunda, X, kor ve yüzey genlerini hedef alan üç siRNA tasarlandı. Bu siRNA'lar shRNA ("small hairpin RNA") ekspresyonu sağlamak için klonlandı. İlk olarak siRNA'ların pENTR/U6 vektörüne ligasyonu yapıldı. Elde edilen bu vektör kompetent E. Coli'ye transforme edildi. Klonlama sekans analizi ile onaylandı. shRNA'ların HBV üzerindeki etkisini görmek için stabil HBV ekspresyonu ve replikasyonunun yapıldığı insan hepatoma hücre hattı HepG.2.2.15 kullanıldı. Transfeksiyon katyonik lipozomlarla gerçekleştirildi. Transfekte edilen shRNA'ların HBV replikasyon düzeyine etkisi kantitatif "real-time PCR" yöntemi ile değerlendirildi.

BULGULAR: Viral DNA düzeyine 2., 3., 4., 5., 6. ve 7. günlerde bakıldı. Bunun sonucunda viral DNA replikasyonunun 6 gün boyunca baskılandığı görüldü. HBV DNA düzeyi, yüzey bölgesini hedef alan plazmidle 81%, kor bölgesini hedef alan plazmidle 76% ve X bölgesini hedef alan plazmidle 75 % baskılandı.

SONUÇ: Bu çalışma ile HBV replikasyonun shRNA'lar kullanılarak baskılabildiği gösterilmiştir. Bu baskılama RNAi'nin HBV'ye karşı potansiyel bir tedavi aracı olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar sözcükler: RNAi, siRNA, shRNA, HBV, HepG2.2.15 hücre hattı.

DENEYSEL TİP II DİYABETİK SIÇANLARDA, STEVIA REBAUDIANA İLE N NİTRO-L-ARGİNİN'İN, BİYOKİMYASAL PARAMETRELER VE PANKREAS HİSTOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ*

C.ŞİMŞEK, İ. DEĞİRMENCİ

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

Bu çalışmanın amacı, STZ-NA ile oluşturulan tip II diyabetik sıçanlarda, *Stevia rebaudiana* Bertoni yaprak ekstresi (SrB) ve N-Nitro-L-Arginin (L-NNA) 'in trigliserit, kolesterol ve HbA_{1c} gibi biyokimyasal parametreler ile kan glukoz seviyesi ve pankreas histolojisi üzerine olan etkilerini belirlemektir. Bu çalışmada 2-3 aylık dişi Sprague-Dawley soyu sıçanlar kullanıldı. Her bir grupta 12 sıçan bulunan 7 grup oluşturuldu. Bu grupların 3'ü kontrol, 4'ü deney grubu olarak düzenlendi. Dört grupta, streptozotolin (STZ) ve nikotinamid'in (NA) sistemik olarak uygulanması ile diyabet uyarıldı. Diyabetin uyarılmasından 5-8 hafta sonra deneye başlandı ve 15 gün boyunca diyabetik gruplar SrB, L-NNA ve SrB + L-NNA ile tedavi edildi. Deneyden sonra, eter anestezisi altında dokular ve kan örnekleri uygun teknikler kullanılarak toplandı.

Açlık ve tokluk kan glukoz konsantrasyonlarında, hiçbir madde uygulamadığımız 1. haftada, kontrol grubuna göre diğer gruplar arasında fark bulunmamıştır. STZ + NA uygulamasından 4 hafta sonra diyabetik grupların açlık ve tokluk kan glukoz konsantrasyonlarının arttığı gözlenmiştir. SrB ve L-NNA uygulamasından sonra tedavi edilen diyabetik grupların açlık ve tokluk kan glukoz seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düştüğü ve kontrole oldukça yaklaştığı gözlemlendi.

Trigliserit bakımından, kontrol grubuna göre diğer gruplarda istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamakla birlikte HbA_{1c} değerleri diyabetik kontrol grubunda tedavi edilen gruplara göre düşük bulundu.

Çalışmamızdaki pankreas örneklerinde, kontrol gruplarında histolojik bir değişikliğe rastlanmadı. Adacık sayısı ve boyutundaki azalma diyabetik kontrol grubunda yoğun bir şekilde gözlenirken, tedavi edilen diyabetik gruplarda daha az olarak belirlendi.

* Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

İZONİAZİD UYGULANAN SIÇANLARDA ERİTROSİT ADENOSİN DEAMİNAZ VE KSANTİN OKSİDAZ ENZİM AKTİVİTELERİ İLE NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİ ÜZERİNE ERDOSTEİNİN ETKİSİ

H.R. YILMAZ¹, E. UZ¹, O. GÖKALP², N. ÖZÇELİK¹, E. ÇİÇEK², M.K. ÖZER²

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

²Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, ISPARTA

İzoniazid (INAH) tüberkülozun tedavi ve profilaksisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardan birisidir. Ancak, INAH'ın oksidatif stres ile bazı dokularda hasara neden olduğu bilinmektedir. Erdosteine klinikte mukolitik ve ekspektoran olarak kullanılan ve antioksidan özelliği olan bir ilaçtır. Bu çalışma, erdosteine'in rat eritrositlerinde INAH'ın olası hasarlarına karşı koruyucu etkisinin olup olmadığını tespit etmek amacıyla planlandı.

Çalışmada 19 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Çalışma grupları; kontrol grubu (n=7), INAH grubu (n=6) ve INAH+Erdosteine grubu (n=6) olarak düzenlendi. Kontrol grubuna 15 gün içme suyu verildi. INAH ve INAH+Erdosteine gruplarına 50 mg/kg/gün dozunda içme suyu içinde gavajla ağızdan verildi. Erdosteine ise 10 mg/kg/gün dozunda aynı yolla verildi. Deney sonunda, hayvanlardan kan alındı. Eritrositte adenosin deaminaz (ADA) ve ksantin oksidaz (XO) enzimleri ile nitrik oksit (NO) seviyeleri spektrofotometrik olarak ölçüldü.

INAH, eritrosit hücrelerinde ADA ve XO enzimleri ile NO seviyelerini yükseltti. Erdosteine ise ADA ve XO enzimleri ile NO seviyelerini azalttı.

Erdosteine'in, muhtemelen reaktif oksijen türlerini süpürücü etkisi ile INAH'ın yan etkilerini azalttığı söylenebilir.

MİKROTÜBÜL KESİCİ SPASTİNİN MİKROTÜBÜL İLİŞKİLİ PROTEİNLER İLE REGÜLASYONU

S.KORULU¹, P.W.BAAS², A.KARABAY^{1*}

¹İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İSTANBUL

²Drexel University, College of Medicine, Neurobiology&Anatomy Department, PA, USA

korulu@itu.edu.tr

karabaya@itu.edu.tr

Spastin SPG4 lokusundan sentezlenen ve mutasyonunda Kalıtsal Spastik Paraplezya (Hereditary Spastic Paraplegia) olarak bilinen kas rahatsızlığına neden olan bir proteindir. Yapılan çalışmalarda mikrotübül kesilmesinde görev alan ve ATPaz özelliği bulunan p60 katanin ile spastin proteinlerinin dizi ve fonksiyonlarının büyük ölçüde benzer oldukları saptanmıştır. Spastin mikrotübül ilişkisi N terminaldeki korunmuş motif aracılığıyla gerçekleşirken, ATPaz aktivitesine sahip kısım ile bu ilişkinin regülasyonu sağlanır. Ortamda bulunan mikrotübül ilişkili proteinlerin (MAP) de, spastin mikrotübül bağlanmasını düzenlemek suretiyle bu bölünmenin regülasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir.

Bu düşünceden yola çıkılarak MAP'lerin mikrotübül kesilmesindeki düzenleyici fonksiyonlarını incelemek için MAP1b, MAP2c, spastin proteinlerini içeren vektörler ayrı ayrı (kontrol) veya MAP1b/spastin ve MAP2c/spastin şeklinde fibroblast (RFL6) hücrelerine transfer edilmiş ve protein ekspresyonunun gerçekleşmesi için hücreler 1-2 gün süre ile kültür ortamında tutulmuştur. Uygun immunositokimyasal boyamalardan sonra hücrelerde meydana gelen değişimler floresan mikroskopunda incelenmiştir.

Hücrelerin mikroskopta incelenmesi sonucunda spastinin, MAP1b/spastin proteinlerini beraber sentezleyen hücrelerde aktivitesini göstermeye devam ettiği (mikrotübülleri kestiği), MAP2c/spastin proteinlerini beraber sentezleyen hücrelerde ise aktivitesini koruyamadığı görülmüştür.

MAP1b ve MAP2c proteinleriyle farklı sonuçlar elde edilmesinin nedeni bu proteinlerin birbirlerinden farklı mikrotübül bağlanma birimlerine sahip olması ile açıklanabilir.

Tüm bu veriler ışığında şöyle bir sonuca varılabilir: MAP'lerin aşırı ekspresyonu spastin ve mikrotübül ilişkisini, dolayısıyla spastinin aktivitesini engelleyebilmektedir; ancak bunun yanında MAP'lerin hepsi, mikrotübülleri spastin gibi mikrotübül kesme proteinlerinin etkilerinden koruyamamaktadır.

Çalışmanın sonucu göstermiştir ki MAP2c nöronlarda, katanin ve spastin ile mikrotübül uzunluklarının belirlenmesinde düzenleyici, kritik bir göreve sahiptir.

CANLI VERİCİDEN YAPILAN BÖBREK NAKLİ SONRASINDA FLOW CYTOMETRY İLE DONOR SPESİFİK ANTİKORLARIN ÖNEMİ

T.K. AYNA¹, H. Ç. ŞENTURK¹, A. TÜRKMEN², H. OZKIR¹, A. S. DİLER¹, M. GÜRTEKİN¹, M. ÇARİN¹

¹İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

²İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, Nefroloji Bölümü İSTANBUL

Flow Cytometry Cross Match (FCXM), nakil öncesinde böbrek hastalarında Donör Spesifik Antikor (DSA)'ların olup olmadığını araştırmak amacıyla uygulanan bir test yöntemidir. Yüksek duyarlılığından dolayı düşük orandaki HLA Sınıf I antikorların yanı sıra Sınıf II antikorların tespitine de imkan sağlamaktadır. Bu yöntem ile gerek aktivasyonu komplemana bağlı olan, gerekse aktivasyonu komplemana bağlı olmayan tüm IgG alt grupları tespit edilebilmektedir. Bu çalışmada yüksek hassasiyetinden dolayı nakil öncesi CM testlerinde tercih edilen FCXM yöntemi ile nakil sonrası oluşabilecek antikorların araştırılması ve tespit edilen antikorlar ile rejeksiyon ve graft sağkalımının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Akraba canlı vericiden böbrek transplantasyonu yapılan 50 alıcıdan nakil sonrası 1., 7., 14. günlerde, 1., 3., 6. ve 12. aylarda serum elde edilerek verici hücreleri ile FCXM uygulanmıştır. Toplam 11 (% 22) hastada FCXM (+) olarak değerlendirilmiştir. Bunların 4 tanesi (% 8) T ve B FCXM (+), 4 tanesi (% 8) B FCXM (+) ve 3 (% 6) tanesi T FCXM (+)'dir.

Nakil sonrasında 2 (% 4) hiperakut rejeksiyon, 4 (% 8) akut rejeksiyon atağı, 2 tanesi akut rejeksiyon atağı geçiren hastalar olmak üzere 5 (% 10) kronik rejeksiyon gelişmiştir. Rejeksiyon geçiren hastalardan 6 (%54,5)'i nakil sonrası ASCM (+) olan hastalardır. Bu grup için yapılan istatistiksel çalışmada FCXM (+) sonuçlar ile rejeksiyon ve graft sağkalımı karşılaştırılmasında sonuçlar anlamlı bulunmuştur.

Antikorları oluşma zamanına göre, ilk 1 ay içinde oluşan antikorlar (Grup 1), 1.ay ile 12.ay arasında oluşan antikorlar (Grup 2) olmak üzere iki gruba ayırdığımızda, Grup 1'de 9 FCXM (+) sonuçtan 5 (% 55.5) tanesi rejeksiyon geçiren hastalara ait iken, Grup 2'de 2 FCXM pozitif hastadan 1 (% 50) tanesi kronik rejeksiyondan dolayı takip edilmektedir. Bu grupta ise, erken dönemde ortaya çıkan antikorların rejeksiyon ve 2 kreatin düzeyleri ile değerlendirilmesi istatistiksel olarak anlamlıdır.

FCXM yöntemi ile tesbit edilen nakil sonrası DSA'ların rejeksiyon ve graft sağkalımı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (p0,001).

FCXM, nakil öncesinde böbrek hastalarında DSA'ların varlığını araştırmak amacıyla uygulanan bir test yöntemi olmasına karşın, nakil sonrasında ve özellikle erken dönemde uygulandığında rejeksiyonun değerlendirilmesine katkıda bulunulacağı görülmektedir. Hassas bir yöntem olan FCXM, nakilden sonra gelişebilecek hümmoral reaksiyonlar hakkında bilgi vermektedir.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu Yürütücü Sekreterliği tarafından desteklenmiştir. Proje no: T-206/06032003

TÜRKİYE'DE BOR ALANLARINDA YAŞAYAN İNSANLARIN GÜNLÜK BOR ALIMININ HESAPLANMASI

Mehmet KORKMAZ¹, Bekir Sıtkı ŞAYLI², Uğur ŞAYLI³, Osman Yavuz ATAMAN⁴, Sezgün BAKIRDERE⁴, Fırat AYDIN⁴

¹ Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, BALIKESİR

² Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.B.D. (E),

³ Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji ABD,

⁴ Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, ANKARA

Birçok araştırma yapılmasına karşın, sağlıklı bir kişi için güvenlik sınırları içinde günlük bor alımı miktarı henüz açıklık kazanmamıştır. Bu çalışmayla geniş bor madeni sahalarına yerleşik alanlarda yaşayan populasyonun günlük bor alımının hesaplanması hedeflendi. Günlük Bor (B) alımının hesaplanması için 24 saatlik idrar örnekleri toplandı ve B düzeyi ICP-OES ile belirlendi. Böbrek fonksiyonları kreatin klerensinin hesaplanması ile kontrol edildi ve böbrek fonksiyonu şüpheli olanlar çalışmadan çıkarıldı. Yanı sıra tıbbi öyküleri alındı. Çalışma grubu 42 erkek 38 kadın olmak üzere toplam 80 kişi hâlihazırda geniş bor havzasının yer aldığı Bigadiç ilçesi İskele kasabası ve Osmanca köyünde yerleşik olarak yaşamaktadır. Kontrol grubu 7 erkek 27 kadın olmak üzere toplam 34 kişi olmak üzere bor dışı sahalardan sağlanmıştır. Deney grubunda medyan bor alım düzeyi $5,90 \pm 0,49$ mg/gün iken kontrol grubunda $1,21 \pm 0,19$ mg/gündür. Çalışma alanındaki B alım düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Günlük B etkileşiminin toksik olmadığını buradaki sonuçların göstermesine karşılık literatürde bazı çelişkili sonuçlarda vardır. Daha önceki çalışmalarımızda da aynı alandaki popülasyonda ne malignasi ve ne de infertilite oranlarında artış görülmedi. Böylece yukarıdaki vurguladığımız dozlarda, günlük B alımının insanlar için güvenlik sınırları dahilinde olduğunu öngörebiliriz.

ISPARTA İLİ BÜYÜK KABACA KASABASINDA TARIMLA UĞRAŞAN VE PESTİSİT UYGULAYAN BİREYLERİN KAN ÖRNEKLERİNDE KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ (KKD) SIKLIĞI VE ÖKSE OTU (*Viscum album* L.)'NUN KKD ÜZERİNE ETKİSİ

E. SAKALLIÇETİN, N. ÖZÇELİK, P. KOŞAR, E. UZ

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D, ISPARTA

Amaç: *Viscum album* L.'un çeşitli farmakolojik etkilerinden dolayı değişik hastalıkların tedavisinde ayrıca Avrupa'da 1926'dan günümüze kadar kanser tedavisine yardımcı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bazı kanser vakalarının erken teşhisinde kullanılan Kardeş Kromatid Değişimi (KKD), çeşitli mutajen ve karsinojenlerin in vivo ve in vitro koşullar altında neden olduğu DNA hasarını saptamayı sağlayan sitogenetik yöntemlerden birisidir. Mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere sahip olduğu bilinen pestisitlerin akut toksik etkileri çeşitli deneylerle araştırılmış ve genotoksik etkiler gösterdikleri bildirilmiştir. Bu çalışmada amacımız, sulu tarımla aktif olarak uğraşan ve pestisit uygulayan bireylerle aynı yörede yaşayan, benzer sosyo-ekonomik düzeydeki sağlıklı bireylerin kan örneklerinde KKD sıklığını araştırmak ve *Viscum album* L. ekstraktının KKD sıklığı üzerine etkisini saptamaktır.

Materyal-Metod: Tarımla uğraşan ve pestisit uygulayan 30 erkek olgudan venöz periferik kan heparinize enjektör ile alındı (Grup I). Olgularla aynı yaş ve cinsiyette, aynı özellikte, yakın zamanda hastalık geçirmemiş sağlıklı, gönüllü 30 bireyden (Grup II) örnekler alınarak toplam 60 bireyde KKD belirlendi. Ayrıca Pestisit uygulayan grubun kan örneklerine *Viscum album* L. ekstraktı ilave edilerek KKD değeri tespit edildi. Kromozom eldesi için Moorhead ve arkadaşlarının tekniği modifiye edilerek uygulandı, KKD boyama tekniği için ise Korenberg ve arkadaşlarının önerdikleri boyama yöntemi modifiye edilerek kullanıldı.

Bulgular: Kontrol grubunda (Grup II) hücre başına düşen ortalama KKD değeri $6,1 \pm 1,3$, pestisit uygulayan vaka grubunda (Grup I) ise $10,4 \pm 1,0$ olarak belirlendi, iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0,001$). III. grupta KKD değeri $6,5 \pm 1,1$ olarak saptandı, kontrol grubu (Grup II) ile karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiki olarak bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$). Grup I ve Grup III'ün KKD değerleri arasındaki fark oldukça anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Bulgularımız pestisit uygulaması yapan bireylerin KKD sıklığının kontrollere oranla önemli ölçüde yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda uygulanan dozda *Viscum album* L. ekstraktının KKD'deki artışı önleyici etkisinin olduğu gözlenmiştir.

İTERLÖKİN 1 ALFA GENİ PROMOTÖR BÖLGESİ POLİMORFİZMİNİN ALZHEİMER HASTALIĞI İLE İLİŞKİSİ

E. DURSUN¹, D. GEZEN-AK¹, T. ERTAN², B. BİLGİÇ³, H. GÜRVİT³, M. EMRE³,
E. EKER², F. ENGİN², S. YILMAZER¹

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

² İstanbul Üniversitesi, Psikiyatri Anabilim Dalı, Gereopsikiyatri Bilim Dalı

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

Alzheimer hastalığı (AH) beyin bütün bölümlerine yayılan nörodejeneratif bir hastalıktır. Hücre içinde ve dışında biriken maddeler ve bu biriken maddelerin oluşturduğu plaklar sebebiyle, hücreler ya tamamıyla yok olur veya büyük oranda fonksiyon kaybına uğrar. Son yıllarda hastalığın genetik kökenleri hakkında pek çok çalışma yapılmaktadır. Özellikle nöritik plak oluşumlarının inflamasyon odağı oluşturmaları ve sitokinlerin etkisi önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır. Retrospektif epidemiyolojik çalışmalar, antiinflamatuvar ilaç kullanan bireylerin AH'na yakalanma ihtimalinin düşük olduğunu göstermiştir. Nöroinflamasyonun AH patogeneziinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. İnterlökin 1 alfa (IL-1alfa) geninin 889'daki 5' regülatör bölgesindeki bir polimorfizmin (IL-1alfa [-889] allel 2 olarak belirtilen C-T transizyonu) IL-1 alfa'nın aşırı ekspresyonuna yol açabileceği düşünülmektedir. Bu bulgunun inflamatuvar hastalıklar ile ilişkisi de gösterilmiştir. Burdan yola çıkarak IL-1 alfa (-889) allel 2 polimorfizmi AH patogenezi ile ilişkilendirilebilir. Bu çalışmada Alzheimer hastalarında IL-1 alfa genindeki polimorfizmi tespit etmeyi ve bu polimorfizm ile hastalık arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık. Bu amaçla klinik olarak teşhisi konulmuş 52 Alzheimer hastasından ve kontrol olarak kullanılacak hastalarla yaş paralelliği gösteren 35 sağlıklı kişiden (yaş ortalamaları sırasıyla; 75.1±5.7 , ve 72.7±7.3) venöz kan örnekleri toplandı. Hastaların klinik teşhisleri İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Geropsikiyatri Bilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Davranış ve Hareket Bozuklukları Birimi tarafından DSM-IV kriterlerine göre konuldu. DNA'lar tuz ile çöktürme yöntemi kullanılarak kan örneklerinden izole edildi. IL-1 alfa C 889T polimorfizmi PCR-CTPP (polimerase chain reaction-confronting two-pair primers) yöntemi uygulanarak belirlendi. Sonuç olarak, IL-1 alfa C 889T polimorfizmi, hastalarda %63.5 C/C, %32.7 C/T, %3.8 T/T olarak, kontrollerde ise %48.6 C/C, %45.7 C/T, %5.7 T/T olarak saptandı. Hasta ve kontroller genotip dağılımları açısından karşılaştırıldığında IL-1 alfa C 889T polimorfizmi için anlamlı bir fark bulunamadı (p=0.39). Çalışmamızda Alzheimer hastalığı ile IL-1 alfa C 889T polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmadı.

IL-1, Alzheimer, inflamasyon, polimorfizm, PCR-CTPP

POPULASYONUMUZDA OTOZOMAL RESESİF “LIMB-GIRDLE” MÜSKÜLER DİSTROFİLERİN (LGMD2) MOLEKÜLER GENETİK ANALİZLERLE KARAKTERİZASYONU

B. BALCI¹, B. TALİM², H. TOPALOĞLU³, P. DİNÇER¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.,

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD., Pediatrik Patoloji Ünitesi,

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD., Pediatrik Nöroloji Ünitesi, ANKARA

Otozomal resesif “limb-girdle” müsküler distrofiler (LGMD2), ilerleyen proksimal kas güçsüzlüğü ile karakterize, klinik ve genetik olarak heterojen bir hastalık grubudur. Tüm “limb-girdle” müsküler distrofilerin %90'ından fazlasından sorumlu olan LGMD2'ler için günümüze kadar 11 farklı lokus tanımlanmıştır. Bunlar; LGMD2A (kalpain-3), LGMD2B (disferlin), LGMD2D (alfa-sarkoglikan), LGMD2E (beta-sarkoglikan), LGMD2C (gama-sarkoglikan), LGMD2F (delta-sarkoglikan), LGMD2G (teletonin), LGMD2H (TRIM32), LGMD2I (fukutin-iliskili protein), LGMD2J (titin) ve LGMD2M (O-mannoziltransferaz)'dir.

1995-2005 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yapmış olduğumuz çalışmamızda, birbirleriyle akrabalık ilişkisi olmayan 79 LGMD2 ailesinin moleküler genetik ve histopatolojik analizleri yapılmıştır. Ailelerdeki probandların fenotipleri hafif-ağır arasında değişmekle beraber, semptomların başlangıcı çoğunlukla 10 yaş öncesine dayanmaktadır. Hastaların iskelet kası yapısındaki sarkoglikan (SG) kompleksi ve distrofin proteini İmmünfloresan ve/veya Western Blot yöntemi ile analiz edilmiştir. Aileler mikrosatellit belirleyiciler yardımıyla bilinen 11 LGMD2 lokusuna bağlantı analizine tabi tutulmuş ve sorumlu genlerde sekans analizi ile mutasyon taraması yapılmıştır.

Çalışmalarımız sonucunda 79 LGMD2 ailesinden 29'u LGMD2A (%36,7), 4'ü LGMD2B (%5,1), 7'si LGMD2C (%8,9), 4'ü LGMD2D (%5,1), 13'ü LGMD2E (%16,5), 1'i LGMD2F (%1,3) ve 14'ü LGMD2M (%17,7) tanısı almıştır. 45 ailede sorumlu LGMD2 genlerinde toplam 31 farklı mutasyon tanımlanmıştır. Buna karşılık, LGMD2 ailelerinden 7'si (%8,9) bilinen LGMD2 lokuslarına bağlantı göstermemiştir.

Yapmış olduğumuz 10 yıllık çalışma, Türkiye genelinde otozomal resesif “limb-girdle” müsküler distrofilerin moleküler temellerinin aydınlatılmasına yönelik en kapsamlı çalışma olmakla beraber, ileriki dönemlerde LGMD2 hastalarına uygulanacak olan moleküler genetik analiz stratejilerine ışık tutacaktır.

DİLATE KARDİYOMİYOPATİLİ HASTALARDA ANJİYOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM (ACE) GENİ I/D POLİMORFİZM SIKLIĞI İLE PLAZMA ACE KONSANTRASYONUNUN İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

B.KÜÇÜKARABACI¹, A.BİRDANE², H.V.GÜNEŞ¹, N.ATA², A.BAŞARAN¹,

B.TİMURALP², İ.DEĞİRMENCİ¹

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

² Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR

Bu çalışma idiyopatik dilate kardiyomiyopati hastalarda anjiyotensin dönüştürücü enzim gen polimorfizmi dağılımı ve plazmadaki konsantrasyonunu belirlemek ve aralarında bir ilişki olup olmadığını tespit etmek amacıyla yapıldı.

Çalışmada idiyopatik dilate kardiyomiyopati tanısı konmuş 29 hasta ile kontrol amacıyla 20 sağlıklı kişi olmak üzere toplam 49 kişiden oluşan araştırma grubu bireylerinden elde edilen genomik DNA'lar kullanıldı. Genomik DNA'lar venöz kandan tuz yöntemi kullanılarak elde edildi. DNA'lar ACE ve ACEX primerleri kullanılarak PCR yöntemi ile amplifiye edildi. PCR ürünleri elektroforeze tabi tutularak CCD kamera ile değerlendirildi. Plazma anjiyotensin dönüştürücü enzim konsantrasyonları ELISA yöntemiyle ölçüldü. Sonuçlar t testi, ki kare ve tek yönlü varyans analiz (ANOVA) yöntemleri ile değerlendirildi.

Sonuç olarak; anjiyotensin dönüştürücü enzim I/D polimorfizmi ve alel sıklığı yönünden kontrol ve hasta grubu arasında önemli bir farklılık bulunmadı. D alel sıklığı kontrollerde % 43, hastalarda % 52 ve I alel sıklığı kontrollerde % 57, hastalarda % 48 olarak belirlendi. Plazma anjiyotensin dönüştürücü enzim konsantrasyonu ise; kontrol grubu bireylerde 269.65 ± 21.00 ng/ml ve hastalarda 371.92 ± 25.73 ng/ml olarak belirlendi. Kontrol grubu bireylere göre idiyopatik dilate kardiyomiyopati bireylerde plazma anjiyotensin dönüştürücü enzim konsantrasyonu yönünden önemli bir artış gözlemlendi. Ancak genotipler yönünden değerlendirildiğinde önemli bir fark belirlenmedi.

RESİSTİN GENİ G1326C VARYASYONUNUN İNSÜLİN İLE İLİŞKİLİ FENOTİPLER VE ŞİŞMANLIK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

B.SÜSLEYİCİ DUMAN¹, M.ÖZTÜRK², P.ÇAĞATAY³, H. HATEMİ⁴

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

² İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

³ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı,

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

Resistin; adipositlerden salınıp periferel dokular üzerinde insülin işlevini inhibe eden peptid yapıda bir hormondur. Resistinin, insülin sinyal yolundaki basamakları düzenleyerek ve insülin direncini uyatarak şişmanlığa ve tip 2 diyabete neden olabileceği belirtilmektedir. Çalışmamızda resistin geninin 3. eksonunun 3' ucunda bulunan transle edilmeyen bölgedeki G1326C tek nükleotid polimorfizmi, 116 tip2 diyabetik ve 102 sağlıklı kontrol bireyde incelenmiştir. G1326C gen polimorfizminin gen ekspresyon düzeylerini etkilediği belirtilmektedir. Amacımız G1326C gen polimorfizminin şişmanlık ve/veya diyabet ile ilişkili olup olmadığının araştırılmasıdır. Ayrıca bu polimorfizmin kontrol ve diyabetik gruplara ait klinik ve metabolik parametreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Resistin G1326C tek nükleotid polimorfizmi PZR-RFLP yöntemi ile vücut kütle indeksi 25'in altında olan kontrol grupta GC:%37.1, GG:%60, CC:%2.9, diyabetik grupta GC:%52.8, GG:%27.8, CC:%19.4 bulunmuştur. Vücut kütle indeksi 25'in üzerinde olan kontrol grupta GC:%0, GG:%97, CC:%3, diyabetik grupta GC:%0, GG:%100, CC:%0 olarak bulunmuştur. Genotip dağılımları farklı vücut kütle indeksi gruplarında farklı bulunmuştur ($p \leq 0.001$). Kontrol grubunda GG genotipine sahip kişilerin GC genotipindekilere kıyasla daha yüksek vücut kütle indeksi ($p \leq 0.01$), vücut yağı ($p \leq 0.05$), bel/kalça, ve daha düşük apoAI ($p \leq 0.05$) ve HbA1c, hepatik insülin hassasiyeti ($p \leq 0.05$), insülin, insülin direnci değerlerine sahip olduğu; diyabetik grupta ise GG genotipindeki kişilerin vücut kütle indeksleri ($p \leq 0.001$), bel/kalça ($p \leq 0.001$), insülin ($p \leq 0.05$), vücut yağı ($p \leq 0.001$), hepatik insülin hassasiyeti ($p \leq 0.01$) düzeyleri GC ve CC genotipindekilere kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Sonuçlarımız resistin geni G1326C polimorfizminin şişmanlık ve insülin ile ilişkili fenotipleri etkilediğini göstermektedir.

BÖBREK TAŞI OLUŞUMUNUN MOLEKÜLER MEKANİZMASININ OSTEOPONTİN VE BİKUNİN GEN ÇOK YAPILILIĞI (POLİMORFİZM) İLE İLİŞKİSİ

M.İĞCİ¹, B. GÖGEBAKAN¹, A. ARSLAN¹, Y. ZİĞCİ¹, S. ERTURHAN², E. A. ÇAKMAK¹.

¹Tıbbi Biyoloji ABD,

²Üroloji ABD, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, GAZİANTEP

Böbrek taşı, CaOx kristallerinin çekirdekleşmesi, büyümesi, kümelenmesi, renal tübüllerde tutulumuyla gerçekleşir. Sağlıklı bireylerde idrar kristalizasyonu engelleyen doğal önleyiciler içermektedir. Bikunin ve osteopontin taş oluşumunu önleyen mekanizmanın önemli parçalarındandır. Taş hastalarının idrarlarındaki bikunin ve osteopontin derişiminin sağlıklı bireylere nazaran düşük olduğu gösterilmiştir. CaOx'a maruz bırakılan renal epitel hücrelerde bikunin ve osteopontin mRNA sentezinin arttığı gözlenmiştir. Bu özellik; yaygın görülen böbrek taşının oluşumunda, bikunin ve osteopontinin yapısında veya üretilen miktarlarındaki olası düzensizliklerin rol alabileceğini göstermektedir.

Klinik olarak CaOx taşı oluşturduğu saptanan, 75'i ailesel, 35'i sporadik taş hastası ve 101 sağlıklı bireyin kanlarından DNA eldesi gerçekleştirilmiştir. Bikunin ve osteopontin yapısal ve düzenleyici gen bölgeleri sırasıyla 9 ve 20 çiftlik primerler kullanılarak PCR-SSCP yöntemiyle taranmıştır. Bikunin özendirici (promoter) bölgesinde, transkripsiyon faktörlerinin bağlandığı İnit-2'de 3 genotip; osteopontin Ex7a ve Ex7e'de NCBI veritabanında bulunmayan değişimler (varyasyon) ile OstP6 ve OstP özendirici bölgesinde (transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgesi) değişimler bulunmuş, ancak; farklılıkların fenotiple ilişkisi gözlenemmiştir.

Osteopontin ve bikuninin taş oluşumundaki etkilerinin bilinmesine rağmen, yaptığımız tüm gen taramalarında genotip-fenotip ilişkisi kurulamamıştır. Her iki genin özendirici bölgeleri yoğun olarak transkripsiyon faktörü bağlanma bölgeleri içermektedirler. Kristalizasyonda gen ifadesini artıran faktörün bilinmemesine rağmen kristalizasyonun bağışıklık sistemini hareketlendirdiği, proteinlerin bu düzen içerisinde hareket ettikleri düşünülmektedir. Çok etkenli bir patolojisi olan taş oluşumunun ortaya çıkması ve engellenmesi arasındaki denge anlaşılmalıdır. Ayrıca osteopontin ve bikuninin uğradığı translasyon sonrası işlemlerin ve taş oluşumunu önlemede görevli diğer proteinlerin önemi düşünülmelidir. Bulgular taş oluşumunda etkin diğer proteinlerin genlerinin incelenmesi yolunda çalışmanın devamının gerekliliğini ortaya koymuştur.

ÜRİNER SİSTEM TAŞ HASTALIĞINDA VİTAMİN D RESEPTÖRÜ GENİ 3' UCU *ApaI*, *BsmI* ve *TaqI* POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

S. GÜNEŞ¹, C. Y. BİLEN², N. KARA¹, R. AŞÇI², H. BAĞCI¹, A. F. YILMAZ²

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

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD, SAMSUN

Üriner sistem taş hastalığı oluşumunda çok sayıda genlerin ve çeşitli çevresel faktörlerin etkilerinin bulunabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalar vitamin D reseptörü (VDR) geni varyantlarının kalsiyumun emilim ve atılımını etkileyebileceğini göstermektedir. $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$, VDR'ne bağlanarak kendi transkripsiyonunun düzenlenmesinde rol oynayan hedef genlerin promotor bölgesinde bulunan 'vitamin D responsive elementleri' olarak adlandırılan özgül tanıma dizileri ile etkileşir. *BsmI* ve *ApaI* polimorfizmleri intron 7 ve 8'de, *TaqI* polimorfizmi ise reseptörün 8. ekzonunda yer almaktadır. VDR geninin, bu bölgesinin mRNA stabilitesini etkilediği bildirilmiştir.

Bu çalışmada Türk toplumunda VDR geni *ApaI*, *BsmI* ve *TaqI* polimorfizmleri ve üriner sistem taş hastalığı arasında bir ilişki olup olmadığı araştırıldı.

Çalışma grubu 98 üriner sistem taş hastası ve 108 sağlıklı kontrolden oluşmuştur. VDR geni *ApaI*, *BsmI* ve *TaqI* polimorfizmleri PCR-RFLP teknikleriyle belirlendi.

VDR geni *BsmI* ve *TaqI* genotipleri ile hastalık riski arasında ilişki gözlenmedi ($p>0.05$). Bununla birlikte, VDR geni *ApaI* polimorfizmi ile hastalık riski arasında anlamlı ölçüde ilişki saptandı ($p=0.02$). BbAaTT kombine-genotip (BbAATt kombine-genotipe göre) ile hastalık riski açısından anlamlı bir ilişki gözlemlendi ($p=0.029$). Ayrıca hasta grubunda, VDR geni kombine genotipleri ile aile öyküsü ($p=0.725$) ve tekrarlayan taş hastalıkları ($p=8.288$) arasında anlamlı bir ilişki belirlenemedi.

Bulgularımız VDR geni *ApaI* polimorfizmi ile üriner sistem taş hastalığı arasında bir ilişki bulunabileceğini göstermektedir.

TESTİKÜLER AZOSPERMİLİ ERKEKLERDE Y KROMOZOMU AZF BÖLGESİ MİKRODELESYONLARININ PZR İLE TESPİT EDİLMESİ

M. ULUG¹, B. SÜSLEYİCİ DUMAN², A. ARVAS¹, T. ÇAMLİBEL¹

¹Kalamış Tıp Merkezi IVF Ünitesi, Fener Kalamış Caddesi, No:56, Kalamış,

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

İnfertilite, çiftlerin bir yıl boyunca korunmadan düzenli ilişkilerine rağmen çocuk sahibi olamamasıdır. İnfertilite toplumlarında yaklaşık olarak % 15 sıklıkta görülür. İnfertil vakaların % 20' sinde sadece erkek faktörü bulunurken, % 40' ında erkek faktörü diğer bir faktörle birlikte görülmektedir. Non-obstrüktif azospermiye sahip erkeklerin yaklaşık %12' sinde karyotip anomalisinin bulunması, genetik etiyolojinin erkek infertilitesinde belirgin bir rol oynadığını göstermektedir. Aynı zamanda non-obstrüktif azospermi veya oligozoospermili erkeklerin % 6-18' inde Y kromozomunda mik rodelesyonlar saptanmıştır. Bu çalışmada, 32 azospermili, 6 oligozoospermili ve 7 normozoospermili toplam 45 erkeğe polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) metodu ile mik rodelesyon analizi yapıldı. Kontrol grubu olarak, semen analizleri normal sınırlar içerisinde olan ve son iki yıl içerisinde doğal yollardan çocuk sahibi olmuş normal karyotipli 45 erkek çalışmaya dahil edildi. Kadına ait kan örneği negatif kontrol olarak kullanıldı. Y kromozomu mik rodelesyonlarını tespit etmek için AZFa AZFb ve AZFc bölgelerine ait 2'şer adet sequence tagged sites (STS) bölgesi kullanıldı. Kullanılan STS bölgeleri AZFa için, sY84 ve sY86; AZFb için, sY127 ve sY134; AZFc için ise, sY254 ve sY255'dir. Kontrol primerleri olarak, SRY (Sex determining region of the Y chromosome) ve ZFY (Zinc finger gene protein on the Y chromosome) kullanıldı. Çalışmamızda azospermi grubundaki erkeklerden birinde sY254 (AZFc) ve 2 erkekte sY255 (AZFc) mik rodelesyonu bulundu. Oligozoospermi ve normozoospermi grubundaki erkeklerde araştırılan STS bölgelerine ait herhangi bir mik rodelesyon tespit edilmedi. Sonuçlarımız, genetik faktörlerin infertil erkeklerde sperm üretimini etkileyebileceğini ve azospermili erkeklerde Y kromozomu mik rodelesyonlarının infertilite sebebi olabileceğini göstermektedir.



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi

24-27 Kasım 2005 / MANİSA

VII

**Prof. Dr. Altan GÜNALP
ÖDÜL BAŞVURULARI**

ÇOCUKLARDA GÖRÜLEN AKUT ATEŞLİ ROMATİZMA TLR-2 GENİNDEKİ ARG753GLN POLİMORFİZMİ İLE YAKINDAN İLGİSİ

A. BERDELİ, Z. ULGER, H. A. CELİK, R. ÖZYÜREK, H. H. AYDIN

Pediyatri Bölümü, Moleküler Tıp Laboratuvarları, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bornova, 35100 İZMİR

Hedef: Özellikleri henüz tanımlanmış Toll-like reseptörleri (TLRs) konak vücudunda birçok patojene karşı inflamatuvar reaksiyonların başlamasında anahtar bir role sahiptir. TLR'de gerçekleşen mutasyon ve polimorfizmler, TLR'lerin patojenlere karşı insan savunma sisteminde ne kadar öneme sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Amaç: TLR-2 gen polimorfizminin akut ateşli romatizma (ARF) etiopatolojisini değerlendirebilmek için 61 tane Türk ve Kafkas hastadan ve 116 kontrolden oluşan bir çalışma şekillendirilmiştir.

Metod: Periferik kandan standard kolona dayalı yöntemle genomik DNA elde edilmiştir. Arg753Gln polimorfizm genotipi PCR-restriction fragment length polymorphism yöntemiyle saptanmıştır.

Sonuçlar: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Arg753Arg genotipi akut ateşli romatizma hastalarında önemli oranda düştüğü gözlenmiştir. (Odds oranı [OR] 0.064, 95 % güven aralığında [95 % CI] 0.0325-0.127, $p < 0.0001$). ARF hastalarında Arg753Gln heterozigot genotipi 15.4 kez fazla gözlenmiştir (OR 15.6, 95 % CI 7.87-30.8, $p < 0.0001$). Ayrıca 753Gln aleli hastalığın görülmesinde dikkate değer pekiştirici bir etkisi olduğu saptanmıştır (OR 97.1, 95 % CI 32.5-290, $p < 0.0001$).

Netice: Elde ettiğimiz sonuçlar TLR-2 nin, ARF hastalığının görülmesinde biyolojik bir rolünün olduğunu gösterdi. TLR-2 de görülen 753. kodondaki Arg Gln değişiminin ARF patojenezinde oldukça önemli bir etkisinin olduğu saptandı. Bu sonuçlar, ARF hastalığına meyilli bireylerin ortaya çıkarılmasında ve yeni terapi yöntemlerinin geliştirilmesinde yararları dokunacaktır.

B-16V MELANOMA HÜCRELERİNİ pHM6-FARE LİZOZİM VEKTÖRÜ İLE TRANSFEKTE EDEREK TÜMÖRİJENİTELERİNİN BASKILANMASI

A.İ. GÜZEL¹, H. KASAP¹, K. ÖZGÜNEN², N. ÖZCAN³, Y. SERTDEMİR⁴, M. KASAP¹, İ. TUNCER⁵

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

¹Tıbbi Biyoloji,

²Fizyoloji, ³Patoloji AD,

³Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvansal Üretim, Biyometri ve Genetik AD,

⁴Biyoistatistik,

⁵Patoloji AD, ADANA

Giriş: Lizozim (muramidaz) bir çok vücut sıvısında bulunan bir enzimdir. Bakteri hücre duvarının peptidoglikanları ve fungal hücre duvarının kitinli bileşenleri arasındaki (1-4) glikosidik bağların hidrolizini sağlar. Çok sayıdaki çalışmalardan elde edilen veriler lizozimin ağrı kesici, anti-tümöral, anti-metastatik ve anti-enflamatuvar aktiviteleri olduğunu göstermektedir.

Amaç: Lizozimin B-16V melanoma hücrelerinin tümörijeniteleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek.

Yöntem: mRNA izolasyonu, RT-PCR, saflaştırma, kesim ve ligasyon reaksiyonları gibi bir seri çalışmalardan sonra fare lizozim geni pHM6 memeli ekspresyon vektörüne klonlandı (pHM6mLys). B-16V melanoma hücreleri endotoksin içermeyen plazmit DNA (B-16VpHM6 ve B-16VpHM6mLys)/lipozom kompleksleri ile transfeke edildi ve transfeke hücreler Geneticin (G 418) içeren besi ortamında üretilerek seçildi. B-16V, ve transfeke hücreler (B-16VpHM6 ve B-16VpHM6mLys) RPMI 1640 besi ortamında üretildi ve C57BL/6 farelerine (deri altına) enjekte edildi (1×10^5 hücre/fare). Tümör geliştirmeyen hayvanlara tekrar B-16V hücreleri enjekte edildi (challenge). Deneysel sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: B-16V ve transfeke hücreler arasında morfolojik yapı ve çoğalma koşulları açısından fark yoktu. B-16V (30 fareye) ve B-16VpHM6 (30 fareye) hücreleri enjekte edilen toplam 60 farenin hepsinde enjeksiyondan yaklaşık 8-12 gün sonra gözle görülebilen (5-8 mm çaplarında) tümörler gelişti ve büyümeye devam etti. B-16VpHM6mLys hücreleri enjekte edilen farelerin % 51.7'sinde (15/29) tümör gelişmedi. P değeri 0.05 olan bulgular anlamlı olarak kabul edildi. İkinci kez B-16V hücreleri enjekte edilen 7 fareden hiç birinde 65 günlük takip süresince tümör gelişmedi.

Sonuç: Bulgular, lizozimin B-16V hücrelerinin tümörijeniteleri üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu ve tümör geliştirmeyen farelerin B-16V hücrelerine karşı koruyucu immünite geliştirdiğini göstermektedir.

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen TF.2002.D2 numaralı projenin bir parçasıdır.

TANIMLADIĞIMIZ YENİ BİR OTOZOMAL RESESİF “LIMB-GIRDLE” MÜSKÜLER DİSTROFİ FORMU (LGMD2M): MOLEKÜLER GENETİK VE HİSTOPATOLOJİK KARAKTERİZASYONU

B. BALCI¹, G. UYANIK², B. TALİM³, G. HALİLOĞLU⁴, H. TOPALOĞLU⁴, P. DİNÇER¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

²Regensburg Üniversitesi, Nöroloji Bölümü, ALMANYA

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Pediatrik Patoloji Ünitesi,

⁴Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Pediatrik Nöroloji Ünitesi, ANKARA

Otozomal resesif “limb-girdle” müsküler distrofiler (LGMD2) kalıtsal nöromüsküler hastalıkların heterojen bir grubu olup, pelvik ve omuz kuşağındaki proksimal kasların güçsüzlüğü ile karakterize hastalıklardır. Yapılan araştırmalarla, LGMD2 fenotipine neden olan 10 adet lokus/gen tanımlanmıştır.

2003 yılından itibaren yapmış olduğumuz çalışmalarla, bağlantı analizi ile bilinen 10 LGMD2 lokusunun dışlandığı ve yaşları 7-19 arasında değişen 14 hastada yeni bir LGMD2 formu (LGMD2M) tanımladık. Bu form; motor gelişim basamaklarında gecikme, kas hipertrofisi, hafif mental retardasyon, mikrosefali, CPK artışı, normal kranial manyetik rezonans görüntüleme ve yavaş klinik seyir bulguları ile karakterizedir. LGMD2M hastalarının kas biyopsilerinde diğer LGMD2 formlarından farklı olarak, distrofin glikoprotein kompleksinin temel komponentlerinden α -dystroglikanın (α -DG) glikolizasyon düzeyinde belirgin azalma gözlenmiştir. Bu nedenle hasta grubumuzda, α -DG glikolizasyon yolağında sorumlu olan genler (FKRP, Fukutin, POMGnT1, POMT1, POMT2, SDF2, SDF2L1) için bağlantı analizi çalışmaları yapılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda 14 hastadan 6'sının POMT1 (*O*-mannoziltransferaz) genine bağlantı verdiği saptanmış olup, hastaların homozigot olarak yeni bir mutasyon (A200P) taşıdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, mutant kromozomlarda ortak haplotiplerin saptanması, bu mutasyonun popülasyonumuza özgül olduğunu ortaya çıkarmıştır.

POMT1 genindeki mutasyonların ağır serebral malformasyonlarla karakterize Walker-Warburg Sendromuna (WWS) neden olduğu bilinmektedir. Buna karşın, LGMD2M grubumuzda WWS klinik bulgularından tamamen farklı hafif bir klinik seyir görülmektedir. Yeni tanımlanan LGMD2M, α -DG glikolizasyon hataları ile karakterize hastalıklar spektrumunu genişletmiş ve birbirlerinden çok farklı klinik fenotiplerin aynı gendeki farklı mutasyonlar sonucu ortaya çıkabileceğini göstermiştir. Ayrıca bulgularımız, belirli bir hastalık fenotipinden sorumlu olan genleri belirlemeye yönelik çalışmalarda aday genlere daha geniş bir perspektiften bakmayı öngörmektedir.

İNSÜLİNE BAĞIMLI OLMAYAN DİYABETES MELLİTUSLU HASTALARDA KAN ŞEKERİ VE LİPİD DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİNDEN SORUMLU APOLİPOPROTEİN B GEN VARYANTLARI

B.SÜSLEYİCİDUMAN¹, M.ÖZTÜRK², S.YILMAZER², P.ÇAĞATAY³, H.HATEMİ^{4,5}

¹ Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

² İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

³ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD,

⁴ İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma AD,

⁵ Türkiye Diyabet Hastanesi, Dr.Celal Öker Sokak No.10 Harbiye, İSTANBUL

Apolipoprotein B (apo B) genine ait EcoRI, XbaI ve MspI RFLP'lerinin insüline bağımlı olmayan diyabetes mellitusun (tip 2 diyabet) oluşumuna olan etkilerini araştırmak amacı ile 110 tip 2 diyabetik ve 91 sağlıklı kontrol kişi çalışmaya dahil edildi. Serum lipidlerinden total-kolesterol (T-Kol), trigliserid (TG), apolipoprotein E (apo E), apolipoprotein AI (apo AI), apolipoprotein B ve lipoprotein (a) (Lp(a)) çalışıldı. İzole edilen genomik DNA'lardan polimeraz zincir reaksiyonu ile apo B genine ait polimorfik bölgeler amplifiye edildi. Apo B geninde bulunan EcoRI, XbaI, ve MspI restriksiyon bölgelerini taşıyan alanlar ayrı ayrı amplifiye edildikten sonra restriksiyon enzimleri ile kesime tabii tutuldu. Tip 2 diyabetik hastalar kontrol kişiler ile karşılaştırıldığında, EcoRI, XbaI ve MspI restriksiyon bölgelerinin oluşturduğu genotiplerin dağılımları açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunmadı. EcoRI +/+ and XbaI +/+ genotiplerine sahip hasta ve kontrollerin diğer genotiplere oranla daha yüksek apo E düzeylerine sahip olduğu saptandı. Hasta ve kontrol gruplarında en fazla sıklıkta gözlenen MspI +/+ genotipindeki kişilerin T-Kol düzeylerinin diğer genotiplere kıyasla daha yüksek olduğu tespit edildi. Ayrıca tip 2 diyabetik hastalarda en yüksek sıklıkta tespit edilen EcoRI -/-, XbaI -/-, ve MspI +/+ genotiplerinin en yüksek glikoz düzeylerine sahip oldukları gözlemlendi. Sonuç olarak bu çalışma apo B gen polimorfizmlerinin tip 2 diyabetli hastalarda plazma lipid/lipoprotein ve glikoz düzeylerini düzenlediğini göstermektedir.

DcR2 SİRNA YAKLAŞIMI A549 AKCİĞER KANSER HÜCRELERİNİ ADENOVİRUS ARACILI TRAIL TRANSFERLERİNE DUYARLI KILAR

C. AYDIN^{1,2}, AD. ŞANLIOĞLU^{1,2}, Ö. ÖZBUDAK³, L. DERTSİZ⁴, S. ŞANLIOĞLU^{1,2}

¹Gen Tedavi Ünitesi,

²Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

³Göğüs Hastalıkları AD,

⁴Göğüs Cerrahisi AD, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANTALYA

cigdemaydin@akdeniz.edu.tr

Amaç: Bu çalışma ile adenovirüs vektör sistemi kullanılarak akciğer kanserine karşı TRAIL aracılı etkin bir gen tedavi modelinin geliştirilmesi ve bazı tümörlerde ortaya çıkan TRAIL dirençliliğinin moleküler mekanizmasının aydınlatılması amaçlanmaktadır.

Özet: Akciğer kanseri ölüme sebebiyet veren kanserler arasında hem erkeklerde hem de kadınlarda birinci sırada yer almaktadır. Günümüzde akciğer kanserine karşı en yaygın olarak kullanılan tedavi şekilleri arasında yer alan kemoterapinin ve radyoterapinin tümöre karşı etkisini gösterebilmesi, p53 tümör baskılayıcı proteininin varlığını gerektirir. Ancak, TRAIL gibi ölüm ligantları kanser hücrelerinde p53'ten bağımsız olarak apoptozisi indükleyebilmektedir ve bu nedenle gen tedavisi için potansiyel tedavi edici ajanlar olarak düşünülmektedir. Buna karşın, akciğer tümörünü de kapsayan bazı tümörlerde TRAIL' a karşı dirençlilik gözlenmiş ve bu dirençliliğin mekanizması henüz açıklanamamıştır.

Materyal-Metod: Hücrelerde EGFP ekspresyonunun değerlendirilmesi flow sitometri ile gerçekleştirildi. Hücre canlılığı Moleküler Probe'un canlı/ölü hücresel canlılık testi ile değerlendirildi. TRAIL reseptör gen ekspresyonunu belirlemek üzere Real Time RT-PCR ve FACS analizleri yapıldı. DcR2 siRNA uygulaması ile TRAIL-R4 reseptör ekspresyonu baskılandı.

Bulgular: Bu çalışmada ilk olarak akciğer kanser hücrelerinin adenovirüslerle etkin bir şekilde transdüksiyona uğratıldıkları belirlendi. Küçük hücreli olmayan akciğer kanserini temsil eden A549 hücre hattının adenovirüs aracılı TRAIL transferine karşı tamamen dirençli olduğu belirlendi. Flow sitometri analizleri, A549 hücrelerinin yüzeyinde TRAIL-R4 yalancı reseptör ekspresyonunun varlığını ortaya koydu. TRAIL-R4 reseptörünü baskılayıcı DcR2 siRNA yaklaşımı ise akciğer kanser hücrelerini adenovirüs aracılı TRAIL transferine duyarlılaştırdı. Sonuç olarak, TRAIL-R4 yalancı reseptör gen ekspresyonunun ve daha az derecede de TRAIL-R3'ün A549 akciğer karsinoma hücre hattında TRAIL dirençliliğini kontrol ettiği sonucuna varıldı.

**VİTAMİN D RESEPTÖR GENİ LİGAND BAĞLANMA BÖLGESİ
POLİMORFİZMLERİ VE OSTEOMALASI**

(Polymorphisms at the ligand binding site of the vitamin D receptor gene and osteomalacia)

**D. GEZENAK¹, H. KAHRAMAN², E. DURSUN¹, B. SÜSLEYİCİ DUMAN³, N. ERENŞOY⁴,
F. ALAGÖL⁵, R. TANAKOL⁵, S. YILMAZER¹**

¹İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

²19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, SAMSUN

³Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

⁴İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Enstitüsü, İSTANBUL

⁵İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma AD, İSTANBUL

Vitamin D reseptör geni (VDR) polimorfizmlerinin kemik mineral yoğunluğu ve kalsiyum metabolizmasının muhtemel belirleyicileri olduğu ileri sürülmektedir. Bu çalışmada amacımız VDR gen polimorfizmleri ve osteomalasi hastalığı arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemektir.

Yirmidört osteomalasili hasta ve 25 sağlıklı kontrol bireyinin VDR geni ApaI ve TaqI polimorfizmlerini belirledik. Bu bireylerin, serum kalsiyum, fosfor, ALP, PTH ve 25OHD seviyelerini ölçtük. VDR geninin intron8-ekzon9 bölgelerindeki polimorfizmler ile osteomalasi arasında bir ilişki olup olmadığını orataya koymak için PCR ve RFLP metodlarını kullandık.

Hasta ve kontrol grupları ApaI ve TaqI genotipleri açısından karşılaştırıldığında VDR gen allelik polimorfizmleri ile osteomalasi arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Hastaların allelik dağılımlarına bakıldığında A allelinin dağılımında anlamlıya yakın bir fark olduğu bulundu ($p=0.08$). Bunun dışında biyokimyasal verilerle VDR gen polimorfizmleri arasında bir ilişki bulunamadı.

KISA BOYLULUĞU ETKİLEYEN GENETİK FAKTÖRLERİN İNCELENMESİ

S. KALKAN¹, **E. ETEM**¹, H. YÜCE¹, H. AKIN¹, H. ELYAS¹.

¹Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, ELAZIĞ.

Kısa boy, genetik ve çevre faktörlerinin kontrolü altında olup genel populasyonun % 2-3'ünü etkilemektedir. Short Stature Homeobox Gene (SHOX) , X ve Y kromozomlarının kısa kollarının psödootozomal bölgelerinde yer almakta ve X inaktivasyonuna maruz kalmamaktadır. Gendeki delesyonlar veya mutasyonların, insanlarda görülen Turner Sendromu (TS), İdiopatik Boy Kısaldığı (İKB) ve Leri-Weill Diskondrosteozu (LWD)'na neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmada İKB'li bireylerde, SHOX geninin tam delesyonlarının FISH yöntemi ve ekzon 2'de yer alan LWD hastalarında tespit edilmiş Y35X ve İKB'de tespit edilmiş A-337G mutasyonlarının ise moleküler genetik yöntemle taranması amaçlanmıştır. Bu çalışmada, İdiopatik Kısa Boy (İKB)'a sahip olduğu belirlenen 61 birey incelendi. Standart sitogenetik tekniklerle vakaların normal karyotipe sahip oldukları gösterildi. Vaka grubundan en kısa boya sahip olan 8 birey seçilerek FISH tekniği ile SHOX genleri kontrol edildi. Vakaların tümü için ekzon 2, PCR metoduyla çoğaltıldı ve Y35X ile A-337G mutasyonlarını tespit etmek için Rsa I ve Alu I enzimleri kullanıldı. İdiopatik kısa boylu 61 bireyde, konvansiyonel sitogenetik, moleküler sitogenetik ve moleküler genetik incelemeler sonucunda herhangi bir anormallığe rastlanmadı. İdiopatik kısa boylu bireylerde, konvansiyonel sitogenetik ve moleküler sitogenetik tekniklerin yanısıra moleküler genetik tekniklerin de kapsamlı bir biçimde çalışılması oldukça önemlidir. Çalışma, SHOX geninde yapılacak mutasyon taramalarında özellikle SSCP veya DNA dizileme gibi gendeki tüm mutasyonları ortaya koyacak yöntemlerin kullanılmasının daha uygun olacağını göstermektedir. Kısa boy ile birliktelik gösteren veya birliktelik gösterdiği düşünülen hastalıklara karşı alınacak tedbirlerde ve kısa boylu bireylerin yaşam kalitesinin artırılmasında, SHOX geni ve büyüme ile ilgili diğer genlerin araştırılması yol gösterici olacaktır.

HEPATOSELULAR KARSİNOMA HÜCRELERİNDE ÇOĞALMAYI DURDURUCU LİTYUM ARACILIKLI PKB/Akt VE SİKLİN E AZALMASI**E. ERDAL^{1,2}, N. ÖZTÜRK¹, T. ÇAĞATAY¹, E. EKŞİOĞLU-DEMİRALP³, M. ÖZTÜRK^{1*}**¹ Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, ANKARA² Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İZMİR³ Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji-İmmunoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

Bu çalışmada glikojen sentaz kinaz 3b (GSK 3b) inhibitörü olan Lityum'un hepatoselular karsinoma hücrelerinin (HCC) çoğalmasına in vitro etkisi araştırıldı. Lityum, p53, p16INK4a, b-catenin and Axin1 gibi HCC'lerde mutant olan başlıca genlerden bağımsız olarak hücre hatlarının % 75'inde kuvvetli şekilde (>%70) çoğalmayı inhibe eder. Çoğalmaya-duyarlı Huh7 ve çoğalmaya-dirençli Hep40 hücre hatlarında yapılan karşılaştırmalı çalışmalar lityumun Huh7 hücrelerinde çoğalmayı durdurduğu Hep40'yi etkilemediğini göstermiştir. Lityum, her iki hücre hattında da GSK 3b'nin N-ucu fosforile olan inaktif formunun birikimi ile birlikte b-katenin ve b-katenin/TCF transkripsiyonel aktivitenin artışına neden olmuştur. Bu sonuç, lityum aracılıklı HCC çoğalmasının inhibisyonunun, onun Wnt-b-katenin sinyali üzerine bilinen aktive edici etkisinden bağımsız olduğunu göstermiştir. Huh7 ve Hep40'nin lityum uygulamasına yanıtlarındaki ana farklılıklar, PKB/Akt ve siklin E protein seviyelerinde gözlenmiştir. Çoğalmaya-duyarlı Huh7'da lityum, iki proteinde de azalmaya neden olurken, çoğalmaya-dirençli Hep40'de olmamıştır. PKB/Akt ve Siklin E HCC'lerde devamlı olarak aktif olduğu bilinen başlıca iki proteindir. Lityumun bu iki proteini hedeflemesi, HCC hücrelerinin çoğunun p53, retinoblastoma ve Wnt-b-katenin yollarından bağımsız olarak, lityum aracılıklı çoğalmanın inhibisyonuna cevap vermelerinin ana nedeni olabilir. PKB/Akt ve Siklin E'nin azalması ile ilişkili lityum aracılıklı çoğalmanın inhibisyonunun moleküler mekanizmalarının ortaya çıkması karaciğer tümörlerinin tedavisinde yeni ufuklar açacaktır.

YENİ DOĞAN STZ DİABETİK SIÇAN TİMUSUNDA KALSİYUM KANAL BLOKERİNİN APOPTOZ ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİ

E. KAYADAĞISTANLI¹, B. SÜSLEYİCİ DUMAN², M. ÖZTÜRK¹

¹İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

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

Streptozotocinin (STZ), deney hayvanlarında İnsüline Bağımlı Diabet oluşturduğu bilinmektedir. STZ ile oluşturulmuş diabette, hücre içinde artan kalsiyumun yol açtığı apoptozis, timus atrofisine neden olur. Hiperglisemi sonucunda timusta ve kan dolaşımında T hücre sayısının azaldığı bilinmektedir. STZ ile diabet oluşturulmasından sonra diabetik hayvanlarda hücre içi kalsiyum miktarı artar. Hiperglisemi Ca^{2+} -ATPase'ı inhibe eder ve hücre içi kalsiyum miktarını artırır. Biz, yeni doğan STZ diabetik (y-STZ) sıçanların timusunda, bir kalsiyum kanal blokeri olan isradipinin apoptoz üzerine etkilerini araştırdık.

5 grup yeni doğan sıçan kullanıldı. Doğumun 2. günü ilk iki gruba 100mg/kg STZ i.p. olarak uygulandı. 1.grup y-STZ diabetik olarak ayrıldı. 2.gruba, 12. haftadan itibaren 6 hafta süre ile 5 mg/kg/gün dozunda isradipin (i.p) tedavisi yapıldı. 3.gruba doğumun 2. günü aynı dozda isradipin uygulamasının ardından, 100 mg/kg dozunda STZ yapıldı. 4. grup ise diabetik olmayan gruptu ve 12.haftadan itibaren 6 hafta süre ile 5 mg/kg/gün (i.p) isradipin uygulandı. 5. grup ise sağlıklı kontrol grubunu oluşturdu. Apoptoz için pozitif kontrol olması amacı ile dexametazon (5mg/kg) uygulaması yapılan erişkin sıçanlarla 6.grup oluşturuldu. Parafine gömülmüş timus doku kesitlerindeki apoptotik hücreleri tespit etmek amacıyla TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated deoxyuridine triphosphate nick end labelling) yöntemi ve DNA kırıklarını göstermek için ise DNA merdiven yöntemi kullanıldı.

İsradipine uygulanan diabetik olmayan grupta tipik apoptotik bantlar bulunurken y-STZ diabetik ve y-STZ diabetik + isradipin uygulanmış gruplarda DNA bantların 123 ile 246 bp arasına yığıldığını gördük. y-STZ diabetik, y-STZ diabetik +isradipine ve isradipine uygulanmış diabetik olmayan gruplarında, sağlıklı kontrol ve isradipine+ y-STZ grupları ile kıyaslandığında çok sayıda apoptotik hücre saptandı.

HGF UYARIMI VE HİPOKSİNİN c-MET RESEPTÖRÜ MDS BÖLGESİNE BAĞLANAN PROTEİNLERİN TRANSKRİPSİYONUNA ETKİSİNİN T7 FAJ SUNUMU YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

G. BULUT, A. TOYLU, N. ATABEY

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, İnciraltı, İZMİR

gulay.bulut@deu.edu.tr

Embriyogenez, doku rejenerasyonu, karsinogenez ve anjiogenez gibi karmaşık birçok biyolojik olayda önemli rolü olan Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF), etkilerini transmembranal reseptör tirozin kinaz olan reseptörü c-Met aracılığı ile gerçekleştirmektedir. Hipoksi gibi çevresel uyaranların varlığında HGF/c-Met yolağının etkilendiği, özellikle c-Met ekspresyonu ve multisubstrat bağlama bölgesinin (MDS) fosforilasyonunda artış olduğu ve HGF stimüle hücre motilitesi, invazyon ve anjiogenezin arttığı bilinmektedir. Buna bağlı olarak, HGF ve hipoksi varlığında c-Met MDS'ye bağlanan moleküllerin tanımlanması ve bu moleküllerin işlevlerinin belirlenmesi giderek önem kazanmaktadır.

Çalışmamızda HGF uyarımı ve hipoksi varlığında c-Met MDS üzerine bağlanan proteinlerin transkripsiyonel değişimlerinin tanımlanması amaçlandı. Bu amaçla karaciğer karsinoma hücre dizisi Huh7 hücrelerinden HGF (40 ng/ml) uyarımı ve hipoksi (6 saat) sonrasında cDNA kütüphanesi oluşturuldu ve kütüphane üyeleri c-Met'in MDS bölgesini temsil eden P1356, FIGEH{pTYR}VHVNA ve P1349, HVNAT{pTYR}VNVKC sentetik peptid dizilerinin hedef olarak kullanıldığı T7 cDNA faj sunumu deney sisteminde tarandı. Hedef dizilere bağlandığı belirlenen pozitif klonlar Koloni-PCR ile çoğaltıldı ve DNA dizi analizi ile hedef proteinlerin DNA dizileri belirlendi. Bu dizilerin ait olduğu proteinler BLAST ve EXPASY programları ile tanımlandı.

Analiz edilen 3900 protein arasında SH2 ve PTB bölgeleri aracılığı ile hedef dizilerimize bağlandığı düşünülen beş aday protein tanımlandı. Bu adaylar arasında bir tanesinin transkripsiyonel analizi devam etmekte olup, dört tanesinin transkripsiyonunun HGF ve hipoksi varlığında değiştiği RT-PCR ile doğrulandı. Doğrulama deneyleri sonrasında bu moleküllerin transkripsiyonlarının HGF uyarımı varlığında ve hipoksik koşullarda değiştiği belirlenmiştir.

HGF/c-Met yolağındaki rolleri daha önce tanımlanmamış olan bu aday proteinlerin HGF/c-Met yolağının aktif olduğu karaciğer kanseri gibi kanserlerde hücre motilitesi, invazyonu ve anjiogenez gibi biyolojik süreçlerin gerçekleşmesinde rol oynayabilecekleri düşünülmektedir. Aday proteinlerin fonksiyonel analizlerine halen devam edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: HGF, c-Met, hipoksi, faj sunumu, cDNA kütüphanesi, HCC, sinyal iletimi

Not: Bu çalışma DEÜ Bilimsel Araştırmaları Destekleme Fonu (02.KB.SAG.010) tarafından desteklenmiştir.

KANSERDE TOLL LIKE RESEPTÖR 4 (TLR4) GENİNDEKİ Thr399İle POLİMORFİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

E. ETEM¹, H. YÜCE¹, Y. BULUT², N. AKPOLAT³.

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

²Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji AD,

³Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD, ELAZIĞ.

Toll-Like Reseptörler (TLR) hücrel immün cevabın başlamasında temel rol oynamaktadırlar. 11 adet memeli TLR tanımlanmıştır. TLR4 antibakteriel ve antiviral cevapta önemli roller oynamaktadır ve inflamatuvar sitokinlerin salınmasını sağlamaktadır. İnflamasyonun çeşitli insan kanserlerinin nedeni olduğu bilinmektedir. Gendeki 3' transle edilmeyen bölgede bulunan 11381G/C polimorfizmi ve prostat kanseri arasında ilişki tespit edilmiştir. TLR4 geninde Asp299Gly ve Thr399İle olmak üzere 2 adet polimorfizm daha bulunmaktadır. Çalışmanın amacı 100 kanser ve 100 kontrol bireyinde Thr399İle polimorfizm sıklığı ve bu polimorfizmin kanserle beraberlik gösterip göstermediğinin araştırılmasıdır. Hasta grubu farklı kanser gruplarından oluşmaktadır. DNA izolasyonu kanser tanısı almış hastaların parafine gömülmüş bloklarından yapıldı. Kontrol grubunda DNA izolasyonları için periferik kan kullanıldı. Hasta ve çalışma grubu arasında allel sıklıkları açısından anlamlı bir ilişki bulunmamasına rağmen İle allelinin hasta grubunda arttığı görüldü. İle allel sıklığı kontrol grubunda 0.05 iken hasta grubunda 0.08 olarak bulundu. İnflamasyona neden olan genlerin kanserle olan ilişkilerinin çalışılması inflamasyonun kanserdeki öneminin aydınlatılması açısından önemlidir. TLR4 genindeki Thr399İle polimorfizminin kanser gelişiminde inflamatuvar sürece katkıda bulunabileceğini düşünmekteyiz.

ERİŞKİN TİPİ POLİKİSTİK BÖBREK HASTASINDA NADİR GÖRÜLEN BİR TRANSLOKASYON: 46,XX t(3;5)(p29::q13), der (5)(pter→q13)

H.YÜCE¹, Ü. ÖZBEY¹, G.G. CEYLAN¹, H. ELYAS¹

¹Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, ELAZIĞ

Erişkin tip polikistik böbrek hastalığı (APKD); renal kistler, karaciğer kistleri ve kafa içi anevrizma gibi belirgin bulgularla kendini ortaya koyan otozomal dominant bir hastalıktır. Bu hastalıktaki fenotipik değişkenlikler; glomerüler filtrasyondaki kayıp, son dönem böbrek yetmezliği oluşma ve hipertansiyon oluşumu yaşı, semptomatik ekstra renal kistler ve kafa içi berry anevrizmasından kaynaklanan subaraknoid kanamalar nedenleriyle oluşur. Bu çalışmanın amacı; hastalığının kalıtım modeli hakkında soyağacı analizleriyle değerlendirme yapmak ve APKD'da genetik danışmanlık sürecini vurgulamaktır. Olgunun, klasik sitogenetik analiz sonucunda karyotipi 46,XX, t(3;5)(p29::q13), der (5) (pter→q13) olarak saptandı. APKD'li olguda saptamış olduğumuz karyotipin, hastalığın etyopatogeneze katkıda bulunan bir faktör olabileceği düşünülebilir.

İLETİM TİPİ İŞİTME KAYBIYLA GİDEN CUP-EAR DEFORMİTESİ, RENAL AGENEZİ VE BİR ÇOK İSKELET ANOMALİLERİNİN BİRLİKTELİK GÖSTERDİĞİ YENİ BİR SENDROM

HALE SAMLI¹, YAVUZ DEMİR², AYLİN YÜCEL³, MUSTAFA DENİZ YILMAZ⁴, GÖKHAN MARALCAN⁵, MUSTAFA SOLAK¹

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı,

³Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı,

⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak-Burun-Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı,

⁵Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi Anabilim Dalı, AFYON

Olgu Sunumu: Anabilim Dalı'mıza 17 yaşındaki erkek hasta kulak, böbrek ve ekstremitte anomalileri nedeniyle refere edilmiştir. Klinik özellikleri Townes-Brocks sendromuna benzemekle birlikte ekstremitte anomalilerinin bu sendromda daha önce tanımlanmamış olması ve olguda anal anomalilerin bulunmaması nedeniyle farklılık göstermektedir.

Yapılan pedigre analizinde benzer anomalilere sahip erkek kardeşinin bir yaşında öldüğü ve yaşayan sağlıklı üç kız, bir erkek kardeşi olduğu saptanmıştır. Ebeveynler ve diğer kardeşlerine yapılan kromozom analizinde, hepsinde normal kromozomal kuruluş tespit edilmiştir. DNA'sı izole edilen olguda Townes-Brocks sendromuna neden olan SALL1 gen mutasyonlarının taramasını yapmak için SALL1 geni ekson 2, part 1 bölgesinin dizi analizi yapıldı. Ancak mutasyon tespit edilemedi. Hastada mevcut olan radyolojik ve klinik bulgular ışığında bilinen sendromlardan bir çok özelliğiyle farklılık gösteren olgumuzda daha önce tanımlanmamış bir sendrom varlığını düşünmekteyiz.

MATERNAL PLAZMA VE SERUMDAKİ SERBEST FÖTAL DNA'NIN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONUNA DAYALI ANALİZİ: BAŞARIYI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

N.L. ŞATIROĞLU-TUFAN^{1,3}, A. Ç. TUFAN^{2,3}, B. KALELİ⁴, B. YILDIRIM⁴, C. N. SEMERCİ¹, H. BAĞCI^{1,3}

¹ Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

² Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,

³ Pamukkale Üniversitesi Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Uygulama Merkezi,

⁴ Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, DENİZLİ

Günümüz teknolojisi maternal plazma ve serumdaki hücre dışı serbest fetal DNA'nın invaziv olmayan prenatal genetik tanı girişimlerinde kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır. Bu çalışmada, seçilmiş vakalarda prenatal genetik tanı amacıyla kullanılacak basit, ucuz, güvenilir ve tekrarlanabilir olduğu düşünülen, konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyonuna (PZR) dayalı bir tekniğin, klinik rutinde kullanım başarısını etkileyen faktörlerin analiz edilmesi hedeflenmiştir.

Bu amaçla Pamukkale Üniversitesi Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde endikasyonlu amniyosentez uygulanan 33 hamile kadından eşzamanlı olarak periferik kan ve amniyotik sıvı örnekleri toplandı. Bunun yanı sıra, 5 sağlıklı erkekten toplanan periferik kan örnekleri PZR özgünlüğü ve duyarlılığının testinde, 5 sağlıklı ve hamile olmayan kadından toplanan periferik kan örnekleri ise negatif kontrol grubu olarak kullanılmışlardır. Toplanan örneklerden DNA izolasyonu ve takiben de Y-kromozomu Yp11.2 bölgesine lokalize olan DYS14 için PZR analizi uygulanmıştır.

Elde edilen sonuçlar, DNA izolasyonu ve PZR döngü koşulları optimizasyonunun başarıda anahtar rol oynayan iki önemli aşama olduklarını ve yukarıda belirtilen amaç göz önüne alındığında prenatal genetik tanıda kullanılmak üzere maternal plazmadan izole edilen DNA'nın, maternal serumdan izole edilene kıyasla daha uygun bir seçenek olduğunu kuvvetle önermektedir. Diğer taraftan, ticari olarak ısı ile aktive olan Taq polimeraz enzimi içeren ve önceden karıştırılarak kullanıma hazır şekilde piyasaya sürülen PZR karışımlarının kullanımının, yine bahsi geçen amaç doğrultusunda özgün olmayan PZR ürünlerinin eldesi ve PZR reaksiyonu ve döngüsünün hazırlanması sürecindeki düşük ısılarla ortaya çıkabilecek primer dimerizasyonlarının oluşumu risklerini ve dolayısı ile de yanlış pozitiflik ve/veya yetersiz PZR ürünü eldesi sorunlarını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, rutin kullanımdaki bir konvansiyonel PZR cihazının amaca uygun optimizasyonu dışında hiçbir ekstra pahalı teknolojiye ihtiyaç göstermeyen, ucuz, kolay kullanılabilir, hızlı ve efektifliği bu çalışma ile gösterilmiş olan önerilen prosedürün teorik olarak X'e bağlı çekinik geçiş gösteren hastalıkların ve yeni doğan kan uyuşmazlıklarında doğum öncesi fetal RhD'nin tespitinde halen kullanımdaki pahalı ve invaziv girişimlere olan ihtiyacı azaltacağı düşünülmektedir.

TÜRK HASTA POPÜLASYONUNDA ANDROJEN RESEPTÖR GENİ TRANSAKTİVASYON BÖLGESİ (CAG) TRİNÜKLEOTİT TEKRAR SAYISININ İDİOPATİK ERKEK İNFERTİLİTESİNDEKİ ROLÜ: ÖZGÜN ARAŞTIRMA VE LİTERATÜR TARAMASI

A. Ç. TUFAN^{1,3}, **N.L. ŞATIROĞLU-TUFAN**^{2,3}, B. AYDINURAZ⁴, M. H. ŞATIROĞLU^{4,5}, K. AYDOS⁶, H. BAĞCI^{2,3}

¹ Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,

² Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,

³ Pamukkale Üniversitesi Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Uygulama Merkezi, DENİZLİ

⁴ Gen-Art Kadın Sağlığı, IVF ve Reprodüktif Biyoteknoloji Merkezi,

⁵ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı,

⁶ Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, ANKARA

Androjen reseptör geni CAG tekrar uzunluğu ve idiyopatik erkek infertilitesi arasındaki ilişkinin halen tartışmalı olduğu günümüzde, test edilen popülasyonun etnik kökeninin bu ilişkide önemli yeri olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, androjen reseptör geni CAG tekrar sayısı ile infertil erkeklerde görülen sperm bozuklukları arasındaki ilişkiyi ilk defa Türk hasta popülasyonunda araştırmaktır. Bu amaçla 47 idiyopatik infertil ve 32 fertil Türk erkeği reprodüktif hormon konsantrasyonları ve androjen reseptör geni ekson 1 CAG tekrar sayısı yönünden analiz edilerek karşılaştırılmıştır.

Ortalama serum luteinize edici hormon (LH) ve follikül uyarıcı hormon (FSH) düzeyleri infertil grupta fertil kontrol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek bulunurken (her iki karşılaştırma içinde $P < 0.0001$), ortalama serum testosteron düzeyi açısından infertil ve fertil gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir ($P = 0.16$). Androjen reseptör geni CAG tekrar sayısının da infertil ve fertil gruplar arasında farklılık göstermediği saptanmıştır [infertil grupta 22.28 ± 0.37 (veri aralığı 18-29), fertil grupta 22.41 ± 0.54 (veri aralığı 16-29); $P = 0.84$]. Ayrıca 24 ve/veya üzeri CAG tekrar sayısı görülme sıklığının da her iki grupta istatistiksel anlamlı farklılık göstermediği gözlenmiştir [infertil grupta %31.9'a karşılık fertil grupta %40.6; $P = 0.21$].

Sonuçlar, infertil grupta gözlenen serum reprodüktif hormon düzeylerinin kısmi testiküler fonksiyon yetersizliği ile uyumlu olduğunu, diğer taraftan Türk hasta popülasyonunda androjen reseptör geni CAG tekrar sayısının idiyopatik yetersiz sperm üretimi ile ilişkisinin bulunmadığını düşündürmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar literatürdeki Avrupa kökenli çalışmaları desteklerken, Uzak Doğu ve Kuzey Amerika kökenli çalışmaların sonuçları ile çelişmektedir. Bu durum da araştırılan ilişki yönünden etnik kökenin ne kadar önemli olduğunu ve her toplum için benzeri türden çalışmaların bu ilişkinin açıklanması açısından önemini ortaya koymaktadır.

GÜNLÜK ALINAN BOR MİNERALİNİN SERVİKS KANSERİ ÜZERİNE OLASI ÖNLEYİCİ ETKİSİ

M. KORKMAZ^{1*}, E. UZGOREN^{2,3}, S. BAKIRDERE⁴, F. AYDIN⁴, O.Y. ATAMAN⁴

¹Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu 10100, BALIKESİR

²Balıkesir Kanserle Savaş Vakfı 10100, BALIKESİR

³Balıkesir Devlet Hastanesi 10100, BALIKESİR

⁴Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, 06531 ANKARA

korkmaz@balikesir.edu.tr

Bor ve Boratlar invitro ve in vivo antikanserojenik etkileri üzerine alınan bilimsel sonuçlar son zamanlarda hayli dikkat çekmektedir. Bu çalışmada bor zengin ve fakir bölgelerde yaşayan düşük sosyoekonomik statüdeki kadınlar arasında, mikroçekirdek frekansları (MN) ve serviks kanseri yönünden aralarında bir fark olup olmadığı araştırılmıştır. 1059 kadın servikal smear için tarandı. Sitopatolojik tanı için kadın örneklerinin 472 tanesi kırsal bor zengin alandan alınmış iken, 587 kadın kontrol grubu olarak borca fakir bölgeden seçilmiştir. MN testi için her bir bölgeden rastgele 30 kadın olmak üzere toplam 60 kadın değerlendirmeye alınarak, bu kadınların yanak içi hücrelerinin MN frekansı hesaplandı. Bor zengin bölgede yaşayan kadınların hiç birinden sitopatolojik bir yorum alınamadı. Bu sonuçlar bor zengin bölge ve fakir bölge arasında önemli bir farklılık gösterdi ($\chi^2=10.473$, $P<0.05$). MN frekansında her iki bölgede yaşayan kadınlar arasında önemli bir farklılık bulunamadı ($t=-0.294$, $P>0.05$). Aynı şekilde her iki bölgede yaşayan kadınların yaşları dikkate alınarak değerlendirme yapıldığında da önemli bir fark görülmedi ($r=0.133$, $p=0.48$, $P>0.05$), ($r=-0.033$, $p=0.861$, $P>0.05$). Bu sonuçlar bize günlük bor etkisinde serviks kanserinin önlenebileceği yönünde bor zengin bölge açısından hayli yüksek değerlerde bir gözlem sundu.

Anahtar Sözcükler:: Bor, Serviks kanseri, Antikanserojenik ajan, Mikronükleus testi, Papanicolau smear,

SIÇANLARDA TRAVMATİK SPİNAL KORD HASARI ÜZERİNE, KASPAZ-3 İNHİBİTÖRÜ, z-DEVD.fmk'NİN NÖROPROTEKTİF ETKİLERİ.

Ş. BARUT¹, Y. A. ÜNLÜ¹, A. KARAOĞLAN¹, M. TUNCDEMİR², F. KAYA DAĞISTANLI², M. ÖZTÜRK², A. ÇOLAK¹

¹ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

² Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, İSTANBUL

Apoptoz, travmatik hasarlarda patolojik ve fizyolojik koşulların çoğunda görülen hücre ölümünün çok önemli bir şeklidir. Hücre ölümünün bu türü kaspazlar olarak bilinen araçlar ile olmaktadır. Spinal kord hasarı (SCI: spinal cord injury) sonrası sekonder hasarlanmanın patogenezinde rol oynayan farklı kaspazlar ve apoptoz çalışmaları bulunmaktadır. Bu çalışmada, SCI'nin sıçan modelinde bir kaspaz-3 inhibitörü olan z-DEVD.fmk'nın nöroprotektif etkileri araştırıldı.

Çalışmada herbirinde 15 sıçan bulunan 3 gruptan oluşan 45 wistar albino sıçan kullanıldı.. 1.grup; kontrol, 2.grup; travma grubu, 3. grup; travma+ z-DEVD.fmk uygulanan grup. SCI torasik düzeyde ağırlık düşürme tekniği kullanılarak oluşturuldu. 4 ve 24 saatlik postravmatik spinal kord dokularına z-DEVD.fmk'nın etkisi ve hasara cevabını araştırmak için ışık mikroskopik inceleme ve TUNEL boyanması yapıldı. SCI uygulamasının 7.gününde fonksiyonel iyileşme tespiti için her gruptan 5 sıçan kullanıldı. Fonksiyonel gelişim eğik düzlem ve Tarlov motor gradiyen skalası kullanılarak tespit edildi.

Hasarın 4.saatinde 3 gruptaki apoptotik indeks sırayla 0, 33.01 ± 6.62 ve 16.40 ± 4.91 olarak tespit edildi. 3.gruptaki apoptotik indeks 2.gruptan belirgin olarak daha az bulundu ($p < 0,01$). Hasarın 24.saatinde 2.grubun dokularının ışık mikroskopik değerlendirilmesinde yaygın hemoraji, nekroz, polimorf nukleuslu lökosit infiltrasyonu ve vasküler tromboz görüldü. 3.grup'un dokularında da benzer özellikler gözlemlendi. 2.grupta; belirgin hemoraj ve nekroz, 3.grup'ta fokal hemoraji ve lökosit infiltrasyonu gözlemlendi. Gruplardaki ortalama eğik düzlem açıları sırasıyla $64.5 \pm 1.0^\circ$, $41.5 \pm 1.3^\circ$ ve $47 \pm 2.0^\circ$ olarak tespit edildi.. Motor skala sonuçları tüm gruplarda benzer eğilim gösterdi.

Sıçanlarda SCI sonrası z-DEVD.fmk'nın lokal uygulamasının sekonder doku hasarını azalttığı ve motor fonksiyonu koruduğu, bu etkisinin de spinal kord'daki tüm hücre tiplerinde apoptotik hücre ölümünün engellenmesi yoluyla olduğu sonucuna varıldı.

PİNEALEKTOMİ İŞLEMİ UYGULANMIŞ CİVCİVLERİN SERVİKAL VERTEBRALARINDA ORTAYA ÇIKAN MORFOLOJİK, STEREOLOJİK VE RADYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

M.TURGUT¹, S.KAPLAN², A.T.TURGUT³, H.ASLAN⁴, T.GÜVENÇ⁵, E.ÇULLU⁶, S.ERDOĞAN⁷

¹Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji AD, AYDIN

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, SAMSUN

³Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoloji Bölümü, ANKARA

⁴Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, TOKAT

⁵Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji AD, SAMSUN

⁶Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji AD, AYDIN

⁷Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp AD, AYDIN

Melatonin'in osteogenezis üzerinde önemli bir role sahip olduğu hipotezini destekleyen çok sayıda delil mevcuttur. Bu deneysel çalışma, pinealektomi işlemi uygulanmış olan civcivlerin servikal vertebralarında ortaya çıkan radyolojik ve histolojik değişiklikleri ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Toplam 30 adet civciv 2 gruba ayrılmıştır: pinealektomi grubu (n=15) ve pinealektomi uygulanmamış kontrol grubu (n=15). Cerrahi pinealektomi işlemi 3 günlük Hybro broiler cinsi civcivler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Sekiz hafta sonunda, 4.-7. servikal vertebra segmentleri arasında yer alan dört ardışık vertebranın dansite histogramlarını elde etmek amacıyla, her bir gruptan 1'er civciv bilgisayarlı tomografi cihazı ile tetkik edilmiştir. Deney bitiminde ise, bu vertebralara ilişkin kemik mineral dansitesi ölçümü yapılması ve spesmenlerin makroskopik, radyografik ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi amacıyla bütün hayvanlar sakrifiye edilmişlerdir. Pinealektomi işlemi uygulanmamış kontrol grubunda dansite profili, vertebra cisminde ait doku dansitesindeki bir artışı işaret eden "sivri çıkıntı" şeklinde idi. Diğer yandan, pinealektomi grubunda ise dansite histogram profili, vertebra cisminin heterojen bir kemikten oluştuğunu gösteren "plato-şeklinde" bir profil şeklinde idi. Benzer şekilde, pinealektomi grubunda yer alan civcivlerin vertebra cisimlerine ait kemik mineral dansitesinin ortalama değerinin kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha düşük olduğu saptanmıştır ($P<0.001$). Çalışma sonunda, pinealektomi grubundaki civcivlerin hemen tamamında skolyotik bir kurvatürün geliştiği görülmüştür. Ayrıca, pinealektomi işlemi uygulanmış olan civcivlerin servikal vertebra cisimlerine ait ortalama ağırlık ve uzunluk değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, önemli ölçüde düşük idi ($P<0.001$). Pinealektomi grubunda, osteosit ve osteoblast sayısal yoğunluk değerlerinin de kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Bununla birlikte, pinealektomi işlemi uygulanmış olan hayvanların servikal vertebralarına ait toplam osteosit sayısının (osteoblast değil) pinealektomi işlemi uygulanmamış olan kontrol grubundaki deneklere kıyasla önemli ölçüde daha düşük olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). Özetle, bu deneysel çalışma pinealektomi işleminin civciv servikal vertebral kolonu üzerinde neden olduğu histomorfometrik değişikliklerin stereolojik analiz yöntemleri kullanılarak ortaya konulduğu ilk çalışmadır. Elde edilen bulgular, epifiz bezi/melatonin'in kemik oluşumu üzerinde osteoindüktif bir etkiye sahip olduğunu düşündürmekle beraber, postmenopozal osteoporoz ve/veya senil osteoporoz gibi bazı hastalıklarla olan ilişkinin ortaya konulabilmesi için yeni çalışmaların gerçekleştirilmesine gereksinim bulunmaktadır.

MESANE KANSERİ TANILI OLGULARDA p53 GENİ MUTASYON ANALİZİ*

A. ÖZGÖZ¹, H. ŞAMLI¹, **M. SOLAK**¹, F. AKTEPE², K. YÖRÜKOĞLU³

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, AFYON

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp fakültesi Patoloji AD, AFYON

³Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp fakültesi Patoloji AD, İZMİR

Amaç: p53 geni insan malignansilerinin yaklaşık %50'sinde mutasyona uğrayan bir tümör supresör gendir. Tümör supresyon etkisini, pek çok geni regüle ederek, bu genlerin cevaben hücre siklusu regülasyonu, DNA tamiri ve apoptoza gitmelerini sağlayan bir çok yolla gerçekleştirmektedir. p53, mesane kanserinde en fazla mutasyona uğrayan tümör supresör gen olma özelliğini taşımaktadır. Bu yüzden mesane kanserinin prognozunda önemli bir biomarker olabilir. Bu çalışmada ürotelyal karsinom tanısı alan mesane kanserli olgularda p53 geni 5. ve 7. ekson mutasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal Metod: Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı ve Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivlerinde bulunan, parafin bloğa gömülü mesane tümör doku örnekleri kullanıldı. Çalışmamızda, mutasyon analizi açısından değerlendirilen 22 olgunun parafine gömülü mesane tümör doku kesitlerinden "ksilen-tuzla uzaklaştırma" metoduyla, genomik DNA elde edildi. Elde edilen genomik DNA'ların p53 genine ait 5., 6. ve 7. eksonları PCR metoduyla amplifiye edildi. Amplifikasyon %2'lik agaroz jelde kontrol edildi. Amplifikasyonun doğrulanmasının ardından, **5. ekson için Hae II** enzim kesimi, **7. ekson için Hae III** enzim kesimi uygulandı. Enzim kesimi sonuçları sırasıyla, %2'lik agaroz jel ve %10'luk (%5 gliserinli) poliakrilamid jel elektroforezi sonucunda değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmamızda, mutasyon analizi gerçekleştirilen olguların % 45'inde p53 geni mutasyonu saptanmıştır, saptanan mutasyonların %60'ının 5. eksonda bulunan 175. kodon, %40'ının ise 7. eksonda bulunan 249. kodonda olduğu belirlendi.

İnsanlarda oluşan kanserlerin yaklaşık olarak yarısında p53 geni mutasyonları oluşması, özellikle mesane kanserlerinde bu oluşumun erken dönemde gerçekleşmesi, kliniğe, hastalığın prognozunu belirlenmesi konusunda yardımcı olacaktır.

*Bu çalışma Yüksek Lisans Tezi olarak yapılmıştır.

NON-SENDROMİK OTOZOMAL RESESİF İŞİTME KAYIPLI BİR TÜRK AİLEDE BELİRLENEN TMPRSS3 MİSSENSE MUTASYONUNUN PROTEİNİN PROTEOLİTİK AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

**N. SAHİN-CALAPOĞLU¹, M. WATTENHOFER², D. ANDREASEN³, E. KALAY⁴, R. CAYLAN⁵,
B. BRAILLARD⁶, N. FOWLER-JAEGER³, A. REYMOND⁶, B. C. ROSSIER³, A. KARAGÜZEL⁴,
S. E. ANTONARAKİS⁶**

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Isparta, Türkiye.

²Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), CNRS/INSERM/Université Louis Pasteur, 67404 Illkirch cedex, CU de Strasbourg, France.

³Pharmacology and Toxicology Institute, University of Lausanne, Switzerland.

⁴Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Trabzon, Türkiye.

⁵Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Trabzon, Türkiye.

⁶Department of Genetic Medicine and Development, University of Geneva Medical School, Geneva, Switzerland.

Bir transmembran serin proteaz olan TMPRSS3'ü kodlayan gendeki patolojik mutasyonların non-sendromik sağırlığa (DFNB8/10) sebep oldukları bilinmektedir. *Xenopus* oosit model sistemlerinde yapılan çalışmalarla, proteolitik kesime uğradıktan sonra ENaC sodyum kanallarını aktive ettiği bilinen TMPRSS3 proteininin low density-lipoprotein receptor A (LDLRA), scavenger-receptor cystein-rich (SRCR) ve proteaz domainlerini etkileyen missense mutasyonların proteinin fonksiyonu üzerine etkili oldukları gösterilmiştir.

Bu genin Türkiye'deki çocukluk çağı veya konjenital non-sendromik işitme kaybı üzerine etkilerini araştırmak üzere, en az iki işitme kayıplı bireyin bulunduğu 25 Türk ailede mutasyon taraması çalışmaları yapılmıştır. Kromozom 21q22.3 bölgesi için yapılan bağlantı analizi çalışmaları neticesinde en yüksek LOD score veren üç ailede P404L, R216L ve Q398X mutasyonları belirlenmiş ve TMPRSS3 genindeki mutasyonların Türk popülasyonundaki non-sendromik sağırlığın önemli nedenlerinden olduğunu ortaya konmuştur.

İlk kez görülen R216L missense mutasyonu proteinin kesim noktasını ortadan kaldırmak sureti ile proteolitik kesimin gerçekleşememesine ve devamında da ENaC'nin aktive edilememesine sebep olmaktadır. Bu da TMPRSS3'ün normal fonksiyonu olan proteaz aktivitesini gösterebilmesi için bir ön proteolitik kesime uğraması gerektiğini ortaya koymaktadır.

DİABETİK RATLARDA KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE)'İN LİPİD PEROKSİDASYONU VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

N. ÖZÇELİK, E. UZ, H.R. YILMAZ

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, ISPARTA

Bu çalışmada, deneysel olarak diabet oluşturulan rat eritrositlerinde katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri, nitrik oksit (NO) ve malondialdehid (MDA) seviyeleri çalışılmış, spesifik bir propolis bileşeni olan ve antioksidan özellikteki kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in etkileri araştırılmıştır.

Deney grupları; kontrol grubu, diabet (DM) grubu ve DM+CAPE grubu şeklinde düzenlendi. DM grubundaki ratlara çalışmanın başında bir defa 35 mg / kg streptozotosin (STZ) i.p. olarak uygulandı. CAPE, 10 micM/kg/gün dozunda i.p. olarak diabetik ratlara 3. günden itibaren 8 hafta uygulandı. Kan örnekleri alınarak eritrositte CAT, SOD, GSH-Px enzim aktiviteleri, NO ve MDA seviyeleri ölçüldü.

DM grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında DM grubunda CAT aktivitesi, NO ve MDA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış, GSH-Px aktivitesinde ise anlamlı bir azalış gözlemlendi. SOD aktivitesinde ise anlamlı olmayan bir artış vardı. Kontrol grubu ile DM+CAPE grubu karşılaştırıldığında DM+CAPE grubunda sadece MDA seviyesinde anlamlı bir artış gözlemlendi.

DM+CAPE grubu ile DM grubu karşılaştırıldığında DM+CAPE grubunda CAT aktivitesi, NO ve MDA seviyelerinde anlamlı bir azalma, GSH-Px aktivitesinde ise anlamlı bir artış tespit edildi. SOD aktivitesinde, grupların tümünde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.

Sonuç olarak CAPE'nin, diabetik ratlarda NO ve MDA seviyelerini anlamlı azaltarak, lipid peroksidasyonunu önlediği söylenebilir.

İNFERTİL ERKEK BİREYLERDE SRY VE AZF GEN VARYASYONLARI: SİTOGENETİK VE MOLEKÜLER YAKLAŞIM

Ö. ÖZDEMİR¹, E. GÜL², H. KILIÇARSLAN³, G. GÖKÇE³, F. Y. BEYAZTAŞ⁴, İ. SEZGİN¹

Tıbbi Genetik¹, Tıbbi Biyoloji ve Genetik², Üroloji³, Adli Tıp⁴, Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 58140 - SİVAS

Amaç: Araştırmada, infertil erkek bireylerde olası SRY ve AZF gen varyasyonlarının SSCP analizi ile ortaya konması amaçlandı.

Materyal ve Metod: Kromozom analizi için standart lenfosit kültürü yapıldı. Periferik kandan DNA izole edildi ve üç set primer kullanılarak AZFb, AZFc ve SRY14 gen bölgeleri PCR ile amplifiye edildi. PCR ürünleri SSCP analizinde genotiplendirildi.

Sonuçlar : Bu çalışmada üç azospermik ve iki oligoastenozoospermik infertil bireyde SRY ve AZF lokuslarına ait farklı gen profilleri tespit edildi. Bütün olguların SSCP analizinde AZFc gen bölgesinde varyasyon tespit edilirken, sadece iki olguya ait SRY gen bölgesinde varyasyon tespit edilmiştir. Bu araştırmada çalışılan olguların hiçbirinin AZFb gen bölgesinde bir farklılık tespit edilmedi.

Tartışma: İnsanda AZF gen bölgesinin infertiliteden sorumlu olduğu varsayılmaktadır. Bu gen bölgesinde meydana gelebilecek mikro delesyonların sperm motilitesi ve maturasyonu üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bilinmektedir. Araştırmada azoospermia ve astenozoospermiaya bağlı infertil erkek bireylerde SRY ve AZFc gen bölgeleri varyatif SSCP profillere sahip oldukları tespit edildi. Bu olgularda yardımcı üretim tekniklerine başvurulmadan önce özellikle infertil erkek bireylerde ileri genetik analizlerin yapılması, mikro delesyon ve/veya nokta mutasyonların saptanması önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler : SSCP analizi, AZF, SRY, infertilite

NON ROBERTSONIAN TRANSLOKASYON 46,XY,t(11;22)(q23;q11)'Lİ BİREYİN DUAL COLOR SPERM FISH'LE ANALİZİ

S.D. DEVECİ, H. YÜCE¹, E. ETEM¹, H. ELYAS¹.

¹Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, ELAZIĞ.

t(11;22)(q23;q11) erkeklerde çok sık görülen translokasyonlardan biridir. Dengeli taşıyıcılar fenotipik olarak normaldir. Ancak artmış spontan abort oranından dolayı fertilité üzerinde olumsuz etkiler söz konusudur. Probandın aile hikayesine bakılarak parental kromozom analizi yapıldı. Proband ve babasının 46,XY, t(11;22)(q23;q11) karyotipine sahip olduğu bulundu. Bu translokasyonun, probandın sperm örneğindeki segregasyon oranının belirlenmesi için spesifik DNA problemleri kullanılarak Fluoresans *in situ* hibridizasyon (FISH) çalışması yapıldı. Kromozom 11 için sentromerik ve kromozom 22 için kırılma bölgesinin distaline spesifik 22q11 bölgesini içine alan bir prob kullanıldı. Segregasyon oranının tespiti için 200 hücredeki sinyaller değerlendirildi. Yapılan sperm FISH çalışmasında hastanın spermatozoalarında 3:1 segregasyon gösterildi. Bu segregasyon oranı dengeli kromozomal taşıyıcıların genel segregasyon oranlarıyla tutarlıdır. Erkeklerde görülen dengeli t(11;22) kromozomal translokasyon taşıyıcılarında sperm FISH yöntemi segregasyon oranlarının belirlenmesi için güçlü bir yöntemdir.

TÜRK TOPLUMUNDA MDR1 GEN POLİMORFİZMİ VE AKUT LÖSEMİ OLGULARINDA İLAÇ DİRENÇLİLİĞİNE ETKİSİ

P.KAYA¹, U.GÜNDÜZ¹, F.ARPACI^{2,4}, A.U. URAL^{3,4}, Ş.GÜRAN⁵

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü,

²Gülhane Askeri Tıp Akademisi Onkoloji A.D,

³Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hematoloji A.D,

⁴Gülhane Askeri Tıp Akademisi Kanser Araştırma Merkezi,

⁵Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Biyoloji A.D, ANKARA

Çoklu ilaç dirençliliği (Multidrug resistance-MDR) kanser hastalıklarında kullanılan yapısal olarak birbirinden farklı antikanser ilaçların etkilerini sınırlandıran önemli bir fenomendir. MDR1 geninden kodlanan G-glikoproteini çoklu ilaç dirençliliğinde önemli bir role sahiptir. Tedavi altındaki olgularda bu proteinin aşırı yapımı kullanılan ilaçlara karşı dirençliliğine neden olmaktadır. MDR1 geninde CC3435T, G2677T ve T-129C tek nükleotid polimorfizmlerine (SNPs) sahip bireylerin normal dokularında G-Glikoproteini az eksprese olmaktadır. Bu polimorfizme sahip olguların kanser tedavisinde çoklu ilaç dirençliliğine karşı avantajlı olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda 25 tedaviye dirençli, 20 tedaviye duyarlı toplam 45 akut lösemi olgusu ve 17 normal bireye ait MDR1 genine ait polimorfizmler bulunmuştur. MD1 genine ait elde edilen polimorfizm bulguları dünyada diğer toplumlarda elde edilen bulguları ile karşılaştırılmış, sonuçların akut lösemi olgularında çoklu ilaç dirençliliği üzerindeki etkileri araştırılmıştır. C3435 polimorfizminin Afrika ve Türk toplumunda belirgin olarak farklı olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan bu polimorfizmin Kafkas/Asya ırklarında Türk toplumu ile benzer sıklıkta olduğu bulunmuştur ($P<0.001$). G2677T polimorfizmi Türk toplumunda Alman ve Japon toplumlarından farklı olarak bulunmuştur. T-129C polimorfizmi için çalışılan tüm bireyler TT genotipi için homozigot çıkmıştır. Çalışmamızda akut lösemi olgularında kullanılan ilaçlara karşı gelişen dirençlilik ile G-Glikoproteinine ait araştırılan polimorfizmler arasında önemli bir korelasyon saptanmamıştır.

ROSİGLİTAZON ÖN UYGULAMASINI TAKİBEN STZ-DİABETİK SİÇANLARDA GHRELİN VE İNSÜLİN GEN EKSPRESYON DEĞİŞİKLİKLERİ.

Ş. YILDIRIM¹, F. SUNDLER², S. BOLKENT¹

¹İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, 34098, Cerrahpaşa, İSTANBUL

²Lund Üniversitesi, Nöroendokrin Hücre Biyolojisi Bölümü, Fizyolojik Bilimler AD, BMC F10, 22 184, Lund, İSVEÇ

Bu çalışmada, rosiglitazon tedavisinin streptozotocin (STZ)-diabetik sıçanlarda ghrelin ve insülin gen ekspresyonları üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

Wistar tipi 180-200 gram ağırlığında erkek sıçanlar dört gruba ayrıldı. Birinci grup sağlıklı kontrol, ikinci grup rosiglitazon verilen kontrol, üçüncü grup STZ (65 mg/kg) diabetik ve dördüncü grup rosiglitazon ön uygulamasını takiben STZ uygulanan sıçanlardan oluşturuldu. Rosiglitazon 20 mg/kg/gün 7 gün süre ile oral olarak verildi. Ghrelin ve insülin gen ekspresyonları immünohistokimya ve in situ hibridizasyon yöntemleri ile araştırıldı.

Rosiglitazon ön uygulaması istatistiksel olarak kilo alınmasını etkilemedi. Ayrıca kan glukoz seviyelerinde ve insülin immünreaktif hücre sayıları bakımından STZ-diabetik ve rosiglitazon verilmiş diabetik sıçanlar arasında anlamlı fark bulunmadı. Fakat STZ-diabetik grup sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ghrelin gen ekspresyonunda bir azalma saptandı. Adacık hücrelerinin yenilenmesinde rol oynadığı düşünülen kanal epitelinde de, sıklıkla ghrelin peptid ve mRNA eksprese eden hücrelere rastlandı.

Kısa süreli rosiglitazon ön uygulamasının ghrelin ve insülin gen ekspresyonu üzerine önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

MAKROFAJ İNFİBİTOR FAKTÖR GENİ -173 C ALLELİ İDİOPATİK NEFROTİK SENDROMLU ÇOCUKLARDA STEROİD REZİSTANSİ İLİŞKİLİDİR.

A. BERDELİ, S. MİR, N. ÖZKAYIN, E. SERDAROĞLU, Y. TABEL, A. CURA

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Moleküler Tıp laboratuvarı
İzmir

Bu çalışmada doğal ve adaptif immün yanıtta önemli yeri olan ve glukokortikoidlerin intrasellüler doğa antagonisti olarak kabul edilen MIF molekülünü kodlayan genin promotor bölgesindeki polimorfizmin İdiopatik Nefrotik Sendromlu (İNS) çocuklarda steroid tedavisine yanıtı ile ilişkisi araştırılmıştır.

Çalışmaya 214 İNS'li hasta çocuk ve aynı yaş grubundan 103 sağlıklı kontrol alınmıştır. Hastaların periferik kanından elde edilen genomik DNA'dan MIF gen -173G/C polimorfizmi PCR-RFLP ve primer extension yöntemi ile çalışılmıştır.

İNS hasta grubunda GC genotipi (OR=3; p=0.0009) ve C allel sıklığı (OR=2.5; p=0.0007) kontrol grubuna göre anlamlı yüksek saptanmıştır. İNS grubunu steroide yanıtına göre yanıtı (n=137) ve dirençli (n=77) olarak gruplaştırdığımızda dirençli grupta CC genotipinin 20 kat arttığını saptadık. (OR=20; p=0.0002). Biyopsi yapılan hastaları histopatolojik tanılarına göre gruplaştırdığımızda FSGS grubunda C allel sıklığı yüksek bulunmuştur (OR=3.2, p=0.017). Genotip-fenotip ilişkisi araştırdığımızda, CC genotipi ve ya bir C alleli taşıyan hastalarda renal fonksiyon bozuklukları daha sık ve ağır formda saptanmıştır. CC genotipi taşıyanlarda son dönem böbrek yetmezliği daha erken gelişmiş ve hızlı seyr etmiştir (OR=5.53, p=0.02). Ayrıca CC genotipi ile erken proteinüri yaşı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. CC genotipi taşıyanlarda proteinüri başlama yaşı (1.9+1.7 yaş) GC heterozigot genotipi (3.7+3.1 yaş) ve GG genotipi (3.6+2.9 yaş) taşıyanlara göre anlamlı farklı bulunmuştur.

Sonuç olarak bu çalışmada, MIF geni -173C alleli İNS'a yatkınlık nedeni olarak bulunmuş ve bu allel sterode direnç oluşturarak FSGS histopatolojik tabloya yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca bu sonuçlar steroid dirençli nefrotik sendrom tedavisinde anti-MIF antikorlarının kullanımını tartışmaya açmıştır.

BÖBREK TAŞI HASTALARINDA BİKÜNİN GEN ÇOKYAPILILIĞI VE MUTASYON TARAMASI

M. İĞCİ¹, A. ARSLAN¹, B. GÖGEBAKAN¹, Y. Z. İĞCİ¹, S. ERTURHAN².

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi

¹Tıbbi Biyoloji AD

²Üroloji AD, GAZİANTEP.

Böbrek taşı, %70-80'i CaOx kristallerinden kaynaklanan yaygın bir hastalıktır. Taş oluşumu çok sayıda faktörün etkili olduğu karmaşık bir olay olup CaOx kristallerinin çekirdeklenmesi, büyümesi, kümelenmesi, renal tübüllerde tutulumu sonucunda gerçekleşir. Ancak normal idrar kristalizasyona izin vermeyen doğal önleyiciler içermektedir. Bikunin böbrek taşı oluşumunun etkin bir önleyicisidir. Taş hastalarının idrarlarında sağlıklı bireylere nazaran düşük derişimde bikunin bulunduğu gözlenmiştir. CaOx'a maruz kalan renal epitel hücrelerin bikunin sentezini artırdığı görülmüştür. Bikunin idrardan izole edilmiş, kristal oluşumunun önlenmesinde rol oynadığı elektron mikroskopisi ile gözlenmiştir. Bu durum, bikunin proteininin yapısında veya üretilen protein miktarında meydana gelen bir düzensizliğin rol alabileceğini düşündürmektedir.

Bu açıdan bikunin yapısal ve özendirici (promoter) gen bölgelerinin genetik açıdan incelenmesinin, taş oluşumu ile ilişkilendirilmesinin önemli olduğu düşünülerek çalışma planlanmıştır. Klinik olarak CaOx taşı oluşturduğu görülen, 75 ailesel hikayeye sahip, 35 sporadik taş hastası ile 101 sağlıklı bireyden kan alınarak DNA elde edilmiştir. Bikunin yapısal ve özendirici gen bölgeleri 9 çift primer seti kullanılarak PCR-SSCP yöntemiyle taranmıştır. Özendirici gen bölgesinde, transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgesi olan İnit-2'de 3 farklı genotip tespit edilmiş, ancak; bulunan bu farklılığın fenotiple ilişkisi bulunamamıştır.

Bu çalışma bikunin geni için yapılan ilk çalışma olması nedeniyle literatüre önemli katkıda bulunacaktır. Gözlenen genotip ve fenotipler arasında ilişki bulunamamasında bikuninin uğradığı translasyon sonrası işlemlerin ve taş oluşumunu önlemede rol alan farklı proteinlerin varlığının önemi muhtemeldir. Bu çalışma bikunin geninin oldukça polimorfik olduğunu göstermekle beraber taş oluşum mekanizmasında etkin rol sahibi diğer proteinlerin de gen bölgelerinin çalışılması gerekliliğini ortaya koyarak çalışmanın devamına yön vermiştir.



IX. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi
24-27 Kasım 2005 / MANİSA

**VIII
İNDEKS**

A

A.A.OKTAY	P15					
A.ARSLAN	K08	P60	P75	P76	SB19	AG27
A.ARVAS	SB21					
A.B.TURHAN	P73	P75	P76			
A.BAŞARAN	K09	P40	P72	P74	P80	SB17
A.BERDELİ	AG01	AG26				
A.BISGIN	P41					
A.BİRDANE	SB17					
A.CURA	AG26					
A.Ç.ÖZKILIÇ	P62					
A.ÇAVUŞOĞLU	P09					
A.ÇENGEL	P58					
A.ÇEVİK TUFAN	P78	AG14	AG15			
A.ÇOLAK	P01	P85	AG17			
A.D.ŞANLIOĞLU	P66	AG05				
A.DİLSİZOĞLU	P63					
A.DURSUN	P35	P57				
A.ERKAN	P90					
A.EROĞLU	P23					
A.ESENDANACI	P28	P29	P30			
A.F.YILMAZ	SB20					
A.G.TOMATIR	P16	P17				
A.GÜVEN	P32					
A.İ.DAİ	P60					
A.İ.GÜZEL	P42	AG02				
A.KARABAY	P63	P64	P87	SB11		
A.KARAGÜZEL	K18	P23	AG20			
A.KARAKOÇ	P39					
A.KARAOĞLAN	AG17					
A.KART	SB01					
A.KÖKSAL	P16	P17				
A.M.BOZDAYI	SB08					
A.MENEVŞE	P03	P46	P79			
A.MORAL	K22					
A.ÖMER	P66					
A.ÖZAYDIN	P62					
A.ÖZÇİMEN	SB01					
A.ÖZET	SB05					
A.ÖZGÖZ	AG19					
A.PAZARBAŞI	P42					
A.R.TÜRKYILMAZ	SB08					
A.REYMOND	AG20					
A.S.DİLER	P81	P89				
A.SAKARYA	P26					
A.SEVİNÇ	P09					

A.STONLUTE	P87
A.SUNGUROĞLU	P11
A.ŞANLIOĞLU	P12 P41
A.T.TURGUT	AG18
A.TOYLU	AG10
A.TURANLI	P54
A.TÜRKMEN	SB12
A.U.URAL	AG24
A.WAİTE	SB06
A.Y.TURANLI	P52
A.YILDIZ	P64
A.YILMAZ	P46 P58

B

B.ALTINOK	P11
B.AYDINURAZ	AG15
B.AYDOĞAN	P09
B.BALCI PEYNİRCİOĞLU	SB06 SB16 AG03
B.BİLGİÇ	SB15
B.BRAILLARD	AG20
B.C.ROSIER	AG20
B.ÇIRAKOĞLU	K17
B.ERDAĞ	K15
B.GÖĞEBAKAN	P60 P76 SB19 AG27
B.GÜMÜŞ	P27
B.KALELİ	AG14
B.KARAÇAY	P12
B.KIRDAR	K01
B.KÜÇÜKARABACI	SB17
B.S.ŞAYLI	SB13
B.SÜRÜCÜ	P36
B.SÜSLEYİCİ DUMAN	SB18 SB21 AG04 AG06 AG09 P43
B.TALİM	SB16 AG03
B.TİMURALP	SB17
B.YILDIRIM	AG14

C

C.BRAHE	SB07
C.GÜNDÜZ	K11
C.N.SEMERCİ	AG14
C.ŞİMŞEK	P72 P74 SB09
C.TEKİN	P24
C.Y.BİLEN	SB20
C.YURDAYDIN	SB08
C.ZAFER	P20 P22
Ç.AYDIN	AG05

Ç.ÇİFTÇİ	P43			
Ç.ERESEN	P19			
Ç.KEKİK	P44	P45	SB04	
Ç.KOCAEFE	K21	P15	SB01	
Ç.YENİLMEZ	P40			
Ç.YEŞİLLİ	P35			

D

D.AKÇORA	P11				
D.ANDREASEN	AG20				
D.DAYANGAÇ	SB07				
D.DİNÇER	P55				
D.ERKOÇ	P91				
D.GEZEN AK	SB15	AG06			
D.GUMUCIO	SB06				
D.KARASARTOVA	P07				
D.KÖSEBAY	P02	P14			
D.KURU	P22				
D.SARGIN	P45	P48	P49	P50	SB04
D.TAŞTEMİR	P21				
D.TÜRKMEN	P03				
D.UÇKAN ÇETİNKAYA	K20				

E

E.A.ÇAKMAK	SB19					
E.ALMAYANLAR	P59					
E.ARSLAN	P18	P26	P28	P29	P30	P31
E.BALCAN	P67					
E.ÇİÇEK	SB10					
E.ÇULLU	P24	AG18				
E.DİKER	P02	P14				
E.DİRİCE	P66					
E.DURSUN	SB15	AG06				
E.EKER	SB15					
E.EKŞİOĞLU DEMİRALP	AG08					
E.ERDAL	AG08					
E.ERKEN	P53					
E.ETEM	AG07	AG11	AG23			
E.GÜL	P69	AG22				
E.GÜRTUNÇ	P42					
E.KALAY	AG20					
E.KARATAYLI	SB08					
E.OĞUZ	SB10					
E.ÖZDEMİR	AG22					
E.SAKALLI ÇETİN	SB14					
E.SERDAROĞLU	AG26					

E.TAŞKIN	P37
E.TERZİOĞLU	P41
E.ULUKAYA	K13
E.UZ	P65 SB14 AG21
E.UZGÖREN	AG16
E.YILMAZ	SB06
E.YURTCU	P03 P39 P46 P47 P68 P79 P90

F

F. KAYADAĞISTANLI	AG09 AG17
F.AKKABA	P71
F.AKTEPE	AG19
F.ALAGÖL	AG06
F.ARPACI	AG24
F.AYDIN	P49 P50 P52 SB13 AG16
F.ÇABUK	P35 P57
F.ÇELEBİ	P23
F.DİLMEÇ	P71
F.ENGİN	SB15
F.KAYA DAĞISTANLI	P70 P85
F.M.KOYUNCU	P31
F.OĞUZ	P50
F.ÖZERDEM	P16 P17
F.PAYDAK	P75 P91
F.S.OĞUZ	P44 P48 P49 SB03 SB04
F.SILAN	P20 P22 P55
F.SUNDLER	AG25
F.ŞAHİN	P07
F.T.ÖZGÜNEN	P42
F.Y.BEYAZTAŞ	AG22
FD.TIZIANO	SB07

G

G.BOZDOĞAN	P35
G.BULUT	P04 AG10
G.DEDEKARGINOĞLU	P62
G.G.CEYLAN	AG12
G.GEDİKOĞLU	SB03
G.GÖKÇE	AG22
G.GÜMÜŞ AKAY	P11
G.GÜNER	P09
G.HALİLOĞLU	AG03
G.HİÇSÖNMEZ	SB01
G.KANIGÜR	P61 P88
G.KARAHAN	P44 SB04
G.LÜLECİ	P12 P55
G.MARALCAN	AG13

G.ÖKTEN
G.UYANIK

P32 P33 P36 P37 P38
AG03

H

H.AK ÇELİK	AG01
H.AKIN	AG07
H.AKTUĞ	P84
H.ARIKOĞLU	P73 P75 P76
H.ASLAN	AG18
H.BAĞCI	K14 P34 P52 P54 SB20 AG14 AG15
H.Ç.SORKUN	P16 P17
H.Ç.ŞENTÜRK	SB12
H.DEMİRCİ	P47 P79
H.DEMİRHAN	P16 P17
H.DİKİCİ	P55
H.DİLEK	P05
H.EĞİLMEZ	P69
H.ELIAS	AG07 AG12 AG23
H.ERDEMYURTER	SB07
H.GÜRVİT	SB15
H.H.AYDIN	AG01
H.HATEMİ	SB18 AG04
H.KAHRAMAN	AG06
H.KASAP	P42 AG02
H.KAYHAN	SB08
H.KILIÇARSLAN	AG22
H.KOÇAK	P18 P31
H.KURT	P40 P72 P74
H.O.SERCAN	P10
H.ÖZDAĞ	K07
H.ÖZDEMİR	P73
H.ÖZDEN	P72 P74
H.ÖZER	P53
H.R.YILMAZ	P65 SB10 AG21
H.S.ŞEN	P81
H.SAVLI	SB01
H.Ş.ÇİFTÇİ	P81 P89
H.ŞAMLI	P05 AG13 AG19
H.TEMİZ	P28 P29 P30
H.TERZİ	P84
H.TOPALOĞLU	SB07 SB16 AG03
H.TOZKIR	P89 SB12
H.ULUCAN	P24
H.V.GÜNEŞ	P40 P72 P74 P77 P80 SB17
H.YÜCE	AG07 AG11 AG12 AG23

İ

İ.DEĞİRMENÇİ	P40	P72	P74	P77	P80	SB09	SB17
İ.DURAK	P11						
İ.KESER	P55						
İ.KOÇAK	P33						
İ.KÖKSAL	P12						
İ.ONARAN	P61						
İ.ÖZTÜRK	P20						
İ.SEÇKİNER	P35						
İ.SEZGİN	P01	AG22					
İ.TUNCER	AG02						
İ.YETKİN	P46	P47	P79				

J

J.ALTINIŞIK	P06
J.JPGİLLE	SB05

K

K.ALTAN	P35	
K.AYDOS	AG15	
K.CENGİZ	P34	P54
K.ÇİVİ	P72	P74
K.DEMİR	SB02	
K.M.YAZICIOĞLU	P22	
K.ÖZDİLLİ	SB03	
K.ÖZGÜNEN	AG02	
K.YÖRÜKOĞLU	AG19	

L

L.DERTSİZ	AG05
-----------	------

M

M.A.ERGUN	P03	P39	P46	P47	P68	P90	P58	P79
M.A.KURÇER	P71							
M.AKSOY	P91							
M.ARSLAN	P39							
M.ARVAS	P02	P14						
M.AŞÇI	P18							
M.ATABEY	P04							
M.AYDIN ÖZGÜR	P05							
M.BAHÇE	K12							
M.BAYKARA	P12							
M.C.ÜSTÜNER	P77	P80						
M.C.YAKICIER	SB02							
M.C.YENEN	SB05							
M.CALAPOĞLU	P51							
M.CENGİZ	P56	P62						

M.Ç.TERЕК
 M.ÇARİN
 M.ÇETİN
 M.DEDE
 M.DENİZ YILMAZ
 M.DİKMEN
 M.EMRE
 M.GÜRTEKİN
 M.H.ŞATIROĞLU
 M.İĞCİ
 M.K.BALCI
 M.K.ÖZER
 M.KASAP
 M.KORKMAZ
 M.ONBAŞIOĞLU
 M.ÖZGÜÇ
 M.ÖZTÜRK
 M.R. DEMİRKOL
 M.SAKIZLI
 M.SOLAK
 M.SOYÖZ
 M.ŞAHİN
 M.TAŞPINAR
 M.TUNCER
 M.TUNÇDEMİR
 M.TURGUT
 M.ULUĞ
 M.ÜLKER
 M.WATTENHOFER
 M.YILMAZ

P84
 P44 P45 P48 P49 P50 P81 P89 SB03 SB04 SB12
 SB01
 SB05
 AG13
 P40
 SB15
 P81 P89 SB04 SB12
 AG15
 SB19 AG27
 P66
 SB10
 P42 AG02
 P83 SB13 AG16
 P42
 P15
 K02 P02 P14 P70 P82 P85 SB18 AG04 AG08 AG09
 P01
 P08 P09 P10
 P05 AG13 AG19
 P51
 P67
 P07
 SB01
 P82 P85 AG17
 P24 P84 AG18
 SB21
 P41
 AG20
 P39 P46 P47

N

N.AKPOLAT
 N.ALTINTAŞ
 N.ATA
 N.ATABEY
 N.BUYRUK
 N.ÇAKIR
 N.ÇİLENGİR
 N.ELÇİOĞLU
 N.ERCİYES
 N.ERENSOY
 N.FOWLERJAEGER
 N.GÜNAL
 N.KARA
 N.KORKMAZ

AG11
 P18 P25 P26 P27 P28 P29 P30 P31
 SB17
 K05 AG10
 P06
 P39
 P16
 P61
 P23
 AG06
 AG20
 P37
 P32 P33 P36 P37 P38 P52 P54 SB20
 P86

N.L.ŞATIROĞLU-TUFAN	P78	AG14	AG15
N.ÖZCAN	AG02		
N.ÖZÇELİK	P51	P65	SB10 SB14 AG21
N.ÖZKAYIN	AG26		
N.ÖZTÜRK	AG08		
N.RICHARD	SB06		
N.ŞAHİN CALAPOĞLU	P51	AG20	
N.ŞENTÜRK	P52	P54	
N.VAROL	P11		

O

O.ALTUNGÖZ	P08		
O.BİLGİN	P84		
O.DEMİRHAN	P21		
O.GÖKALP	SB10		
O.Y.ATAMAN	SB13	AG16	
O.YUNUS	P26		

Ö

Ö.GEÇER	P83		
Ö.HATIRNAZ	SB01		
Ö.ÖZBUDAK	AG05		
Ö.ÖZDEMİR	P69		
Ö.SEZER	P32	P33	P36 P38
Ö.ŞİMŞEK	P10		

P

P.ÇAĞATAY	P14	P43	P02	SB18	AG04
P.DİNÇER	SB16	AG03			
P.E.SCHANER	SB06				
P.KAYA	AG24				
P.KOŞAR	SB14				
P.ÖZKAL	P11				
P.W.BAAS	P63	P87	SB11		

R

R.AŞÇI	SB20		
R.ATALAY	K06		
R.CAYLAN	AG20		
R.GÜNEŞAÇAR	P53		
R.K.ÖZGÜL	K04		
R.ÖZYÜREK	AG01		
R.TANAKOL	AG06		
R.YALÇIN	P58	P90	
R.ZHDANOV	K08		

S

S.BAKIRDERE	SB13	AG16
-------------	------	------

S.BEŞİŞİK	P45	P48	SB04
S.BOLKENT	AG25		
S.BOZDOĞAN	P35	P57	
S.CİNGÖZ	P08		
S.ERDOĞAN	AG18		
S.ERTURHAN	SB19	AG27	
S.GÖKÇEN	P56		
S.GÜNEŞ	P32	P33	P36 P37 P38 P52 P54 SB20
S.HACIHANEFİOĞLU	P22		
S.K.BEŞİŞİK	P49		
S.KALAYOĞLU	P50		
S.KALENDER	P77		
S.KALKAN	AG07		
S.KAPLAN	AG18		
S.KIZILDAĞ	P09	P10	
S.MENEVŞE	P58	P59	
S.MİR	AG26		
S.OĞUZKAN	P60		
S.ÖRENAY	P18	P25	P26 P27 P28 P29 P30 P31
S.ÖZŞENER	P84		
S.ÖZTÜRK	P55		
S.R.ANTONARAKİS	AG20		
S.ŞANLIOĞLU	K19	P12	P41 P66 AG05
S.TEKİN	P31		
S.TEMURHAN	P50		
S.TÜREL	P18	P31	
S.TÜZÜNER	P41		
S.USLU	P84		
S.UZUNOĞLU	P86		
S.YILMAZER	SB15	AG04	AG06
S.YİĞİT	P32	P33	P34 P36 P38 P54

Ş

Ş.B.ÖZDAŞ	P61	P88	
Ş.BARUT	AG17		
Ş.D.DEVECİ	AG23		
Ş.GÖRÜCÜ	P60		
Ş.GÜRAN	P13	SB05	AG24
Ş.KORULU	P87	SB11	
Ş.KÜÇÜKÖDÜK	P37		
Ş.TURHAL	P37		
Ş.YILDIRIM	AG25		

T

T.ALAN	P17		
T.ALTUĞ	K16		
T.CANDA	P08		

T.ÇAĞATAY	AG08			
T.ÇAMLİBEL	SB21			
T.EKİCİ	P09			
T.ERTAN	SB15			
T.GÜVENÇ	AG18			
T.K.AYNA	P81	P89	SB12	
T.ÖZGEN	P32			
T.ULUTİN	K10	P06		

U

U.ARİCAN	P15
U.ERGÜN	P68
U.G.ARSLAN	P20
U.GÜNDÜZ	AG24
U.ŞAYLI	SB13

Ü

Ü.İNCEBOZ	P31
Ü.ÖZBEY	AG12

V

V.Ö.ÖZBEK	P19
-----------	-----

Y

Y.A.ÜNLÜ	P85	AG17				
Y.AÇIKGÖZ	P38					
Y.AKTAŞ	P18	P26	P27	P28	P30	P31
Y.ARISOY	P19					
Y.B.BAYTUR	P31					
Y.BEK	P52					
Y.BULUT	AG11					
Y.DEMİR	AG13					
Y.DUVARCI ÖĞRET	P49	P48	P50	SB03		
Y.KALENDER	P77					
Y.KILIÇ	P08	P09				
Y.ÖĞRET	P44					
Y.SERTDEMİR	AG02					
Y.SEYHUN	P45	SB04				
Y.TABEL	AG26					
Y.TUNCA	P13					
Y.Z.İÇCİ	SB19	AG27				

Z

Z.G.DİKMEN	K03
Z.ŞİMŞEK	P71
Z.ÜLGER	AG01