

22.

ULUSAL İMMÜNOLOJİ KONGRESİ

27-30 Nisan 2013
Radisson Blu Çeşme Oteli



Türk İmmünoloji Derneği

BİLDİRİ ve ÖZET KİTABI

www.ulusalimmunoloji2013.com



22.

ULUSAL İMMÜNOLOJİ KONGRESİ

27-30 Nisan 2013
Radisson Blu Çeşme Oteli



Türk İmmünoloji Derneği



2223

DÜZENLEME KURULU

KONGRE DÜZENLEME KURULU

(soyadına göre alfabetik sırayla)

Tunç AKKOÇ

Vedat BULUT

Günnur DENİZ

Emel EKŞİOĞLU DEMİRALP

Gaye ERTEN

Dicle GÜÇ

Haluk Barbaros ORAL

3

BİLİMSEL SEKRETERYA

Prof. Dr. Haluk Barbaros Oral

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İmmünoloji Bilim Dalı

Nilüfer, 16059 BURSA

Tel : 0 224 295 41 14

Faks : 0 224 295 41 49

E-mail: oralb@uludag.edu.tr

www.turkimmunoloji.org.tr

ORGANİZASYON SEKRETERYASI

Dilan Tourism Group

Cengiz Topel Mah. Özden Sokak

Umut-2 Apt. No:26 D:6

34337 Etiler - İSTANBUL

Tel : 0 212 257 86 67

Faks : 0 212 265 54 74

www.dilan.com.tr

E-mail: serdar@dilan.com.tr



DESTEKLEYEN KURULUŞLAR

Kongremize katkıda bulunan firmalara teşekkür ederiz.

Altın Sponsorlar



BD - Becton, Dickinson and Company



GENOMİKS YAŞAM BİLİMLERİ San. ve Tic. Ltd. Şti.



Qiagen / ATQ

EUROIMMUN 

Özmen Tıbbi Laboratuar Teşhisleri A.Ş. / EUROIMMUN TÜRKİYE

Gümüş Sponsorlar

(alfabetik sırayla)

Algen Diagnostik Medikal Ltd. Şti.
Beckman Coulter Turkey
Berk İlaç İthalat ve Pazarlama A.Ş.
BETAMED Tıbbi Malz.İth.İhr.Taah.San.Tic.Ltd.Şti.
Er-Kim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.
GlaxoSmithKline, Turkey
MAK Sağlık Ürün. Ltd. Şti.
MedSanTek® Lab.Malz.San.Tic.Ltd.Sti
Merck Serono
Molgen Biyoteknoloji Laboratuar Malzemeleri San. ve Tic. Ltd. Şti.
Onkogen Diagnostik Sistemler İlaç ve Sağlık Ürünleri San. ve Tic. Ltd. Şti.
Pera Medikal İhracat İthalat Tic. ve Ltd. Şti
R&D - ALBİO Kimyevi Maddeler İthalat ve Ticaret A.Ş.

Bronz Sponsorlar

(alfabetik sırayla)

Ata Diagnostik Ltd. Şti.
Basel Sağlık San. ve Tic. Ltd. Şti.
Bilgen Laboratuar Ürünleri San. Dış Tic. Ltd. Şti
Centurion Pharma
Dem İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Dr Fooke Tıbbi Malzeme Sağlık Sanayi Ve Ticaret Ltd. Şti.
Eczacıbaşı-Baxter
El-med Elektronik Medikal Sist. San. Tic. Ve Ltd. Şti.
Gen İlaç ve Sağlık Ürünleri
Gen Ova Medikal
Gensutek Medikal Ltd.Şti.
İstanbul Tıp Kitapevi
Medya Tower / Akademi Yayın Evi
MSD
Nobel Kitapevi
Onko İlaç San. ve Tic. A.Ş.
Pfizer Türkiye
Selen Medya (Klinik Tıp Aile Hekimliği Dergisi)
TURMED Tıbbi Malzemeleri Ltd. Şti.
Us Biyoteknoloji Araştırma ürünleri Ltd. Şti.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ 9

BİLİMSEL PROGRAM 11

SÖZLÜ SUNUMLAR 15

KONUŞMA ÖZETLERİ 19

SÖZEL BİLDİRİLER 79

POSTER BİLDİRİLER 89

DİZİN 135

ÖNSÖZ



Sayın Meslektaşlarımız,

Türk İmmünoloji Derneği'nin Uluslararası katılımlı XXII. Ulusal İmmünoloji Kongresi 27 - 30 Nisan 2013 tarihleri arasında Radisson Blu Çeşme Oteli'nde gerçekleştirilecektir.

Hastalıkların temelinde yatan mekanizmaların aydınlatılmasında immünoloji alanındaki gelişmeler çok önemli yer tutmaktadır. Temel ve klinik immünolojideki son gelişmelerin tartışılacağı kongremizde immünolojinin tüm alanlarının ve bu alanda hizmet veren sektörün bir araya getirilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca kongremizde immünoloji alanında çalışan uzman, asistan ve öğrencilere yönelik uygulamalı kurslar düzenlenecektir. İmmünoloji alanında çalışanları teşvik etmek amacıyla genç araştırmacılara derneğimiz ve çeşitli kuruluşlar tarafından kongre katılım bursu verilecektir. Kongremizin sizlerin orijinal çalışmalarıyla daha güçleneceği inancı içerisinde çalışmalarınızı ve katkılarınızı bekliyor, konusunda söz sahibi ulusal ve uluslar arası değerli bilim insanlarının immünoloji alanındaki son gelişmeleri bizimle paylaşacağı, araştırmacıların kendi çalışmalarını sunabileceği ve tartışabileceği bir platformda birlikte olmayı hedefliyoruz.

Bilimsel ve sosyal etkinlikleri ile güzel bir kongreyi birlikte paylaşmak üzere başarılı bir kongre geçirmenizi diliyoruz.

Sevgi ve Saygılarımızla,

Kongre Düzenleme Kurulu Adına
Prof. Dr. Günnur Deniz

BİLİMSEL PROGRAM

27 NİSAN 2013, CUMARTESİ

SAAT	SALON A	SAAT	SALON B	SAAT	SALON C
	Kurs 1: Akan Hücre Ölçer Kursu Kursu Düzenleyen: Akan Hücre Ölçer Alt Komitesi <i>Gülderen Yanıkkaya-Demirel, Emel Eksioğlu-Demiralp, Günnur Deniz</i> (Grup çalışmalarında tüm eğiticiler hazır bulunacaktır)		Kurs 2: Hücre Ayırma Teknikleri Kursu Düzenleyen: Günnur Deniz		Kurs 3: Otoimmün Hastalık Tanısında Otoantikörlerin Kullanımı Kursu Düzenleyen: İshak Özel Tekin
13:00 - 13:15	Açılış ve Genel Bilgilendirme Gülderen Yanıkkaya-Demirel	13:00 - 13:15	Hücre İzolasyonu Neden Gereklidir? Günnur Deniz	13:00 - 13:30	Otoantikör Tanımlama Yöntemleri Ferah Budak
13:15 - 13:35	Akan Hücre Ölçer Çalışma Prensipleri ve Kullanım Alanları Gülderen Yanıkkaya-Demirel	13:15 - 13:45	MACS Teknolojisi ile Hücre Separasyonu Dila Babat	13:30 - 14:00	Anti-Nükleer Antikörler Hüseyin Tutkak
13:35 - 14:05	İmmünofenotipleme Nedir, Nasıl Yapılmalıdır? Günnur Deniz	13:45 - 14:15	Antijen Spesifik Sitokin Salgılayan Hücre Ayırımı Mübeccel Akdiş	14:00 - 14:30	Anti-Nükleer Antikörlerin Klinik Kullanımı Haner Direskeneli
14:05 - 14:35	Monoklonal Antikör Seçimi Emel Eksioğlu-Demiralp	14:15 - 14:30	Kahve Arası	14:30 - 14:45	Kahve Arası
14:35 - 14:50	Monoklonal Antikör Seçimi Uygulama (Grup Çalışması)	14:30 - 15:00	Sıçan Kemik iliği ve İnsan Diş Pulpasında Kök Hücre Tunç Akkoç	14:45 - 15:15	Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikörler (ANCA) Aytül Sin
14:50 - 15:20	Kahve Arası	15:00 - 15:30	İnsan Kök Hücre Ayırımı Esin Aktaş-Çetin	15:15 - 15:45	ASMA, LKM, AMA İshak Özel Tekin
15:20 - 15:50	Sistem Kalibrasyonu ve Optimizasyonu Gülderen Yanıkkaya-Demirel	15:30 - 16:00	Hücre Kültür Metodları Neşe Akış	15:45 - 16:15	Organ Spesifik Otoantikörler Nuray Gürel Polat
15:50 - 16:10	Sistem Kalibrasyonu ve Optimizasyonu Uygulama (Grup Çalışması)	16:00 - 16:30	Glomerüler Endotel Hücre İzolasyonu ve Karakterizasyonu Neşe Akış	16:15 - 16:30	Kahve Arası
16:10 - 16:40	Protokol ve Panellerin Oluşturulması Gülderen Yanıkkaya-Demirel	16:30 - 17:00	Kahve Arası		
16:40 - 17:10	Protokol ve Panellerin Oluşturulması Uygulama (Grup Çalışması)	17:00 - 17:30	FACSjazz, a New Generation of Cell Sorters Daniel Bitoun		
17:10 - 17:40	Analiz Aşaması Emel Eksioğlu-Demiralp	17:30 - 18:00	MoFlo XDP and MoFlo Astrios High-Speed Cell Sorter: Technology, Features and Applications Andreas Wicovsky	16:30 - 19:00	Uygulama Mikroskop Eşliğinde İndirekt İmmün Floresan Antikör Preparatlarının Değerlendirilmesi
17:40 - 18:10	Analiz Uygulama (Grup Çalışması)	18:00 - 18:30	FACS Aria Uygulamaları Günnur Deniz		
18:10 - 18:20	Rapor Oluşturma Gülderen Yanıkkaya-Demirel	18:30 - 19:00	Genel Değerlendirme ve Sertifikaların Dağıtılması		
18:20 - 19:00	Örnek Raporlar Oluşturulması (Grup Çalışması)				
19:00	Program Bitimi ve Sertifikaların Dağıtılması			19:00	Program Bitimi ve Sertifikaların Dağıtılması

28 NİSAN 2013, PAZAR

12

SAAT	SALON A	SALON B
08:00 - 09:15	Açılış Töreni - Primer immün yetmezliklerin dünü, bugünü - Özden Sanal - Emeklilik Töreni - Dia Gösterisi - Günnur Deniz	
09:15 - 10:15	Açılış Konferansı Oturum Başkanları: Günnur Deniz İmmün tolerans mekanizmaları ve doku hücrelerinin rolü - Cezmi Akdiş	
10:15 - 10:30	Kahve Arası	
10:30 - 11:30	Doğal İmmün Yanıt Oturum Başkanları: Olcay Yeğin, Cezmi Akdiş - Doğuştan bağışıklık, Toll-benzeri algaçlar ve ötesi - Şefik Alkan - Aşı ve anti-kanser uygulamalarda Toll benzeri algaçların etkisi - İhsan Gürsel	
11:30 - 12:30	Sözlü Sunumlar Oturum Başkanları: Şefik Alkan, Mübeccel Akdiş	
12:30 - 13:30	Uydu Sempozyum - Genomiks Yaşam Bilimleri - High quality reagents for clinical flow cytometry - Jesper Kühnau 	
13:30 - 14:00	Uydu Sempozyum - EUROIMMUN  - Automation of IFT: incubation, pattern evaluation and image recording Fully integrated in flexible laboratory management software - Peter Vogt	
14:00 - 16:00	Öğle Yemeği - Sosyal Faaliyet	
16:00 - 17:30	Edinsel İmmün Yanıt Oturum Başkanları: Onur Boyman, Vedat Bulut - Lenfositlerin canlılığı için gerekli IL7R geninin kontrol mekanizması - Batu Erman - Th17 hücreleri - Ayten Nalbant - Helikobakter-spesifik regülatör B (Hsps-Breg) hücrelerinin karakterizasyonu ve mide immünopatolojisindeki rolleri - Ayça Sayı-Yazgan	Transplantasyon İmmünolojisi Oturum Başkanları: Emel Ekşioğlu-Demiralp, Ali Şengül - Transplantasyon öncesi immünolojik hazırlık ve değerlendirme - Bilkay Baştürk - Yüksek riskli hastalarda immünolojik yaklaşım - Ali Şengül - Transplantasyon sonrası immünolojik takip ve risk yönetimi - Uğur Muşabak
17:30 - 18:00	Kahve Arası	
18:00 - 19:30	Tümör İmmünolojisi Oturum Başkanları: Dicle Güç, Güneş Esendağlı - Kanserinin immün kaçışında kostimülasyon düzenisizlikleri - Güneş Esendağlı - NLRP7 ve tümörlere immün tolerans - Nesrin Özören - Systemic delivery of antigen encoding mRNA: implications for cancer immunotherapy - Mustafa Diken	Tolerans ve Otoimmünite Oturum Başkanları: Tunç Akkoç, Haner Direskeneli - Otoinflamasyondan otoimmüniteye geçiş - Haner Direskeneli - Lupus patogenezinde yenilikler - Ömer Nuri Pamuk - Biyolojik ajanlar ve immünojenisite - Servet Akar
20:00 - 23:00	Açılış Kokteyli  Poster Sunumları Oturum Başkanları Ferah Budak, Ayça Sayı-Yazgan Ali Şengül, Esin Aktaş-Çetin Mustafa Yılmaz, Şebnem Kılıç Ayşe Altıntaş, Güher Saruhan-Direskeneli Fulya Coşan, Uğur Muşabak, Batu Erman, Hüseyin Sarıbaşak, Güneş Esendağlı, Bilkay Baştürk, Tunç Akkoç, İhsan Gürsel,	

29 NİSAN 2013, PAZARTESİ

SAAT	SALON A	SALON B
08:00 - 09:00	DOI Konferansı Oturum Başkanı: Barbaros Oral - Sitokin immünoterapisi - Onur Boyman	
09:00 - 10:30	Allerji Oturum Başkanları: Işıl Berat-Barlan, Cansın Saçkesen - Yeni aşı uygulamaları ve tolerans mekanizmaları - Mübeccel Akdiş - Triptofan-kinürenin yolağı ve besin allerjileri - Cansın Saçkesen - Atopik dermatitte doğal öldürücü hücrelerin yeri - Günnur Deniz	Enfeksiyon İmmünolojisi Oturum Başkanları: Barbaros Oral, Esin Aktaş-Çetin - Immunity to Plasmodium parasites - Cevayir Çoban - Tüberküloz immünolojisi - Esin Aktaş-Çetin - Bakterilerin bağışıklık sistemi - Neşe Akış
10:30 - 11:00	Kahve Arası	
11:00 - 12:30	Sözel Bildiriler Oturum Başkanları: Olcay Yeğin, İhsan Gürsel	
12:30 - 14:00	Türk İmmünoloji Derneği Toplantısı	
14:00 - 15:30	Öğle Yemeği - Sosyal Faaliyet	
15:30 - 17:00	İmmünolojik Hedefe Yönelik Yeni Tedavi Ajanları Oturum Başkanları: İshak Özel Tekin, Mayda Gürsel - Yeni biyolojik ajanların klinikte kullanımı - Fulya Coşan - İnflamatuvar deri hastalıklarında hedefe yönelik tedaviler - Nilgün Atakan - Bakteri kökenli membran keseciklerinin immün sistem üzerindeki etkileri - Mayda Gürsel	İmmün Yetersizlikler Oturum Başkanları: Mustafa Yılmaz, Özden Sanal - Konjenital nötropeniler-Hax1 eksikliği - Şebnem Kılıç - Kompleman eksiklikleri-C3 eksikliği - İsmail Reisli - Kombine immün yetersizlikler - Aydan İkinçioğulları
17:00 - 17:30	Kahve Arası	
17:30 - 19:00	Bağışıklama Oturum Başkanları: Yıldız Camcıoğlu, Selim Badur - Grip aşısı gerekli bir uygulama mıdır? - Selim Badur - Primer immün yetersizliklerde aşı yanıtının değerlendirilmesi - Işıl Berat-Barlan - Transplant alıcılarında bağışıklama - Şükran Köse	Nöroimmünoloji Oturum Başkanları: Güher Saruhan-Direskeneli, Ayşe Altıntaş - Laboratuvarın kliniğe aquaporin-4 su kanalı ve santral sinir sisteminin ilk otoimmün kanaloopatisi: nöromyelitis optica (NMO) - Ayşe Altıntaş - Deneysel Musk ve AchR myasthenia gravis modellerinde fizyopatolojik mekanizmalar - Erdem Tüzün - Myasthenia gravis otoantikor yanıtının düzenlenmesi - Güher Saruhan-Direskeneli
20:30	Gala Yemeği 	

30 NİSAN 2013, SALI

SAAT	SALON	SALON B
08:30 - 09:30	Konferans Oturum Başkanı: Cezmi Akdiş - Biomarkers and mechanism of vaccine adjuvants - Ken Ishii	
09:30 - 10:30	İmmünolojide Yeni Kavramlar Oturum Başkanları: Neşe Akış, Gaye Erten - Ekspozom kavramı ve immün sistem - Ferah Budak - DNA polimeraz zeta (ζ)'nin immünoğlobülin değişken bölgelerindeki tandem mutasyonlara katkısı - Hüseyin Sarıbaşak - Kan beyin bariyeri immünolojisi - Mehmet Kaya	
10:30 - 11:00	Kahve Arası	
11:00 - 13:00	İmmünolojide Son Yenilikler Oturum Başkanları: Bilkay Baştürk, Ahmet Gödekmerdan - Ağır metallerin immün sisteme etkileri - Ahmet Gödekmerdan - Rutin immünoloji laboratuvarında tanısal amaçlı yapılan yeni testler - Handan Akbulut - Gebelik immünolojisinde son gelişmeler - Fulya İlhan	
13:00 - 13:30	Genel Değerlendirme ve Kapanış	
13:30 - 14:30	Öğle Yemeği ve Otel'den ayrılış	

SÖZLÜ SUNUMLAR



28 Nisan 2013

11:30 – 12:30

Oturum Başkanları: Şefik Alkan, Mübeccel Akdiş

S-001

Ref. No: 142

Nükleik Asit İçeren TLR Ligandları ile Birlikte Antijen Yüklü Nano-Lipozomların Uzun Süreli Etkili Kanseri Aşısı Olarak Kullanımı

Banu Bayyurt

S-002

Ref. No: 129

Polisakkarit-TLR Ligand Nanokomplekslerinin İmmünöterapötik Uygulamaları

Gizem Tinçer

S-003

Ref. No: 99

Mezenkimal Kök Hücrelerin Dendritik Hücre İmmün Modülasyonu Üzerine Etkisi

İsmail Öğürlü

S-004

Ref. No: 61

Mikrovasküler endotel hücrelerin Toll-Benzeri Reseptör 3 Ligandıyla Uyarımı, Anti-Endotelitoksik immün Yanıtları Baskılar

S Altuğ Kesikli

S-005

Ref. No: 152

İnterlökin-33 ün J774.1 Makrofaj Hücre Hattında CCL22 ve İP-10 Kemokinlerinin Üretimleri Üzerine Etkileri

Handan Aksoy

S-006

Ref. No: 58

TNF-α ile İndüklenen PAI-1 mRNA Ekspresyonu ve Serum Seviyesinin Metabolik Sendrom Üzerine Etkisi

Banu Bayyurt

29 Nisan 2013

11:00 – 12:30

Oturum Başkanları: Olcay Yeğin, İhsan Gürsel

S-007

Ref. No: 156

Regulation of A20 Gene Expression by miRNA in Endothelial Cells Exposed to High Concentration of Glucose

İrem Esendemir

S-008

Ref. No: 13

Hepatit B Virüs E Antijeninin Dendritik Hücrelerin Farklılaşmasına Olan Etkisinin İncelenmesi

İbrahim Hatipoğlu

S-009

Ref. No: 21

Nöroenflamasyona Bağlı Rejeneratifneurojenez Mekanizmaları ve Merkezi Sinir Sistemi Rejenerasyonu

Çağhan Kızıl

S-010

Ref. No: 54

Behçet Hastalarında BTLA Gen Polimorfizminin Tanımlanması

Yasin Çetin

S-011

Ref. No: 55

NMU Aracılı Meme Kanseri Modelinde Myeloid Kökenli Baskılayıcı Hücrelerin Tanımlanması

Yusuf Dölen

S-012

Ref. No: 37

Meme Kanseri Hücrelerinin Miyeloid Hücre Farklılaşması Üzerine Etkisi

Gürcan Tunalı

S-013

Ref. No: 76

Kanserle İlişkili Fibroblastların Tümörün İmmün Kaçış Mekanizmalarındaki Fonksiyonel Rollerinin, Sıçan Kimyasal Meme Kanseri Modelinde Araştırılması

Gürcan Günaydın

S-014

Ref. No: 47

Kolorektal Kanserler İçin Yeni Bir Prognostik Biyobelirteç Olan Bir Doğal Bağışıklık Ligandı

Barış Emre Dayanç

S-015

Ref. No: 33

Meme Kanseri Hücrelerinde B7 Kostimülatör Ailesi Moleküllerinin Ekspresyonu ve Yardımcı T Hücre Yanıtlarına Etkisi

Pınar Karaşar





KONUŞMA ÖZETLERİ



ROLE OF TISSUE CELL RESPONSES IN CHRONICITY AND SEVERITY IN ALLERGIC DISEASES

Cezmi A. Akdis

Swiss Institute of Allergy and Asthma Research (SIAF), Davos, University of Zurich, Switzerland

Immune system is a highly interactive networking, which makes its decisions on the basis of input from all tissues, infections, normal flora bacteria and many or even any environmental agents. General rules of immunity versus tolerance as well as co-evolutionary development applies to allergen-specific immune response, because rules for regulators and effectors has probably been developed in a co-evolutionary manner with helminths, mites, insect venoms, foods and other allergens¹⁻⁷

In chronic allergic inflammation, dermis in the atopic skin and submucosa in the asthmatic lung turn into a lymphatic organ like organization, where professional dendritic cells, T cells, B cells and innate lymphoid cells contact each other and a second step of antigen-presentation, activation and inflammation takes place in the inflamed tissue. Several essential tissue events play a role in immune tolerance to allergens. Basement membrane (lamina reticularis) thickening, allergen-specific secretory IgA can be listed as tissue events that try to keep the allergens away from submucosal immune system cells (**keep away effects**). There is clear evidence that lamina reticularis thickening starts very early in asthma, even at the time of first diagnosis, suggesting that a barrier between activated epithelium or mucosal allergens and inner tissues i.e. immune system cells occurs with the aim of down-regulation of the allergen-induced inflammatory response^{8,9}. Airway eosinophilia and angiogenesis were also observed in asthmatic children and atopic children who did not develop clinical asthma, suggesting that pathologic changes occur early in asthma. The efforts of the immune system, epithelial cells and lung fibroblasts to increase lamina reticularis thickness might be indeed aiming to make a mechanical barrier between the allergens (mites and pollens) and the submucosal immune system. These mechanisms resemble features of immune response to chronic helminth infections in order to decrease antigenic burden of the helminths and mechanically keep them away from tissues. For example, keeping them in fibrous sacks etc. As a part of remodelling, increases in airway smooth muscles occur in children with chronic inflammatory lung diseases that include CF and asthma¹⁰.

Epithelial-cell activation followed by apoptosis (activation-induced cell death) seems to be one of the hallmarks of visible pathology both in asthma and atopic dermatitis^{9,11}. It involves two stages. First, activation of epithelial cells and release of chemokines and pro-inflammatory cytokines take place (pro-inflammatory stage)¹². This is followed by eventual death of keratinocytes and bronchial and sinus epithelial cells, which leads to desquamation of dead epithelial cells in asthma, spongiosis in eczema. However, it may play an anti-inflammatory role because the highly active and

proinflammatory epithelial cell dies and its contacts with the inner tissue is physically broken and its contribution to inflammation does not exist anymore. Basal epithelial cells are protected from epithelial apoptosis in asthma and atopic dermatitis, full recovery occurs.

Bronchial epithelial cell shedding, mucus production, ciliary movements, cough represent mechanisms regulated by the immune system, which attempt to decrease the amount of allergen exposure (**wash away effect**) and may play a role in decreasing the allergen burden.

Epithelial Tight junctions (TJ) consist of different transmembrane and scaffold adaptor proteins and form the most apical intercellular junction between epithelial cells¹³. **Epithelial barrier function** of keratinocytes in the skin of atopic dermatitis patients, bronchial epithelial cells in the asthmatic lung and sinus epithelial cells in the sinus tissue of chronic rhinosinusitis patients have been demonstrated to be defective¹⁴⁻¹⁷. These studies suggest that tissue integrity is disturbed in patients and allergens, bacterial toxins and other particles are able to penetrate the epidermis and the lung epithelium, where they may activate the immune system leading to severe chronic inflammation in both diseases. Therefore, paracellular sealing of keratinocytes and bronchial epithelial cells appears to be very important to prevent the infiltration

Proposed roles of tissues in immune regulation and chronicity in asthma, atopic dermatitis and chronic rhinosinusitis

- Continuous low level of tissue inflammation takes place during remissions, which increases during exacerbations
- Prevention of basal epithelial cell death from apoptosis (full epithelial recovery occurs, when submucosal inflammation is suppressed)
- Apoptotic cell death of highly activated suprabasal epithelial cells is the mechanism of eczema/spongiosis and epithelial shedding
- Drainage of inflammation to mucosal lumen by opening of tight junctions
- Drainage of inflammation by lymphatic vessels
- Suppression of submucosal inflammation by various regulatory cell subsets, Treg cells, Breg cells, regulatory DC, regulatory NK cells etc.
- Continuous angiogenesis and remodeling of tissue cells
- Basement membrane (Lamina reticularis) thickening takes place in asthma to make a physical barrier between disease-inducing factors (allergens/environment) and cells of the immune system
- ILCs exist in mucosal surfaces and may play an essential role not only in immune effector processes, but also in regulation of tissue responses.

of the subepithelial tissues by factors that induce allergic inflammation. They are responsible for the regulation of paracellular flux and epithelial impermeability. In addition, they prevent foreign particles, such as allergens, to enter into subepithelial layers. In contrast, opening of TJs can lead to drainage of inflammatory cells towards the lumen, supporting the resolution of phlogistic processes. Consequently, they can be considered as gatekeepers that could contribute both to aggravation of inflammation related tissue damage or resolution of inflammation via drainage. Treg cells and Th2 cells efficiently contribute to the opening/closing and regeneration of epithelial cells (two manuscripts in preparation). In conclusion, the balance between inflammation inducing factors, keep away factors, wash away factors and suppression factors plays a decisive role in the remission, exacerbation and chronicity of allergic inflammation.

REFERENCES

1. Akdis, C.A. Therapies for allergic inflammation: refining strategies to induce tolerance. *Nat Med* **18**, 736-749 (2012).
2. Akdis, M., Palomares, O., van de Veen, W., van Splunter, M. & Akdis, C.A. T(H)17 and T(H)22 cells: A confusion of antimicrobial response with tissue inflammation versus protection. *J Allergy Clin Immunol* **129**, 1438-1449 (2012).
3. Akdis, M., et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon-gamma: receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol* **127**, 701-721 e701-770 (2011).
4. Akdis, M. Healthy immune response to allergens: T regulatory cells and more. *Curr Opin Immunol* **18**, 738-744 (2006).
5. Akdis, C.A., Blaser, K. & Akdis, M. Apoptosis in tissue inflammation and allergic disease. *Curr Opin Immunol* **16**, 717-723 (2004).
6. Akdis, M. & Akdis, C.A. Therapeutic manipulation of immune tolerance in allergic disease. *Nat Rev Drug Discov* **8**, 645-660 (2009).
7. Akdis, C.A., Akdis, M., Trautmann, A. & Blaser, K. Immune regulation in atopic dermatitis. *Curr Opin Immunol* **12**, 641-646 (2000).
8. Saglani, S., et al. Early detection of airway wall remodeling and eosinophilic inflammation in preschool wheezers. *Am J Respir Crit Care Med* **176**, 858-864 (2007).
9. Barbato, A., et al. Epithelial damage and angiogenesis in the airways of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* **174**, 975-981 (2006).
10. Regamey, N., et al. Increased airway smooth muscle mass in children with asthma, cystic fibrosis, and non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* **177**, 837-843 (2008).
11. Basinski, T.M., et al. Dual nature of T cell-epithelium interaction in chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol* **124**, 74-80 e71-78 (2009).
12. Klunker, S., et al. A second step of chemotaxis after transendothelial migration: keratinocytes undergoing apoptosis release IFN-gamma-inducible protein 10, monokine induced by IFN-gamma, and IFN-gamma-inducible alpha-chemoattractant for T cell chemotaxis toward epidermis in atopic dermatitis. *J Immunol* **171**, 1078-1084 (2003).
13. Mineta, K., et al. Predicted expansion of the claudin multigene family. *FEBS Lett* **585**, 606-612 (2011).
14. De Benedetto, A., et al. Tight junction defects in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* (2010).
15. Xiao, C., et al. Defective epithelial barrier function in asthma. *J Allergy Clin Immunol* **128**, 549-556 e541-512 (2011).
16. Soyka, M.B., et al. Defective epithelial barrier in chronic rhinosinusitis: The regulation of tight junctions by IFN-gamma and IL-4. *J Allergy Clin Immunol* (2012).
17. Kast, J.I., et al. The broad spectrum of interepithelial junctions in skin and lung. *J Allergy Clin Immunol* **130**, 544-547 e544 (2012).

DOĞUŞTAN BAĞIŞIKLIK, TOLL-BENZERİ ALGAÇLAR VE ÖTESİ

Şefik Şanal Alkan

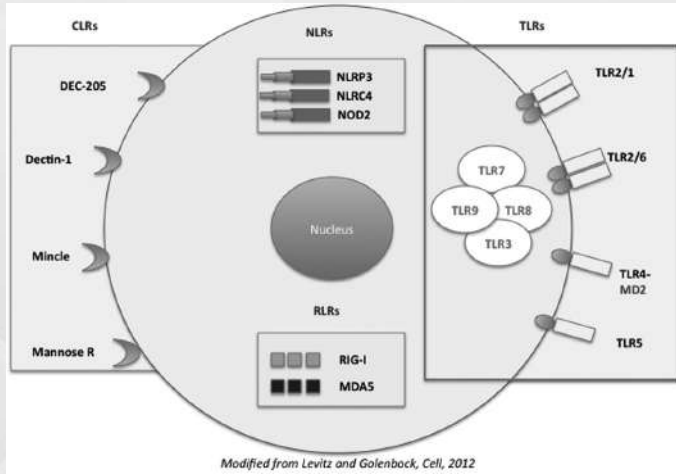
Alkan Consulting Basel, Switzerland.

*University of Medicine and Dentistry of New Jersey, RWJ Medical School,
Dept. Biochemistry and Molecular Biology, Piscataway, USA*

Doğuştan ya da doğal bağışıklık dizgesi, hücre yutma (phagocytosis), kompleman, mannoz tanıyıcı algaçlar (receptor), kurgulu hücre ölümü (apoptosis), ve hücre öldürme gibi, hepsi yabancıyı tanımaya ve yok etmeye yönelik mekanizmalar içerir. Son yıllarda keşfedilen 30'dan fazla "örgü tanıma algaçları" (pattern recognition receptors) 5 grupta toplanabilir:

1. Toll-benzeri algaçlar (TLRs)
2. NOD-benzeri algaçlar (NLRs)
3. RIG-I-benzeri algaçlar (RLRs)
4. C-tipi lektin algaçları (CLRs)
5. Diğer hücre içi nükleik asit algılayıcıları

Bu mikrop algılayıcıları (sensors) genelde, mikropların ortak yapılarını tanırlar. Doğal bağışıklık yanıtı, görece özgüllükten ve bellekten yoksundur. Bu bağışıklığın birinci özelliği çabukluk; ikinci özelliği ise, daha karmaşık korunma mekanizmalarını (edinilmiş bağışıklık yanıtlarını) başlatması ve yönlendirmesidir. Mikrop algılayıcıları, hücrenin zarında, endoplazmasında veya sitoplazmasında konuşlanmış olabilir. Şekil 1 algılayıcı moleküllerin hücredeki dağılımı göstermektedir.



Şekil 1. "Örgü tanıma algaçları" (PRR), ya da "algılayıcı moleküller" in hücre içi ve dışı dağılımı.

Toll benzeri algaçlar üzerindeki çalışmalar, TLR ailesine ait bir düzine molekülün bulunmasını sağladığı gibi, bağışıklık bilminde yeni bir çıkış açmış ve bu başarılar 2011 yılı Nobel ödülüyle taçlandırılmıştır (J Hoffmann, B Beutler, RM Steinman). Hücre zarında bulunan TLR'lar genellikle bakteri yapı taşlarını tanırlar. Yabancı RNA ve DNA'yı tanıyan TLR 3,7,8,9, endoplazma içinde bulunur. TLR'lar NF- κ B yolağını tetikleyip, MyD88, TIRAP and TRIF gibi aracı-moleküller yardımıyla IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF gibi sitokin salınımını sağlarlar ve CD80, CD86, and CD40 gibi yardımcı uyarıcı moleküllerin yapımını artırırılar.

Son yıllarda, birçok yeni doğal bağışıklık hücresi keşfedilmiştir. Doğal lenfoid hücreleri (innate lymphoid cells (ILCs) denilen bu hücrelere örnek olarak ILC1, ILC2, ILC17, ILC22 verilebilir. Doğal bağışıklık hücresi olsun olmasın vücudumuzdaki birçok hücre yukarıda 5 gruba ayırdığımız tanım algaçlarıyla donanmıştır. Örneğin deri, akciğer ve barsaklardaki epitel hücreleri, ya da böbrek, ve damar çeperindeki endotel hücreleri (ki bunların toplam yüzeyi binlerce metrekareyi bulmaktadır) işte bu algaçlar sayesinde korunabilmektedir. Her hücre çeşidi, kendine özgü bir TLR, NLR, CLR, RLR vb algaç karışımı ile donanmıştır ve bunlar sayesinde dışarıdan ya da içeriden gelebilecek her türlü yabancıyı erkenden sezebilmekte ve savunmayı başlatabilmektedir.

Doğal bağışıklığın yukarıda açıkladığımız donanımı ve edinilmiş bağışıklık üzerine olan etkisinin anlaşılması, günümüzde bulaşıcı hastalıklara ve kansere karşı koruyucu ya da sağaltım (therapeutic) amaçlı aşı geliştirmek için yepyeni ufuklar açmıştır.

AŞI VE ANTİ-KANSER UYGULAMALARINDA TOLL BENZERİ ALGAÇLARIN ROLÜ

**İhsan Gürsel, Gizem Tinçer, Fuat C. Yağcı, Tamer Kahraman,
Gözde Güçlüler, Banu Bayyurt, Defne Bayık, Arda Gürsel, Mehmet Şahin,
İhsan Dereli, Begüm Horuluoğlu, Işıl Çevik**

THORLAB, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilkent Üniversitesi, Bilkent 06800, Ankara

Mikrobiyal dünyaya ait ajanlar birçok toll benzeri algaçlara (TLR: toll like receptors) özgü ulakları (ligands) barındırmaktadırlar. Doğal bağışıklık hücreleri bu ligantlarla karşılaşınca, uyarılarak farklı sinyal yollarını başlatmaktadırlar. Hücre yüzeyinde (TLR1, 2, 4, 5, 6, 10, ve 11 gibi) ve endozomlarda ifade edilen TLR'lar (TLR3, 7/8, ve 9 gibi) farklı bağışıklık tepkilerine neden olmaktadır. Mikropların üzerlerinde (yada hücre içinde) bulundukları değişik TLR ulakları sayesinde bağışıklık hücrelerini simültane bir şekilde etkinleştirmesi, farklı sitokin ve kemokinlerin ortama salınmasına yol açması enfeksiyonu kontrol altına almaya katkı sağlar. TLR ulaklarının bu özelliklerinin anlaşılmasıyla immün terapide kullanımları çok önem kazanmıştır. Son yıllarda, TLR ulaklarını kullanarak, anti-kanser tedaviden, allerjiye, yeni aşı adjuvantlarından, immün koruyucu ajanların geliştirilmesine kadar geniş bir yelpazede klinik faz çalışmaları başlatılmıştır. Ancak bu faz çalışmaları, bazı ligantların *in vivo*'daki düşük kararlılıkları nedeniyle beklenen etkiyi oluşturmada yeterli başarıyı gösteremediklerini ortaya çıkarmıştır.

Vücuda verildikten sonra nükleazlar tarafından yıkılabilen, ya da proteinlere bağlanıp etkinsizleşebilen bazı kararsız (unstable) tek ya da çift sarmallı DNA veya RNA gibi TLR ulakları beklenen immünitenin oluşma düzeyini ciddi şekilde geriletebilmektedir. Bu molekülleri makrofaj, dend-

ritik veya B-hücreleri gibi fagositik karakterli hücrelere hedefleyerek, hem nükleazlarca yıkımlarını azaltıp, hem de proteinlere bağlanmalarını engelleyerek etkinliklerini artırmak yoğun araştırma konusudur. Uygun ve etkin depolama ile kontrollü salım ve hedefleme sistemleri kullanarak immün hücrelerine önce ajanların etkinliklerini kaybetmeden ulaşmaları, sonra da bu taşıyıcılardan kontrollü salımlarının hücre içine aktarılmasını sağlayacak nano-taşıyıcılar tasarlamak son yıllarda üzerinde uğraşılacak önemli konulardandır. Bu amaçla, bizim araştırma laboratuvarımızda da DNA ve RNA kökenli TLR ulaklarının *in vivo* ortamdaki etkinliklerinin arttırılmasına yönelik çok yönlü çalışmalar sürdürülmektedir.

Bu sunumumda değişik doğal nanotaşıyıcılara (lipozomlara, eksozomlara, dendrimerlere, nanoemülsiyonlara, polisakkarit nanokomplekslerine) antijenle birlikte TLR9 ulaklarının yanında ya TLR3, ya da TLR7/8 ulaklarını da yükleyebildiğimizi, bu nanotaşıyıcıları ilgili doğal bağışıklık hücrelerine ulaştırabildiğimizi ve aşı ya da anti-kanser uygulamalarında bu taşıyıcıların antijene özgü immüniteyi serbest ulaklara oranla çok daha üst düzeylerde geliştirebildiğimizi paylaşacağım. Bu yeni tasarımların aşı ile anti-kanser tedavilerinde etkinlikle kullanımlarının potansiyelini de tartışacağım.

BİTKİ BAĞIŞIKLIK SİSTEMİNDEN İNSANA: LENFOSİTLERİN CANLILIĞI İÇİN GEREKLİ IL7R GENİNİN KONTROL MEKANİZMASININ TALEN PROTEİNLERİ KULLANILARAK ÇALIŞILMASI

Batu Erman

*Biyolojik Bilimler ve Biyomühendislik Programı
Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Sabancı Üniversitesi Orhanlı, Tuzla, İstanbul*

Tlenfositler vücudumuzu bakteri ve virüslerden koruyan temel hücre tipidir. T lenfositler, plasma membranlarındaki almaçlar ile sinyaller hayatta kalırlar. Bu almaçlardan bir tanesi olan enterlökin-7 reseptörü (IL7R), enterlökin-7 proteini tarafından sinyallenmektedir. Timus organındaki T lenfosit gelişimi ve vücuttaki bağışıklık yanıtı sırasında, IL7R proteinini kodlayan genin ifadesi, sıkı bir denetim altında tutulur. Yanlış düzenlemeler sonucunda hayatta kalım sinyallerini uygunsuz bir şekilde alan hücrelerin lösemiye dönüşmeleri bu denetimin önemini anlatmaktadır. IL7R genindeki mutasyonlar, akut T lenfoblastik

lösemilere yol açmaktadır. Laboratuvarımızın hedeflerinden biri, IL7R gen kontrol mekanizmasını belirlemektir. Bu geni kontrol ettiğini belirlediğimiz transkripsiyon faktörlerinden Gfi1, GABPbeta, Notch ve NFkB üzerinde yürüttüğümüz deneylerin sonuçlarını paylaşacağız. Bitkilerde hastalığa yol açan Xanthomonas tipi bakterilerin salgıladıkları “transcription activator like-TALE” proteinlerinden yola çıkarak, yeni biyoteknolojiler kullanarak yarattığımız TALEN proteinleri ile insan hücrelerinin genomlarına spesifik olarak yerleştirdiğimiz mutasyonları ve bunların IL7R gen ifadesi üzerindeki etkilerini paylaşacağız.

TH17 T HÜCRELERİ

Ayten Nalbant

İzmir Teknoloji Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir

İmmünoloji alanında CD4⁺T hücrelerinin farklılaşması konusunda yeni ve heyecan verici bilgilerin elde edildiği bir dönem yaşanmaktadır. Yeni yardımcı T hücre efektör alt grupları tanımlanmaktadır. 2007 yılında CD4⁺T hücrelerinin IL-17 sitokini üreten yeni bir T hücre efektör alt grubu olan yardımcı T-17 (T helper 17: Th17) hücreleri bulunmuştur. Th17 hücrelerinin konak immün yanıtına olan katkıları henüz araştırılmakta birlikte, bu hücrelerin Romatoid Artrit, Sedef Hastalığı, Crohn Hastalığı ve Multiple Sclerosis gibi patolojilerde rol oynadığı ileri sürülmektedir.

Farede Th17 farklılaşmasında rol oynayan mekanizmalar daha detaylı olarak bilinmesine rağmen, insanda farklı

kökenlerden gelen CD4⁺T hücrelerinden Th17 fenotipini oluşturmak için gerekli olan faktörler üzerine olan çalışmalar halen devam etmektedir. T hücre farklılaşmasında sitokinler, transkripsiyon faktörleri gibi oyuncuların yanında mikroRNA gibi düzenleyici moleküllerin de etkili olması söz konusudur. İndüklenen ya da baskılanan mikroRNA'ların T hücrelerinin farklılaşmasında rol oynayan anahtar transkripsiyon faktörlerini ya da diğer genleri regüle etmeleri olasıdır. Sunum kapsamında CD4⁺T hücrelerinde son gelişmeler özetlendikten sonra, Th17 Farklılaşması ile ilgili projemizden laboratuvarımızda elde ettiğimiz veriler tartışılacaktır.

HELİKOBAKTER-SPEŞİFİK REGÜLATÖR B (HSPS-BREG) HÜCRELERİNİN KARAKTERİZASYONU VE MİDE İMMÜNOPATOLOJİSİNDEKİ ROLLERİ

Ayça Sayı Yazgan

İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

H*elicobacter pylori* (*H.pylori*), insanlarda mide kanserine neden olan risk faktörlerinin başında gelmektedir. Türkiye'nin de dahil olduğu gelişmekte olan ülkelerde bireylerin %80'i *H.pylori* ile enfekte durumdadır. Ancak, enfekte bireylerin sadece %20'si gastrit, ülser veya mide kanseri gibi gastrik komplikasyonlar göstermektedir (1). *H. pylori* enfeksiyonunun patogenezi hücre kültürü deneyleri ve fare modelleri kullanılarak aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Fare modellerinde, *H. pylori*'nin yanı sıra onunla aynı aileden olan ve farelerde immünojenliği daha yüksek olan *Helicobacter felis* (*H.felis*) yaygın şekilde kullanılmaktadır. C57BL/6 fare modellerinde *Helicobacter*'in kronik enfeksiyonunun pre-neoplastik patolojiyi tetiklediği gösterilmiştir (histolojik olarak mide atrofisi, pit hücre hiperplazisi ve intestinal metaplazi ile karakterize). Pre-neoplastik patoloji, sadece enfeksiyon tarafından değil (örneğin 'bakteriyel onkoprotein' olarak davranan *Helicobacter* virulans faktörleri aracılığıyla), aynı zamanda lokal CD4⁺ efektör T yardımcı 1 hücrelerince (Th-1) üretilen **interferon-g** aracılığıyla oluşur (2).

Helicobacter- enfekte farelerde, T efektör hücreler, T regülör hücrelerinin (Treg) sıkı kontrolü altındadır. Treg'lerin eliminasyonu mide patolojisini kötüleştirir (3). Treg hücre grubunun yanı sıra, yakın zaman önceki çalışmamız *Helicobacter* -asosiyede mide patolojisinin baskılanmasında *Helicobacter* -aktif B hücrelerinin (*H_{sps}*-Breg) regülör rolünü göstermiştir. Dalaktan izole edilen B hücrelerinin Toll-benzeri reseptör-2 (TLR-2) ligandı içeren *H. felis* ile uyarılması, IL-10 üreten B hücre alt grubunu (*H_{sps}*-Breg) uyarmaktadır. Uyarılan *H_{sps}*-Breg hücre grubu, naif T hücrelerinin IL-10 üreten CD4⁺CD25⁺ T regülör-1 (Tr-1) hücrelerine farklılaşmasını sağlayarak, *Helicobacter*- kaynaklı gastrik patolojiyi *in vivo* ve *in vitro*'da baskılamaktadır (4). Son yıllarda, Breg hücre popülasyonunun otoimmün hastalıklardan kronik bağırsak hastalıklarına ka-

dar uzanan çeşitli hastalıklarda immün regülör olarak rol aldıkları belirtilmiştir. Treg'lerin aksine Breg'lerin özellikleri ve nasıl fonksiyon gösterdikleri ile ilgili bilgimiz çok sınırlıdır. Bu hücre gruplarının şimdiye kadar tanımlanan ortak özelliği anti-inflamatuvar bir sitokin olan interlökin-10 (IL-10) üretmeleridir. Bunun dışında, birçok regülör B hücre alt grubu farklı hastalık modellerinde önemli regülörler olarak tanımlanmıştır. İndüklenmiş artrit, kolit ve kontakt hipersensitivite fare modellerinde olmak üzere sırasıyla, T2-marjinal zon prekürsör B hücre, marjinal zon B hücre ve CD1d^{yüksek}CD5⁺ B hücre alt gruplarının regülör rol oynadığı gösterilmiştir (5).

Konuşmada, *Helicobacter* spesifik B hücrelerinin (*H_{sps}*-Breg) mide immünopatolojisindeki rolüne odaklanılacaktır. Bunun yanı sıra, *H_{sps}*-Breg hücrelerinin moleküler karakterizasyonu ile ilgili en yeni bulgularımız özetlenecektir.

KAYNAKLAR

- Pritchard, D.M. and J.E. Crabtree, *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Curr Opin Gastroenterol*, 22(6): p. 620-5, (2006).
- Sayı A., Kohler E., Hitzler I., Arnold I., Schwendener R., Rehauer H., Müller A., The CD4⁺ T Cell-Mediated IFN- γ Response to *Helicobacter* Infection Is Essential for Clearance and Determines Gastric Cancer Risk, *J. Immunol.*, vol. 182 no. 11 7085-7101, (2009)
- Kao J.Y. et al., *Helicobacter pylori* immune escape is mediated by dendritic cell-induced Treg skewing and Th17 suppression in mice, *Gastroenterology*, 138(3):1046-54, (2010).
- Sayı A., Kohler E., Toller I.S., Flavell R.A., Müller W., Roers A. Müller A., TLR-2-Activated B Cells Suppress *Helicobacter*-Induced Pre-neoplastic Gastric Immunopathology by Inducing T Regulatory-1 Cells, *J. Immunol.*, vol. 186 no. 2 878-890, (2011)
- Mauri C, Bosma A. Immune Regulatory function of B cells. *Annu. Rev. Immunol.* 30:221-41(2012)

KANSERİN İMMÜN KAÇIŞINDA KOSTİMÜLASYON DÜZENSİZLİKLERİ

Güneş Esendağlı

Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji AD, Ankara

Neoplastik hücreler, immün keşif sırasında, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla konakçının immün sisteminden saklanırlar. Bu nedenle immün sistem tümör hücrelerini tanımakta zorlanır ve yeterince aktive olamaz. Tespit edilemeyen tümör hücrelerine karşı bir immün cevap oluşmadığı için tümör hücreleri konakta çoğalarak yaşamlarına devam ederler. Tümör antijenlerinin immün sistem tarafından tanınması özgül anti-tümör yanıtların gelişiminde en önemli aşamalardan birini oluşturur (1,2,3). Dokuda yerleşen antijen sunan hücreler (APC), antijenin hücre içerisine alınması ve sunulmasında mükemmel rol üstlenirler. Ancak bunların neoplastik dokuda anti-tümör immün yanıtların en etkin oyuncusu olan T hücreyi uyarma yetenekleri sınırlıdır. Naif T hücrelerin aktivasyonu için MHC/antijen kompleksinin tanınması yeterli değildir. T hücrelerinin etkin aktivasyonu için APC tarafından sağlanan kostimülatör molekülüne ihtiyaç vardır. Fakat T hücre aktivasyonunu sağlayan kostimülatör moleküllerin tümör mikroçevresindeki ekspresyonu sınırlı düzeydedir (2,3). Ancak, koaktivatör moleküllerin bazı tümör hücrelerinin yüzeyinde (örneğin, akut miyeloid lösemiler, B hücreli lenfoma, multipl myeloma gibi) eksprese olduğu bildirilmektedir. İlginç olarak, immün yanıtları destekleyen bu moleküllerin varlığı kanser hastalarında kötü prognoz ile ilişkilendirilmektedir (4,5,6,7).

B7 süper gen ailesi tarafından kodlanan yüzey ligandları T hücre yanıtlarını düzenleyen en kritik kostimülatör moleküllerdir. B7 ligandları T hücre üzerindeki özgül reseptörleri ile etkileşerek, hücre aktivasyonu için gerekli ikincil sinyalleri tetikler. B7 ailesinin ko-aktivatör reseptörler ile etkileşimi immün yanıtları güçlendirir. Ancak, B7 moleküllerinin ko-inhibitör reseptörler ile etkileşimi ise immün cevapların sonlandırılmasında rol alır (8).

B7 ailesi üyeleri fonksiyonlarına göre 3 grupta sınıflandırılmıştır. Grup I: B7-1, B7-2, B7-H2; Grup II: B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2); Grup III: B7-H3, B7-H4. B7 ailesinin en son keşfedilen üyesi, B7-H6 ise normal insan dokularında tespit edilmemiştir ancak insan tümör hücrelerinde ekspresyonu saptanabilmiştir (9,10).

B7-1 (CD80) ve B7-2 (CD86) genellikle antijen sunan hücreler (makrofaj, DC, B hücreler) üzerinde bulunur. Naif T hücreler üzerindeki CD28 reseptörleriyle etkileşerek T hücre aktivasyonunu başlatırlar. Bu etkileşimin engellenmesi durumunda, T hücreler aktive olamaz ve yanıtsızlık (aneri) yönüne kayarlar. CTLA-4, B7-1 ve B7-2'nin aktive T hücrelerde eksprese olan diğer bir reseptördür. CTLA-4'ün uyarılması ile negatif ko-stimülasyon gerçekleşir ve T hücreler inhibe olur (1,11).

Son dönemde gerçekleştirilen çalışmalar, aktive T hücreler üzerinde eksprese olan PD-1 ko-reseptörünün ve

PD-1 ligandları B7-H1 (PD-L1) ve B7-DC (PD-L2)'nin etkileşerek immünsüpresif bir tümör mikroçevresi oluşturduğunu göstermiştir. İnflamatuvar yanıtlarda PD-1 ligandlarının ekspresyonu artar. B7-H1 proinflamatuvar sitokinler (özellikle IFN- γ) varlığında pek çok hücre üzerinde eksprese olabilir (12).

B7-H2, B hücreler, makrofajlar ve lenfoid-olmayan dokularda eksprese olur. CD28 ailesinin diğer bir üyesi olan, B ve T hücreler üzerinde bulunan ICOS reseptörüne bağlanarak ko-aktivasyona aracılık eder. B7-H2-ICOS bağlantısı CD4⁺ T hücrelerin aktivasyonu, efektör hücreye farklılaşması ve fonksiyonlarının düzenlenmesi için gereklidir. En son yapılan bir çalışmada B7-H2 kostimülatör molekülünün CD28 reseptörüne de bağlandığı ve T hücre aktivasyonunda etkili olduğu gösterilmiştir (10,13).

İnsan B7-H3 molekülü aktive monosit ve dendritik hücrelerde, hava yolu epitel hücrelerinde, kas hücrelerinde, inflamasyon koşullarında sinoviyositlerde ve pek çok tümör hücrelerinde bulunmaktadır. B7-H3 molekülünün T hücrelerin hem ko-aktivasyonunda, hem de ko-inhibisyonunda rol oynadığı yönünde bulgular vardır. Bu nedenle T hücre aracılı immün cevapları düzenlemede fonksiyon gördüğü düşünülmektedir. B7-H3'ün immün aktivasyonun erken dönemlerinde Ag-spesifik T hücre proliferasyonunu artırdığı, sitotoksik T hücrelerini ve IFN- γ üretimini uyardığı belirlenmiştir. Diğer yandan, bağımsız gruplar tarafından gerçekleştirilen farklı çalışmalarda B7-H3'ün T hücre yanıtlarını inhibe edebildiği yönünde de bulgular elde edilmiştir. Pek çok kanserde B7-H3 ekspresyonunun ileri evre, metastaz ve/veya kötü prognoz ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (14,15).

B7-H4 molekülünün immün sistem hücrelerinden ziyade epitel dokuda, böbrek, akciğer ve pankreasta ekspresyonu vardır. IL-6 ve IL-10 monosit, makrofaj ve miyeloid dendritik hücrelerde B7-H4 ekspresyonunu uyarır. GM-CSF ve IL-4 ise azaltır. In vitro çalışmalar B7-H4'ün CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre proliferasyonunu, sitokin üretimini ve alloreaktif sitotoksik T lenfosit gelişimini inhibe ettiğini göstermiştir (16,17).

B7 ailesinin en son keşfedilen üyesi, B7-H6 yüzey molekülünün ekspresyonu normal insan dokularında değil ancak tümör dokularında gözlemlenmiştir. B7-H6, doğal öldürücü (NK) hücreleri üzerinde bulunan aktivatör NKp30 reseptörüne bağlanır. Bu sayede, NK hücre-aracılı anti-tümör immün yanıtlar tetiklenir (10).

Bu sunumda, B7 ailesi moleküllerinin akut miyeloid lösemi hücrelerinin immün kaçışında nasıl bir rol oynadığına dair elde ettiğimiz özgün bilgilerimizi paylaşacağız (18, 19).

KAYNAKLAR

1. Gregory Driessens, Justin Kline, Thomas F. Gajewski. (2009) Costimulatory and coinhibitory receptors in anti-tumor immunity, *Immunological reviews* 229: 126-144.
2. Abbas, Cellular and Molecular Immunology, 7th. Edition.
3. Hazem Ghebeh, Shamayel Mohammady, Abeer Al-Omair ve ark. (2006), The B7-H1 (PD-L1) T Lymphocyte-Inhibitory Molecule Is Expressed in Breast Cancer Patients with Infiltrating Ductal Carcinoma: Correlation with Important High-Risk Prognostic Factors, *Neoplasia* . Vol. 8, No. 3, March 2006, pp. 190 - 198.
4. Graf, M., Reif, S., Hecht, K., Pelka-Fleischer, R., Kroell, T., Pfister, K., Schmetzer, H., High expression of costimulatory molecules correlates with low relapse-free survival probability in acute myeloid leukemia (AML). *Ann. Hematol.* 2005. 84: 287-297.
5. Hirano, N., Takahashi, T., Takahashi, T., Ohtake, S., Hirashima, K., Emi, N., Saito, K. et al., Expression of costimulatory molecules in human leukemias. *Leukemia* 1996. 10: 1168-1176.
6. Tamura, H., Dan, K., Tamada, K., Nakamura, K., Shioi, Y., Hyodo, H., Wang S. D. et al., Expression of functional B7-H2 and B7.2 costimulatory molecules and their prognostic implications in de novo acute myeloid leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2005. 11: 5708-5717.
7. Maeda, A., Yamamoto, K., Yamashita, K., Asagoe, K., Nohgawa, M., Kita, K., Iwasaki, H. et al., The expression of co-stimulatory molecules and their relationship to the prognosis of human acute myeloid leukaemia: poor prognosis of B7-2-positive leukaemia. *Br. J. Hematol.* 1998. 102: 1257-1262.
8. Mary Collins, Vincent Ling and Beatriz M Carreno, (2005) The B7 family of immune-regulatory ligands *Genome Biology* 2005, 6:223.
9. Barbara Seliger, Francesco M. Marincola, Soldano Ferrone and Hinrich Abken (2008) The complex role of B7 molecules in tumor immunology, *Trends in Molecular Medicine* Vol.14 No.12.
10. Cameron S. Brandt, Myriam Baratin, Eugene C.Yi, ve ark. (2009) The B7 family member B7-H6 is a tumor cell ligand for the activating natural killer cell receptor NKp30 in humans, *The Journal of Experimental Medicine*, 206 No. 7.
11. Xingxing Zang and James P. Allison, (2007), The B7 Family and Cancer Therapy: Costimulation and Coinhibition, *5271 Clin Cancer Res* 2007;13(18).
12. Suzanne L Topalian, Charles G Drake and Drew M Pardoll, (2012), Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity, *Current Opinion in Immunology* 2012, 24:207-212.
13. Sheng Yao, Yuwen Zhu, Gefeng Zhu ve ark. (2012), B7-H2 is a costimulatory ligand for CD28 in human, 2011 May 27; 34(5): 729-740.
14. Masaaki Hashiguchi, Yuka Inamochi, Shoya Nagai ve ark. (2012), Human B7-H3 binds to Triggering receptor expressed on myeloid cells-like transcript 2 (TLT-2) and enhances T cell responses, *Open Journal of Immunology*, Vol.2, No.1, 9-16.
15. Guangbo Zhan, Jian Wang, Justin Kelly, ve ark. (2010) B7-H3 Augments the Inflammatory Response and Is Associated with Human Sepsis, *The Journal of Immunology*, 185: 3677-3684.
16. Kyung H. Yi and Lieping Chen (2009), Fine tuning the immune response through B7-H3 and B7-H4, *Immunol Rev.* 2009 May ; 229(1): 145-151.
17. Barbara Tringler, Shaoqiu Zhuo, Glenn Pilkington ve ark. (2005), B7-H4 Is Highly Expressed in Ductal and Lobular Breast Cancer, *Clinical Cancer Research*, Vol. 11, 1842 - 1848.
18. Yao S, Chen L. Adaptive resistance: A tumor strategy to evade immune attack. *Eur J Immunol.* 2013 Mar;43(3):576-9.
19. Dolen Y, Esendagli G. Myeloid leukemia cells with a B7-2(+) subpopulation provoke Th-cell responses and become immuno-suppressive through the modulation of B7 ligands. *Eur J Immunol.* 2013 Mar;43(3):747-57.

NLRP7 VE TÜMÖRLERE İMMÜN TOLERANS

Nesrin Özören

Boğaziçi Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

İnsanda 23 üyesi bulunan Nod ailesi alıcıları (NLR) son on yılda bulunan ve araştırılmaya başlanan bir protein grubudur. Şimdiye kadar görevleri belirlenenlerden NOD1 ve NOD2 proteinlerinin hücre içine sızan, bakterilere has peptidoglikan molekülünün parçalarını tanıdıkları ve bağışıklık sistemini NF-kB yoluyla uyardıkları açığa çıkartılmıştır.

NOD2 genindeki bazı mutasyonlar karın ve bağırsak iltihabıyla seyreden Crohn hastalığıyla ilintili bulunmuştur. NLR ailesinin diğer önemli bir üyesi olan Cryopyrin/NLRP3 genindeki mutasyonlar ise otoenflamatuvar hastalıklardan Muckle Wells, FCU (Familial Cold Urticaria) ve NOMID/CINCA (Neonatal Onset Multi Inflammatory Disease) ile bağlantılı bulunmuştur. NLRP3 proteininin hücre sitozolundaki görevinin inflamazom adındaki bir kompleksin oluşumunda yer almak ve ASC aracılığıyla ortaklaşa kesici enzimlerden kaspaz 1'i çalışır hale getirmek olduğu anlaşılmıştır. NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu bakterilere ve virüslere has bazı moleküler yapılar (RNA, DNA, peptidoglikan) dışında, hücre veya doku hasarında doku sıvılarında yükselen içsel uyarıcılar (ATP, monosodyum urat ve kolesterol kristalleri) sayesinde de gerçekleşmektedir. Kaspaz 1'in çalışmasıyla birlikte pro-interlökin -1b, IL-18 ve IL-33 gibi sitokinler kesilir ve salgılanarak hücre dışındaki uyarı görevlerini görürler. Bunlar ve NF-kB yoluyla uyarılan TNFa ve IL-6 gibi

diğer sitokin ve kemokinler aracılığıyla lokal ödem oluşumu gerçekleşir, yangı mekanizması ve ateş tetiklenir, uzun vadede de edinsel bağışıklık sistemi uyarılarak bakteri, virüs veya başka zararlı ajanlar vücut tarafından yok edilir.

Yangı tetiklemede uzmanlaşmış NLR üyeleriyle zıt görevleri olan yangı-söndürücü bir kümede yer alan NLR proteinleri de dikkat çekmektedir. Bunlar arasında NLRP10 ve NLRP12'nin sırasıyla kaspaz 1 aktivasyonunu ve NF-kB aktivitesini baskıladıkları gösterilmiştir. İki makalede NLRP7 de bu yangı-söndürücü gruba dahil edilmiştir. NLR ailesine ait olup henüz derinlemesine araştırılmamış olan NLRP7, NLRP13 ve NLRC3 proteininin yangı tetiklemede veya söndürmedeki, yani bağışıklık sistemindeki işlevini belirlemeyi amaçlıyoruz. NLRP7 ve NLRP13 genlerinin ifadesi özellikle plasentada ve testiste saptanmıştır.

Plasenta immün ayrıcalıklı yerlerin en önemlilerinden olup, gelişen embriyonun anne bağışıklık sistemini nasıl pasifize ettiği yoğun araştırma konusudur.

NLRP7 genindeki mutasyonların mol gebeliklere sebep olabileceği gösterilmişti. Ayrıca testiküler seminom örneklerinde NLRP7 gen ifadesinde artışlar gözlemlenmektedir. Bütün bunlar NLRP7 geninin tümörlerin immün tolerans mekanizmalarında etkili olabileceğini düşündürmektedir.

SYSTEMIC DELIVERY OF ANTIGEN ENCODING MRNA: IMPLICATIONS FOR CANCER IMMUNOTHERAPY

Mustafa Diken

TRON Immunotherapy Development Center, Mainz – Germany

Cancer immunotherapy with antigen-encoding RNA has been proved to be a potent tool for efficiently inducing T cell responses as well as anti-tumor immunity in preclinical models and direct local administration of RNA is currently being tested in clinical trials with promising results. However, systemic administration of RNA is hindered through its degradation by RNases present in the serum. In order to circumvent this obstacle, we employed liposomes for RNA complexation to form RNA-lipoplexes which are resistant to RNase-mediated degradation. When applied systemically, pharmacologically optimized lipoplex formulations were able to target specifically the spleen where RNA-lipoplexes were selectively internalized by resident antigen-presenting cells (APC). Although uptake is only evident in a minor fraction of APCs, RNA-lipoplexes induced an inflammatory milieu in the spleen as strong but

transient upregulation of activation markers was observed in dendritic cells, macrophages, T, B and NK cells. Upon RNA-lipoplex administration, high levels of IFN α stemming from the spleen were detected in serum and the RNA-lipoplex-induced inflammatory milieu in the spleen was shown to be IFN α dependent. Upon repetitive immunizations with RNA-lipoplexes, high levels of antigen-specific T cells were induced which were abrogated upon depletion of dendritic cells. RNA-lipoplexes were capable of providing complete tumor protection in the B16-OVA melanoma and the CT26 colon carcinoma models, and significantly delayed tumor growth in the therapeutic setting of both models. These results cumulatively imply that antigen-encoding RNA-lipoplexes delivered systemically represent a novel and potent class of anti-cancer immunotherapeutics.

TRANSPLANTASYON ÖNCESİ İMMÜNOLOJİK HAZIRLIK VE DEĞERLENDİRME

Bilkay Baştürk

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, Ankara

Doku/organ nakli tüm dünyada giderek artan sıklıkta uygulanmakta ve deneyimli merkezler tarafından oldukça başarılı sonuçları olan hematopoietik kök hücre, böbrek, karaciğer, kalp, akciğer, pankreas ve komposit doku nakilleri yapılmaktadır. Organ ve doku nakillerinin başarısındaki en önemli faktörlerden birisi, donör dokusuna karşı alıcının immün cevabıdır. İnflamatuvar reaksiyona bağlı olarak greftin iş görememesi, rejeksiyon (dokunun reddedilmesi), spesifik immün cevaba bağlı olarak gelişir. Bağışıklık sistemi allogreft rejeksiyonunda etkin mekanizmalarını kullanır ve hem CD4⁺ ve/veya CD8⁺ T hücreleri hem de spesifik alloantikörler bu etkide rol oynar. İmmün efektörlerin farklılıkları greft reddinde de hücressel, humoral yanıtlar oluşturarak ve bu yanıtların zamana bağlı farklılıklarıyla hiperakut, akut ve kronik seyirli doku redleri oluşmasına yol açar. Nakil öncesi yapılan immünolojik hazırlıklarla doku redlerinin önlenmesi ya da en aza indirilmesi mümkün olmaktadır. Nakil öncesi yapılacak çalışmalar yapılacak nakile bağlı olarak değerlendirilmelidir.

Gelişen teknolojiye bağlı olarak sürekli değişen laboratuvar yöntemleri ile giderek güvenilirliği artan sonuçlar elde edilebilmektedir.

Böbrek nakli en sık yapılan allojenik organ nakli olup nakil öncesi immünolojik hazırlık aşamasında alıcı ve donör arasında

- HLA doku uyumu çalışmaları; düşük ya da yüksek çözünürlük çalışmalarıyla 2-4 basamaklı sonuçlar (serolojik ya da moleküler yöntemler),

- Çapraz karşılaştırma testleri (cross-match); oto-cross-match, T ve B hücre IgM ve IgG bağlı antikor ayrımı, dilüsyonlu çalışmalar ve eski tarihli serum örnekleriyle yapılacak çalışmalar (serolojik yöntemle komplemana bağlı sitotoksiste, akım sitometri ve LUMINEX gibi yöntemlerle),
- Panel reaktif antikor tarama ve tanımlama testleri; antikor taraması yapılan hastaların, potansiyel duyarlaşma durumları (kan transfüzyonu, doğum, böbrek nakli gibi) takip edilir. Her duyarlaşma olayından yaklaşık 14 gün sonra alınan serum örnekleri, gerektiğinde anti-HLA antikor tarama testi ve/veya çapraz karşılaştırma testi çalışabilmek amacıyla alınarak saklanması ileride yapılacak tetkikler için yararlı olacaktır. (ELIZA, LUMINEX gibi yöntemlerle)

Hematopoietik sistem nakillerinde yapılacak olan HLA doku tipleme çalışması,

donörün akrabalık ilişkisine bağlı olarak (kardeş, ikiz kardeş, akraba ve akraba dışı) değişebilmektedir.

Nakil öncesi yapılacak olan değerlendirme toplantısında, hastanın klinik ve immünolojik durumu değerlendirilmeli, testleri etkileyebilecek koşullar araştırılmalıdır ve ön görülen riskler ortaya konmalıdır.

Hastanın nakil sonrası gerektiği durumlarda, çapraz karşılaştırma testleri ve PRA tarama ve tanımlama testleri, periferik kan hücre oranlarının ve dağılımlarının belirlenmesi immünolojik takibi yapılmalı takip eden klinik bölümle birlikte değerlendirilmelidir.

YÜKSEK RİSKLİ HASTALARDA İMMÜNOLOJİK YAKLAŞIM

Ali Şengül

Medical Park Antalya Hastane Kompleksi, İmmünoloji Bölümü, Antalya

Solid organ yetmezliklerinde en iyi tedavi yöntemi transplantasyondur. Ancak, potansiyel bir verici aday olsa bile, böbrek yetmezlikli hastaların yaklaşık dörtte birine transplantasyon yapılamamaktadır. Transplantasyondan faydalanan hastaların %95'inde PRA %20'nin altındadır. Bunun en önemli sebebi, bu hastaların, graft dokusundaki antijenlere karşı önceden immünolojik olarak yüksek oranda duyarlılaşmış olmalarıdır. Duyarlılaşmış hastaların greft dokusuna immünolojik red cevabı oluşturmaları nedeniyle bu hastalar genel olarak transplantasyon şansları çok düşük olarak değerlendirilse de dikkatli bir takip ve hazırlık süreci sonunda transplantasyonun mümkün olabileceği unutulmamalıdır.

Duyarlılaşma (Sensitizasyon): İnsan Lökosit Antijenlerine (HLA) karşı antikor (Ab) oluşmasıdır. **Aşırı Duyarlılaşma** (Yüksek Sensitizasyon) ise Eurotransplant kriterlerine göre Panel Reaktif Antikor'un (PRA) %85'in; UNOS kriterlerine göre de %80'in üzerinde olmasını ifade eder.

PRA, toplumu yansıtacak şekilde seçilmiş panel hücre havuzuna karşı hasta serumunda olan alloreaktif ve spesifik antikorları ifade eder. %PRA ise pozitif hücre oranını yani toplumdaki bireylerin yaklaşık ne kadarlık bir oranına reaktif olduğunu gösterir.

Başlıca Duyarlılaşma sebepleri:

a. **GEBELİKLER:** Transplantasyon bekleme listelerindeki sensitize hastaların çoğu kadındır (%33'e karşı %17). İlk gebeliği takiben kadınların % 15-25' inde antikor saptanırken, ikinci gebelikten sonra bu oranın %50-%60'a yükseldiği bildirilmiştir.

b. **ÖNCEKİ TRANSPLANTASYONLAR:** İlk kez transplantasyon için bekleme listelerine kaydedilen hastalarda %17 oranında anti-HLA antikor saptanırken, bu oran 2. nakil için bekleyenlerde %64, 3. nakil için bekleyenlerde %84 ve 4. nakil için bekleyenlerde ise %92 olarak bulunmuştur.

c. **TRANSFÜZYONLAR:** Kan transfüzyonu sayısı arttıkça duyarlılaşma oranının da arttığı bildirilmiştir. Sadece 1 kez transfüzyon yapılmış bekleme listesindeki hastalarda B lenfosit reaktivitesi %20 olarak saptanırken, 10 kez transfüzyon yapılanlarda bu oran %40'a, 20 kez transfüzyon yapılanlarda ise %70'e çıkmaktadır.

Duyarlılaşma transplantasyon öncesinde Uzun bekleme sürelerine, transplantasyon sonrasında ise rejeksiyon ve greft kaybı riskinin artmasına yol açar.

Risk değerlendirmesi:

Duyarlılaşmayı sağlayan antikorların izotipleri ve fonksiyonları da önemlidir. DTT'li CDC yöntemi ile saptanmış donör spesifik antikorlar (DSA) kontrendikasyon olarak değerlendirilmelidir. ELISA, Flow-PRA veya Luminex gibi yön-

temlerle saptanmış, sitotoksik olmadıkları gösterilmiş antikorlar ise transplantasyonda yüksek risk faktörü olmakla birlikte kontrendikasyon oluşturmamaktadırlar. Ayrıca hastaların CDC yöntemi ile geçmişte saptanmış antikorlarının olması da, transplantasyon öncesinde saptanmasa bile risk faktörüdür.

Riski değerlendirirken dikkat edilmesi gereken bir diğer faktör, transplantasyonun kaçınıcı kez yapıldığıdır. Kollaboratif transplant çalışma grubunun 2000-2008 yıllarını değerlendiren raporunda retransplantasyon yapılan duyarlılaşmış hastaların, ilk kez transplantasyon yapılan duyarlılaşmış hastalara göre çok daha yüksek risk taşıdığı bildirilmiştir. Yine aynı raporda donör ile alıcı arasındaki uyumsuz (miss-match) antijen sayısı arttıkça greft kaybı riskinin de arttığı, kadaverik donörlerden yapılan transplantasyonda da riskin daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Duyarlılaşmış hastaya nasıl transplantasyon yapılabilir?

a. Kabul edilebilir Miss-Match ve sanal Cross-Match (XM) programı: Hastada mevcut antikorların detaylı bir şekilde taranması ve tanımlanması sonucunda, antikoru saptanmamış HLA 'lar o hasta için "kabul edilebilir MM" ler olarak listelenmektedir. Euro-trans bölgesindeki laboratuvarlar HLA-A,B,C,DR ve DQ antijenlerinden "kabul edilebilir" olanlar değerlendirmesini yapmaktadır. "Kabul Edilebilir MM" programına giren hastalar 2 yıl içinde XM(-) organ bulabilmektedir. Standart organ dağıtımında ise bu hastaların ancak %20'si aynı zaman diliminde organ bulabilmektedir.

b. Epitop düzeyinde uyum tayini ile donör seçimi (HLA matchmaker): Molekül yüzeyindeki amino asit polimorfizmleri, immün sistemi uyararak özgül alloantikorların oluşmasını sağlayan epitopları oluşturmaktadırlar. Her bir HLA antijeninde birçok epitop bulunur. Bu epitoplarda yer alan "triplet" ve "eplet" adı verilen rezidü'lerin saptanmasıyla gündeme gelen bir uygulama olmuştur. HLA antijenlerinin her biri bir dizi triplet/eplet'ten oluşmaktadır. Hastadaki 6 dizi triplet/eplet ile donördeki 6 dizi triplet/eplet'in Microsoft Excel programı aracılığı ile karşılaştırılması esasına dayalı bir işlemdir. Farklı antijenlerde yer alan benzer epletlerin uyumu transplantasyona fırsat tanınmasını sağlar.

c. Donör değişim programları oluşturmak: Canlı vericisi olan hastalar arasında çapraz nakil olarak da adlandırılan bir uygulamadır. Bu uygulamaya ;

1. Kolay eşleştirilebilen hasta ve donörler (O grubu donörü olanlar, Düşük PRA'lı hastalar)

2. Desensitizasyonu zor olgular (Yüksek DSA'ı olan yüksek riskli hastalar) yönlendirilmelidir.

d. Desensitizasyon: Hastaların donör spesifik antikor-

larını elimine etmeye yönelik bir uygulamadır. Bu uygulamaya;

1. Zor eşleştirilebilen hasta ve donörler (AB grubu donörü olanlar, Yüksek PRA'lı hastalar)

2. Desensitizasyonu kolay olgular (Düşük titreli DSA'ı olan Düşük riskli hastalar) yönlendirilmelidir.

Değişik merkezlerde değişik desensitizasyon uygulamaları vardır:

- Yüksek doz IV Ig
- Plazmaferez (PF)
- Plazmaferez+düşük doz IV Ig ve/veya Rituximab
- İmmunadsorpsiyon+Thymoglobulin Uygulaması
- Yeni Ajanlar (Bortezomib,C5 antikorü..v.b..) en çok kullanılanlardır.

Donör Spesifik Antikoru Olduğu Düşünülen Hastaya Yaklaşım:

DSA olduğu düşünülen hastayı hazırlarken aşağıdaki sorulara sırasıyla yanıt aranmalıdır.

-Antikor gerçekmi? (Otoantikor, Nonspesifik bağlanma, Tedavide anti-CD20 Ab kullanımı v.b.)

-Antikoru spesifitesi ve izotipi nedir? (Sınıf-I veya Sınıf-II antijenlerden hangilerine reaktif olduğu, IgG mi? yoksa IgM izotipinde mi olduğu v.b.)

-Antikor titresi ne kadardır? (Test yönteminin duyarlılığı, titre tayini v.b.)

-Antikor nasıl elimine edilebilir? (Ab titresi ile plazmaferez sayısının tahmini, hangi protokolün seçileceği v.b.)

-Posttransplantasyon dönemde antikor nasıl izlenecek? (Antikoru eliminasyonu sağlanabildi mi? Hangi sıklıkla ve hangi yöntemle izlenecek?)

Desensitizasyon protokolleri ile negatif XM'e ulaşmak önemlidir. Ancak, bazal Ab titresi 1:32 'den yüksek olan hastalarda tamamen negatif XM elde etmek güçtür . Tek ve yüksek doz IV Ig, bazal Ab titresi 1:4'den az olan hastalarda işe yarayabilir. Ab titresi 1:8-1:16 arasında olan hastalarda PF+düşük doz IV Ig+rituximab kombinasyonu, tek ve yüksek doz IV Ig 'den daha etkilidir.

SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOZUS PATOGENEZİNDE YENİLİKLER

Ömer Nuri Pamuk

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Romatoloji AD, Edirne

SLE patogenezinde rol oynayan faktörler

Sistemik lupus eritematozus (SLE) multisistem otoimmün kronik bir hastalıktır. Hastalık patogenezinde nükleik asitler ve bunları bağlayan proteinlere karşı otoantikor gelişimi önemli rol oynar. Bu otoantikorların bir kısmı direk patojeniktir. Patojenik otoantikorlar immün toleransın bozulmasını yansıtan bir bulgudur. İmmün toleransın bozulması ve immün sistem bozuklukları genetik faktörlerin etkisi ile oluşur. Çevresel faktörler ise genetik faktörlerle etkileşerek hastalığın ortaya çıkmasına neden olurlar. Genetik çalışmalarda ilerlemelerle son dönemde SLE patogenezi ile ilişkili birçok gen bölgesi tanımlanmıştır.

SLE'de doğal immün sistem bozuklukları

Vücuttaki hücresel artıkların güvenilir bir şekilde temizlenmesi immün sistemin temel rollerinden birisidir. Hergün oluşturulan milyarlarca hücresel artığın mükemmel olarak temizlenmesinde birçok yolak rol oynar. Apoptotik hücreler değişmiş hücre membran komponentleri veya doğal IgM antikorlar tarafından opsonize edilen self antijenleri tanıyan reseptörler yoluyla fagositlerce yutulurlar. Bunlar normal insanlarda da bulunur. Özellikle erken kompleman komponentlerinin yardımıyla çok az inflamasyon oluşarak bu artıklar temizlenir. Klirens mekanizmalarındaki defekt sonucunda sekonder nekroz oluşur ve self antijen yükü belirgin derecede artar. Sonuçta artıkların fagositlerce güvenilir şekilde elimine edilmesi yerine proinflamatuvar sitokin reseptörleri uyarılır, örneğin Fc reseptörleri veya doğal immün hücreler üzerindeki veya içerisindeki TLR'ler aktive edilir ve patolojik süreç başlar.

Lupusta Dendritik Hücreler

SLE'de en iyi çalışılan doğal hücreler plazmositoid dendritik hücrelerdir (pDC). Bu hücreler, nükleik asit içeren immün komplekslere cevap olarak büyük miktarda tip I IFN üretirler ve hasarlı bölgelere göç ederler. Tip I IFN'ların SLE'deki patojenik rolü periferik kanda IFN-indüklenen genlerin belirgin olması bulgusu ile desteklenmiştir.

İmmün sistem tarafından normalde apoptotik hücreler anti-inflamatuvar sinyal olarak algılanır. DC'ler apoptotik hücre fragmanlarını aldığı zaman, otoantijenler muhtemel otoreaktif T hücrelerin inaktivasyonuna yol açacak şekilde sunulurlar. Nekrotik hücrelerin alınması DC olgunlaşmasını indükleyebilme potansiyeline sahip olmakla birlikte, apoptotik hücreler normal şartlarda DC lerin aktivasyonunu sağlayamaz. Apoptozisin kendisinde veya apoptotik materyalin temizlenmesinde bozukluk olması SLE patogenezinde önemli rol oynar. Ayrıca, *in vitro* çalışmalarda SLE'li hastaların makrofajlarında apoptotik materyalin alınma kapasitesinin azaldığı da gösterilmiştir. Son çalışmalarda tanımlanan high mobility group box protein 1 (HMGB1) nükleustaki

nükleozom yapısını stabilize ederek bağlar ve nekroza uğrayan hücrelerden salındığında proinflamatuvar mediyatör olarak etki eder. SLE'de apoptozda defekt olduğundan apoptoza uğraması gereken ama uğramayan hücreler sekonder olarak nekroza uğrarlar. SLE'li hastaların kanlarında bu sekonder nekrotik hücrelerden salınan HMGB1-nükleozom kompleksleri bulunur ve bunlar makrofajlardan sitokin ekspresyonunu ve DC olgunlaşmasını indüklerler.

SLE ve NET

Son çalışmalarda SLE de artmış IFN cevabı ile doğal immüitenin önemli bir hücre grubu olan nötrofiller arasında patojenik bir ilişki tanımlanmıştır. SLE'de nötrofillerin aktivasyonu tanımlanmıştır ve bu durum akselere vasküler hastalıkla ilişkili bulunmuştur. Ancak nötrofillerin genel SLE patogenezindeki rolleri halen kesin olarak yerine oturmamıştır. Aktive olmuş nötrofiller bir süreç sonucunda ölürler, NETozis denilen bu süreç, nekroz ve apoptozdan farklıdır. Ölen nötrofiller büyük miktarda ağ benzeri yapılar (nötrofil ekstrasellüler tuzaklar, NET) içerisinde DNA dışarı çıkarırlar ve bunlar antimikrobiyal katyonik peptidler, LL37 (diğer ismi clathelicidin) ile ilişkilidir ve bakterilerin yakalanması ve etkin bir şekilde öldürülmesini sağlarlar. Otoantikor ve nükleik asitlerden oluşan immünkompleksler SLE'li hastaların plazmalarında yoğun şekilde bulunurlar. NETozis sonucu oluşan ölüm ve aktivasyon sonucu FcR ile alım sonrasında nötrofillerdeki TLR'lerle immünkompleksler birleşirler. NET DNA, nükleazın parçalayıcı etkisinden korunur ve TLR ile yönlendirilen pDC aktivasyonu ve sonuçta IFN salınımı için otoantijen olarak rol oynar.

SLE ve TLR'ler

Doğal immünite üyeleri olan TLR, son yıllarda yeni tanımlanmıştır ve SLE patogenezinde önemli rol oynarlar. Ekzojen, patojen ilişkili nükleik asitler SLE patolojisini TLR stimülasyonu yoluyla uyarırlar. Ancak TLR'lerin patojen ve self nükleik asit ayrımları her zaman kusursuz değildir ve bu nedenle bazen endojen nükleik asitler de TLR'leri aktive edebilirler. Nekrotik artıklar ve apoptotik hücreler nükleik asitlerin endojen kaynakları gibi davranabilirler. SLE'deki belirli otoantikorların da bunlarla ilgisi vardır. Kemik iliği kaynaklı myeloid DC'ler kromatine bağlanan anti-nükleozom antikorlarla veya U1 snRNP'lerin Anti-Sm antikorlarına bağlanmasıyla aktive olurlar. Ancak bunların yanında DC'ler, TLR'den bağımsız olarak sitozolde nükleik asit duyarlı mekanizma ile IFN-beta ve IL-1-beta sekresyonunu tetikleyebilir.

SLE ve Kompleman sistemi

SLE'de kompleman sistemi de oldukça aktif rol oynar. Bu sistem apoptotik hücrelerin makrofajlar yoluyla etkili klirensinde ve DC'lerin tolerans geliştirmesine katkıda bu-

lunur. Olgunlaşmamış DC'ler klasik kompleman yolağının önemli bir proteini olan C1q üretilirler ve C1q'da immün tolerans oluşumunu sağlar. DC'lerin aktivasyonu aynı zamanda olgunlaşmalarını sağlar, ancak aktive olan DC'lerin C1q üretim kapasitesi azalır ve immünojenite tetiklenebilir. C1q eksikliğinin SLE'ye neden olması da benzer mekanizma ile oluşur.

T lenfositler ve Lupus

SLE'lilerin T hücrelerinde aktivasyon süreci değişmiştir. T hücre reseptörü (TCR) ile CD3 birleşmesi erken ve artmış sinyal cevabına yol açar ve bu da artmış sitoplazma içi kalsiyum akımı ve sitozolik protein tirozin fosforilasyonu ile sonuçlanır. SLE'lilerin T hücrelerindeki CD3 kompleksi yeniden farklı şekilde bağlanır ve FcRG yeri CD3 zeta ile replase edilir. FcRG olduğu zaman sinyal, zeta ilişkili ZAP70 ile değil de spleen tyrosine kinase (Syk) ile iletilir. SLE'deki CD3 zeta chain fonksiyon kaybına neden olduğu düşünülen farklı mekanizmalar bulunmaktadır ve azalmış transkripsiyon, bozuk mRNA splicing, ve artmış kaspaz-3 ilişkili protein yıkımı bunlar arasında yer alır.

Naif T hücreler antijene maruziyet sonrasında özel fenotipli ve belli sitokin profili üreten efektör T hücre alt gruplarına dönüşürler. SLE'li hastalarda normalden farklı sitokin üretimi vardır ve T hücrelerin sitokin üretim kapasiteleri sorunludur. IL-17 üreten hücreler diğer otoimmün hastalıkların patogenezinde olduğu gibi SLE patogenezinde de rol oynar. T hücrelerin Th17 proinflamatuvar alt grup hücrelere farklılaşmasının reglatuvar T hücrelerin gelişimi sırasında karşılıklı olarak olduğu düşünülmektedir. Burada inflamatuvar sitokinler IL-6 ve IL-21'in varlığı supresif hücreler yerine proinflamatuvar hücrelerin gelişimini belirleyen faktör olduğu düşünülmektedir. IL-17, ayrıca, B hücreyi de aktive eden bir faktör olarak etki gösterir ve B hücrelerin yaşam sürelerini ve çoğalmalarını artırır ve bunların antikor sekrete eden hücrelere dönüşümünü artırarak SLE'de otoantikor üretimine katkıda bulunur. Bunun yanında T hücre aktivasyon ve proliferasyon sürecinde oldukça önemli bir sitokin olan IL-2'nin üretimi SLE'li hastaların T hücrelerinde bozulmuştur. Bu durumun SLE'de azalmış sitotoksik aktivite, bozulmuş reglatuvar T hücre fonksiyonları ve azalmış aktivasyonla indüklenen hücre ölümünden sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Yeni tanımlanan foliküler T hücreler (Tfh), CD4+ T hücrelerin bir alt grubudur ve IL-6 ve IL-21 ile indüklenirler. IL-17'den farklı olarak bunlar kostimülatör molekül olarak inducible T cell costimulator (ICOS)'un stimülasyonuna bağlıdır. Tfh lenf nodunda B hücre zonunda yerleşirler ve IL-21 üretirler, CD40L ekspres ederler. Bu T hücre alt grubunun ana fonksiyonu immünglobulin üretimi, izotip değişimi ve somatik hipermutasyonu için B hücre sağlamaktır. Bu bulgularla uyumlu olarak lupus hayvan modelinde efektör T hücrelerinde artmış ICOS düzeylerinin otoreaktif B hücre cevabını arttırdığı ve reglatuvar T hücrelerin supresyonunu azalttığı gösterilmiştir.

SLE'li hastalarda yapılan çalışmaların çoğunda reglatuvar T hücrelerin (CD4+FoxP3+) düşük olduğu ve fonksiyonlarının bozuk olduğu gösterilmiştir. Ayrıca SLE'lilerin T hücrelerinde de Treg'lere karşı direnç olduğu gözlenmiştir. Ancak, Treg'lerdeki fonksiyon bozukluğunun SLE patoge-

nezindeki kesin rolü tam olarak bilinmemektedir.

SLE ve B lenfositler

SLE'de T lenfositlere benzer şekilde B lenfositler de etkilenir. B hücrelere ilişkin lenfopeni ve aşırı aktivite SLE'li hastalarda en dikkat çekici bulgulardan biridir. SLE'deki B hücreler solübl ve hücresele antijenlere karşı bir dizi otoantikor oluştururlar, ancak bunların çoğunluğu nükleus içi antijenlere karşı olanlardır (ANA). SLE'li hastaların B hücrelerinin analiz edildiği çalışmalarda SLE'de otoreaktif B hücrelerin, B hücre gelişiminin erken dönemlerinde genel tolerans kontrol noktalarında sorun olduğu gözlenmiştir. Sonuçta SLE'de bu otoreaktif B hücreler elimine edilemez. SLE'de otoreaktif B hücrelerin eliminasyonu defektiftir. SLE'li hastalarda daha fazla otoreaktif B hücre self antijenle stimüle edilmeye eğilimlidir. Buradaki defektin nedeni çoğunlukla bilinmemektedir ve muhtemelen genetik ve hormonal faktörlerle ilişkilidir.

SLE'deki otoantikor cevabı farklı antijenlere karşı olmakla birlikte, asıl prototipik antijenler nükleus içerisinde nükleik asit ve protein bileşimi komplekslerdir. Bu durum patogeneze açısından önemlidir, çünkü B hücreler TLR'ler yoluyla DNA ve RNA ile uyarılabilirler. Lupus hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda immünkomplekslerde yer alan nükleik asitlerin B hücreye immünglobulinin Fc kısmının getirdiği sinyali tamamlayıcı ikinci bir uyarı getirdiğini önermektedir. Sonuçta nükleik asit içeren immünkompleksler B hücreleri T hücrelerin yardımı olmaksızın uyarabilirler.

Sonuçta SLE'de yukarıda özetlemeye çalıştığımız gibi immün sistemin tüm komponentleri etkilenir ve hastalık patogeneze katkıda bulunur. İmmün sistemdeki bu değişiklikler hastalığın klinik bulgularının ortaya çıkmasından sorumludur. İmmün sistem değişiklikleri tedrici olarak oluşur ve genetik ve hormonal faktörlerin etkisi bu değişiklikte önemli rol oynar. Hastalıkta altta yatan mekanizmaların tam olarak anlaşılması ile yeni tedavi yöntemlerine ulaşılacak ve organ hasarı durdurulabilecektir. Ancak bu oldukça kompleks hastalığın gelişiminde normal immün sistemin otoreaktif hale gelmesine dek geçen basamakların detaylı olarak bilinmesi yeni tedavi yaklaşımları için gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Choi J, Kim ST, Craft J. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus -an update. *Curr Opin Immunol* 2012;24:651-7.
2. Gaultierotti R, Biggioggero M, Penatti AE, et al. Updating on the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Rev* 2010;10:3-7.
3. Liu Z, Davidson A. Taming lupus -a new understanding of pathogenesis is leading to clinical advances. *Nat Med* 2012;18:871-82.
4. Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2011;365:2110-21.
5. Crispin J, Liossis SNC, Kis-Toth K, Lieberman LA, Kyttaris VC, Juang YT, Tsokos GC. Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances. *Trends Mol Med* 2010;16:47-57.

BİYOLOJİK AJANLAR VE İMMÜNOJENİSİTE

Servet Akar

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Romatoloji AD, İzmir

Son iki dekatta romatoid artrit başta olmak üzere pek çok inflamatuvar romatizmal hastalıklarda biyolojik tedavi alternatifleri giderek artan oranda kullanılmaya başlanmıştır. Biyolojik tedaviler hormonlar, sitokinler veya büyüme faktörleri gibi doğal proteinler olabileceği gibi monoklonal antikor, antikor fragmanı veya protein yapıları gibi dizayn edilmiş ürünler de olabilir [1]. Romatizmal hastalıklarda en sık kullanılan biyolojik ajanlar monoklonal antikor yapısında olup bunlar arasında infliksimab, adalimumab, golimumab gibi tümör nekrozis faktör inhibitörleri yanında rituksimab, tosilizumab yer almaktadır. Ayrıca bir reseptör, immünglobulin Fc parçası füzyon proteini olan etanersept ile abatacept de sık kullanılan diğer biyolojik ajanlardır.

İmmünojenisite kavramı; adaptif immün sistem tarafından yabancı maddelere karşı antikor yapımını ifade etmektedir [2]. Romatoid artritte anti-TNF tedavi sırasında anti-ilaç antikor gelişimi geniş şekilde araştırılmış ve bu antikorların nötralizan veya non-nötralizan tabiatla oluşlarına bağlı olarak klinik etkilerinin farklı olabildiği gösterilmiştir. Yakın zamanda yapılmış bir gözden geçirmede [2] nötralizan antikorların, romatoid artritte anti-TNF tedavide, minimal hastalık aktivitesi veya remisyona girme ile ilaçta kalma şansının azalması, daha fazla oranda ilaç dozu artırımı ile istenmeyen ilaç reaksiyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak anti-TNF ile tedavi edilen AS hastalarında immünojenisite konusundaki veriler kısıtlı ve bir miktar çelişkilidir. İnfliksime ile tedavi edilen 38 AS hastasının alındığı bir küçük çalışmada de Vries ve arkadaşları [3] ASAS20 yanıtı elde edilemeyen hastalarda anti-infliksime antikorlarının daha sık bulunduğunu (%59 vs %5) ve serum ilaç düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Bahsi geçen bu çalışmada infüzyon reaksiyonlarının da anti-ilaç antikor gelişimi ile ilgisi olabileceği vurgulanmıştır. Aynı grup başka bir çalışmada [4] ise etanerseptte karşı antikor gelişimi gösterememişlerdir (n=53) ve yine yanıtı olmayan hastalarda serum ilaç düzeyleri yanıtlılardan farksız bulunmuştur. Yine aynı grubun bildirdiği bir diğer çalışmada adalimumab ile tedavi edilen AS hastalarında (n=35) altıncı ayda %31 gibi anti-adalimumab antikor geliştiği ve bu durumun azalmış ilaç serum düzeyi ile birliktelik gösterdiği saptanmıştır.

Son olarak Arends ve arkadaşları [5] üç farklı anti-TNF ajan ile tedavi edilen AS'li 60 hastalık bir seride, bir yıllık takipte ilaç göre değişen oranlarda (%0-30) antikor geliştiğini göstermişlerdir ve antikor geliştiren hastalarda infliksime ve adalimumab düzeylerinin anlamlı oranda düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Tocilizumab ile yapılmış olan randomize kontrollü çalışmalar ve bunların açık etiketli uzatmalarının gözden geçirildiği bir çalışmada gerek aktif ilaç gerekse kontrol gruplarında benzer oranda anti-ilaç antikor varlığından bahsedilmiş. İmmünolojik mekanizmaların önemli rolü olduğu düşünülen 14

yan etki gözlenen hastanın da yedisinde tutarlı şekilde anti-ilaç antikorlarının varlığı saptanmış, geri kalan hastaların yalnızca birinde tarama negatif iken doğrulama testinde ilaca karşı antikorlar gösterilmesi nedeniyle bu hasta başlangıçta yanlış negatiflik olarak değerlendirilmiş. Ancak geri kalan altı hastanın üç aşamalı antikor tarama ve doğrulama yöntemi izlendiği için yanlış negatif olmaktan çok söz konusu reaksiyonları ilaca karşı antikor gelişimi dışı bir mekanizmaya bağlı olabileceği ileri sürülmüştür. Sonuç olarak bu çalışmada tosilizumaba karşı antikor gelişiminin klinik anlamı açıklanamamıştır [6]. Son olarak abatacept ile yapılmış bir çalışmada [7] metotreksat ile birlikte tedavi edilen %3.9, monoterapi olan %4.1 hastada geçici ilaca karşı antikor gelişimi gösterilmiş ve hiçbir hastada dördüncü ayda antikor saptanmamış. Açık etiketli uzatma fazında ise yalnızca bir hastada (%1.1) antikor varlığından dolayı abatacept ile etkinlik veya güvenlik kaybına yol açabilecek immünojenisteden bahsedilemeyeceği yorumuna varılmıştır.

KAYNAKÇA

1. Wolbink GJ, Aarden LA, Dijkman BA. Dealing with immunogenicity of biologicals: assessment and clinical relevance. Curr Opin Rheumatol 2009; 21: 211-215.
2. Alawadhi A, Alawneh K, Alzahrani ZA. The effect of neutralizing antibodies on the sustainable efficacy of biologic therapies: what's in it for African and Middle Eastern rheumatologists. Clin Rheumatol 2012; 31: 1281-1287.
3. de Vries MK, Wolbink GJ, Stapel SO et al. Decreased clinical response to infliximab in ankylosing spondylitis is correlated with anti-infliximab formation. Ann Rheum Dis 2007; 66: 1252-1254.
4. de Vries MK, van der Horst-Bruinsma IE, Nurmohamed MT et al. Immunogenicity does not influence treatment with etanercept in patients with ankylosing spondylitis. Ann Rheum Dis 2009; 68: 531-535.
5. Arends S, Lebbink HR, Spoorenberg A et al. The formation of autoantibodies and antibodies to TNF-alpha blocking agents in relation to clinical response in patients with ankylosing spondylitis. Clin Exp Rheumatol 2010; 28: 661-668.
6. Stubenrauch K, Wessel U, Birnboeck H et al. Subset Analysis of Patients Experiencing Clinical Events of a Potentially Immunogenic Nature in the Pivotal Clinical Trials of Tocilizumab for Rheumatoid Arthritis: Evaluation of an Antidrug Antibody ELISA Using Clinical Adverse Event-Driven Immunogenicity Testing. Clinical Therapeutics 2010; 32: 1597-1609.
7. Nash P, Nayiager S, Genovese MC et al. Immunogenicity, safety and efficacy of abatacept administered subcutaneously with or without background methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: results from accompany, a phase III study. Arthritis Care & Research 2013; E-pub ahead of print.

SİTOKİN İMMÜNOTERAPİSİ - CYTOKINE IMMUNOTHERAPY

Onur Boyman

*Lab. of Applied Immunobiology, Univ. of Zurich Allergy Unit,
Dept. of Dermatology, Univ. Hosp. of Zurich, Zurich – Switzerland*

Cytokines are key elements in directing immune responses. For example, the cytokine interleukin-2 (IL-2) mediates expansion of antigen-experienced (memory) T cells and natural killer cells, and is thus clinically used as an adjuvant for tumor immunotherapy. However, IL-2 also stimulates CD4⁺ T regulatory (Treg) cells, which are able to suppress activated T cells. Notably, by complexing endogenous or exogenous IL-2 with an anti-IL-2 antibody, thereby generating IL-2/anti-IL-2 antibody complexes (IL-2 complexes), the activity of IL-2 can be potentiated *in vivo* and directed selectively towards effector T cells or Treg

cells for targeted immunotherapy in cancer versus autoimmunity and inflammation. Interestingly, this technique also applies to other cytokines, including IL-4, IL-7, IL-15, and certain colony-stimulating factors. Maybe even more strikingly, the anti-cytokine antibody can be monoclonal or polyclonal, the latter of which is rather unexpected and opens ways for speculation of whether anti-cytokine antibodies found in certain human autoimmune pathologies might be involved in the regulation of cytokine activity *in vivo*. These aspects will be discussed.

YENİ AŞI UYGULAMALARI VE TOLERANS MEKANİZMALARI

Mübeccel Akdiş

Swiss Institute of Allergy and Asthma Research (SIAF), Davos, University of Zurich, Switzerland

Allergen-specific immunotherapy (SIT) represents the only curative and specific way for the treatment of allergic diseases, which have reached a pandemic dimension in industrial countries affecting up to 20-30 % of the population. Although applied for 100 years to cure allergy, SIT still faces several problems related to side effects and limited efficacy. Currently, allergen-SIT is performed with vaccines based on allergen extracts that can cause severe, often life threatening, anaphylactic reactions as well as new IgE sensitization to other allergens present in the extract. Low patient adherence and high costs due to long duration (3 to 5 years) of treatment have been commonly reported. Several strategies have been developed to tackle these issues and it became possible to produce recombinant allergen-SIT vaccines with reduced allergenic activity. Recently, intralymphatic injections in mice and humans showed that direct administration of allergenic extracts into lymph nodes increased specific IgG production and T-cell response using 100 times lower doses of allergens compared to classical, subcutaneous treatment.

Specialized T helper (Th) or T regulatory (Treg) cell subsets generated from naive T cells is decisive for the development and type of adaptive immune response. In allergic individuals, low amounts of allergens, such as those encountered during natural exposure to most of the environmental allergens, favor Th2 response and the switch of B cells towards IgE production. In contrast, higher doses of allergens given by allergen-SIT or natural exposure such as professional beekeepers and cat owner's favor the development of Treg response and allergy protective immune responses. In addition, usage of low dose allergens in an allergen-SIT vaccine is expected to lead to fewer side effects. Based on these observations, efficient immune regulation due to increased cellular uptake and augmented antigen-presentation through the MHC class-II antigen-presentation pathway that mimics high dose allergen exposure was investigated as a strategy for allergen-SIT.

We developed a novel vaccine for the treatment of cat allergy, a common cause of rhinoconjunctivitis and asthma. The major cat allergen, Fel d 1, is an 18 kDa heterodimer

protein produced in cat saliva and sebaceous glands and is responsible for symptoms in more than 90% of cat-allergic individuals. The vaccine consisted of three functional elements of the modular allergen translocation (MAT) technique that are fused to form a single recombinant protein. First, a cell membrane translocation module, the TAT peptide of HIV was used, which enables the vaccine to pass through the cell membrane and to accumulate inside antigen-presenting cells (APCs). Second, an MHC class-II targeting module, truncated invariant chain domain, which directs the processing of the MAT molecule within the APC and improves the presentation of the allergen and its components to the immune system via the MHC class-II pathway. Finally, the allergen, Fel d 1 in this case to which the patient is allergic determines the specificity of the induced immune response. The expression of the recombinant allergen together with the TAT and invariant chain peptides, decreases IgE binding and mast cell and basophil degranulation and prevents from the development of side effects related to the toxic components of allergenic extracts and provides much more specific vaccine for an individual patient. In mice, subcutaneous allergen-specific immunotherapy with MAT-Fel d 1 provided better protection against anaphylaxis compared to rFel d 1, and enhanced the induction of specific IgG2a antibody responses as well as the secretion of IFN- γ and IL-2 from T cells in mice. In a randomized double-blind placebo-controlled trial MAT-Fel d 1 was injected into inguinal lymph nodes (ILIT) of cat allergic patients (ClinicalTrials.gov, NCT00718679). In skin prick tests and intradermal tests 16 and 23-fold higher concentrations of MAT-Fel d 1 were tolerated, respectively, in the absence of adverse effects. Nasal tolerance to allergen was observed in parallel to increased cat dander-specific IgG4. In the present study, we evaluated mechanisms of immune regulation by MAT vaccines *in vitro* and in allergen-SIT of cat allergic rhinitis patients, who received 3 inguinal intralymphnode injections of MAT-Fel d 1 vaccine. The data demonstrate that an early T cell activation was followed by allergen-specific peripheral T cell tolerance one year later induced by multiple mechanisms that suggest the *in vivo* generation of allergen-specific T_{reg} cells.

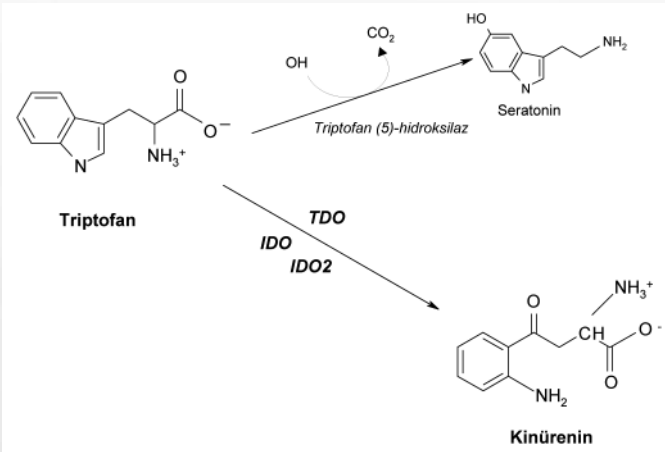
TRİPTOFAN-KİNÜRENİN YOLAĞI VE BESİN ALLERJİLERİ

Cansın Saçkesen

Hacettepe Üniversitesi Çocuk Allerji Bilim Dalı, Ankara

Besin allerjileri, hayatın erken döneminde ortaya çıkan ve allerjik hastalıkların gelişim sürecinde atopik dermatit ile birlikte ilk basamakları oluşturan hastalıklardır. İlerleyen dönemlerde bu allerjilerin bir kısmı immün tolerans geliştirip düzelmekte iken; bir kısmında da atopik dermatit devam etmekte, hatta astım ve allerjik rinit gelişmektedir. Triptofan/kinürenin yolağı; immün tolerans mekanizmalarında önemli rol oynar. Bu yolağın hız kısıtlayıcı enzimi indolamin 2,3 dioksijenaz (IDO)'dur.

Esansiyel bir amino asit olan L-triptofan (Trp), tüm yaşam formlarında protein biyosentezi için gereklidir ve NAD ve serotonin gibi biyolojik olarak önemli bileşikler için prekürsör bir maddedir. Triptofan vücut içinde ya genel protein sentezine ya serotonin biyosentezine dahil olur ya da kinürenin yolağıyla katabolizmaya uğrar (**Şekil 1**).



Şekil 1. Triptofan yıkım yolları (IDO: Indolamin 2,3 dioksijenaz, TDO:Triptofan 2,3 dioksijenaz)

Triptofan metabolizmasında hız kısıtlayıcı basamak olan L-triptofanın N-formil kinürenine dönüşümünde 3 enzimin rol oynadığı bilinmektedir. Bunlar indolamin 2,3 dioksijenaz (IDO), triptofan 2-3 dioksijenaz (TDO) ve yakın zamanda keşfedilen indolamin 2,3 dioksijenaz-2 (IDO-2)'dir. Bu enzimlerden TDO başlıca karaciğer dokusundan eksprese edilmekte olup triptofana oldukça spesifiktir ve büyük oranda triptofanla uyarılır. Farklı olarak diğer iki enzim IDO ve IDO-2, birçok dokudan eksprese olur ve enflamatuvar uyarılar ile aktiviteleri indüklenir. Triptofanın katabolizmasının bu önemli iki enzimi, triptofan düzeyinin azalması ve kinürenin deriveleri gibi triptofan yıkım ürünlerinin ve serbest oksijen radikallerinin açığa çıkması ile T hücre aktivasyonu ve proliferasyonunun inhibisyonunda önemli rol oynar. Bu durum immün toleransla ilişkilidir. Nitekim son zamanlarda yapılan çalışmalar özellikle IDO enziminin enfeksiyon, transplantasyon veya otoimmünite gibi durumlarda immün toleransın uyarılmasında oldukça önemli bir

role sahip olduğunu göstermektedir.

Dokularda yabancı antijenlere karşı immün toleransın düzenlenmesinde kritik rolü tanımlandığından beri IDO üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. IDO geni, proteini ve enzim aktivitesinin düzenlenmesi oldukça karışık olup günümüzde hala net olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

İndolamin 2-3 dioksijenaz enzimi; IDO, IDO-1, IDO2 olarak da isimlendirilir; hem içerir ve intraselüler bir enzimdir. İnsanda birçok doku ve hücre alt grubundan eksprese edilmektedir. IDO enziminin eksprese edildiğinin gösterildiği başlıca dokular akciğer, farenks, deri, mide, over, böbrek, ağız, pankreas, meme dokusu, kolon, kalp, bağ dokusu, tiroid, kas dokusu kemik ve göz dokularıdır. İmmün sistem içerisinde özellikle antijen sunan hücreler; dendritik hücreler (DC) ve makrofajlar, dış uyarılara cevaben, mikroçevrelerine bağlı olarak IDO ekspresyonunu artırıp azaltabilirler. Bu hücrelerde IDO eksprese edilmesi antijenlere T hücre cevabının durdurulmasında önemli rol oynamaktadır.

IDO enzimi ekspresyonu ve aktivasyonu başlıca enflamatuvar uyarılarla indüklenir. Enflamasyon boyunca başta interferon- γ (IFN- γ) olmak üzere interferon- α ve - β , tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), platelet aktive edici faktör (PAF) gibi birçok enflamatuvar sitokin tarafından uyarılabilir. Özellikle T regülatuvar (Treg) hücrelerinin hücre membranına bağlanmış olan CTLA-4, DC'lerdeki IDO bağımlı telerojenik programı aktive eder. Dendritik hücrelerde IDO aktivitesi ile azalan triptofan düzeyi ve açığa çıkan kinürenin deriveleri ile T hücre klonal ekspresyonu ve proliferasyonu azalırken, T hücre apoptozisi ve anejisi artar (1).

Yakın zamanda keşfedilen IDO-2 enzimi, yapısal olarak IDO'ya çok benzemekle beraber IDO inhibitörlerine farklı cevap vermeleri ve farklı ekspresyon spektrumları nedeni ile birbirlerinden ayrılırlar. Benzer olarak insan dendritik hücreleri hem IDO hem de IDO-2'yi eksprese ederler. IDO ve IDO-2 enzimlerinin immün tolerans üzerine etkileri ayırdır.

KAYNAKLAR

- Curti A, Trabanelli S, Salvestrini V, Baccarani M, Lemoli RM. The role of indoleamine 2,3 dioxygenase in the induction of immune tolerance: focus on hematology. Blood. 2009 Mar 12;113(11):2394-401. Epub 2008 Nov 20. Review.
- Murray MF. The human indoleamine 2,3-dioxygenase gene and related human genes. Curr Drug Metab. 2007 Apr;8(3):197-200. Review.
- Lob S, Konigsrainer A, Schafer R, Rammensee HG, Opelz G, Terness P. Levo- but not dextro-1-methyl tryptophan abrogates the IDO activity of human dendritic cells. Blood. 2008 Feb 15;111(4):2152-4. Epub 2007 Nov 28.

ATOPIK DERMATİTTE DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ (NATURAL KILLER- NK) HÜCRELERİN YERİ

Günnur Deniz

İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji AD, İstanbul

Doğal olarak organizmada hazır olarak bulunan ve mikroorganizmaları tanıyıp yıkıma uğratabilen savunma sistemi **doğal direnç - doğal bağışıklık**, herhangi bir patojenle karşılaştıktan sonra doğal direnci takiben ortaya çıkan bağışıklık ise **edinsel direnç - edinsel bağışıklık** olarak adlandırılır. Doğal bağışıklık sadece erken savunma sistemi özelliğine sahip değildir; ayrıca edinsel bağışıklığın etkili biçimde gelişmesini sağlayacak şekilde farklılaşmasında da rol oynar ve enfeksiyonlarla mücadelede doğal direnç mekanizmalarını kısmen de olsa kullanarak etkili olur; kısaca doğal direnç ve edinsel bağışıklık arasında çift taraflı bir etkileşim söz konusudur.

Doğal immünitenin başlıca yapıtaşları epitel tabakası, doğal öldürücü hücreler (natural killer - NK), kompleman sistemi, fagositik hücreler ve sitokinlerdir. Kemik iliği kökenli, büyük granüllü lenfositler olan NK hücreleri, patojenler ve tümörlere karşı spontan litik aktivite gösterirler. Periferik kan lenfositlerinin %5 -15'ini oluşturur ve karaciğer, peritoneal kavite, plasenta gibi periferik dokularda bulunurlar. *In vitro* şartlarda belirli tümör hücrelerini öldürme yeteneğine sahip NK hücrelerinin *in vivo* depresyonu bazı fare modellerinde tümör oluşumunda artışa neden olmaktadır. Th1 (yardımcı T hücresi 1) ve Th2 hücrelerine benzer şekilde insan NK hücre alt gruplarının da NK1 ve NK2 olarak iki gruba ayrıldığı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda gösterilmiştir. IFN- γ salgılayan NK hücre alt grubunun IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılamadığı, aksine IFN- γ salgılamayan NK hücrelerinin ise IL-4, IL-5 ve IL-13 salgıladığı gösterilmiştir. Çalışmalar dolaşımdaki NK hücrelerinin farklı sitokin profillerine sahip efektör NK hücre alt gruplarına dönüşebileceğini ve farklı enflamatuvar özellikler kazanabileceğini destekler yöndedir.

Atopik dermatit (AD) yaygın ekzematöz deri lezyonları ile karakterize kronik tekrarlayıcı enflamatuvar bir deri hastalığıdır. Hastalık atopik sendromlarla ortaya çıkmakta ve bu hastalarda astım ve allerjik rinit görülme sıklığı artış göstermektedir. AD hastalarında IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılayan allerjen spesifik Th2 hücrelerinin arttığı gösterilmekle beraber NK hücrelerin hastalık patogeneziindeki rolleri tam bilinmemektedir. NK hücrelerinin atopik dermatitte sayısal ve sitotoksik etkilerini inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlar görülmektedir. NK hücre sayısında ve sitotoksik aktivitede azalma gösteren çalışmaların aksine değişiklik saptanmayan çalışmalar da mevcuttur. Atopik kişilerde Th1/Th2 oranında azalmaya paralel olarak NK hücre sayısında da azalma saptanmıştır. CD16 ve CD56 ekspresyonunda düşüş saptanan atopik NK hücreleri sitokin salınımı açısından incelendiğinde IFN- γ , IL-4, IL-5 ve IL-13 sekrete ettikleri görülmektedir. *In vitro* farklılaşmış NK1 ve NK2 hücrelerinin anti-IFN- γ , anti-IL-4 ve anti-IL-13 varlığında, IL-4 ve sCD40L ile stimüle edilmiş B hücreleri ve periferik mononükleer hücrelerle inkübasyonu sonucu IgE ve IgG4

seviyelerinin her iki hücre kültüründe de NK1 hücre grubu tarafından inhibe edildiği ve bu inhibisyonun kültürlere anti-IFN- γ ilavesi ile nötralize olduğu gösterilmiştir.

En az bir aero-allergene karşı sensitizasyon ve total IgE düzeyleri yüksek tespit edilmiş AD hastalarda, sitotoksik aktivite, CD16^{bright}CD56^{dim} ve CD16^{dim}CD56^{bright} NK hücre alt grupları, NK hücre aktivatör reseptörleri ve hücre içi IL-4, IL-10 ve IFN- γ düzeyleri flow sitometrik yöntemle analiz edildiğinde, AD'li hastalarda CD16^{bright}CD56^{dim}, CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NK hücre oranı ve aktivatör reseptör NKG2D oranı sağlıklı bireylere göre düşük; IL-10 sekrete eden regülasyon ve IL-4 sekrete eden NK2 hücreleri AD'de yüksek, IFN- γ salgılayan NK1 hücreleri ve sitotoksik aktivite ise AD grubunda düşük saptanmıştır. Bulgularımız, CD16^{bright}CD56^{dim} NK hücreleri, NKG2D ekspresyonu ile birlikte sitotoksik aktivitedeki düşüklük ve IL-10 & IL-4 salınımındaki artışın, AD hastalık patogeneziinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Vosshenrich CAJ, Samson-Villeger SI, Di Santo JP. Distinguish features of developing natural killer cells. *Curr Opin Immunol* 2005; 17:151-58.
2. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol* 2001; 22:633-40.
3. Freud AG, Caligiuri MA. Human natural killer cell development. *Immunol Review* 2006; 214:56-72.
4. Papamichail M, Perez SA, Gritzapis AD, Baxeavanis CN. Natural killer lymphocytes: biology, development, and function. *Cancer Immunol Immunother* 2004; 53:176-86.
5. Hokland M, Kuppen PJ. Natural killer cells: from „disturbing” background to central players of immune responses. *Mol Immunol* 2005; 42:381-3.
6. Deniz G, Akdis M, Aktas E, Blaser K, Akdis CA. Human NK1 and NK2 subsets determined by purification of IFN-gamma-secreting and IFN-gamma-nonsecreting NK cells. *Eur J Immunol* 2002; 32:879-84.
7. Orange JS, Ballas ZK. Natural killer cells in human and disease. *Clin Immunol* 2006; 118:1-10.
8. Aktas E, Akdis M, Bilgiç S, Disch R, Falk CS, Blaser K, Akdis CA, Deniz G. Different natural killer (NK) receptor expression and immunoglobulin E (IgE) regulation by NK1 and NK2 cells. *Clinical & Experimental Immunol* 2006; 140(2):301-9.
9. Deniz G, Erten G, Küçüksezer UC, Kocacik D, Karagiannidis C, Aktas E, Akdis CA, Akdis M. Regulatory NK cells suppress antigen-specific T cell responses. *J Immunol* 2008; 180(2):850-57.

YENİ BİYOLOJİK AJANLARIN KLİNİKTE KULLANIMI

Fulya Coşan

Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Romatoloji Bilim Dalı, Zonguldak

Biyolojik ajanlar, immün sistemin belirli moleküllerini hedefleyerek etki gösteren ilaçlardır. Sitokinlere, immün sistem hücrelerine, reseptörlere veya sinyal ileti proteinlerine karşı biyolojik ajanlar geliştirilmiş olup, farklı tıp alanlarında tedavide kullanılmaktadır (Tablo-1). Bu ya-

zıda romatolojik hastalıklarda kullanılan ve halen araştırma aşamasında olan biyolojik ajanlar hakkında özet bilgi verilmesi amaçlanmıştır. Romatoloji klinik pratiğinde kullanılan biyolojik ajanlar Tablo-2'de özetlenmiştir.

Tablo-1- Değişik tıp alanlarında kullanılan biyolojik ajanlar ve hedefledikleri moleküller^{1,2}

BİYOLOJİK AJAN	HEDEF MOLEKÜL	KULLANILDIĞI ALAN	HASTALIK
ABCİXİMAB	GLİKOPROTEİN 2B/3A	KVS	İKH
ALEMTUZUMAB	CD52	HEMATOLOJİ	KLL
GEMTUZUMAB	CD33	HEMATOLOJİ	AML
IBRITUMOMAB	CD20	HEMATOLOJİ	NHL
TOSITUMOMAB	CD20	HEMATOLOJİ	NHL
OFATUMUMAB	CD20	HEMATOLOJİ	KLL
BRENTUXİMAB	CD30	HEMATOLOJİ	NHL (ALCL), HL
ECULİZİMAB	Kompleman proteini C5	HEMATOLOJİ	PNH
DACLİZUMAB	IL-2R (CD25)	TRANSPLANTASYON	REJEKSİYON
MEROMONAB	CD3	TRANSPLANTASYON	REJEKSİYON
BASİLİXİMAB	IL-2R (CD25)	TRANSPLANTASYON	REJEKSİYON
BEVACİZUMAB	VEGF	ONKOLOJİ	KOLOREKTAL CA
IPILİMUMAB	CTLA-4	ONKOLOJİ	MALİGN MELANOMA
CETUXİMAB	EPİDERMAL GFR	ONKOLOJİ	KOLON, BAŞ-BOYUN CA
PANITUMUMAB	EPİDERMAL GFR	ONKOLOJİ	KOLOREKTAL CA
DENOSUMAB	RANKL	ONKOLOJİ	KEMİK METASTAZLARI
EFALİZUMAB	CD11a	DERMATOLOJİ	PSORİASİS
NATALİZUMAB	Alfa 4 İNTEGRİN	GATROENTEROLOJİ	CROHN
NATALİZUMAB	Alfa 4 İNTEGRİN	NÖROLOJİ	MULTİPL SKLEROZ
OMALİZUMAB	IGE	GÖĞÜS H.	ALLERJİK ASTMA
RANİBİZUMAB	VEGF-A	GÖZ	MAKÜLER DEJENERASYON
IPILİMUMAB	CTLA-4	GÖZ	MAKÜLER DEJENERASYON
DENOSUMAB	RANKL	ENDOKRİN	POSTMENOP.OSTEOPOROZ

Tablo-2 - Romatolojik hastalıklarda kullanılan veya araştırma aşamasında olan biyolojik ajanlar ³⁻⁵

BİYOLOJİK AJANLAR				Etkiledikleri molekül
1	SİTOKİNLERİ HEDEFLEYEN BİYOLOJİK AJANLAR			
	A	Sitokinlere karşı monoklonal antikorlar	İnfliksımab	TNF
			Adalimumab	TNF
			Golimumab	TNF
			Sertolizumab	TNF
			Tocilizumab	IL-6
			Secukinumab	IL-17a
			Canakinumab	IL-1β
			Ustekinumab	IL-12 ve IL-23
			NNC010109-0012	IL-20
			NNC0114-0005	IL-21
	B	Füzyon proteinleri (Sitokin reseptörü-Fc)	Etanercept	TNF
	C	Sitokin antagonisti	Anakinra	IL-1Ra
	D	Reseptör antagonisti	Brodalumab	IL-17R
			Mavrilimumab	GM-CSF reseptör inhibitör
2	İMMÜN HÜCRELERİ HEDEFLEYEN BİYOLOJİK AJANLAR			
	A	Hücre monoklonal antikor	Rituximab	CD20
			Ocrelizumab	CD20
			Veltuzumab	CD20
			Ofatumumab	CD20
			Ocaratuzumab	CD20 ve CD16
3	STİMÜLASYON BLOKAJİ			
	A	T hücre aktivasyonu blokajı	Abatacept	CTLA-4
	B	B hücre aktivasyonu ve yaşam moleküllerinin inhibisyonu	Belimumab	BAFF
			Atacicept	BAFF-APRIL
	C	Sinyal ileti yolu blokajı	Tofacitinib	JAK3 inhibitörü
			Baricitinib	JAK1/JAK2 inh.
			GLPG0634	Selektif JAK1 inh.
			Fostamatinib	Syk inhibitörü
			BMS-582949	MAPK inh.

ROMATOLOJİK HASTALIKLARDA KULLANILAN BİYOLOJİK AJANLAR

1-SİTOKİNLERİ HEDEFLEYEN TEDAVİLER

a-TNF İNHİBİSYONU

Monoklonal antikor formları TNF reseptörü ve Ig molekülünün Fc kısmının füzyon proteini şeklinde oluşturulmuş anti-TNF ajanları bulunmaktadır. Halen ülkemizde; infliksımab (kimerize monoklonal antikor), adalimumab (insan monoklonal antikor), golimumab (insan monoklonal antikor) ve bir füzyon proteini olan etanercept kullanılmaktadır. Her 4 molekül romatolojik hastalıklarda benzer etkinliğe sahip olup, hastalık seyrinde yanıt alınamadığı ya da yan etki görüldüğü durumlarda birbirlerine geçiş yapılabilir. Etanercept'in, diğerlerinden farklı olarak inflamatuvar bağırsak hastalığında etkinliği gösterilememiştir. Uygulama şekilleri farklı olan bu 4 ilaç grubu aynı molekülü hedeflemiş olsa da biyolojik etkinlikleri farklı olabilmekte ve çok farklı klinik yanıtlar görülebilmektedir. Anti-TNF ajanlar, romatoid artrit,

ankilozan spondilit, psöriatik artrit, reaktif artrit, enteropatik artrit, psöriasis, üveit, vaskülit (Takayasu, Behçet Hastalığı vs.), inflamatuvar bağırsak hastalıkları (ülseratif kolit, Crohn) tedavilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Anti-TNF ajanlara ait ayrıntılı bilgi Tablo-3'te sunulmuştur. Anti-TNF ajanlarla ilgili en önemli risk tüberküloz (TB) reaktivasyonudur. Bu nedenle tedaviye başlamadan önce hasta latent TB açısından taramalı ve gerekli durumda 9 ay süreyle INH profilaksisi verilmelidir. Ülkemiz gibi latent TB'nin sık görüldüğü yerlerde TB açısından yeterli koruma sağlanmadan anti-TNF tedavi başlanmamalıdır. Bu tedavi sırasında diğer infeksiyonların sıklığında, süresinde ve ağırlığında artış olabilir. Daha nadir etkenlerle infeksiyonlar ve fırsatçı infeksiyonlar görülebilir. Malignitesi olan hastalarda kontrendikedir. Geçirilmiş ve kür sağlanmış malignitelerde ise relatif kontrendikedir. Kullanımı solid tümör riskinde artışa yol açmaz, lenfoma riskinde ise hafif bir artış yapabilir. İmmünojenisite riski nedeniyle bazı otoimmün hastalıklarda immünsupresif tedavilerle birlikte verilmelidir.³⁻¹¹

TABLO-3- ANTİ-TNF AJANLARIN ÖZELLİKLERİ

ANTİ-TNF		UYGULAMA ARALIĞI	DOZU	ENDİKASYONLARI	YAPISI
İNFLİKSİMAB	İV	0., 2., 6. HAFTALARDA, SONRA 4-6 HAFTADA BİR	3-5 MG/KG	TÜM ANTİ-TNF	KİMERİK MONOKLONAL ANTİKOR
ETANERCEPT	SC	HAFTADA BİR	50 MG	JIA'DA ONAYLI, İBH'DA VERİLMİYOR	DİMERİK FÜZYON MOLEKÜLÜ (P75 TNF RESEPTÖRÜ)
ADALİMUMAB	SC	2 HAFTADA BİR	40 MG	TÜM ANTİ-TNF	İNSAN MONOKLONAL ANTİKOR
GOLİMUMAB	SC	AYDA BİR	50 MG	RA, AS, PSA	İNSAN MONOKLONAL ANTİKOR
CERTOLİZUMAB	SC	2 HAFTADA BİR	200 MG	RA, CROHN	İNSAN MONOKLONAL ANTİKOR (FAB)

b-IL-1 İNHİBİSYONU

Anti IL-1 tedavileri romatoid artrit gibi hastalıklarda çok etkin bulunmamıştır.^{9,10} Temel olarak otoinflamatuvar sendromların (CAPS^{12,13}, AAA¹⁴, Gut^{15,16}, juvenil idiyopatik artrit¹¹) tedavisinde etkinlikleri gösterilmiştir. Diğer romatolojik hastalıklarda kullanımları ile ilgili sınırlı sayıda olgu sunumları mevcuttur. Anakinra, Rilonacept ve Canakinumab tedavide kullanılmaktadır.

c-IL-6 İNHİBİSYONU

Tocilizumab, romatoid artrit ve juvenil idiyopatik artrit tedavisinde rutin pratikte kullanılmaktadır.^{3-5,9,10}

d-IL-12 ve IL-23 İNHİBİSYONU

Ustekinumab, IL-12 ve IL-23 inhibisyonu yaparak etki göstermektedir. Psöriasis tedavisinde ve psöriatik artritte etkin olduğu gösterilmiştir.¹⁷

e-IL-17 İNHİBİSYONU

IL-17 inhibitörü Secukinumab'ın romatoid artrit tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir.^{18,19} Henüz rutin kullanımda değildir. IL-17 reseptör antagonisti Brodalumab'ın romatoid artrit tedavisinde kullanıma dair çalışmaların ilk verileri yararlı olduğu yönünde olmakla birlikte psöriasisde etkin olduğu bildirilmiştir.^{18,20}

2-İMMÜN SİSTEMDE GÖREVLİ HÜCRELERİ HEDEFLEYEN TEDAVİLER

B HÜCRELERİNİ HEDEFLEYEN TEDAVİ YÖNTEMLERİ

Rituximab, anti-CD20 molekülü olup, lenfoma dışında romatolojik hastalıklarda da rutin olarak kullanılmaktadır. Rituximab, romatoid artrit ve ANCA ilişkili vaskülitlerin tedavisinde onay almış olup, SLE ve diğer tedaviye dirençli otoimmün hastalıklarda da etkinliği gösterilmiştir. Rituximab dışında başka anti-CD20 monoklonal antikorlar bulunmakla birlikte, diğer moleküller sadece lenfoma tedavisinde kullanılmaktadır.^{3-5,9,10}

B hücrelerin aktivasyonunu ve proliferasyonunu düzenleyen BAFF ve APRIL moleküllerini inhibe eden tacicept'in romatoid artrit tedavisinde kullanımı ile ilgili çalışmalar sürmekte bir-

likte, ilk sonuçlar mevcut ajanlara göre belirgin bir üstünlük göstermemektedir.²¹

Belimumab, B hücre aktive edici faktör BAFF'a karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikor olup SLE tedavisinde onaylanmıştır.^{22,23}

3-SİNYAL İLETİMİNİ HEDEFLEYEN TEDAVİLER

a-KOSTİMÜLASYON BLOKAJİ

Optimal T hücre aktivasyonu için T hücre reseptörüne bağlanma (sinyal 1) ve T hücresindeki CD28 ve antijen sunan hücredeki CD80 ve CD86 arasında bağlantı olması gerekmektedir (sinyal 2). CD28'in yapısal olarak benzeri olan CTLA-4, CD80/86'ya yüksek afinitede bağlanabilir ve sinyal iletimini önleyebilir. Abatacept, CTLA-4'ün ekstrasellüler parçası ve I_G₁ molekülünün Fc parçasının füzyonu sonucu meydana getirilmiş rekombinant bir moleküldür. Abatacept kullanımında, ikincil sinyal iletimi olmayacak ve T hücreler 'anerjik' kalacaktır. Abatacept romatoid artrit tedavisinde etkinliği kanıtlanmış ve rutin kullanımda olan bir ilaçtır.^{3-5,9,10}

b-JAK İNHİBİSYONU

Tofacitinib, ilk olarak JAK3 inhibitörü olarak tanımlanmışsa da JAK1 ve JAK3 inhibisyonu yaptığı gösterilmiştir. Tofacitinib'in romatoid artrit tedavisinde etkinliği gösterilmiştir.^{24,25} Baricitinib JAK1 ve JAK2 inhibisyonu yaparak etki göstermektedir. Romatoid artrit tedavisinde etkili olabileceği bildirilmiştir.²⁶

SONUÇ

Biyolojik ajanlar birçok hastalığın tedavisinde yeni bir dönem başlatmış ve tedaviye dirençli hastalarda çok etkin yanıtlar elde edilmesine neden olmuştur. Bu örnekler, laboratuvar patogenezi için gösterilen verilerin kliniğe uygulanmasının somut kanıtlarıdır. Öte yandan bazı immün moleküllerin bloke edilmesiyle klinikte görülen beklenenden farklı sonuçlar ya da yan etkiler de bu moleküllerin farklı fonksiyonlara sahip olabileceği konusunda yol gösterici olacaktır.

REFERANSLAR

1. Firer MA, Gellerman G. Targeted drug delivery for cancer therapy: the other side of antibodies. *J Hematol Oncol.* (2012) 9;5:70
2. Waldmann, Thomas A. Immunotherapy: past, present and future. *Nature Medicine* (2003) 9 (3): 269-277.
3. EULAR (The European League Against Rheumatism) 2012, Berlin, Germany
4. ACR/ARHP Annual Meeting 2012 (American College of Rheumatology), Washington DC, USA
5. EULAR Compendium on Rheumatic Diseases, Johannes WJ Bijlsma, 2009, 1. Edition
6. Baraliakos X, van den Berg R, Braun J, van der Heijde D. Update of the literature review on treatment with biologics as a basis for the first update of the ASAS/EULAR management recommendations of ankylosing spondylitis. *Rheumatology* (Oxford) (2012) 51(8):1378-87.
7. Gossec L, Smolen JS, Gaujoux-Viala C, Ash Z, Marzo-Ortega H, van der Heijde D, FitzGerald O, Aletaha D, Balint P, Boumpas D, Braun J, Breedveld FC, Burmester G, Cañete JD, de Wit M, Dagfinrud H, de Vlam K, Dougados M, Helliwell P, Kavanaugh A, Kvien TK, Landewé R, Luger T, MacCarone M, McGonagle D, McHugh N, McInnes IB, Ritchlin C, Sieper J, Tak PP, Valesini G, Vencovsky J, Winthrop KL, Zink A, Emery P; European League Against Rheumatism. European League Against Rheumatism recommendations for the management of psoriatic arthritis with pharmacological therapies. *Ann Rheum Dis.* (2012) 71(1):4-12.
8. Braun J, van den Berg R, Baraliakos X, Boehm H, Burgos-Vargas R, Collantes-Estevez E, Dagfinrud H, Dijkmans B, Dougados M, Emery P, Geher P, Hammoudeh M, Inman RD, Jongkees M, Khan MA, Kiltz U, Kvien T, Leirisalo-Repo M, Maksymowych WP, Olivieri I, Pavelka K, Sieper J, Stanislawska-Biernat E, Wendling D, Ozgocmen S, van Drogen C, van Royen B, van der Heijde D. 2010 update of the ASAS/EULAR recommendations for the management of ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* (2011) 70(6):896-904.
9. Nam JL, Winthrop KL, van Vollenhoven RF, Pavelka K, Valesini G, Hensor EM, Worthy G, Landewé R, Smolen JS, Emery P, Buch MH. Current evidence for the management of rheumatoid arthritis with biological disease-modifying antirheumatic drugs: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of RA. *Ann Rheum Dis.* (2010) 69(6):976-86.
10. Smolen JS, Landewé R, Breedveld FC, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C, Gorter S, Knevel R, Nam J, Schoels M, Aletaha D, Buch M, Gossec L, Huizinga T, Bijlsma JW, Burmester G, Combe B, Cutolo M, Gabay C, Gomez-Reino J, Kouloumas M, Kvien TK, Martin-Mola E, McInnes I, Pavelka K, van Riel P, Scholte M, Scott DL, Sokka T, Valesini G, van Vollenhoven R, Winthrop KL, Wong J, Zink A, van der Heijde D. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis.* (2010) 69(6):964-75.
11. Ungar WJ, Costa V, Burnett HF, Feldman BM, Laxer RM. The use of biologic response modifiers in polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis: A systematic review. *Semin Arthritis Rheum.* (2013) [Epub ahead of print]
12. Koné-Paut I, Pirm M. Targeting interleukin-1 β in CAPS (cryopyrin-associated periodic) syndromes: what did we learn? *Autoimmun Rev.* (2012) 12(1):77-80.
13. Goldbach-Mansky R. Immunology in clinic review series; focus on autoinflammatory diseases: update on monogenic autoinflammatory diseases: the role of interleukin (IL)-1 and an emerging role for cytokines beyond IL-1. *Clin Exp Immunol.* (2012) 167(3):391-404.
14. Soriano A, Verrecchia E, Afeltra A, Landolfi R, Manna R. IL-1 β Biological Treatment of Familial Mediterranean Fever. *Clin Rev Allergy Immunol.* (2013) [Epub ahead of print]
15. Tran TH, Pham JT, Shafeeq H, Manigault KR, Arya V. Role of Interleukin-1 Inhibitors in the Management of Gout. *Pharmacotherapy.* (2013) [Epub ahead of print]
16. Crittenden DB, Pillinger MH. New therapies for gout. *Annu Rev Med.* (2013) 64:325-37.
17. Gottlieb A, Menter A, Mendelsohn A, Shen YK, Li S, Guzzo C, Fretzin S, Kunyetz R, Kavanaugh A. Ustekinumab, a human interleukin 12/23 monoclonal antibody, for psoriatic arthritis: randomised, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Lancet.* (2009) 21;373(9664):633-40.
18. Patel DD, Lee DM, Kolbinger F, Antoni C. Effect of IL-17A blockade with secukinumab in autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis.* (2013) 72 Suppl 2:iii116-iii123.
19. Genovese MC, Durez P, Richards HB, Supronik J, Dokoupilova E, Mazurov V, Aelion JA, Lee SH, Coddling CE, Kellner H, Ikawa T, Hugot S, Mpofu S. Efficacy and safety of secukinumab in patients with rheumatoid arthritis: a phase II, dose-finding, double-blind, randomised, placebo controlled study. *Ann Rheum Dis.* (2012) [Epub ahead of print]
20. Garber K. Anti-IL-17 mAbs herald new options in psoriasis. *Nat Biotechnol.* (2012) 7;30(6):475-7.
21. van Vollenhoven RF, Kinnman N, Vincent E, Wax S, Bathon J. Atacicept in patients with rheumatoid arthritis and an inadequate response to methotrexate: results of a phase II, randomised, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.* (2011) 63(7):1782-92.
22. Rosman Z, Shoenfeld Y, Zandman-Goddard G. Biologic therapy for autoimmune diseases: an update. *BMC Med.* (2013) 4;11:88.
23. Parodis I, Axelsson M, Gunnarsson I. Belimumab for systemic lupus erythematosus: a practice-based view. *Lupus.* (2013) 22(4):372-80.
24. Simmons DL. Targeting kinases: a new approach to treating inflammatory rheumatic diseases. *Curr Opin Pharmacol.* (2013) [Epub ahead of print].
25. McInnes IB, Kim HY, Lee SH, Mandel D, Song YW, Connell CA, Luo Z, Brosnan MJ, Zuckerman A, Zwillich SH, Bradley JD. Open-label tofacitinib and double-blind atorvastatin in rheumatoid arthritis patients: a randomised study. *Ann Rheum Dis.* (2013) [Epub ahead of print].
26. van Vollenhoven RF. Small molecular compounds in development for rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol.* (2013) 25(3):391-7.

İNFLAMATUVAR DERİ HASTALIKLARINDA HEDEFE YÖNELİK TEDAVİLER

Nilgün Atakan

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara
Deri ve Zührevi Hastalıklar AD Öğretim Üyesi

Deri yüzey alanı itibarı ile organizmanın en geniş organı olup, çevredeki sayısız patojen, kimyasal, ultraviyole ve travma gibi zararlı etkenlerle sürekli etkileşim halindedir. Derinin pasif bir koruyucu bariyer olmasının ötesinde pek çok immünolojik fonksiyonu olduğu özellikle 1980'lerden sonra daha iyi anlaşılmış ve giderek önem kazanmıştır. İnfeksiyöz olan veya olmayan pek çok stimulan (PAMP ve DAMP'lar) epidermal ve dermal hücrelerdeki TLR'ler ve NLRP'ler aracılığı ile doğal immün yanıtı başlatır. Ardından NF kappa B yolağının aktivasyonu ile sitokinlerin üretimi ve salınımı ile inflamatuvar yanıt ortaya çıkar. Homeostazın sağlanamadığı ve kronisitenin geliştiği durumlarda inflamatuvar deri hastalıkları gelişir. Psoriasis, alerjik kontakt dermatit ve atopik dermatit başta olmak üzere kronik inflamatuvar deri hastalıklarının patogenezi doğal immün sistemi daha iyi tanımamızla birlikte daha iyi anlaşıldı. Diğer yandan nadir görülen monogenik otoinflamatuvar hastalıkların son yıllarda daha detaylı çalışılması inflamasyonun şiddetle başlayıp ardından kronikleşmesine neden olan inflamasyon medyatörlerinin saptanmasına ve bunları hedef alan tedavilerin geliştirilmesine yol açtı.

Monogenik otoinflamatuvar hastalıklardan Muckle-Wells başta olmak üzere Cryopirin ilişkili periyodik sendromlar, pyojenik artrit, pyoderma gangrenozum ve akne ile birlikte presente olan PAPA sendromu, Hiper IgD ve FMF sendromunda özellikle inflamazom ve IL-1'in patogenezi de belirgin rolü gösterildi. Böylece tedavide IL-1 inhibisyonu yapan Anakinra, Canakinumab, Rilonacept; IL-6 antagonisti Tocilizumab ve TNF inhibisyonu yapan anti-TNF ajanlar (Infliximab, etanercept, adalimumab) kullanılmaya başlandı.

Dermatolojide hedefe yönelik tedavilerin gündeme gelişi özellikle psoriasis immünpatogeneziye yönelik yeni gelişmeler sayesinde olmuştur. Psoriasis patogenezinde

hem doğal hem de kazanılmış immünitede disregülasyon mevcuttur. Genetik yatkınlığın mevcut olduğu bireylerde bilinmeyen bir antijen veya otoantijenik bir protein dentritik hücreler tarafından bölgesel lenf nodlarında patojen T lenfositlerine sunulur. Uyarılan T lenfositleri Th_1 , Th_{17} ve Th_{22} alt gruplarına polarize olarak **çoğalır** ve dolaşıma geçer oradan da tekrar olay bölgesine doğru dermis ve epidermise göçerler. Psoriasisli hastalarda artmış sayıda olduğu gösterilen dermal plazmasitoid dentritik hücreler (pDH) yüksek düzeyde IFN-alfa salgılayarak inflamasyonu **şiddetlendirir** ve hücre göçünü stimüle eder. Bu hücrelerin salgıladığı IL-6, IL-12, IL-17, IL-23, TNF-alfa keratinositlerden sitokin salınımı ve AMP (antimikrobial peptid) yapımını artırır. Bu olayın daha da **şiddetlenmesine** yol açar. IL-22 ile birlikte IL-23 anormal epidermal proliferasyonuna neden olurlar. Keratinositlerin harabiyeti ile ortaya **çıkan** nükleer artıklardan self DNA katelisinin (LL-37) ile kompleks yaparak pDH lerin yüksek IFN-alfa sentezlemesine ve inflamasyonu **şiddetlendirmesine** neden olurken diğer taraftan self RNA LL-37 ile kompleks yaparak inflamatuvar DH in sürekli ve güçlü bir **şekilde** T lenfositlerini uyarmasına neden olurlar. Böylece olay giderek **şiddetlenir** ve fasit bir daire oluşturur, hastalık kronik bir hale gelir. Psoriasis tedavisinde bugün **özellikle şiddetli** olgularda TNF inhibisyonu yapan Infliximab, Etanercept ve Adalimumab kullanılmaktadır. Klasik tedavilere yanıt vermeyen olgularda giderek daha sık kullanılmaya başlanan bu ajanlar hastalığın tedavisinde yüksek etkinlik göstermekte, ancak uzun süreli kullanımda güvenlikleri ile ilgili tereddütler devam etmektedir. Patogenezi de **önemli** rolü olan moleküllerden IL-17, IL-17A yı hedefleyen tedaviler ve IL-12/23 inhibisyonu yapan ajanlar da psoriasis ve diğer kronik inflamatuvar deri hastalıklarının tedavisinde yakın gelecekte kullanılmaya başlayacaktır.

BAKTERİ KÖKENLİ MEMBRAN KESECİKLERİNİN İMMÜN SİSTEM ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Mayda Gürsel

Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara

Patojenlerce ifade edilen peptidoglikan, LPS, CpG dinükleotid frekansı yüksek metillenmemiş DNA gibi patojene özgü moleküler örüntüler, toll-benzeri reseptör (TLR) ailesi gibi patojen tanıma reseptörleri ifade eden hücreler tarafından tanınmaktadır. Patojen tanıma reseptörlerinin özgül ligandlarla uyarılması, immün sistem hücrelerinde çeşitli sinyal iletim yollarını etkinleştirerek adaptif bağışıklığı destekleyen güçlü bir doğal bağışıklığın oluşmasına yol açar. Yapılan pek çok pre-klinik çalışma, TLR ligandlarının etkili aşı adjuvantları olduğunu ve tek başına ya da cerrahi uygulama, kemoterapi ve/veya radyoterapiyle beraber kullanıldığında tümör gerilemesine yol açtığını göstermektedir. Son yıllarda ise birden çok TLR ligandının bir arada kullanılmasıyla daha güçlü ve kalıcı bir immün yanıtın oluştuğuna dair makaleler yayınlanmaya başlanmıştır. Bakterilerin doğal yaşamlarında ortama salgıladıkları küçük membran vezikülleri (MV'ler), peptidoglikan, lipoproteinler, LPS, nükleik asit gibi birden çok TLR ligandı içerdiklerinden ve bu ligandlar kesecik yapısında serbest ligandlara göre daha kararlı olduğundan MV'lerin immün stimulan özelliklerinin araştırıp, aşı adjuvantı ve anti-kanser ajanlar olarak potansiyellerin değerlendirilmesini hedefledik. Literatür

açısından bu iki uygulama için ilk kez test edilen MV'ler, 5 farklı tip Gram pozitif insan kommensal suşundan ve patojen olmayan Gram negatif DH5a E.coli den elde edildi. MV'lerin fiziksel (atomik kuvvet mikroskopisi ve dinamik ışın saçınımı ile nanoparçacık ebatlarının belirlenmesi, zeta potansiyeli ölçümüyle net yüklerin belirlenmesi) ve biyokimyasal (protein ve nükleik asit içeriklerinin belirlenmesi) karakterizasyonlarını takiben, immün uyarıcı aktiviteleri, hücre-içine alımları, olası sitotoksik etkileri *in vitro* deneylerle belirlendi. MV'lerin aşı adjuvantı ve anti-tümör potansiyelleri *in vivo* fare modellerinde test edildi. Bu amaçla, Şap hastalığına karşı kullanılan inaktive edilmiş viral aşı, kommensal bakteri vezikülleri ile beraber farelere uyguladığında, serotip-O antijenine karşı gelişen IgG2a antikor yanıtının azaldığı gözlenirken e.coli veziküllerinin ise uyarıcı etki yaptığı anlaşıldı. Aynı şekilde, kommensal veziküllerin farklı bir immünizasyon modelinde anti-OVA antikor cevabını baskıladığı ve bunun sonucunda OVA ifade eden EG7 tümör hücresi verildiğinde tümör oluşumunu şiddetlendirdiği gözlemlendi. Bu sonuçlar, kommensal kökenli membran veziküllerinin Th-1 tipi enflamatuvar yanıtı baskıladığını düşündürmektedir.

GRİP AŞISI GEREKLİ BİR UYGULAMA MIDIR?

Selim Badur

İstanbul Tıp Fakültesi, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı, Çapa-34390, İstanbul

Bu yazıda gerekliliği ve yararı çeşitli platformlarda tartışılan bir aşiyı, grip aşısını ele alacağız. Grip sorununu, bir bölüm bilim insanınca önemi ısrarla vurgulanırken, bir başka kesim tarafından yapay bir gündem olarak nitelendirilen; toplum genelinde ise ancak *pandemi riskinden* bahsedildiğinde ciddiye alınan bir konu olarak tanımlamak olasıdır. Nitekim genellikle sıradan bir solunum yolu enfeksiyonu olarak değerlendirilen, buna karşın hem bireysel hem de toplumsal açılardan ciddi olumsuzluklara yol açan grip, hastalık yükü iyi anlaşılmamış bir sağlık sorunudur. Özellikle gelişmiş ülkelerde yapılan geniş kapsamlı incelemeler, bu konuyu yadsımanın gerçekçi bir yaklaşım olmadığını ve söz konusu enfeksiyon hastalığının çeşitli açılardan önemsenmesi gereken bir patoloji olduğunu kanıtlamaktadır (1-3). Grip etkeni Influenza virüslerinin kolay bulaşmaları ve dış koşullara direnç göstermeleri nedeniyle, süratle geniş kitlelere yayılabildiği bilinmektedir. Örneğin sıradan bir grip mevsimi sürecinde, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre gelişmiş ülkelerde ortalama 3-5 milyon kişinin ağır seyreden gribe yakalanması ve 250.000-500.000 kişinin yaşamını gribe bağlı sorunlardan ötürü yitirmesi söz konusudur (4, 5). Öte yandan yüksek morbidite ve mortalite oranları ile karakterize gribal enfeksiyonların tıbbi ve sosyal olumsuzlukların yanı sıra ekonomik kayıplara da neden olduğu belirlenmiştir (4, 6). Bu bağlamda grip-ten sonra sıklıkla gözlenen komplikasyonlara bağlı olarak, bir salgın döneminde hastanelere başvuruların ciddi oranda arttığı; her ne kadar ölüm nedeninin grip olarak tanımlanması yaygın bir uygulama değilse de, bu süreçte en azından belli risk gruplarında ölüm oranlarının ciddi boyutlara ulaştığı hesaplanmıştır (7, 8). A.B.D.'den yapılan bildirimlerde, sıradan bir grip sezonunda hastalığın toplumdaki atak hızı %6 -12 olarak hesaplanmış ve 2005 yılı için grip nedeniyle 36.000 kişinin yaşamını yitirdiği, 200.000 kişinin ise hastaneye yatışı gerektirecek kadar ağır enfeksiyon geçirdikleri saptanmıştır (9). Buna göre söz konusu ülke için mortalite ve hastaneye yatış oranları, sırasıyla milyonda 120 ve 670 olarak hesaplanmıştır. Ekonomik kayıplar açısından bakıldığında ise, aynı ülkede bir sezon süresinde grip nedeniyle 31,4 milyon kişi polikliniklere başvurmuş, 3,1 milyon hastaneye yatış günü söz konusu olmuş, 10,4 milyar dolar direkt tıbbi harcama ve 87,1 milyar dolar toplam ekonomik kayıp ortaya çıkmıştır (10).

Gripten korunma

Günümüzde grip için hem inaktif hem de canlı attenüe aşılar mevcuttur. Bunları içeriklerine göre üç ana grupta ele almak mümkündür:

- tam virüs aşıları (inaktif ya da canlı attenüe aşılar)
- split virüs aşıları (parçalanmış virüsler)
- alt ünite (subvirion) aşılar (saflaştırılmış hemagglütinin -HA- ve nöraminidaz -NA- antijenleri)

Grip aşısından beklenen, aktif bağışıklama esasına göre

uygun bir immünojen ile uyarı sonucunda aşılanan bireyde antiviral immünitenin oluşturulmasıdır. Influenza virüslerinin HA ve NA glikoproteinlerine karşı hümmoral yanıt ürünleri olan nötralizan antikorların sentezlenmesi yeterli ve uygun koruma sağlamaktadır. Dolaşımda bulunan antikorlar transüstasyon uyarınca akciğerlere geçerek aşılanan kişiyi viral pnömonilerden koruyacaktır. Influenza virüslerinin değişkenlik özellikleri bilindiğinden, her grip sezonu için aşının içeriği DSÖ tarafından belirlenmekte ve o sezon dolaşımda olmaları beklenen etkenlere karşı güçlü savunma sağlayacak immünojen karışımı hazırlanmaktadır. Günümüzdeki uygulamada, DSÖ tarafından uygun bulunan suşlar, ya çoğunlukla olduğu gibi embriyonlu yumurtada ya da kimi üreticiler tarafından son yıllarda geliştirilen memeli hücrelerde (Vero ya da MDCK hücreleri) üretilerek çoğaltılırlar. Günümüzde izlenen algoritmide, aşı içeriğinin belirlenmesi amacıyla hemagglütinasyon inhibisyon (HAI) ve antijenik kartografi yöntemlerini kullanarak izole edilen suşlar ve bağışıklanmış gelinciklerin antiserumları arasındaki çapraz reaksiyonlar saptanarak tahminlerde bulunulur. Uygun suşun belirlenmesini takiben, bu subtipler sanayi boyuttaki üretimi sağlamak için laboratuvar koşullarına adapte edilmiş ve bol üreme özelliğine sahip bir fenotiple (PR-8 adı verilen H1N1 suşudur: A/PR/8/34) birlikte embriyonlu yumurta allantoin kesesinde üretilirler. Elde edilen ve bol miktarda üreme özelliği kazanmış hibrid suşlar (*reassortant*'lar), virüs dışı proteinlerden arındırmak için saflaştırma işlemlerine tabi tutulurlar. Sonuçta oluşacak ürün A/PR/8/34 suşundan altı genin yanısıra, o yıl için DSÖ'ce önerilen suşa ait HA ve NA gen segmentlerini içerir (7).

İlk üretim yıllarında aşı olarak inaktive edilmiş tam virüs partikülleri kullanılır idi; ancak yeterli immünojeniteye sahip olmalarına karşın bu ürünlerin yan etkileri nedeniyle günümüzde en yaygın kullanım şekli olan ve tween 80 ya da triton N101 kullanılarak parçalanmış virüs partiküllerinden oluşan split aşılara geçilmiştir. İlk kez 1968 yılında piyasaya verilen split aşılarda, üretilen virüs etil eter ya da sodyum dodesil sülfatla işlenerek inaktif hale geçirilmektedir. Split aşılar içinde dolaşımdaki virüsler ile uyum gösterecek aşı suşları bulunmalıdır ve bu nedenle her aşı, üç virüs suşu taşır: iki adet Influenza A (H1N1 ve H3N2) ve bir adet Influenza B suşu. Bu suşların seçiminde her yılın epidemiyolojik verilerinin matematik modeller uyarınca değerlendirilmesinden yararlanılır (11). İşte tüm bu süreç yaklaşık 8 aylık bir çalışma gerektirir. Kuzey yarımküre için Şubat ayında, kullanılacak suşların DSÖ tarafından belirlenmesini ve bu durumun üreticilere bildirilmesini takiben, aşı içeriğine girecek 3 ayrı subtipin üretimi, bu 3 monovalan suşun (A/H3N2, A/H1N1 ve B) kontrollerinin yapılarak trivalan karışımın eldesi ve son kontrollerin yapılması aşamalarına geçilir. Söz konusu surveyans ve "*tahmin et, üret*" yaklaşımı ile hazırlanan aşılar, genelde o yılın dolaşımdaki suşları ile tam bir uyum göstermektedir. Örneğin 1987-1997 yıllarını kapsayan 10 yıllık dönemin 5 yılında tam, geri kalan

yıllarda kısmen örtüşme gözlenmiş; buna karşın 2003/4 sezonunda ortaya çıkan ve aşı içeriğinden farklılık gösteren A/Fujian/411/2002-like H3N2 virüsünün söz konusu olması, başta Avustralya olmak üzere bazı ülkelerde, aşının "kısmen koruyucu" olarak tanımlanmasına neden olmuştur. Ancak bu tip beklenmeyen durumların, grip aşısının önemini azaltmadığı, koruyuculuk oranının bir miktar düştüğünü ve genel anlamda aşının toplum sağlığı açısından yararını koruduğu kabul edilmektedir (9).

Canlı grip aşıları dendiğinde, soğuğa adapte edilmiş attenüe Influenza suşlarından hazırlanan aşılar kastedilmektedir. Seri pasajlar ile soğuğa adapte edilen virüslerin HA ve NA genleri dışındaki genlerinde meydana gelen mutasyonların virüsün attenüasyonuna neden olduğu saptanmış ve gelinciklerde yapılan deneysel çalışmalarda bu tip aşılarda hastalık oluşumunu önlediği gözlenmiştir. Mevcut canlı attenüe aşılar intranazal spreyler şeklinde uygulanmaktadır ve enjeksiyon gerektirmemesi nedeniyle özellikle ciddi salgınlar sırasında kitlesel uygulamalar için kolaylık getirmektedir. Her ne kadar yapılan çalışmalarda bu aşılarda yüksek koruyuculuk oranları gösterilmiş, ayrıca heterojen suşlara karşı çapraz koruma sağladığı saptanmış ise de, canlı attenüe suşların enfeksiyöz orijinal virüs tipine dönüşme olasılığı bulunmaktadır ve canlı virüs saçılımının yanısıra istenmeyen reaksiyonlara neden olabilmeleri söz konusudur (12). Ülkemizde bu tip aşılar kullanıma girmemiştir.

Grip aşısının yararı

Günümüzde çeşitli ülkelerde grip aşılama programları geliştirilmiş ve uygulamaya konmuştur. Nitekim DSÖ, özellikle risk grupları için grip aşısı kullanımının artırılması yönünde tavsiye kararları almakta ve 2000 yılından başlayarak bu önerisini yıllardan beri yinelemektedir (13). Güvenilir bir aşı olduğu kabul edilen grip aşısının etkinliği, uygulandığı çeşitli gruplara ait bulgularla ortaya konmaktadır. Genel anlamda grip aşılama: toplum genelinde grip olgularını ve hastaneye grip nedeniyle başvuruları, komplikasyonları, ayrıca yaşlılar ve risk grubu üyeleri arasında gribe bağlı ölümleri azalttığı kabul edilir. Ancak hemen belirtelim ki, aşılanan kişinin yaşı, immün sisteminin durumu ve daha önceden sahip olduğu bağışıklık düzeyi gibi parametreler, aşıya yanıt üzerine etki eden faktörlerdir (14). Her ne kadar sağlıklı bir bireyde aşının etkinliği % 70-90 oranında seyretmekte ise de, örneğin önemli bir hedef kitle olan 65 yaş üzeri kişilerde bu oran % 30-40'lara düşmektedir. Ancak buna rağmen yaşlı kesimde aşılama sayesinde Influenza benzeri hastalık (IBH; *Influenza like illness*-ILI) görülme oranı %33, serolojik olarak kanıtlanmış hastalığa yakalanma oranı ise % 56 oranında azalmıştır (15). Benzer bir durum immün sistemleri yeterince gelişmemiş ve daha önceden etken ile karşılaşmamış küçük çocuklar için de geçerlidir.

Grip aşısının etkinliği belirlemek konusunda uluslararası kabul edilmiş bir standardizasyon henüz geliştirilmemiştir. Kullanımdaki split aşı içinde her 3 aşı suşuna ait 15'er µg HA bulunmaktadır; bu durumda aşılananlarda anti-HA antikor titrelerini ölçmek bir kriter olarak düşünülse de, koruyucu titrenin ne olduğunun kesinlik kazanmamış olması bu tip yaklaşımları etkisiz kılmaktadır. Bu durumda aşı etkinliği için hastalığa yakalanmama, komplikasyon oranları-

nın azalması gibi parametreler dikkate alınmaktadır. Ancak bu kez de, böyle bir yaklaşım için "hastalık" tanımının neye göre ve nasıl yapıldığı önem kazanır. Nitekim bazı derlemlerde farklı çalışmaların bulguları karşılaştırılırken, "grip" tanımının standardize edilmemiş olmasının ve yine bazı yayınlarda laboratuvar bulguları ile kanıtlanmamış grip olgularının değerlendirilmeye alınmış olmasının, kıyaslamaları geçersiz kıldığı ileri sürülmüştür (16).

Bu bölümde farklı gruplarda grip aşısının etkinliğini konu alan bazı çalışmalardan örneklerle bakmak uygun olacaktır:

1. Yaşlılarda grip aşısı uygulaması: Genel anlamda dolaşımda olan suşlar ile aşı içeriğinin uyumlu olduğu dönemlerde, yaşlılara uygulanan grip aşısının yararının ortalama %60 dolaylarında olduğu kabul edilir. A.B.D.'de 1998-2000 yıllarını kapsayan 2 yıllık bir dönemde 65 yaş üstü grup için aşı etkinliği % 55,5-59,7 olarak saptanmış; bu grupta gözlenen pnömoni, kardiyak sorunlar ve serebrovasküler hastalıkların %16-32 oranında azaldığı bildirilmiştir (17). Bir meta analizde grip aşısının bakım evlerinde yaşayan yaşlılar arasında hastaneye yatışı (%27-33 oranında) ve ölüm oranlarını (%50 kadar) azalttığı hesaplanmıştır (18). Benzer şekilde yaşlı kesimde grip aşısının etkinliğini farklı parametreler uyarınca hesaplayan ve aşının yararını gösteren bulgular mevcuttur (19, 20).

2. Risk gruplarında grip aşısı uygulaması: Bazı süregen hastalığı olan kişilerde Influenza enfeksiyonlarının ciddi sorunlar yarattığı; bu grupdakilerde hastaneye yatış oranlarını ve ölümleri arttırdığı bilinmektedir. Süregen kalp, solunum, dolaşım, böbrek hastalığı olanlar, astım ve diyabet hastaları, nörolojik sorunu olanlar, immün sistemi baskılanmış bireyler ve nihayet gebelerin, grip için risk grupları olarak tanımlandığını biliyoruz. Nitekim sıradan bir grip mevsiminde toplum genelinde bireylerin ortalama %10'unu tutan Influenza enfeksiyonları, aynı toplumda risk gruplarındaki bireylerin % 40-50'sinde ortaya çıkmakta ve bu kişilerde süregen hastalıklarının dekompanseasyonunun yanı sıra bir dizi komplikasyon sorunu oluşmaktadır. Bu durumda DSÖ ve çeşitli ülkelerin sağlık otoriteleri risk grubu üyelerinin aşılanmaları konusunda tavsiye kararları almıştır. Bu öneri doğrultusunda aşılama sonuçlarına bakıldığında: astım hastalarında grip aşılması ile hastaneye yatışlarda %59-78 oranında azalma sağlanmış ve bu grupta grip aşılama: yarar vurgulanmıştır (21, 22). Kardiyovasküler yakınmaları olan hasta grubu, grip aşısı önerilen bir diğer risk grubudur ve gribe yakalandıklarında miyokard sorunu ve koroner hastalıkların oluşumuna bağlı olarak hastaneye yatış ve ölüm riski taşırlar (23). Bu gruptan hastaların grip aşısı ile, sorunlarının %50-70 oranında azaltılması mümkün olmuş (24); görülen yarar üzerine bir çok ülkede söz konusu risk grubu için grip aşılması rutin uygulamaya konmuştur (25). Risk grupları içinde, grip mevsimlerinde çeşitli komplikasyonlara bağlı olarak hastaneye yatış ve ölüm oranlarında net bir artış görülen diyabet hastalarını da ele almak uygun olacaktır. Bu grupta grip aşılması sayesinde söz konusu olumsuzlukların %54-79 gibi yüksek oranlarda azaldığı bildirilmiştir (26). Özellikle ilk trimestreden sonraki dönemlerinde, gebeler aç-

sından da grip tablosunun düşük gibi olumsuzluklara neden olabileceği ve risk grupları içinde gebelerin de yer alması gerektiği vurgulanarak aşılannmaları önerilmektedir (27).

3. Çocuklarda grip aşısı uygulaması: Birçok ülkede sağlıklı çocuklar, grip aşısı hedef grupları arasında henüz yer almamaktadır. Sadece kendileri için değil, toplumda etken virüsün yayılımında önemli rolleri olan çocukları bağışıklayarak genel toplum sağlığına katkıda bulunulacağı görüşü ise gittikçe ağır basmaktadır (28). Öte yandan küçük çocukların gribe bağlı komplikasyonlara sıklıkla maruz kalmalarının yanı sıra, gribe yakalandıklarında kendilerinin bakımlarını sağlamak için evde kalmak zorunda kalan anne ya da babalarının iş gücü kaybı dikkate alınarak, A.B.D.'de 6-23 aylık çocukların rutin aşılannması gündeme gelmiştir (29). Çocuklarda hem inaktif, hem de canlı-attenüe grip aşısının etkinliği birçok kontrollü çalışmada ortaya konmuştur; ancak elde edilen bulgular bir yaşından büyüklerde aşı etkinliğinin yeterli düzeyde olduğunu (%90 kadar) kanıtlarken, daha küçük yaşta olanlarda koruyuculuğun istenen düzeyde olmadığını göstermiştir. Bu durum büyük olasılıkla söz konusu yaş dilimindeki çocukların önceden etken virüs ile karşılaşmadıkları için tamamen seronegatif olmalarından kaynaklanmaktadır ve bu nedenle kendilerine çift doz aşı uygulaması gereği doğmuştur (30, 31). Çocukluk çağındakilere uygulanan grip aşısı, örneğin Finlandiya'da, orta kulak iltihabı riskini % 36 oranında azaltmış (31); ayrıca bağışıklanan çocukların aile bireylerinde grip olgularının görülme olasılığı belirgin biçimde azalmıştır (32, 33). Japonya'da gerçekleştirilen bir incelemede ise çocuklara grip aşısı uygulamasının her yıl 37.000-49.000 ölümü engellediği, aşılannan 420 çocuk ile bir ölüm vakasının önlendiği, okul çağı çocuklarının aşılannması ile toplumdaki yaşlıların da korunabileceği savunulmuştur (34).

4. Sağlık personelinde grip aşısı uygulaması: Influenza virüslerinin ne denli kolay bulaştıklarını ve özellikle kapalı ortamlarda etkenin süratle yayılarak kısa sürede çok sayıda bireyi enfekte ettiğini görmüştük. Bu özelliği nedeniyle Influenza virüsleri hastane ortamında da sorun yaratan etkenlerin başında gelmektedir. Grip hastalarının izolasyonu, kendileri ve bakıcılarının maske kullanımı gibi önlemler dışında, etkenin dağılımında önemli bir paya sahip olan sağlık personelinin aşılannarak bulaş zincirinin kırılması önemlidir. Bu uygulama ile, sağlık çalışanlarına özellikle gerek duyulan salgın dönemlerinde işe gelmemelerini önlemek ve sağlık hizmetlerinin aksamaya uğramasını engellemek de olasıdır (35, 36). Ancak birçok ülkede sağlık çalışanlarının aşılannma oranları beklenenin çok altındadır ve aşağıda değineceğimiz gibi bu durumun çeşitli nedenleri bulunmaktadır.

5. Sağlıklı, çalışan, aktif kişilerde grip aşısı uygulaması: Buraya kadar çeşitli risk gruplarının grip aşısı ile bağışıklanmalarının gereğini ve yararını ele aldık. Ancak herhangi bir risk grubundan olmayan, toplumun aktif, çalışan bireylerinin de grip aşısı ile bağışıklanmalarında yarar görülmektedir. Bu konudaki ilk çalışmalarda aşılannmayanlara oranla, aşılannan sağlıklı bireyler

arasında üst solunum yolları enfeksiyonlarına %25 oranında daha az rastlandığı, işe devamsızlık oranlarında %43, iş yeri hekimlerine başvurma oranlarında ise %44 oranında azalma olduğu saptanmıştır (37).

Günümüzde A.B.D.'de grip ve pnömoni nedeniyle 18-64 yaş grubundan bireyler arasında yılda 6.000-7.000 ölüm olgusuna rastlanmaktadır. Fransa'da, 50-65 yaş grubundan çalışan bireylerin %50'si grip için risk olarak değerlendirilen patolojilerden birine sahiptir; aynı durum A.B.D.'de %34 olarak hesaplanmıştır ve sonuçta çalışan bu kesimin de aşılann yararlanma gereği ortaya konmuştur (27, 38). Bu arada yukarıda değindiğimiz risk faktörlerinin (astım, diyabet, kalp hastalıkları vs) 35-64 yaş grubundan bireylerde de bulunması ve bu yaş grubunun toplumdaki aktif çalışan kesimi oluşturmaları, grip aşısı uygulamalarında yeni bir hedef kitlenin gündeme gelmesini tartışmaya açmıştır. İşyerlerinde grip sorununu önemli kılan bir dizi faktör bulunmaktadır: enfekte bireylerin, hastalık belirtilerinin ortaya çıkmadan bir gün, belirtileri takip eden beş gün süreyle virüsü etraflarına yaymaları; etken virüsün hapsirme, aksırma, öksürme sırasında havadan ya da enfekte bireyle direkt temas sonucu (gripli kişinin örneğin hapsirirken ağızını eli ile kapatmasını takiben, o kişi ile el sıkışma sonucu ya da tutacağı kapı tokmağı ile temas sonrası) bulaşabilmesi; virüsün kapalı ortamlar olan iş yerlerinde, seyahat araçlarında, alışveriş merkezlerinde kolayca yayılması; bu yayılmanın çalışanlar arasında veya onlardan müşterilere bulaşması söz konusudur. Sonuçta çalışanların gribe yakalanmaları, ayakta geçirilemeyecek bu enfeksiyon nedeniyle işe devamsızlıklarına, böylece iş yerindeki rutin çalışma programının hatta üretimin aksamasına neden olur (39). Grip, işe gitmeme nedenleri arasında %10-12'lik önemli bir yere sahiptir; ortalama 3-4 günlük rapor almayı gerektiren bu hastalık, etken suşun özelliklerine ve kişinin immün sistemine bağlı olarak bazen 10 günlük istirahati zorunlu kılar (40). 1995 yılında A.B.D.'de grip salgını, 75 milyon kişinin işe gitmemesine ve toplam 100 milyon iş günü kaybına neden olmuştur (41). Bazı durumlarda hastalandıkları halde çalışmaya devam eden kişiler, hem virüsü etrafa yoğun biçimde yaymakta, hem de üretim sırasında dikkatsizliğe bağlı hatalara hatta kazalara neden olabilmektedirler. Tüm bu olumsuzluklar dikkate alındığında işverenler için çalışanlarının aşılannmalarını sağlamanın yararlı ve gerekli bir yaklaşım olduğu vurgulanmakta (42); ayrıca farmakoekonomistler tarafından üretim azalması düzeyinde maliyet-etkinlik ve maliyet-yarar analizleri yapılarak bu uygulamanın getirileri hesaplanmaktadır (43).

Grip aşısını uygulama oranları ve aşıyı ret gerekçeleri

Günümüzde DSÖ önerileri doğrultusunda grip aşısı uygulanması gereken "risk grupları" listesi hazırlanmış ve birçok ülke bu gruplar için aşılama programları geliştirmişlerdir. Peki kimler bu listede yer almaktadır?

Doğrusunu isterseniz gripten korunmak isteyen herkes grip aşısından yararlanabilir. Ancak her yıl özellikle aşılannmaları önerilen gruplar şunlardır:

- 65 yaş ve üzerindeki kişiler (bu yaş sınırı A.B.D. gibi bazı ülkelerde 50 yaş ve üzeri olarak değiştirilmiştir);
- Süregen hastalığı olan ve uzun süreli bakım evlerinde kalanlar;

- 6 aylıktan büyük tüm: kalp ve/veya akciğer hastalığı olanlar, astım, böbrek hastaları, diyabet gibi metabolik hastalığı olanlar, anemi ve diğer kan hastaları gibi uzun süreli sağlık sorunu yaşayanlar;
- Uzun süreli aspirin tedavisi alması gerekenler;
- Grip sezonunda gebeliklerinin 4. ay ve sonrasında olanlar;
- Gribin komplikasyonları açısından risk taşıyan kişilerle aynı evde yaşayanlar, bu kişilerin bakıcıları, sağlık çalışanları.
- Bu grupların dışında:
- Acil servis çalışanları, emniyet kuvvetleri;
- Nisan-Eylül döneminde güney yarımküreye seyahat edecek olanlar (Kuzey yarımkürede yaşayanlar için); ya da yılın her hangi bir döneminde tropikal bölgelere gidecek olanlar;
- Özellikle sınav dönemlerinde hastalanmamaları için korunmaları gereken öğrenciler;
- Toplumda önemli görevler üstlenmiş ve gribe bağlı olarak işten alınmak istemeyenler (iş adamları, politika-cılar, sanatçılar, sporcular...);
- Toplu halde kalabalık ortamlarda bulunmaları söz konusu olduğundan gribe yakalanma riski bulunan hacı adayları; -nitekim bazı ülkeler bu uygulamaya geçmişlerdir- (44, 45);
- Ve nihayet: GRİP OLMAK İSTEMEYEN HERKES.

Durum böyleyken, acaba grip aşılmasına karşı yukarıda belirtilen risk gruplarının tutumu nasıl olmaktadır ve aşılama oranları nedir? Bu konuda, toplum genelinde "Grip Aşısı Uygulama Oranlarını Araştıran Çalışma Grubunun" düzenli aralıklarla yayınlanan raporlarında, 2003 yılı için en yüksek aşılama oranlarının Kanada (344/1.000), Kore Cumhuriyeti (311/1.000), A.B.D. (286/1.000) ve Japonya (230/1.000)'da gözlemlendiği; ülkemizde ise bu oranın 19/1.000'lik oran ile oldukça düşük düzeyde olduğu görülmektedir (46). Avrupa ülkelerinde aşılama oranlarına baktığımızda, genelde % 26 olan aşılama oranı, 65 yaş üstü grupta % 68, sağlık çalışanlarında ise % 20'ler civarındadır (47). Hem kendileri, hem de ilgilendikleri hastalar açısından grip aşısı olmaları önerilen sağlık personelinin aşılama oranları hemen tüm ülkelerde istenen düzeyin çok altındadır; örneğin A.B.D.'de bu kesimde aşılama oranı % 38,4 (48), Kanada'da ise < %30 (49) kadardır.

Sağlık çalışanları arasında grip aşısı olmama gerekçesi olarak öne sürülen nedenler aslında toplum geneli için de geçerlidir. Bu gerekçelerin başında gribin önemli bir hastalık olarak algılanmaması, aşının koruyuculuğuna güvenilmemesi, aşının bazı yakınmalara neden olması (hatta gribe yol açtığına düşünülmesi), aşı bölgesinde ağrı gibi nedenler gelmektedir (49). Ayrıca aşıya erişimde güçlük, pahalı olması ve nihayet iş yeri hekiminin önermemiş olması, genel anlamda aşılama gerekçeleri olarak öne sürülmektedir (26, 50). Risk gruplarına ait bir örnek vermek gerekir ise, örneğin A.B.D.'de astım hastalarında aşılama oranı % 36,2 (51); 18-64 yaş diliminden ve grip için risk taşıyan kesimde ise bu oran % 35 olarak bildirilmiştir (52).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda KOAH'lılar arasında aşılama oranı %34,7 olarak saptanmış (53); yine ülkemizde sağlık çalışanlarından aşırı reddedenlerin gerekçeleri olarak: gribin riskli bir hastalık olarak görülmediğinin, aşının etkili olmadığı düşüncesinin ve diğer korunma yollarının yeğlenmesinin belirtildiği bildirilmiştir (54).

Grip aşısı konusunda son söz

Gribin önemini, yaygınlığını, aşı ile korunma olasılığını ve aşının yararlarını gördük. Ancak ülkemizde ve dünyanın birçok ülkesinde yaygın olarak kullanımda olan inaktif aşının immünojenitesini arttırarak, özellikle hedef kitlelerden olan ancak humoral yanıtları güçlü çalışmayan yaşlılar ya da immün sistemi çeşitli nedenlerle baskılanmış bireylerde aşı verimliliğini arttırma çalışmaları sürmektedir. Bu amaçla, farklı adjuvanlar (yeni alüminyum türevleri, MF59, virozomların kullanımı gibi), alternatif uygulama yolları (nazal uygulama gibi), DNA aşıları, farklı subünit aşılar (M2 aşısı) konularında arayışlar sürmekte (54) bir grup araştırmacı canlı-attenüe aşılar (56, 57) bir diğer grup ise yumurta yerine çeşitli hücre kültürü sistemlerinde virüsü üretme yolları (58) alanlarında çalışmalarını devam ettirmektedirler. Bu alandaki en somut gelişme intradermal (ID) aşılarda kullanıma girmesi ile gerçekleştirilmiştir (59). Özellikle dendritik hücreler gibi antijen sunan hücrelerce zengin olan dermis tabakasına uygulanacak aşının, düşük antijen miktarı ile güçlü bir immün yanıt sağlayacağı; ayrıca mikroyeksiyon tekniği kullanımının pratik açıdan da yarar sağlayacağı belirtilmiştir (60).

Bu arada hemen her aşı için var olan *aşı-karşıtı gruplar* yaptıkları yayınlar ile grip aşısının yararı konusunda kuşku-ları olduğunu belirtmektedirler. Örneğin Kanada'dan bildirilen bir çalışmada universal aşılama kampanyasına karşın, bu ülkede grip insidansında bir azalma kaydedilmediği ileri sürülmüş (61); *Cochrane Database Systematic Review*'a gönderme yapılan bir derlemede ise (62) özellikle yaşlılar-da ve çocuklarda grip aşısı etkinliğinin bildirildiği çalışma sonuçlarının doğru yorumlanmadığı ileri sürülmüş; "randomize olmayan, tek bir yıla ait bulgulara dayanan, aşı-virüs uyumu gibi değişkenleri değerlendirme dışı bırakan çalışmaların güvenilirliği tartışmalıdır" denmiştir. Ancak tüm bu savlar, grip aşısının değerini azaltmamakta, DSÖ başta olmak üzere çeşitli ülkelerin sağlık otoriteleri, kendi ülkele-rindeki sürveyans sonuçlarına dayanan aşılama programla-rı oluşturarak uygulamaya koymaktadırlar. 2009 pandemisi sonrasında, DSÖ tarafından grip aşılama için yapılan önerilerde bazı değişiklikler yapılmıştır. Bu bağlamda öncelikli risk gruplarının her ülkenin sağlık otoritelerince belirlen-mesi, listede sağlık çalışanları ve gebelerin ön plana çıkarılmasının gereği vurgulanmaktadır (63). Konu ile ilgili son gelişme, yıllar içinde artan Influenza B enfeksiyonlarının önemi ve bu virüsün iki farklı soyu arasında çapraz koruma bulunmaması gibi nedenlere dayanarak, 2013-2014 sezo-nundan başlayarak dörtlü aşının (iki Influenza A suşu ve iki Influenza B suşu içeren *kuadrivalan aşı*) gündeme gelecek olmasıdır (63).

KAYNAKLAR

1. Glaser CA, Gilliam S, Thompson WW et al. Medical care capacity for influenza outbreaks, Los Angeles. *Emerg Infect Dis* 2002;8: 569.
2. Simonsen L, Fukuda K, Schonberger LB, Cox NJ. The impact of influenza epidemics on hospitalizations. *J Infect Dis* 2000;181: 831.
3. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E et al. Mortality associated with influenza and RSV. *JAMA* 2003;289: 179.
4. Nicholson KG, Wood JM, Zambon M. Influenza. *Lancet* 2003;362: 1733.
5. Kilbourne ED. Influenza pandemics of the 20th century. *Emerg Infect Dis* 2006;12: 9.
6. Szucs T. The socio-economic burden of influenza. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44, Topic B:11.
7. Bridges CB, Katz JM, Levandowski RA, Cox NJ. Inactivated influenza vaccines. "Vaccines, Eds: S Plotkin, W Orenstein, P Offit" kitabında, s. 259, 5. baskı, Saunders Elsevier, Çin, 2008.
8. Poehling KA, Edwards KM, Weinberg GA et al. The underrecognized burden of influenza in young children. *N Engl J Med* 2006;355: 31.
9. Nguyen-Van-Tam JS. Epidemiology of influenza. "Textbook of Influenza, Eds. KG Nicholson, RG Webster, AJ Hay" kitabında, s.181, Blackwell Science, Oxford, 1998.
10. Molinari NAM, Ortega-Sanchez IR, Messonnier ML et al. The annual impact of seasonal influenza in the US: measuring disease burden and costs. *Vaccine* 2007; 25: 5086.
11. Smith DJ, Lapedes AS, de Jong JC et al: Mapping the antigenic and genetic evolution of Influenza virus. *Science* 2004; 305: 371.
12. Belshe RB, Walker R, Stoddard JJ, Kemble G, Maassab HF, Mendelman PM. Influenza vaccine-live. "Vaccines, Eds: S Plotkin, W Orenstein, P Offit" kitabında, s. 291, 5. baskı, Saunders Elsevier, Çin, 2008.
13. WHO: Influenza vaccines. *Wkly Epidemiol Rec* 2000;77: 230.
14. Hannoun C, Megas F, Piercy J: Immunogenicity and protective efficacy of influenza vaccination. *Virus Research* 2004;103: 133.
15. Govaert TME, Thijs CTMCN, Masurel N, Sprenger MJW, Dinant GJ, Knottnerus JA: The efficacy of influenza vaccination in elderly individuals. A randomized double-blind placebo-controlled trial. *JAMA* 1994;272: 1661.
16. Beyer WEP: Heterogeneity of case-definitions used in vaccine effectiveness studies and its impact on meta-analysis. *Vaccine* 2006;24: 6602.
17. Nichol KL, Nordin J, Mullooly J et al: Influenza vaccination and reduction in hospitalizations for cardiac disease and stroke among the elderly. *N Engl J Med* 2003; 348: 1322.
18. Vu T, Farish S, Jenkins M, Kelly H: A meta-analysis of effectiveness of influenza vaccine in persons aged 65 years and over living in the community. *Vaccine* 2002; 20: 1831.
19. Maciosek MV, Solberg LI, Coffield AB, Edwards NM, Goodman MJ: Influenza vaccination. Health impact and cost effectiveness among adults aged 50 to 64 and 65 and older. *Am J Prev Med* 2006;31: 72.
20. Hara M, Sakamoto T, Tanaka K: Effectiveness of influenza vaccination in preventing influenza-like illness among community-dwelling elderly: population-based cohort study in Japan. *Vaccine* 2006;24: 5546.
21. Kramarz P, DeStefano F, Gargiullo PM et al. Does influenza vaccination prevent asthma exacerbations in children? *J Pediatr* 2001;138: 306.
22. Hanania NA, Atmar RL, Castro M: Influenza vaccine in patients with asthma. *Expert Rev Vaccines* 2006;5: 111.
23. Yap FH, Ho PL, Lam KF, et al: Excess hospital admissions for pneumonia, chronic obstructive pulmonary disease, heart failure during influenza seasons in Hong Kong. *J Med Virol* 2004;73: 617.
24. Naghavi M, Barlas Z, Siadaty S et al: Association of influenza vaccination and reduced risk of recurrent myocardial infarction. *Circulation* 2000;102: 3039.
25. Jimenez-Garcia R, Hernandez-Barrera V, Garrido PC, del Pozo SVF, de Miguel AG: Influenza vaccination among cardiovascular disease sufferers in Spain: related factors and trend, 1993-2003. *Vaccine* 2006;24: 5073.
26. Van den Akker L, Verheij TJM, Buskens E: Clinical effectiveness of first and repeat influenza vaccination in adults and elderly diabetic patients. *Diabetes Care* 2006;29: 1771.
27. Centre for Diseases Control and Prevention: Prevention and control of influenza. Recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP), 2008. *MMWR* 2008;57: 1.
28. Jordan R, Connock M, Albon E et al. Universal vaccination of children against influenza: are there indirect benefits to the community? A systematic review of the evidence. *Vaccine* 2006;24: 1047.
29. Harper SA, Fukuda K, Uyeki TM et al. Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2005;54(RR-8):1.
30. Negri E, Colombo C, Giordano L, Groth N, Apolone G, La Vecchia C: Influenza vaccine in healthy children: a meta-analysis. *Vaccine* 2005;23: 2851.
31. Heikkinen T, Ruuskanen O, Waris M et al. Influenza vaccination in the prevention of acute otitis media in children. *Am J Dis Child* 1991;145: 445.
32. Esposito S, Marchisio P, Cavagna R et al. Effectiveness of influenza vaccination of children with recurrent respiratory tract infections in reducing respiratory-related morbidity within the households. *Vaccine* 2003;21: 3162.
33. Principi N, Esposito S, Gasparini R et al. Burden of influenza in healthy children and their households. *Arch Dis Child* 2004;89: 1002.
34. Reichert TA, Sugaya N, Fedson DS, Glezen WP, Simonsen L, Tashiro M: The Japanese experience with vaccinating schoolchildren against influenza. *N Engl J Med* 2001;344: 889.
35. Pearson ML, Bridges CB, Harper SA: Influenza vaccination of health-care personnel. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) and the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2006;55: 1.
36. Thomas RE, Jefferson TO, Demicheli V, Rivetti D: Influenza vaccination for health-care workers who work with elderly people in institutions: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2006;6: 273.
37. Nichol KL, Lind A, Margolis KL, et al: The effectiveness of vaccination against influenza in healthy, working adults. *N Engl J Med* 1995;333: 889.

38. Aballea S, Martin M, Chancellor J, Carrat F, Weinstein M: Cost-effectiveness analysis of influenza vaccination among people aged 50 to 64 in France. *J Econ Med* 2006;24: 267.
39. Keech M, scott AJ, Ryan PJJ: The impact of influenza and influenza-like illness on productivity and healthcare resource utilization in a working population. *Occup Med* 1998;48: 85.
40. O'Reilly FW, Stevens AB: Sickness absence due to influenza. *Occup Med* 2002;52: 265.
41. Nichol KL: Cost-benefit analysis of a strategy to vaccinate healthy working adults against influenza. *Arch Inter Med* 2001;161: 749.
42. Campbell DS, Rumley MH: Cost-effectiveness of the influenza vaccine in a healthy, working-age population. *J Occup Environ Med* 1997;39: 408.
43. Postma MJ, Jansema P, van Genugten ML et al: Pharmacoeconomics of vaccinating healthy working adults against influenza: reviewing the available evidence. *Drugs* 2002;62: 1013.
44. Mustafa AN, Gessner BD, Ismail R et al: A case-control study of influenza vaccine effectiveness among Malaysian pilgrims attending the Hajj in Saudi Arabia. *Int J Infect Dis* 2003;7: 210.
45. Gatrad AR, Shafi S, Memish ZA, Sheikh A: Hajj and the risk of influenza. *Brit Med J* 2006;333: 1182.
46. The macroepidemiology of influenza vaccination in 56 countries, 1997-2003. *Vaccine* 2005;23: 5133.
47. Szucs T, Auzanneau N, Lamerain E et al: Influenza vaccination coverage rate in Europe during the winter of 2005-2006. 2nd International conference on Influenza Vaccines for the world, 18-20 Ekim 2006, Viyana.
48. Walker FJ, singleton JA, Lu P et al. Influenza vaccination of healthcare workers in the United States, 1989-2002. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27: 257.
49. Norton SP, Scheifele DW, Bettinger JA, West RM: Influenza vaccination in paediatric nurses: cross-sectional study of coverage, refusal, and factors in acceptance. *Vaccine* 2008;26: 2942.
50. Szucs T, Müller D: Influenza vaccination coverage rates in five European countries-a population based cross-sectional analysis of two consecutive influenza seasons. *Vaccine* 2005;23: 5055.
51. Centers for Disease Control and Prevention. Influenza vaccination coverage among persons with asthma-United States, 2005-06 influenza season. *MMWR* 2008;57: 653.
52. Centers for Disease Control and Prevention. Influenza vaccination levels among person aged > 65 years and among persons aged 18-64 years with high-risk conditions-United States, 2003. *MMWR* 2005;54: 1045.
53. Taşbakan MS, Pullukçu H, Sipahi H, Taşbakan MI: Kronik obstruktif akciğer hastalığı olgularında influenza aşılama oranları ve bilgi düzeylerinin değerlendirilmesi. *İnfek Derg* 2007;21: 89.
54. Naz H, Aykın N, Çevik FÇ, Uğur M, Yaşer Z: Hastane personeline influenza aşılması: yan etkiler ve aşılama yaklaşım. *ANKEM Derg* 2007;21 (Ek 1): 8.
55. Kemble G, Greenberg H: Novel generations of influenza vaccines. *Vaccine* 2003;21: 1789.
56. Piedra PA, Gaglani MJ, KOzinetz CA et al: Herd immunity in adults against influenza-related illnesses with use of the trivalent-live attenuated influenza vaccine (CAIV-T) in children. *Vaccine* 2005;23: 1540.
57. Belshe RB: Current status of live attenuated influenza virus vaccine in the US. *Virus Research* 2004;103: 177.
58. Romanova J, Katinger D, Ferko B et al: Live cold-adapted influenza A vaccine produced in Vero cell lien. *Virus Research* 2004;103: 187.
59. La Montagne JR, Fauci AS. Intradermal influenza vaccination-Can less be more? *N Engl J Med* 2004;351: 2330.
60. Holland D, Booy R, De Looze F et al. Intradermal Influenza vaccine administered using a new microinjection system produces superior immunogenicity in elderly adults: a randomized controlled trial. *J Infect Dis* 2008;198: 650.
61. Groll DL, Thomson DJ: Incidence of influenza in Ontario following the Universal influenza immunization campaign. *Vaccine* 2006;24: 5245.
62. Jefferson T: Influenza vaccination: policy versus evidence. *Brit Med J* 2006;333: 912.
63. CDC. Prevention and control of Influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)-United States, 2012-2013 influenza season. *MMWR* 2012;61: 613.

TRANSPLANT ALICILARINDA BAĞIŞIKLAMA

Şükran Köse

*İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği Klinik İmmünoloji Birimi, İzmir*

Transplant adayları ve alıcıları infeksiyöz komplikasyonlar açısından artmış risk altındadırlar ve bu hastalarda infeksiyonun önlenmesi büyük önem taşımaktadır. İnfeksiyon hastalıkları bu hastalarda morbidite ve mortaliteye önemli katkıda bulunmaktadır. Antimikrobiyal tedavi bu hastalarda normal konağa göre daha az etkili olmaktadır. Bağışıklama, bu hastalarda infeksiyonu önlemek için en uygun yol gibi görünse de, birçok immün sistemi baskılanmış hastada koruyucu bağışıklık yanıtları yetersiz kalmaktadır. Ayrıca, canlı virüs aşılıları ile bağışıklama, bu hastalarda zayıflatılmış aşı suşlarının kontrolsüz çoğalmasına neden olabilmekte, bu nedenle transplant alıcılarında bu aşılardan kaçınılmalıdır.

Transplant alıcılarında infeksiyon riski ve immünizasyon ile infeksiyonların önlenilme kabiliyeti, hastanın net immünsupresyon derecesi ile alakalıdır. İmmünsupresyon ne kadar fazlaysa, aşı yanıtı o kadar az olur. Bazı aşılarla immün sistemi baskılanmış hastada bazı faydalar sağlansa da, genellikle yeterli bir yanıt elde edilemez. Bağışıklığı baskılanmışlarda gerekli durumlarda aşı ve / veya pasif bağışıklama kullanımı (immün globulin) yanı sıra, bazı durumlarda, örneğin influenza A salgını sırasında antiviral ilaç profilaksisi gibi ek tedbirler gerekebilmektedir.

Solid organ nakli adayları için, uygun bir donör bulununcaya kadar bir bekleme dönemi bulunmaktadır. Bu bekleme süresi, önerilen aşılar için antikor konsantrasyonlarını oluşturmak veya artırmak için kullanılmalıdır. Bazı hastalarda bu dönemde elde edilen aşı yanıtları suboptimal olsa da, transplantasyon sonrası tekrar uygulandığında istenilen düzeylere ulaşabilmektedir.

Hastaların transplantasyon öncesinde bağışıklanmasının bir diğer nedeni de, transplant sonrası yapılması sakıncalı olan canlı virüs aşılılarıdır (örneğin; kızamık, kabakulak, kızamıkçık, suçiçeği ve intranazal influenza aşısı). Canlı virus aşısı uygulanmasından transplantasyona kadar geçen sürenin en az dört hafta olması önerilmektedir. Bazı merkezler, allograft rejeksiyona neden olabileceği gerekçesiyle transplantasyon sonrası bağışıklamadan kaçınsa da, yapılan çalışmalar inaktif aşıların güvenilir olduğunu göstermektedir. Transplantasyondan 3-6 ay sonra tekrar aşılamaya başlanabilmektedir. Otolog ve allojenik hematopoietik kök hücre transplant alıcıları ve solid transplant adayları ve transplant alıcıları için önerilen aşılar Tablo 1 ve tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 1: Otolog ve allojenik hematopoietik kök hücre transplant alıcıları için önerilen aşılar

Aşı	Transplantasyon sonrası uygulama	Aşının yapılabileceği transplantasyon sonrası süre	Doz sayısı
Konjuge pnömokok aşısı (PCV)*	Evet (B)	3-6 ay	3-4
Tetanoz, difteri, aselüler boğmaca ^Δ	Evet	6-12 ay	3
	Tetanoz, difteri (B)		
	Boğmaca (C)		
Konjuge <i>Haemophilus influenzae</i> aşısı	Evet (B)	6-12 ay	3
Konjuge Meningokok aşısı	Her ülkenin genel popülasyon için önerilerine göre yapılır (B)	6-12 ay	1
İnaktif polio	Evet (B)	6-12 ay	
Rekombinant hepatit B	Her ülkenin genel popülasyon için önerilerine göre yapılır (B)	6-12 ay	
İnaktif influenza	Yıllık (A)	4-6 ay	
Kızamık-Kızamıkçık-Kabakulak (KKK)	Kızamık: tüm çocuklar ve seronegatif erişkinler	24 ay	1-2
	Kızamık (B)		
	Kızamıkçık (B)		
	Kabakulak (C)		
	(KKK, transplantasyon sonrası ilk 24 ay içinde uygulanmaz, aktif GVHD varsa uygulanmaz, immünsupresyon alan hastaya uygulanmaz)		

A: her zaman önerilir; B: genellikle önerilir; C: opsiyonel

* 3 doz primer seri tamamlandıktan sonra bir doz 23-valanlı polisakkarit aşısı (PPSV23) verilebilir (B). GVHD olan hastalar PPSV23E zayıf yanıt verirler, onun yerine 4. doz PCV planlanabilir (C).

Δ DTaP tercih edilmelidir

(Tomblyn, M, Chiller, T, Einsele, H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hermatopoietic cell transplantation recipients: A global perspective. Biol Blood Marrow Transplant 2009; 15:1143)

Tablo 2: Solid transplant adayları ve transplant alıcıları için önerilen aşılar

Aşı	İnaktif (İ) / Canlı (C)	Transplant öncesi öneri	Transplant sonrası öneri	Titre takibi	Delil niceliği
İnfluenza	İ	Evet	Evet	Hayır	II
Hepatit B	İ	Evet	Evet	Evet	II
Hepatit A	İ	Evet	Evet	Evet	II
Tetanoz	İ	Evet	Evet	Hayır	II
Tdap	İ	Evet	Evet	Hayır	II
İnaktif polio	İ	Evet	Evet	Hayır	III
Polisakkarit pnömokok aşısı	İ	Evet	Evet	Evet	I
<i>N. meningitidis</i> (MCV4)	İ	Evet	Evet	Hayır	III
Kuduz	İ	Evet	Evet	Hayır	III
HPV	İ	Evet	Evet	Hayır	III
Varicella	C	Evet	Hayır	Evet / Hayır	II / III
BCG	C	Evet	Hayır	Hayır	III

(L. Danzinger-Isakova, D. Kumarb and the AST Infectious Diseases Community of Practice. *Guidelines for Vaccination of Solid Organ Transplant Candidates and Recipients*. American Journal of Transplantation 2009; 9 (Suppl 4): S258-S262)

IMMUNITY TO PLASMODIUM PARASITES

Cevayir Coban

*Laboratory of Malaria Immunology,
Immunology Frontier Research Center, Osaka University*

Plasmodium parasites can infect humans and cause a disease called malaria. Although generally known that only four *Plasmodium species* infect humans, due to technological advances in the diagnosis of *Plasmodium spp.*, currently it was confirmed that 5 *Plasmodium spp.* infect humans; *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* and *P. knowlesi*. All these different types of parasites cause various manifestations from chronic mild diseases to acute severe one called cerebral malaria, suggesting that parasites have evolved many strategies to evade the host immune system.

As many infection agents, Plasmodium parasites are thoroughly screened by host immune system at the initial steps of invasion as well as at the following steps to establish acquired immune responses for protective and long-lasting immunity. Although substantial research is being performed in the last years, how innate and adaptive immune responses are raised against these parasites and what factors affect these responses is unclear. Therefore, it is not surprising that there is not yet effective vaccine against malaria.

In this talk, I'll review the role of innate immunity in response to Plasmodium parasites and the protective mechanism (s) elucidated by host. I'll introduce recent data from our and other laboratories.

SUGGESTED READINGS:

1. Portugal S, Pierce SK, Crompton PD. Young lives lost as B cells falter: what we are learning about antibody responses in malaria. **J Immunol**, **2013**, Apr 1;190(7):3039-46. doi: 10.4049/jimmunol.1203067.
2. Riley EM, Stewart VA. Immune mechanisms in malaria: new insights in vaccine development. **Nature Medicine**, **2013**, Feb;19(2):168-78. doi: 10.1038/nm.3083.
3. Hong Z, Konishi A, Fujita Y, Yagi M, Ohata K, Aoshi T, Itagaki S, Sato S, Narita H, Abdelgelil NH, Inoue M, Culleton R, Kaneko O, Nakagawa A, Horii T, Akira S, Ishii KJ, Coban C. Lipocalin 2 bolsters innate and adaptive immune responses to blood-stage malaria infection by reinforcing host iron metabolism. **Cell Host Microbe**, **2012**, 12(5):705-16. doi: 10.1016/j.chom.2012.10.010.PMID: 23159059.
4. Liehl P, Mota MM. Innate recognition of malarial parasites by mammalian hosts. **Int J Parasitol**, **2012**, May 15;42(6):557-66. doi: 10.1016/j.ijpara.2012.04.006.
5. Coban C, Igari Y, Yagi M, Reimer T, Koyama S, Aoshi T, Ohata K, Tsukui T, Takeshita F, Sakurai K, Ikegami T, Nakagawa A, Horii T, Nuñez G, Ishii KJ, Akira S. Immunogenicity of Whole Parasite Vaccines Against *Plasmodium falciparum* Involves Malarial Hemozoin and Host TLR9. **Cell Host Microbe**, **2010**, 7, 50-61.

TÜBERKÜLOZ İMMÜNOPATOGENEZİNDE NÖTROFİLLERİN ROLÜ

Esin Aktaş Çetin

İstanbul Üniversitesi, DETAE, İmmünoloji AD, İstanbul

Tüberkülozun etyolojik ajanı olan *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), her yıl milyonlarca insanı enfekte eden HIV virüsünden sonra dünyadaki en önemli enfeksiyöz ajanlardan biridir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2012 raporunda 2011 yılında 9 milyon yeni tanı ile 1.4 milyon ölüm olduğu bildirilmiştir. Çoğu birey Mtb basili ile enfekte olmasına rağmen patojenin çoğalmasını kontrol altında tutup latent olarak enfektedir. WHO, dünyada her üç kişiden birinin latent tüberküloz olduğunu ve bunların %10'unun hayatlarının belli bir döneminde aktif hastalığa yakalandığını bildirmektedir. AIDS ve diğer immün sistemin baskılandığı hastalıklar, tüberküloz oluşum riskini arttırmakta ve bu da koruyucu immün sistemin Mtb enfekte bireylerde hastalık oluşumundan koruduğunu göstermektedir. Tüberküloza karşı tek aşı olan *M. bovis Bacillus Calmette-Guerin*'nin (BCG) yetişkinlerde çok etkin olmadığı gösterilmiştir. Çoklu ilaç direnci (MDR) vakalarındaki artış etkili profilaktik ve terapötik önlemlerin alınmasını zorunlu kılmaktadır. Etkili aşılardan, doğal ve edinsel immüniteyi aktive edecek immünoterapilerin geliştirilmesi için araştırmalar devam etmektedir.

Mtb genelde aerosollerle taşınmakta ve ilk enfeksiyon akciğerlerde başlamaktadır. Basille karşılaşan ilk hücreler alveolar makrofajlar ve dokuda bulunan dendritik hücrelerdir. Mtb bazı durumlarda dendritik hücre ve genelde makrofajlar içinde çoğalır ve yaşar. İnterferon gamma (IFN- γ) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) gibi sitokinler makrofajları aktive etmekte ve bakteriyel öldürmeyi arttırmaktadır. IFN- γ , interlökin (IL)-12 ve IL-18 etkisiyle T hücre ve doğal öldürücü hücrelerden (NK) salgılanmaktadır. Akciğerlerde tüberküloz enfeksiyonu başladığında dendritik hücreler toll benzeri reseptörlerle (TLR) aktive olmakta, lenf nodunda immün yanıtı başlatmaktadır. TLR'ler için mikobakteriyel ligandlar, kemokin ve proinflamatuvar sitokin salınımı, adezyon molekül ekspresyonu, makrofaj, dendritik hücre ve polimorf nükleer nötrofil kemotaksisi ile karakterize olan inflamatuvar reaksiyonları başlatır. IL-12 IL-18 ile sinerjistik etki göstererek NK hücre aktivitesinde artış ile birlikte Th1 tip yanıtları başlatır. IFN- γ makrofajları aktive ederek Mtb enfeksiyonu ve granülom kontrolünde rol oynayan TNF- α gibi sitokinler ile mikrobisidal ürünlerin ekspresyonunda artışa neden olmaktadır.

Dolaşımda polimorf nükleer lökositler olarak da isimlendirilen nötrofiller beyaz kan hücrelerinin çoğunluğunu oluşturmakta ve enflamatuvar yanıtta mikrop giriş bölgelerine ilk olarak göç etmektedirler. Spesifik granüller lizozim, kollagenaz ve elastaz, azurofilik granüller ise enzimler, defensin ve katelisin gibi mikrobiyal granüller içermektedir. hCAP-18/LL37 nötrofillerden üretilmekte, antimikrobiyal aktivitenin yanı sıra farklı hücrelerden sitokin ve kemokin üretiminin modülasyonu ve efektör hücrelere kemoatrak-

tan özellik sağlamaktadır. Nötrofiller opsonize edilmiş veya edilmemiş mikropları tanıyan ve fagositozlarını kolaylaştıran çok sayıda reseptörler eksprese etmektedir. Fagosite edilen mikropların hızlı biçimde öldürülmeleri fagozom-lizozom füzyonu ve sitoplazmik granüllerinde bulunan α -defensinler, proteazlar, demir, laktoferrin ve lipokalin gibi antimikrobiyal moleküllerle sağlanır. Nötrofiller direkt mikrobisidal etkilerinin yanı sıra mikrobiyal patern tanıma reseptör stimülasyonu sonucu interferon- γ ile teşvik edilen protein (IP)-10, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-1 α/β gibi kemokinler ile IFN- γ ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokin salgırlar. Klinik araştırmalar sonucu nötrofillerin akut pulmoner tüberkülozda enfeksiyon bölgesine göçleri gösterilmesine rağmen, aktif tüberkülozdaki rolleri tam olarak aydınlatılmamıştır.

Hayvan çalışmaları, nötrofillerin Mtb enfeksiyonunun erken faz korunmasında rol oynadığını göstermektedir. Deney hayvan modeli kullanılarak yapılan bir araştırmada BALB/c fareler yüksek dozda i.v. olarak Mtb Erdmann ile enfekte edilmiş ve nötrofil depleksiyonunun erken (0, 2 ve 4. postenfeksiyon günleri) ve geç (16, 18, ve 20. postenfeksiyon günleri) dönemdeki etkileri araştırılmıştır. Geç dönemde nötrofil depleksiyonunun akciğerde Mtb çoğalmasına belirgin etkisi olmamış, bununla birlikte enfeksiyonun başlangıcında nötrofil depleksiyonu Mtb çoğalmasını arttırmıştır. Havayolu ile Mtb enfekte sıçanlarda lipopolisakkarit kullanılarak nötrofil göçü sağlanmış ve akciğerlerde koloni oluşturma ünitesinde (CFU) düşüş saptanmıştır. Benzer şekilde Mtb ile intratrakeal enfeksiyondan önce granülositlerin depleksiyonu CFU'da artışa neden olmuştur. Bununla birlikte granülosit depleksiyonunun, intravenöz olarak Mtb basili, *Mycobacterium Bovis BCG* veya *M. fortuitum* ile enfekte farelerde bakteriyel yüke etki etmemiştir. Farelere dermal BCG enfeksiyon bölgesine nötrofillerin inokulasyonun ilk 4 saatinde göç ettikleri gösterilmiştir.

İnsanlarda, aktif hastalarla temas eden kişilerde latent tüberküloz enfeksiyon riskinin periferik kan nötrofil sayısı ile ters orantılı olduğu ve yüksek nötrofil sayısının enfeksiyonun erken safhasında koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte enfeksiyonun hangi aşamada olduğu önem taşımaktadır çünkü uzamış tüberküloz vakalarında yüksek nötrofil sayısının kötü prognozla ilişkili olduğu bulunmuştur. Yapılan *in vitro* insan çalışmalarında Mtb'ye yanıt olarak polimorf nükleer nötrofillerin aktive olduğu, çok sayıda sitokinler ve kemokinler salgılayarak mikobakteriyel çoğalmayı sınırladığı kanıtlanmıştır. Th1 hücrelerinden başka nekrotik alanlarda nötrofillerin kalıcı varlığında rolü bulunan IL-17 üreten Th17 ve $\gamma\delta$ T hücrelerinin nötrofil migrasyonunda önemli rolleri bulunmaktadır. IL-17 ve IL-23'ün aşırı ekspresyonu, nekrotik pulmoner lezyonlara

nötrofil göçünü arttırmaktadır. IL-17, nötrofil kemoatraktan molekülü olan MIP-2α'nın üretimini artırır. Yapılan çalışmalar nötrofillerin erken tüberküloz enfeksiyonunda koruyucu etki gösterirken, ilerlemiş evrelerde ise artmış bulunan IL-23 ve IL-17'nin bu hücrelerin doku hasarı oluşturmalarını tetiklediğini göstermiştir. Artmış orandaki nötrofil apoptozu aktif tüberkülozlu hastalarda gözlemlenmiş, mikobakteri fagositozu ve nötrofillerce inaktive edilmesini takiben bu hücrelerin çoğunluğunun oksijene bağımlı yolla apoptoza girdiği gösterilmiştir. Bu mekanizma, hücre içi kompartmanlarda toksik ürünlerin salınımını önlemektedir. Apoptotik hücreler transforme edici büyüme faktörü (TGF)-β ve diğer anti-inflamatuvar sitokinler salgılayan ve anti-inflamatuvar yanıtlar oluşturan makrofajlar tarafından temizlenir. Bu anti-inflamatuvar medyatörlerin üretimi TNF-α ve IFN-γ gibi koruyucu sitokinlerin üretimini baskılamaktadır. Son araştırmalar, makrofajlar tarafından apoptotik nötrofillerin fagosit edilmemesinin, makrofajların TNF-α salgılayan pro-inflamatuvar yönde aktive olduklarını ve hücreleri hasardan koruyan hücre içi ısı şoku proteinleri 60 ve 72'yi (Hsp70 ve Hsp72) yüksek oranda eksprese ettiğini göstermiştir. HSP'ler immün sistemdeki hücreleri CD91, CD14, TLR-2 ve TLR-4 gibi reseptörlerle aktive etmektedir. Böylece mikobakteriler nötrofillerde apoptozu uyarmakta ve Hsp72 salınımına neden olmaktadır. Özetle nötrofiller mikobakteriyel enfeksiyona karşı oluşan ilk doğal immün yanıtta koruyucu, hastalığın ilerleyici dönemlerinde ise kronik enfeksiyon hastalıklarının karakteristik özelliği olan doku hasarında rol oynadığını düşündürmektedir. İnsanlarda nötrofil kemotaksisinde rol oynayan IL-8, aktif evredeki tüberküloz hastalarının akciğerlerinde fazla oranda üretilmekte ve mikobakteri çoğalmasına belirgin bir etki göstermeden nötrofil birikimine neden olmaktadır. Tüberkülozun kontrol altında tutulmasında enfekte akciğerlerdeki sitokin

mikroçevresinin dengede tutulması önemlidir. Lokal sitokin mikroçevresi polimorf nükleer lökositlerin efektör kapasitelerini kontrol etmekle birlikte benzer mekanizmalar klasik veya alternatif olarak aktive olan makrofajlar için de düşünülmektedir. Nötrofillerin konak ve mikobakteri etkileşimindeki rollerinin araştırılması ve özellikle erken savunmadaki fonksiyonları ve hastalığın gelişimindeki potansiyel katılımlarının araştırılması önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- WHO Global tuberculosis report 2012.
- Korbel DS, Schneider BE, Schaible UE. Innate immunity in tuberculosis: myths and truth. *Microbes Infect.* 2008 10(9):995-1004.
- Li Q, Li J, Tian J, Zhu B, Zhang Y, Yang K, et al. IL-17 and IFN-γ production in peripheral blood following BCG vaccination and Mycobacterium tuberculosis infection in human. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2012 16(14):2029-2036.
- Sugawara I, Udagawa T, Yamada H. Rat neutrophils prevent the development of tuberculosis. *Infect Immun.* 2004 72(3):1804-1806.
- Khader SA, Cooper AM. IL-23 and IL-17 in tuberculosis. *Cytokine.* 2008 41(2):79-83.
- Hernandez-Pando R, Maldonado HA, Aguilar-León D, Vilchis-Landeros MM, Mata-Espinosa DA, et al. A combination of a transforming growth factor-beta antagonist and an inhibitor of cyclooxygenase is an effective treatment for murine pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol.* 2006 May;144(2):264-272.
- Lowe DM, Redford PS, Wilkinson RJ, O'Garra A, Martineau AR. Neutrophils in tuberculosis: friend or foe? *Trends Immunol.* 2012 33(1):14-25.

BAKTERİLERİN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ

Neşe Akış

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, T. Mikrobiyoloji AD, Edirne

Bağışıklık sisteminin örgütlenmesini anlamak onun ortaya çıkış ve kendini geliştirme gerekçelerini neden-sellik analiz etmekle mümkündür. Bu maksatla başlangıca uzanmak ışık tutucu olabilir. Evrenin 13,8 milyar yıl (13,8 Gyr) önce ve gezegenimizin 4,5 Gyr önce oluştuğu, gezegenimizde kararlı hidrosfer gelişiminin 300 milyon yıl (300 Myr) sürdüğü, sonuçta ortaya 6 milyon kat düşük oksijen taşıyan atmosferli bir global okyanusun çıktığı teorik olarak öngörülmektedir. Ardından süren 200 Myr içinde organik kimya reaksiyonları hidrosferde başlamış olmalıdır. Termodinamik olasılıkları gerçekleştiren reaksiyonların katalizlendiği reaksiyonlar sonucunda okyanusun peptidler, polisakkaridler, lipidler ve RNA'lar gibi prebiyotik kimyasal- larla dolu bir çorbaya dönüştüğü tahmin edilebilir. Prebiyotik çorba, RNA kimyası ağırlıklı reaksiyonlarının süreceği ve her biri 200 Myr alacak pre-RNA ve RNA çağlarına zemin hazırlamış olmalıdır.

RNA kimyasına göz atılırsa, RNA polimeri nükleik asit ünitelerinin düzenli bağlanmasıyla oluşan bir enzimdir (ribozim) denebilir. Ribozim, kendi zincirinin uzamasını katalize ederek kendisini kompleksleştirebilir. Aynı zamanda, kendi ve diğer RNA zincirlerinin komplementerlerini polimerize edebilir. Tüm bu reaksiyonların sonucunda pre-RNA çağında global okyanusun RNA zincirleri ve onların komplementerleri ile dolduğu düşünülebilir. Bir komplementer RNA zincirin tekrar komplementeri yapıldığında ortaya orijinalin kopyası çıkar. Bir organik kimya reaksiyonunda bir katalizörün, taşıdığı kovalent dizilim bilgisini sonraki moleküle nakletmesi özeldir, çünkü, bir moleküldeki bilginin evlat moleküle nakli canlı tanıımıdır. Burada RNA molekülü kendi kopyasını üreterek canlı gibi davranır. Bu nedenle ilgili moleküle RNA molekül canlısı veya RNA genomu, bu reaksiyonların yer aldığı çağa RNA çağı denir.

RNA genomu kimyasal kararlılığını sağlamak için kaynaklardan yeterince yararlanacak ve bunun için bir diğer RNA genomunun kaynakları tüketmesine engel olabilecektir. Bu tip girişiminin en ilkel formunu molekül canlılar arasında bugün görebiliyoruz. Genomunun belirli bölgelerinde ribozim aktivitesine sahip çıplak RNA canlısı, rakip genomun özgün dizilerine doğrudan temasla nükleaz aktivitesi gösterebilir ve onu kesebilir. Veya, genomunda koruduğu rakibe özgü dizilerden antisens RNA parçacıklar sentezleyerek rakibinin bunlarla kuşatılması, hatta bağlanma yerlerinden kesilmesine yol açabilir. Gözlemlenen bu davranışların RNA çağı veya öncesindeki ilk muhtemel parazitozdan beri sürdüğü düşünülebilir.

Kendine lipidden kılıf bulan genomlar hücreye dönüşmekte ve çevre kimyasına karşı genomunu korunmaktadır. Dışarıda kalmış RNA genomlar için hücreler hedef olabilir. Patojen RNA hücreyi istila edebilir, hedefe özgü antisens RNA'lar üreterek konağı zehirler, böylece kimyasal kararlılığını içerde emniyetle sağlar, belki membranı kendisinin hücreleşmesi için kullanır. Bu bir transdüksiyon taktiğidir ve günümüz virionları tarafından kullanılmaktadır. Kaynakların kıtlığı durumunda bir hücre de bir diğer hücreye

saldırabilir. Bu durumda saldırgan tarafından üretilen antisens RNA'lar difüzyonla içeri girerek antimikrobiyal etkisini gösterebilir. Bu stratejinin rakip koloniler arasında değişik antibiyotiklerle uygulandığı günümüzde bilinmektedir.

Yukarıdaki örneklerde sözü edilen antisens RNA parçaları, patojendeki rehber diziden sentezlenmekte ve konak genomundaki rehber diziye bağlanmaktadır. Üretenin kendi ürününden olumsuz etkilenmemesi için rehber dizinin üretici genomunda katlanma ile örtülmesi, hedef genomunda ise önemli pozisyonda açık bulunması beklenir. Bir rehber dizinin iki farklı genomda iki farklı pozisyonlarda bulunması tarafların akraba olmamasını gerektirir. Bir başka deyişle bu parazitöz mekanizmaları, saldırganın kendi soyundan olana yanıtız kalmaması ve yabancıya saldırması şeklinde işleyebilmektedir. Günümüz canlılarında hala korunan bu mekanizma, kaynakların patojen lehine korunmasına hizmet etmekten çok, tam tersine, patojen soyundan diğer üyelerin kaynağı tüketmesini kolaylaştırır.

Parazitözla yüzyüze gelen çıplak veya hücreleşmiş bir RNA canlısının kendisini koruması, savunma yapmasıyla mümkün olabilir. Savunmada kullanılabilecek araçlar muhtemelen patojenlik yapmak için kullanılanlarla aynıdır. Genomlararası savaşta konağın parazite üstünlük sağlaması bu moleküler becerilerin geliştirilmesine bağlıdır. Geliştirilmesi gereken becerilerden önemli biri konağın patojeni tanıyarak ona özgü antisensleri öncelikle üretme becerisi kazanmasıdır. Alternatif bir beceri parazitte mutualist ilişki kurulmasıdır ki günümüzdeki plazmidler buna iyi bir örnektir. Bir diğer beceri daha fazla patojen çeşidini tanıyacak daha fazla rehber dizinin konak genomunda korunmasıdır. Genom büyüklüğü sınırlı olduğundan etkin depolamanın konak tarafından nasıl yapılacağı ile ilgili becerilerin geliştirilmesi de önemlidir. Bir konak aynı zamanda farklı bir türe parazitöz yapabilir ve kendi saldırısı için de genomunda rehber dizi edinmesi gerekir, ancak, parazitözde konağa tik-sotropi benimsendiğinden bu maksatlı fazla yere genomda ihtiyaç bulunmayabilir.

İlk dev kıta Vaalbara'nın oluştuğu 3,6 Gyr önce RNA çağından DNA dünyasına geçişin başladığı ve bunun 200 Myr aldığı öngörülmektedir. 3,4 Gyr önceki muhtemel ilk stabil DNA canlısı ve bakteri öncüsü stromatolitlerin fosilleri incelendiğinde yaşadıkları ilk 1 Gyr içinde atmosfer oksijenini 10 bin kat arttırdıkları ve global okyanusu sülfitledikleri anlaşılmaktadır. Ur ve Kenorland dev kıtalarının sırasıyla ortaya çıkış sürecinde, arkelerin endosimbiyozla bakterilerden 2,7 Gyr önce türemesi, ve müteakip 600 Myr içinde ökaryotların benzer mekanizma ile evrilmesi böylece mümkün olmuştur. Birbirine patojen ve konak olma potansiyeli taşıyan bu prokaryot ve ökaryot canlılar şüphe yok ki eski RNA formlarından miras aldıkları patojenlik ve savunma becerilerini sonraki süre boyunca daha kompleks mekanizmalar geliştirerek değerlendirdiklerinden çağımıza ulaşmışlardır. Bugünkü gezegenimizdeki ortamın bakteriler için özellikleri, yüksek düzeyde oksijenmiş atmosfer ve hidrosfer, konak olabilecek yepyeni türler, son dev kıta

Pangaea'nın devam eden parçalanma süreci nedeniyle kimyasal bileşimi dinamik değişen kıtalar, ve kendisini yok etmek hedefine kilitlenmiş uygarlığın ürettiği yeni çevredir.

Günümüz bakterilerinin bağışıklık sistemi incelenmek istendiğinde, parazite karşı savunma ile stres/düşmana karşı savunmanın bakterilerde her zaman keskin sınırlarla ayrılmadığı anlaşılır. Bu nedenle birini anlamak diğerlerini de bilmeyi gerektirir. Genel hatlarıyla özetlenirse, bakteri duvar ve membranları dış dünyadaki fiziksel, kimyasal ve biyolojik değişimleri algılayan dev bir reseptör ağı ile donanmıştır. Reseptörlerden gelen sürekli bilgiler hücre içinde sürekli karma analiz edilerek dış dünyadaki gelişmeler eşzamanlı izlenir, değişimlere adaptasyon sağlayan karar algoritmaları oluşturulur ve gereken genetik ifadeler yapılır. Bu ifadeler sonuçta her hücre gibi bakteri için de yaşa, öl, üre ve değiş komutlarından birine denk gelir.

Parazit istilası dahil normal durumundan her türlü sapma bakteri için stres kaynağıdır ve stres yanıtı gelişimiyle sonuçlanır. Stres yanıtı bakteride üç fazlıdır. İlk fazda stres faktörünün özelliği incelenmeden yanıt adacıklarındaki ilk düzey koruyucu genler belirli miktarda acil transkripte edilerek ilgili bölgelere yığılır. Bu yanıt içinde komşu bakterilerin tehlikeden haberdar edilmesi de yer alır. Eşzamanlı olarak ve geçmiş deneyimlere dayanılarak stres kaynağının zarar verme kapasitesi hakkında kararlar verilir. Bu karar stresin ihmal edilmesi veya strese özgü genlerin ağırlıklı ifadesiyle ilgilidir. Yanıt devam ettirilecekse ikinci fazda özgün yanıt başlatılır. Özgün yanıt, değişen duruma adaptasyonu sağlamak ve tehlikenin bertaraf edilmesiyle ilgilidir. Ortamdan fiziken uzaklaşmak bu yanıtın bir parçasıdır. Adaptasyon yanıtının sonuç vermediği ileri bir durum söz konusu olduğunda bakteri üçüncü faz yanıtı başlayarak mutasyon makinalarını aktive eder. Mutasyon makinaları özellikle belirli gen bölgelerine yönelir ve rastgele mutasyonlara başlar. Mutasyon fazı koloninin kitlesel olarak kendini yok etmesi sonucunu getirir ancak nadir gelişebilecek bir direnç geni için bu intihar fazı göze alınmıştır. Eğer koloninin en az bir üyesi bu mutasyonu sağlayabilirse ortaya dirençli suşlar veya yeni türler çıkar.

Stres yanıtı bakteride üç hiyerarşik düzeyde kontrol edilir. Açlık stresi dışında tüm streslerde düzenleyici master gen Sigma faktördür. Her bakteri sınıfı Sigma faktör ailesinin değişik varyantlarına sahiptir. Sigma faktör bir dizi diğer düzenleyicilerle birlikte özgül stres yanıt genlerinin düzenleyicilerini düzenler. Düzenlenen düzenleyiciler ise gelen sinyallere de bağlı olarak altlarındaki gen düzenleyicilerini düzenler. Bu son düzenleyiciler eylemci genlerin ifadesini düzenlemektedir. Isı şoku proteinleri eylemci genlerin ilk yanıtta yer alan ürünlerindendir. İfadesi düzenlenen eylemci genlerin yarısı virülans, direnç ve sinyalde yer alır, diğerleri transport, duvar yapım ve tamiri, adezyon ve film üretiminde yer alır. Bu nedenle stres süreci boyunca gen ifade profili değişen bakteride değişim ürünlerinin büyük kısmını duvarda görmek mümkündür.

Biyolojik tehdit olarak bakterinin 3 çeşit düşmanı bulunur. Bunlar; (1) doğadaki tek hücreli ökaryotlar ve konaktaki bağışıklık sistem hücreleri (saldırgan büyük hücreler); (2) farklı prokaryotik kolonilerin suşları (rakipler); (3) fajlar ve molekül genomlardır (bakterinin virüsleri). Karşılaşılan bir bakterinin yabancı mı akraba mı olduğu ayrımı kabileye özgü salgının sağladığı sinyal (*quorum sensing*) ile anlaşılır. Normal durumdaki her bakteri ani savunma ihtiyacı veya

antipreditör adaptasyon için belirli düzeyde savunma faktörünü içinde ve çevresinde bulundurur. Bunlar, saldırgan büyük hücrelere karşı zehirler, rakip bakteriye karşı antibiyotik, ve virüslere karşı nükleaz ve antisens RNA'dır.

Bakteriyel zehirler, bakterinin saldırgan büyük hücrelere karşı kullandığı moleküllerdir. Parazitöz esnasında virülanslarını arttırmak için bakteriler evrim boyunca değişik stratejiler ve buna uygun zehirler geliştirmişlerdir. Bakteriyel antibiyotik, her bakteri kolonisine özgü farklılıkta üretilen moleküldür. Bir bakteri kolonisinin tüm üyeleri ortak ürettiği antibiyotiğin direnç genini taşıyarak kendilerini kendi antibiyotiğinden korurlar. Bakteriyel nükleazlar, bakterinin kendi metilasyon veya diğer genom motiflerini tanımayan ama RNA virüslerinin genomik motiflerine bağlanarak onu kesen enzimlerdir. Her bakteri kolonisinin en sık karşılaştığı virüsleri tanıyan nükleaz ve helikazları genomunda kodlaması beklenir. Prokaryotsal antisenslerin kodlandığı rehber diziler Crispr (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) locusunda saklanır. Bakterilerin ~%40 ve arkelerin ~%90'ı plazmid dahil en sık karşılaşılan virüslerin genom dizisine homolog ~30bp parçaları (*spacer*), yine aynı lokusta kodlanan cas proteinleri aracılığıyla parazit genomundan keser ve kendi genomuna entegre eder. Bunlardan üretilen antisens RNA'lar bakteriyeye edinsel bağışıklık sağlar. Locusda yer sınırlı olduğundan son enfeksiyonu oluşturan ortalama ~66 (bazı bakterilerde 374'e kadar) adette virüsden elde edilen *spacer* hafızalanır, eskiler silinir. Aynı koloni üyeleri veya akraba bakteriler kolonisel antibiyotik direnç ve *spacer* genlerini konjugasyonla birbirleriyle paylaşır. Farklı koloninin bakterisi normal durumda bu savunma bilgilerine sahip olamaz, ancak, bir savaş gerçekleştiğinde ölmüş rakip bakterilerden çevreye dağılmış DNA'lardaki genleri çalmak isteyecektir. Bunun için transformasyon moduna girerek çevredeki DNA'ları içebilir ve çaldığı genleri kromozomuna entegre edebilir.

Sonuç olarak bakteriler, ataları RNA canlılarının ilk geliştirmiş olması beklenen savunma mekanizmalarını daha da geliştirerek doğal ve edinsel bir immün sisteme kavuşmuş ve soylarını bugüne kadar başarıyla taşımışlardır. Kendileriyle ortak atadan miras alınan bu savunma mekanizmalarının doğal bağışıklık kolu, omurgalıların savunma sisteminde aktif olarak kullanılmaktadır. RNA güdümünde çalışan edinsel bağışıklık sistemi ise günümüz aşağı ökaryotlarına kadar aynen devam etmiş bulunmaktadır. Crispr gen sesizleştirme mekanizmasının daha sonra ökaryotlarda RNAi sistemine evrilerek devam ettiğini, yüksek ökaryotlara geldiğinde bu mekanizmanın DNA ifadesinin kontrolünü de yapmaya başladığını görmekteyiz.

SA Benner, HJ Kim, Z Yang. Setting the Stage: The History, Chemistry, and Geobiology behind RNA. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012, 4(1)

MP Robertson, GF Joyce. The Origins of the RNA World. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012, 1:4(5)

P Forterre. The role of mutational robustness in RNA virus evolution. Nat Rev Microbiol. 2013; doi: 10.1038/nrmicro3003

G Storz, R Hengge, (eds). Bacterial stress response (2th ed). ASM press, Washington DC, 2011

LA Marraffini, EJ Sontheimer. CRISPR interference: RNA-directed adaptive immunity in bacteria and archaea. Nat Rev Genet. 2010, 11(3):181

KONJENİTAL NÖTROPENİ- HAX-1 MUTASYONU

Şebnem Kılıç

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk İmmunoloji Bilim Dalı, Bursa

Bu hastalık ilk kez Kostmann tarafından 1956 yılında İsveçli bir ailede 14 vakalık bir seride "infantil genetik agranülositoz" olarak tanımlanmıştır (KOSTMANN, 1956).

Ağır konjenital nötropenili hastalarda yaşamlarının ilk aylarından itibaren tekrarlayan pnömoni, otitis media, gingivitis, selülit, deride apseler, omfalit ve perineal enfeksiyonlar veya üriner sistem enfeksiyonları ve büyüme geriliği görülmektedir. Sıklıkla ANS $0.2 \times 10^9/l$ 'nin altındadır. Hastaların % 70'i G-CSF tedavisi başlanmadığı, kemik iliği veya periferik kan kök hücre transplantasyonu yapılmadığı takdirde bir yaşından önce enfeksiyonlar nedeniyle kaybedilmekte olup, 5 yıldan fazla sağ kalım oranı % 30' dur. Genellikle bu hastalarda *S. aureus*, *E.coli*, *P. aeruginosa* enfeksiyonları görülmektedir.

Rekombinant insan granulosit koloni stimule edici faktörün (G-CSF) geliştirilmesinden ve ağır konjenital nötropenili hastalarda kullanımının başlamasından (BONILLA, 1989, JAKUBOWSKI, 1989, WELTE 1990) itibaren ortalama yaşam süresi belirgin olarak artmıştır. Enfeksiyon geçirme ve hastanede yatış sıklığı azalmıştır (ZEIDLER, 2002). Hastaların %90'ı G-CSF'ye yanıt vermekte ve Severe Congenital Neutropenia International Registry (1994) tarafından önerilen ANS sınırı olan $1000-1500 \mu/l$ 'ye ulaşmaktadırlar. G-CSF tedavisinin baş ağrısı, kas ağrısı ve kemik ağrısı gibi yan etkilerinin yanında (COTTLE, 2002), bazı hastalarda G-CSF tedavisi sonrası akut myeloid lösemi (AML) veya displaziye dönüşüm görülmektedir. Konjenital nötropeninin prelösemik bir sendrom olduğunun açıkça gösterilmesinin ardından (ANCLIFF, 2002), G-CSF tedavisinin de 10 yılda lösemi insidansını %21 arttırdığı tespit edilmiştir (ROSENBERG, 2006). G-CSF tedavisine yanıtı zayıf olan ve $8 \mu g/kg/gün$ 'den daha yüksek dozlarda G-CSF'ye ihtiyaç duyan hastalarda lösemi risk cevabı %40 daha yüksektir (ROSENBERG, 2006). Yüksek doz G-CSF'ye ihtiyaç duyan hastalarda altta yatan myeloid kök hücre defektinin, maligniteye dönüşümü tetikleyebileceği ileri sürülmüştür (CARLSSON, 2007). Lösemi geliştiren ağır konjenital nötropenili hastaların %80'inde G-CSF reseptor geninde (G-CSFR) edinsel mutasyonların eşlik ettiği görülmektedir (GERMESHUSEN, 2007).

Laboratuvar

Konjenital nötropenili hastalarda doğumda absölu nötrofil sayısı (ANS) sıklıkla $200/mm^3$ 'ün altında olup, periferik kanda kompensatuvar monositöz ve eozinofili mevcuttur. Hemoglobin normal veya kronik enfeksiyon anemisine bağlı olarak azalmış olabilirken, trombosit sayısı normal veya artmıştır. Ayrıca yüksek IgG seviyeleri tespit edilebilir. Kemik iliği incelemesinde farklılaşmanın sıklıkla promyelosit veya myelosit evresinde duraksadığı, matür nötrofillerin olmadığı, promyelositlerin morfolojik olarak atipik nükleuslarının olduğu ve sitoplazmalarında vakuolizasyonun olduğu görülür. Promyelositler sayıca hafif artmıştır (WELTE, 1997). Ayrıca kemik iliğinde eozinofili dikkat çeken orandadır.

Patofizyoloji

Hastalığın temel nedeni intrinsik kök hücre defekti olup, Kostmann sendromlu hastalarda mononükleer hücrelerin normal bir şekilde G-CSF sentezlediği ve sekrete ettiği bildirilmektedir. Yapılan çalışmaların bazılarında hasta serumlarında, artmış endojen G-CSF düzeylerinin gözlemlendiği, ayrıca granülositlerin üzerindeki G-CSF ve GM-CSF reseptörlerinin sayısının ve ligand bağlayıcı afinitesinin normal olduğunu bildirmiştir (MEMPEL, 1991-KYAS, 1992). Takip eden çalışmalarda bazı hastalarda G-CSFR'ü intrasitoplazmik parçasında kesik proteine sebep olan nokta mutasyonları görülmüş olsa da bunun konjenital nötropeninin sebebinden daha çok lösemiye ilerleyişle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (DONG, 1995, TIDOW, 1997).

Son bilgiler konjenital nötropeninin multigenetik bir hastalık olduğunu göstermektedir. Konjenital nötropenili hastaların yaklaşık %50-60'ında genetik defekt olarak dominant bir mekanizma ile ELA2 genindeki heterozigot mutasyonlar sorumlu tutulmaktadır (DALE, 2000, HORWITZ, 2007). ELA2 protein nötrofil elastazı (NE) kodlamaktadır. NE, myelopoezde promyelositler düzeyinde üretilmektedir ve primer granüllerde saklanmaktadır (BORREGAARD, 1997). Bugün ELA2 geninde 40 farklı mutasyon tespit edilmiştir (BELLANNE-CHANTELLOT, 2004). Çok farklı mutasyonların varlığı ve mutasyona uğramış NE proteininin enzimatik özelliklerine beklenen uygun etkisinin olmaması, mutasyona uğramış NE proteinin yapısal değil de fonksiyonel özelliklerinin nötropeniden sorumlu olabileceğini akla getirmiştir. (HORWITZ, 1999, KOLLNER, 2006, GREND, 2007). Bu çalışmalarda ELA2 genindeki bir mutasyonun uygunsuz şekilde kıvrılmış bir NE protein oluşumuna sebep olduğunu ve bunun da apoptoza sebep olduğu ileri sürülmüştür (KOLLNER, 2006). Konjenital nötropeni ilişkili mürin ELA2 mutasyonların veya komplet ELA2 yokluğunun mürin hematopoezine etkisi olmamasından dolayı hala NE proteinin enzimatik aktivitesinin granülopoezle bağlantısı aydınlatılamamıştır (GREND, 2006). Konjenital nötropenide promyelositlerde maturasyonun duraklamasına sebep olan ELA2 mutasyonlarının patomekanizmadaki rolünün çözülmesi için başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

HS-1 asosiye protein X (HAX1) mitokondrial iç membran stabilizasyonu sağlayan anti-apoptotik üyelerden olan Bcl-2 ailesine benzerlikler gösteren bir proteindir. Klein ve ark. tarafından konjenital nötropeni hastalarının yaklaşık üçte birinde biallelik HAX1 mutasyonları tespit edilmiştir (MELIN, 2007). Ancak hala HAX1 defektlerinin prematür nötrofil ölümüne nasıl sebep olduğu aydınlatılamamıştır. HAX 1 geni kromozom 1p21 bölgesinde lokalizedir ve 10 farklı mutasyonu (p.Trp44X, p.Arg86X, p.Gln190X, p.Glu59X, p.Glu60fs, p.Glu123fs ve p.Val144fs, p.Ser43fs ve p.Glu31fs) tanımlanmıştır (KLEIN, 2007, GERMESHUSEN, 2008).

Tanıda ELA2 veya HAX 1 mutasyonlu hastalar arasında ANS, enfeksiyon odağı ve kemik iliği morfolojisi açısından farklılık yoktur. Her iki grup da G-CSF'e iyi yanıt vermekte ancak GM-CSF'e yanıt vermemektedir. Welte ve ark. HAX1 defektli hastalarda genotip-fenotip ilişkisini açıklamayı hedeflemişlerdir (WELTE, 1990). HAX1 eksikliği görülen hastalarda çocukluk çağında nörolojik semptomların başlangıcı konjenital nötropeni ile ilişkili bulunmuştur (MATSUBARO, 2007, REZAEI, 2007, CARLSSON, 2001). Son çalışmalarda HAX1 transkript variant 1'i etkileyen mutasyonlarda sadece konjenital nötropeni görülürken, her iki transkripti birlikte etkileyen mutasyonlarda epilepsi ve nörogelişimsel bozukluklar eşlik etmektedir (GERMESHAUSEN, 2008, CARLSSON, 2008, ISHIKOWA, 2008).

Zeidler ve arkadaşlarının 2008 yılında yayınladığı bir makalede 114 konjenital nötropenili hastanın %57 si ELA2 mutasyonuna sahipken, % 12'sinde HAX1 mutasyonu mevcuttu. Ancak ülkemizde akraba evliliğinin sık görülmesi nedeniyle konjenital nötropenili vakalarda HAX-1 mutasyonunun daha fazla saptanması olasıdır. Literatürde HAX-1 mutasyonu saptanan çoğu vaka Türkiye ve İran orijinli olup daha fazla p.Trp44X mutasyonu saptanmıştır. Bizim indeks vakamızda da bu mutasyon bulunmuştur (KLEIN,2007).

Konjenital nötropeni sıklık olarak oldukça nadir (1: 1 000 000) bir hastalık olması nedeniyle kısıtlı sayıda vakada yapılan çalışmalar nedeniyle fenotip-genotip ilişkisi (özellikle HAX- 1 eksikliğinde) yeterince ortaya konamamıştır.

Ağır Konjenital Nötropeni promyelosit evresinden myelosit evresine geçişte maturasyonun durmasına bağlı olarak periferik kan absolü nötrofil sayısının $0.5 \times 10^9/l$ 'nin altında olması ile karakterize heterojen bir hastalık grubudur. Ağır Konjenital Nötropeni myelopoietik yetersizliğin iyi bir örneğidir ve patogenezin aydınlatılması normal myeloid gelişimin anlaşılmasına da ışık tutacaktır. ELA2 geni ile kodlanan nötrofil elastaz, nötrofil farklılaşmasında promyelosit seviyesinde üretilir ve matür nötrofillerin primer granüllerinde depolanır. Otozomal dominant geçiş gösteren Ağır Konjenital Nötropenili %60 vakada ve sporadik Ağır Konjenital Nötropenili vakalarda ELA2 mutasyonları tespit edilmiştir. Yakın zamanda Kostmann tarafından tanımlanan orijinal otozomal resesif geçiş gösteren ağır konjenital nötropeni ailesinde de dahil olmak üzere anti apoptotik bir proteini kodlayan HAX1 geninde mutasyonlar tespit edilmişti. HAX1, bcl-2 ile zayıf homoloji gösteren ve apoptozu baskılayan mitokondrial bir proteindir.

HAX1 eksikliğinde nörolojik problemlerin sıkça görülmesi HAX1 eksikliği ve santral sinir sistemi anormallikleri arasındaki ilişki olduğuna işaret etmiştir. HAX1 transcript variant I ve II'yi birlikte etkileyen mutasyonların nötropeni ve nörogelişimsel anormalliklere sebep olduğu görülmüş; bu da genotip-fenotip ilişkisinin tartışılmasını sağlamıştır.

KOMPLEMAN SİSTEMİ EKSİKLİKLERİ

İsmail Reisli

*Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi
Çocuk İmmünolojisi ve Alerji Bilim Dalı, Konya*

Kompleman sistemi, bağışıklık sistemimizin sıvı fazında etkinliği olan plazma kompleman bileşenleri, hücre membranı regülatuar proteinleri ve hücre membran reseptörlerinden oluşan ve doğal (innate) immün yanıtta yer alan bir sistemdir. Başlıca fonksiyonları, fagosit edilecek materyali opsonize etmek (C3b), kemotaktik faktör olarak fagositleri ortama çekmek (C5a), anafilatoksinlerle (C3a,C5a) inflamasyona katkıda bulunmak ve plazma kompleman bileşenlerinin aktivasyonu ile Membran Attack Complex'i (MAC) oluşturup hücre lizisinde görev almaktır. Böylece yabancı maddenin nötralizasyonu, anafilatoksin salınımı, opsonizasyon, kemotaktik etki, bakteri ve hücrenin lizisini gerçekleştirir.

Kompleman sistemi proteinlerinin intrauterin sentezi, gebeliğin erken döneminde karaciğerde başlar. C4, C2, C3 ve C5'in 8-14. gebelik haftasında sentezlendiği gösterilmiştir. Kompleman bileşenleri plasentadan geçmezler. Doğum ağırlığı ve gebelik yaşı ile kompleman proteinlerinin serum konsantrasyonları arasında anlamlı pozitif ilişki vardır. Zamanında doğmuş bir yenidoğanın kompleman plazma konsantrasyonları, erişkin düzeylerinin % 50-70'i düzeyindedir ve 6-18. ayda erişkin düzeyine ulaşır.

Kompleman sisteminin işlevlerini yerine getirebilmesi için aktive olması gerekir. Sistemin aktivasyonu da üç yolla gerçekleşir:

- 1) Klasik yol,
- 2) Alternatif yol,
- 3) Lektin yolu.

Klasik yolla aktivasyon antikor bağımlıdır. Diğer iki yolla aktivasyon ise antikora bağımsız olarak oluşur. Klasik yol aktivasyonu C1 üzerinden, spesifik antijenlere karşı oluşmuş özel antikorlar ve immün komplekslerin oluşumu ile gerçekleşir. Diğer iki yolda aktivasyon için antijen-antikor kompleksine gerek yoktur. Bakteri polisakkaritleri, endotoksinler, vb, C3 üzerinden aktivasyonu başlatabilir.

Kompleman sistemi eksiklikleri doğumsal veya edinsel olabilir. Doğumsal olanların 3 temel klinik tablosu vardır:

1.İnfeksiyonlara eğilim:

-C5-9 eksikliğinde tekrarlayan meningokok infeksiyonları

-C1, C3, C9, properdin, faktör D, faktör I eksikliğinde rekürrent pyojenik enfeksiyonlar

2.Kollagen doku hastalıkları: C1,2,3,4, faktör I eksikliklerinde SLE'ye benzer tablo, glomerülonefrit, dermatomyozit, vaskülit

3.Anjioödem: Kalıtsal C1 inhibitör eksikliğinde herediter anjioödem

Primer kompleman eksikliklerinin büyük kısmı otozomal resesif geçerken farklı olarak properdin eksikliği X'e bağlı kalıttır ve herediter anjioödem otozomal dominant geçer. Bu nedenle anamnezde eş akrabalığı, ailede kompleman eksikliği tanısı almış bireyin varlığı, etkilenen bireylerin cinsiyeti, hastalığın ortaya çıkışında kuşak atlayıp atlamadığı, otoimmün ve kollajen doku hastalıklarının olması, kompleman eksiklikleri yönünden uyarıcı olmalıdır. Özellikle tekrarlayan menenjitler kompleman eksikliklerini akla getirebilir.

Kompleman defektleri yenidoğan döneminden itibaren klinik bulgularını verebilir. Tarama testleri CH50 ve AH50 dir. Bu tarama testlerinin herhangi birinde defektin saptanması daha ileri testlerin yapılmasını gerektirir.

Edinsel kompleman eksiklikleri ise genellikle tüketim sonucu ortaya çıkar.

Kompleman eksikliklerinin spesifik tedavisi yoktur. Pnömonokok, h.influenza ve meningokok aşısı gibi kapsüllü bakteri aşısı yapılmalıdır. Penisilin profilaksisi önerilir. Ağır enfeksiyonlarda taze donmuş plazma ile kompleman replasmanı mümkündür. Herediter anjioödemde profilaktik veya tedavi amaçlı C1 inhibitör konsantresi kullanılır.

LABORATUVARDAN KLİNİĞE AQUAPORİN-4 SU KANALI VE SANTRAL SİNİR SİSTEMİNİN İLK OTOİMMÜN KANALOPATİSİ: NÖROMYELITİS OPTİCA(NMO)

Ayşe Altıntaş

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, İstanbul

Nöromyelitis optica (NMO- Devic hastalığı); santral sinir sisteminin inflamatuvar demiyelinizan hastalıklarındandır. Hastalık, klinik olarak ağır optik nörit ve miyelit atakları ile karakterizedir. Optik nörit ve miyelit atakları körlük ve paraparezi ile sonlanabilmekte, ağır özür-lülük gelişebilmektedir. Santral sinir sisteminin diğer infla-matuvar demiyelinizan hastalığı olan multipl skleroz'daki yaygın serebral tutulumun tersine, NMO'da özellikle hasta-lığın erken dönemlerinde beyin korunmuştur. Nöromyelitis optica'da selektif olarak optik sinirlerin ve spinal kordun tu-tulumunun immünopatogenetik mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir.

2004 yılında Lennon ve arkadaşları NMO vakalarında yeni bir biomarkırın varlığını ortaya koydular. Bu biomarkır NMO-IgG olarak adlandırılan bir otoantikordu. Aynı bilim adamları tarafından, bu otoantikoru hedefinin santral sinir sisteminde çok yoğun olarak bulunan aquaporin-4 su kanalı olduğu gösterildi. Bu veri; santral sinir sisteminin demiyelinizan hastalıklarına yaklaşımda yeni bir bakış açısı oluşmasının da yolunu açtı. *Miyelin ve miyelin yapan hücre*

olan oligodendrositler hastalık tablosunun temel hücre sel elemanları olarak kabul edilirken, bu veriler ardından **astro-sitler** ön plana çıktı.

Aquaporin-4 (AQP4) , vücutta pek çok organda bulun-maktadır. Santral sinir sisteminde en yaygın bulunan su ka-nalıdır. Homotetramerik bir protein olan AQP4, astrositlerin plazma membranına bağlıdır. Kan-beyin bariyerinde, mikro-damarlar çevresinde yerleşen astrositlerin ayakları genişle-miş bölümlerinde, damar lümenine bakan yüzeyde locali-zedir. Yanısıra; sinapslar çevresinde ve Ranvier nod'larında da AQP4 bulunur. "Beyin ile kan" arasında ve "beyin ile serebrospinal sıvı" arasındaki dengenin ve homeostatik ortamın sağlanması ve sürdürülmesinde AQP4 önemli rol oynamaktadır. AQP4; santral sinir sistemi içinde, hücreler arasında varolan suyun hareketlerinin kontrolünde kritik bir fonksiyon üstlenmiştir. Travma, su entoksikasyonu, iskemi, enfeksiyon ve tümörlerde beyin ödeminin gelişiminde de AQP4 molekülünün rolü büyüktür. Deneyisel çalışmaların verileri AQP4-Ig G' nin, NMO lezyonlarının gelişiminde "pri-mer efektör faktör" olabileceği izlenimini uyandırmaktadır.

DENEYSEL MUSK VE ACHR MYASTHENIA GRAVIS MODELLERİNDE FİZYOPATOLOJİK MEKANİZMALAR

Erdem Tüzün

İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul

Miyastenia gravis (MG) nöromüsküler bileşke (NMB)'nin gün içinde dalgalanan yorgunluk ve kas zaafı ile karakterize otoimmün bir hastalıdır. MG olgularında, kolay yorulma, yutma güçlüğü ve nefes darlığı gibi klinik bulguların yanında, nörofizyolojik incelemelerde tipik olarak dekremental birleşik kas aksiyon potansiyeli yanıtı saptanır. Jeneralize MG olgularının yaklaşık %90'ında hastalık postsinaptik nikotinik asetilkolin reseptörü (AChR)'ne karşı gelişen antikorlara bağlı olarak ortaya çıkarken, geriye kalan %10 MG olgusunun bir kısmında "muscle specific receptor tyrosine kinase" (MuSK) antijenine karşı antikorlar saptanmıştır.

AChR antikorlarının başlıca komplemanı aktive eden IgG1 ve IgG3 izotipinde oldukları ve AChR antikoru ilişkili MG'de klinik bulguların başlıca kompleman aracılı kas membranı yıkımı sonucunda geliştiği bilinmektedir. Diğer AChR antikoru ilişkili patojenik mekanizmalar AChR endositozu ve asetilkolin bağlanma bölgelerinin bloke edilmesidir. Deneysel otoimmün miyastenia gravis çalışmaları, AChR antikoru ilişkili MG'de otoantikorların başlıca Th1 ve Th17 tipi immün sistem hücreleri aracılığıyla oluştuğunu ancak IL-5 ve IL-10 gibi Th2 ve Treg sitokinlerinin de MG'nin patojenik mekanizmalarında rol oynadığını göstermiştir.

Postsinaptik NMB'de bulunan MuSK proteinine karşı gelişmiş antikorlar yaklaşık on yıl önce bulunmuş, günümüze kadar geçen sürede bu antikorların AChR antikoru negatif hastaların %40'ında bulunduğu saptanmış ve hücre kültürü, pasif transfer ve aktif immünizasyon çalışmaları ile MuSK antikorlarının da AChR antikorları gibi patojenik özellikler gösterdiği belirlenmiştir. Geriye kalan %60 hastada hastalıktan sorumlu antikorların bağlandığı antijenlerin belirlenmesine yönelik çalışmalar sürmektedir. Bu çalışmalar sonucunda, yakın zaman önce AChR antikoru negatif MG olgularının bir kısmında "low density lipoprotein receptor-related protein 4" (LRP4) antikorları saptanmıştır.

AChR'den farklı olarak MuSK ve LRP4, NMB'de sinaptik iletiden doğrudan sorumlu değildirler ama NMB'nin oluş-

masında önemli rol oynarlar. Motor sinir lif terminallerinden salınan agrin geliştirmekte olan kas liflerinin yüzeyindeki MuSK-LRP4 kompleksine bağlanarak, kas lifinin yüzeyinde dağınık halde bulunan AChR'lerinin bir araya toplanmasını ve böylece NMB'nin postsinaptik kısmının karakteristik görünümünün ortaya çıkmasını sağlar. MG hastalarından elde edilen MuSK antikorları ile yapılan pasif transfer ve immünizasyon çalışmaları sonucunda agrin-MuSK-LRP4 etkileşiminin sadece fetal dönemde değil erişkinlerde de devam ettiği ve bu etkileşimin antikorlarla kesilmesi sonucunda NMB morfolojisinin bozulduğu anlaşılmıştır. Bununla uyumlu olarak başlıca komplemanı aktive eden IgG1 ve IgG3 izotiplerinden oluşan AChR antikorları ağırlıklı olarak bağlandıkları postsinaptik NMB'de kompleman aktivasyonuna bağlı membran yıkımı ile sinaptik iletici bozarken, başlıca komplemanı aktive edemeyen IgG4 izotipinden oluşan MuSK antikorları ağırlıklı olarak MuSK'un hücre içine kaymasına sebep olmakta, bu da agrinin etkisini ortadan kaldırarak AChR'lerinin postsinaptik organizasyonunu bozmaktadır. Ayrıca MuSK antikorları henüz bilinmeyen mekanizmalarla presinaptik asetilkolin salgılanmasını da azaltmakta ve kas liflerinde atrofiye sebep olmaktadır. Bu fizyopatolojik bulgularla uyumlu olarak MuSK antikoru pozitif MG olgularında özellikle bulber alan kaslarında (dil, farinks ve interkostal kaslar gibi) atrofi görülmekte ve bazı olguların klinik bulguları çok ağır olduğundan ve sık miyastenik kriz geliştirdiklerinden daha yüksek dozda kortikosteroid ve daha sık plazmaferez tedavisine gereksinim göstermektedirler.

Farklı merkezlerde, sayıları 15 ile 300 arasında değişen hasta grupları ile yapılan çalışmalarda, AChR antikoru negatif MG olgularında LRP4 antikoru saptanma sıklığı %3 ile %53 arasında değişen oranlarda saptanmıştır. Bu çalışmalar LRP4 antikoru pozitif MG'nin üçüncü bir MG alt grubu olarak ortaya çıkmasını sağlamıştır. Ancak bu antikorların AChR ve MuSK antikorları gibi patojenik özelliğe sahip olup olmadıkları bilinmemektedir.

SEEKING BIOMARKERS AND MECHANISM OF VACCINE ADJUVANTS; FOR MORE EFFECTIVE AND SAFER VACCINATION

Ken J Ishii

Laboratory of Adjuvant Innovation, National Institute of Biomedical Innovation (NIBIO)

Laboratory of Vaccine Science, Immunology Frontier Research Center (IFREC), Osaka University, Osaka Japan

The word adjuvant has its origin from the Latin “adjuvare”, meaning “to help”. It is a general term for substances (factors) which are co-administered with a vaccine with the aim of increasing the effect (immunogenicity) of the vaccine. The research and development of adjuvants has a history of more than 80 years, and they are not a very new medicine. Their actual mechanism was not immunologically understood for a long time, and there was even a sarcastic remark “Immunologist’s dirty little secret”. However, research in immunology and microbiology for the past ten odd years, especially the research on innate immunity and dendritic cells (awarded 2011 Nobel Prize in Physiology or Medicine) triggered the discovery of a series of findings about adjuvants. Consequently, it allowed the development of adjuvants through an innovative scientific approach, and there is fierce competition worldwide for the development of next-generation adjuvants. I would like to introduce and discuss about several adjuvants with their novel mechanisms, including a dectin-1 assisted TLR ligand, and small compounds derived from anti-cancer drugs and that from common excipients.

On the other hand, however, adjuvants range widely in terms of origin and mode of action, and they may be the cause or underlying cause of vaccine toxicity, especially immunotoxicity. Nevertheless, efficacy and safety indicators of adjuvants are said to be still underdeveloped compared to the development of other drugs. Furthermore, considering the current situation where adjuvants are added to vaccines being imported from Europe, and vaccine industry and business are being developed explosively in the rest of the world including US and Japan, further innovation with cooperation and support from in-

dustry, academia and local government, with regulatory bodies involved, is needed to develop more effective and safer adjuvants. As adjuvants have a prospect of becoming next-generation immune drugs, I would like to introduce our new project named ‘Adjuvant Database Project’. This project aims to establish a database in which biomarkers can be explored contributing to research and development (efficacy) and to regulatory review (safety). I would like to discuss about our new data suggesting that micro RNA (miRNA), surprisingly stable within the exosome in serum, would be an interesting such candidate biomarker for predicting and evaluating adjuvant safety and efficacy.

1. Desmet C and Ishii KJ Nucleic acid sensing at the interface between innate and adaptive immunity in vaccination *Nat Rev Immunol* 2012 12(7):479-91
2. Aoshi T et al Innate and adaptive immune responses to viral infection and vaccination. *Current Opinion in Virology*. 2011, 1(4):226-232.
3. Coban C, et al . Novel Strategies to Improve DNA Vaccine Immunogenicity. *Curr Gene Ther*. 2011;11(6) 479-484
4. Marichal T, et al DNA released from dying host cells mediates aluminum adjuvant activity. *Nat Med*. 2011 17(8):996-1002.
5. Koyama S et al Plasmacytoid dendritic cells delineate immunogenicity of influenza vaccine subtypes. *Sci Transl Med*. 2(25):25ra24. (2010)
6. Ishii,K.J. et al. TANK-binding kinase-1 delineates innate and adaptive immune responses to DNA vaccines. *Nature* 451, 725-729 (2008).

EKSPOZOM KAVRAMI ve İMMÜN SİSTEM

Ferah Budak

Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji AD, Bursa

Kronik hastalıkların oluşumunda hem çevresel hem genetik etmenlerin etkili olduğu bilinmesine rağmen yapılan son araştırmalarda kronik hastalık risklerinin %70-90 oranında çevresel etmenlere bağlı olduğu gösterilmiştir. Bugün çevresel etmenlerin hastalıklarla ilişkilerini inceleyen bir grup bilim insanı, kronik hastalıkların gerçek anlamda anlaşılabilmesi için tıpkı tüm genetik bilgilerimizi inceleyen "genom" yaklaşımı gibi, maruz kaldığımız tüm çevresel etmenleri bir bütün olarak ele alan bir "ekspozom" yaklaşımının benimsenmesi yönünde görüş birliği içinde bulunmaktadır.

Ekspozom kavramı, doğum öncesi dönemden itibaren yaşam boyu maruz kalınan etmenlerin tamamı olarak tanımlanıyor. Ekspozom yaklaşımının öncüleri, çevresel etkileri, vücudumuza çevreden, örneğin havadan, sudan ve besinlerden giren kimyasallarla kısıtlamayıp enflamasyon, oksidatif stres, lipid peroksidasyonu, enfeksiyonlar, bağırsak florasının etkinlikleri gibi bir takım doğal süreçler sonucu oluşan kimyasalları da çevresel etkilere dahil etmektedir. Genomdan farklı olarak ekspozom, kişinin yaşamı boyunca gelişen çok değişken ve dinamik bir özelliğe sahiptir. Genel olarak insan ekspozomunu tümüyle karakterize etmek zor görünüyor, ancak yine de yaşamın farklı dönemlerinde insan ekspozomuna dair "enstantane" yakalamak için çeşitli stratejiler geliştirebileceği savunulmaktadır. Bu stratejiler arasında 2 yaklaşım öne çıkmaktadır.

- Aşağıdan-yukarıya
- Yukarıdan-aşağıya

Bir kısım araştırmacı aşağıdan-yukarıya bir yaklaşımı benimseyerek, bireyin ekspozomundaki her bir dış kaynaktan gelen kimyasalların çeşitli zamanlarda ölçülmesine yönelik araştırmalar tasarlıyor. Bu yaklaşım önemli etkilerin havayla, suyla ve beslenmeyle ilişkilendirilmesini sağlasa da çok fazla çaba gerektiriyor ve iç kimyasal çevreye dair cinsiyet, obezite, enflamasyon ve stres gibi etmenlerden kaynaklı unsurları gözden geçiriyor.

Buna karşılık yukarıdan-aşağıya yaklaşımı, bir bireyin kanındaki tüm kimyasalların (ya da bu kimyasalların işlenmiş ürünleri veya etkileri) ölçüldüğü bir strateji öneriyor. Bu strateji her bir örnekleme zamanına ait tek bir kan örneği ile bireyin iç kimyasal çevresini yansıtacağı, önemli çevresel etkiler tespit edildiğinde ise ek araştırmalarla bu etkilerin kaynağı ve bu etkilerin azaltma yöntemlerinin bulunabileceği savunulmaktadır. Bu strateji ile;

- Reaktif elektrofiller
- Endokrin (hormon) bozucular
- İmmün yanıtı değiştiren maddeler
- Hücredeki algılayıcılara bağlanan maddeler ve metabolitler
- Lenfosit gen ifadelerindeki değişimler
- DNA'daki kimyasal değişikliklerin ölçülmesi hedefleniyor.

Transkriptomik, proteomik, metabolomik gibi yüksek verimli teknolojiler sayesinde yakın bir gelecekte çevresel etkilerin erken etkilerini araştırmanın mümkün olacağı öngörülüyor. Genom bilgisi düzeyinde ve kalitesinde ekspozom bilgisine erişilmesi, genetik ve çevresel belirleyicilerin bir arada incelenmesini ve kronik hastalıkların oluşumunun çok daha iyi anlaşılmasını, bunun da hastalıkların engellenmesi ve tedavisi için etkin bir bilgi birikimine kavuşulması, genel olarak insan sağlığında ve yaşam kalitesinde önemli düzeyde iyileşme sağlanması anlamına geleceği düşünülüyor. Ekspozom teknolojileri geliştirilirse her bireyin kendi ekspozomunu takip edebileceği ve ekspozomuna dayanarak bireye önleyici stratejiler önerebileceği öngörülüyor. Bu anlamda ekspozomun, insan genomunun vaat etmiş ancak henüz başaramamış olduğu kişiselleştirilmiş tıbbın önünü de açabileceği, aynı zamanda kaynağı çok eskilere dayanan gen-çevre tartışmasına da açıklık getirebileceğini düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

Wild CP, The exposome: from concept to utility, International Journal of Epidemiology, 41:24-32, 2012.

Rappaport SM, Implications of the exposome for exposure science, Journal of Exposome Science and Environmental Epidemiology, 21:5-9, 2011.

Pleil JD, Stiegel MA, Madden MC, Sobus JR, Heat map visualization of complex environmental and biomarker measurements, Chemosphere, 84:716-723, 2011.

Faisandier L, Bonnetterre V, Gaudemaris RD, Dominique JB, Occupational exposome: A network-based approach for characterizing occupational health problems, Journal of Biomedical Informatics, 44:545-552, 2011.

Rappaport SM, Smith MT, Environment and Disease Risks, Science, 330:460-461, 2010.

Vlaanderen J, Moore LE, Smith MT, Lan Q, Zhang L, Skibola CF, Rothman N, Vermeulen R. Application of OMICS technologies in occupational and environmental health research; current status and projections, Occup Environ Med, 67:136-43, 2010.

DNA POLİMERAZ ZETA (ζ)'NİN İMMÜNOGLOBÜLİN DEĞİŞKEN BÖLGELERİNDEKİ TANDEM MUTASYONLARA KATKISI

Hüseyin Sarıbaşak¹, Robert W. Maul², Zheng Cao², William Yang²,
Dominik Schenten³, Sven Kracker³, Patricia J. Gearhart²

¹Şifa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İzmir

²National Institutes of Health, National Institute on Aging, Laboratory of Molecular Biology and Immunology, Baltimore, MD, USA

³Harvard Medical School, Immune Disease Institute, Boston, MA, USA

Low-fidelity DNA polimerazları somatik hipermutasyon sırasında immüoglobulin değişken bölgelerinde nokta mutasyonları tanıttırmaktadırlar. Polimerazlardan baskın olanı DNA polimeraz eta (pol h) olup, diğer polimerazlarda mutasyonlara katkıda bulunabilirler. Başka bir polimeraz, DNA Pol zeta (pol z) üzerine çalışmalar yapılmış olsada, hipermutasyona etkisinin olup olmadığı çelişkilidir. Biz pol h'nin ana polimeraz olarak ortamda oluşunun pol z'nin etkisini örtebileceğinden hareketle pol z'nin tek veya iki kopyasını pol h 'knockout' edilmiş farelerde 'knockout' ettik ve mutasyonları inceledik. Sonuçta (Pol z+/- Pol h-/-) ve (Pol z+/+ Pol h-/-) klonları arasında hipermutasyon frekansı ve motifi değişmediğini gözlemledik. Öbür taraftan Pol z+/- hücrelerinde Pol z+/+ hüclerine kıyasla tandem (art arda olan) mutasyonlarda azalma olması, Pol z'nin tan-

dem mutasyonları üretimi esnasında kullanıldığını göstermektedir. Önceki çalışmalarda Pol z'nin biyokimyasal olarak mismatch'leri ikinci bir mutasyonla uzattığı tespit edilmiştir. Bizim sonuçlarda bunu *in vivo* ortamda baskın pol h'nin olmadığı durumlarda birebir sağlamaktadır. Buna ek olarak Pol z-/-, Ung-/-, Msh2-/-, and Msh6-/- hücrelerinden elde edilen tandem mutasyon verileri, DNA'daki boşlukları doldurma işlemi sırasında pol z'nin MSH2/6 yolağında pol h ile yarış halinde olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: B hücreleri, Antikor olgunlaşması, Somatik hipermutasyon, Tandem mutasyonlar, DNA Polimeraz Zeta, DNA Polimeraz Eta,

KAN-BEYİN BARIYERİ İMMÜNOLOJİSİ

Mehmet Kaya

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, İstanbul

Beyin damar endotel hücreleri tarafından oluşturulan kan-beyin bariyeri (KBB), normal koşullarda su, elektrolit ve besinlerin kan ile beyin arasında iki taraflı olarak taşınması için seçici bir filtreleme görevi yaparken, aynı zamanda toksik madde ve patojenlerin beyne girişini kontrol eder ve oldukça sınırlar. Böylece, KBB en önemli işlev olarak nöronal homeostazisi korumaya çalışır. Fizyolojik koşullarda beyin immünolojik ve farmakolojik olarak ayrıcalıklı bir alan olduğu ve patolojik koşullarda da beyinde iyi organize edilmiş immünolojik cevaplar gelişebildiği ileri sürülmüştür. Beyindeki bu ayrıcalıklı özellikler başlıca; (a)- kan kaynaklı antikor ve immün hücrelerin beyne geçişinin KBB tarafından sınırlandırılması, (b)- beyinde lenfatik kanalların yokluğu, (c)- immün yanıtın sürdürülmesinde mikroglia ve astrositlerin yetersiz kalışı, (d)- beyin parankiminde dendritik hücrelerin azlığı ve büyük doku uygunluk kompleksi düzeylerinin düşük oluşundan ibarettir. Normal koşullarda beyne lökosit geçişi oldukça az olmakla birlikte, Multiple Sclerosis, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve beyin tutulumlu genetik temelli birçok hastalıkta bu

hücrelerin KBB dahil birçok yolu kullanarak beyne geçişi artar. Böylece, lökosit kaynaklı hücrelerin beyindeki aşırı varlığı, bir yandan oksidan kaynaklı maddelerin artışına neden olurken, diğer yandan özellikle beyine geçen monosit ve makrofajların saldıkları Proinflamatuvar sitokin ve kemokinler aracılığı ile hem mikroglia aktivasyonuna hem de daha fazla kan kaynaklı hücrelerin beyne göçüne neden olur. Beyin parankiminde normal hücresel sinyal işlevlerinde kullanılmak üzere iş gören sitokinlerin kaynağını başlıca glial hücreler oluştururken, beyinde aşırı miktarda lökosit varlığına bağlı olarak yapımı artan sitokin ve kemokinler bir yandan nöronal homeostazın bozulmasına, diğer yandan beyinde birçok patofizyolojik süreçlerin başlatılmasına ve/veya ilerletilmesine neden olabilirler. Bu nedenle, nörovasküler ünitenin elemanları olan endotel hücre bazal membranı, astrosit, perisit ve mikroglia hücreleri KBB bütünlüğünün korunmasına yönelik olarak bu yapıya hayati anlamda destek vererek başta lökositler olmak üzere kan kaynaklı sitokin, antikor ve diğer maddelerin beyne geçişinin sınırlandırılmasında önemli rol oynarlar.

AĞIR METALLERİN BAŞTA BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ OLMAK ÜZERE İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ZARARLI ETKİLERİ

Ahmet Gödekmerdan

Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji AD, Elazığ

Endüstriyel faaliyetler, yerli tarım, tıbbi ve teknolojik birçok uygulamanın insanların yaşam alanlarındaki toksik ağır metal maruziyetinde(çevresel ve mesleki maruziyet) artışa neden olması çok ciddi kaygılara yol açmaktadır. Sanayileşmenin kirlettiği doğada yetişen bitkisel ve hayvansal gıdaların alımı, denizlerin kirlenmesi, geri dönüşümlü kullanılan malzemeler, yakıtlar ve bunların kirlendiği havadan, insanoğlu adeta kendini zehirlemektedir.

Ağır metal toksisitesi; doz, maruziyet yolu ve kimyasal türlerin yanı sıra, yaş, cinsiyet, genetik ve maruz kalan bireylerin beslenme durumu gibi birçok faktöre bağlıdır. Metaller arasında halk sağlığı açısından yüksek derecede toksisiteye sahip öncelikli olanlar; arsenik, kadmiyum, krom, kurşun ve cıvadır. Sistemik toksik etkili bu metalik elementlere düşük düzeyde maruz kalmanın bile çoklu organ hasarına neden olduğu bilinmektedir. ABD Çevre Koruma Ajansı ve Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı sınıflandırmasına göre bunlar insan karsinojenleri (bilinen veya olası) olarak değerlendirilmektedir.

Ağır metaller çevre şartlarına dayanıklı olduklarından, insan ve diğer canlılarda birikmektedirler. Bunu biyokümülyasyon; çevrede bulunan ağır metallerin zaman içinde organizmada birikmesi şeklinde ve biyomagnifikasyon; besin zincirindeki küçük canlılardan daha büyük canlılara doğru gittikçe katlanarak birikmesi şeklinde yapmaktadır.

Metal absorbe edildiğinde transportu için ana vasıta kandır, bu durum hassas bir kinetik iledir; dağılma, protein bağlanması, biyotransformasyon oranı, intrasellüler ligandların uygunluğu ve diğer faktörlere bağlıdır. Bazı organlar (örn kemik, karaciğer ve böbrek) metalleri tutarlar ve yıllar içinde nispeten yüksek konsantrasyona ulaşırlar.

Bu kirleticiler yıllarca biriktikleri anne vücudundan daha intrauterin hayatta plasenta ile fetusa geçmeye başlamakta, bu maruziyet doğum sonrası da anne sütünden bebeğe geçerek devam etmektedir. Bebek vücudunda kalıcı olan bu toksik metallerin insan organizmasında bilinen hiçbir biyolojik görevi de yoktur. Bu konuda toksisitesi en yüksek olanlar arasında kurşun, cıva ve kadmiyum gelmektedir. Ağır metallerin ağız, solunum ve cilt yoluyla alımı sonrası kronik olduğu kadar akut zehirlenmeleri de söz konusu olabilmektedir.

Toplumda yaygın olarak maruziyeti görülen bu ağır metaller dışında; alüminyum, kadmiyum, bakır, nikel, talyum gibi daha birçok ağır metal de akut ve kronik toksisite nedenidir.

İnsan sağlığını en fazla tehdit eden ve çevresel kirliliğe en çok yol açan ağır metal olarak cıva üzerinde

ayrıntılı olarak durulacak ve insanın kronik zehirlenmesine yol açmada cıva kaynağı olarak en fazla maruz kalma durumunu oluşturan amalgam dolguların sistemik ve immün sisteme olan etkileri tartışılacaktır.

CİVAYA ÇEVRESEL MARUZİYET

Cıva, büyük ölçüde sülfhidril, daha az derecede hidroksil, karboksil ve fosforil gruplarına bağlanarak toksik etkiler oluşturan son derece reaktif bir moleküldür. Geniş dağılımı olan, çevresel ve endüstriyel bir kirleticidir. Cıva, insanda en çok deri, tırnaklar, saç ve böbreklerde bulunur. İnsanın cıvaya maruz kalmasında en belirgin kaynaklar; **dental amalgamlar**, ilaçlar, kozmetik ürünler ve besinler(özellikle de kontamine olmuş balık) dir.

Cıva DNA'ya zarar verir, mitozisi bozar ve nöron migrasyonu olumsuz etkiler. Bu yüzden prenatal ve postnatal dönemde nörotoksiktir. Cıva intoksikasyonunun fetus üzerinde her halükarda oldukça belirgin etkisi vardır. Cıva intoksikasyonu; mental retardasyon, serebral palsi, felç ve eninde sonunda ölümlü sonuçlanan net sonuçlar doğurur. Bütün organlar içinde cıva tuzlarına en duyarlı olanı böbreklerdir. Nefrotoksisite klinik olarak, akut tubuler nekrozis ve immünolojik glomerulonefrit ile kendini gösterir. Aritmi ve kardiyomiyopati de cıva zehirlenmesi ile ilişkilidir. Kardiyomiyopatik hastaların saçlarında çok yüksek konsantrasyonda - kontrol grubuna göre bin kat daha fazla- cıva bulunmuştur.

Bebek bezlerinin yıkanmasında ve latex boyalarda kullanılan fenil cıvanın bebeklerde ağırlı ekstremiteler, periferik nöropati, renal tubuler disfonksiyona bağlı hipertansiyona yol açan acrodyniaya neden olduğu bildirilmiştir. Erişkinlerde ağrı kontrolü için hastaneye yatmayı gerektiren aksonal dejenerasyon ve Guillain-Barre benzeri belirti ve bulgular gösteren şiddetli nörojenik ağrı sendromu problemi görülebilir. Literatürde cıvaya maruz kalma ile ilişkili amyotropik-lateralsklerozis hastalığı benzeri karakterde reversibl nörolojik duruma ait sayısız vaka takdimi bulunmaktadır. Cıva ile kontamine olmuş balıkları tüketen annelerin fetüsleri üzerinde yapılan çalışmalar, düşük düzey cıvaya maruz kalma sonucu oluşan toksisite (nöro davranışsal performans ile kendini belli eder) ile ilgili endişeleri arttırmaktadır.

CİVANIN İMMÜNOTOKSİK ETKİLERİ

Cıvanın ve birçok metalin, immün sisteme ait olan hücreler de dahil olmak üzere çeşitli spesifik hücre tiplerine sitotoksik etkileri vardır. Geçmişte özellikle romatoid artrit tedavisinde (altın terapötik formülasyonlar) ve sifilizin erken tedavisinde metallerin sitotoksik özelliklerinden faydalanılmıştır. Cıva yalnızca immünosupresyon oluşturmaz,

aynı zamanda insan ve rodentlerin de içinde bulunduğu birçok türde immüno stimulatuar sinyaller üretme yeteneğine de sahiptir. Civaya maruz kalma öncelikle hücre morfolojiye dayanan nonapoptotik süreç ile hücre ölümüne neden olur. Prelethal faz maruz kalmadan sonra ilk 2 saat içinde ortaya çıkar ve oncosis (iskemik hücre ölümü)'i taklit eder. Filbillarının proteolitik bozulması HgIA (civa-indüklenmiş otoimmünite)'nin prelethal fazı için karakteristiktir. Fibrilların 34 kDa ağırlığında küçük nükleolarribonukleoprotein partikülleridir (snRNPs) ve bozulması makrofajlarda gerçekleşir. Fibrilların, büyük ihtimalle civa ile toksik kontakt sonrası nekrotik enkazda biriken fagositlerin parçalanmasından kaynaklanmaktadır. Böyle bir ortamda civa yoğunluğu artar ve hücre ölümüne neden olur. Hücre proteazları ile bölünme yeni antijenlerin artışı sürdürür. Daha fazla fagositoz, T hücrelerine daha fazla antijen sunma ve işlemeye neden olur ve otoimmünite ortaya çıkabilir. HgCl₂ maruziyetini takiben peritoneal makrofajlar tarafından IL-1 sekresyonu ile birlikte T hücre proliferasyonu ve sitokin salınımı gözlenmiştir. Ayrıca, nekrotikten ziyade apoptotik hücre atıklarının farelerde makrofaj ve dendritik hücreleri daha fazla aktive ettiği; bu durumun HgCl₂ kaynaklı hücre ölümünün immünolojik self-toleransın yıkımına yol açan immünojenik komplekslere katkı sağladığı düşüncesini desteklediği bildirilmiştir.

OTOİMMÜNİTE

Bazı kişiler genetik olarak otoimmün hastalıkların spontan gelişimine duyarlıdır. Sıklıkla sistemik olan bu hastalıkların etiyoloji ve patojenitesi hakkında ipucu azdır. Son immünolojik bulgular, idiyopatik otoimmün hastalıkların çoğunun kökeninin, biyosferi kontamine eden içinde yüksek oranda civanın da bulunduğu ksenobiyotik bileşikler olabileceğini işaret etmektedir. Erişkinlerde düşük düzeyde (40 µg/kg vücut ağırlığına göre) civaya maruz kalmak sistemik lupus eritematozusa (SLE) yatkınlığı olan hastalarda riskli olabilir. Civaya yüksek dozlarda maruz kalmayı takiben akut renal tubuler lezyonlar ve immünosupresyon gelişir, halbuki civanın düşük dozlarda kronik uygulanması SLE gelişimine yol açabilir. HgIA ve SLE'den muzdarip hastalar, benzer patojenite ve klinik bulguları paylaşırlar. Genetik olarak yatkın bireylerde civa gibi ksenobiyotik bileşiklerin otoimmüniteyi tetikleyen bir özelliği olduğu HgIA ile ilgili yapılan çalışmalarda giderek artan şekilde kanıtlanmaktadır.

CİVA İLE İNDÜKLENMİŞ ANTİKOR SENTEZİ

Hirsch ve arkadaşları Brown-Norway ratlara haftada 3 kez, değişken periyotlarda, 11-25 gün süreyle vücut ağırlıklarının her 100 gramı için 0.1 mg HgCl₂ enjekte etmişler ve antikor çeşitlerini izole etmişlerdir. Saptanan antikorlar arasında; mitokondrial antijenlere karşı oluşan IgM ve IgE türü antiglomerular monoklonal antikorlar (mAbs), IgM türü

antinükleer antikorlar ve tek sarmallı DNA ile tepki gösteren diğerleri bulunmaktadır. Diğer araştırmacılar civanın poliklonal B hücreleri aracılığı ile geniş spektrumlu otoantikor oluşumunu uyurabileceğini doğrulamışlardır. HgIA ile ilgili; lenfosit proliferasyonunu içerir, spesifik class II MHC gen salınımı ile yüksek derecede ilişkilidir, hipergamaglobulinemi görülür, antinükleer Abs, AnAAbs üretimi vardır ve nekrotizan vaskülit gibi özellikler SLE'de görülen bulgulardan farklı değildir. Otoantikorların, ilaç ve madde bağımlılarında glomerulonefrite yol açanlarla benzer olduğu bulunmuştur. Bu tür immün reaksiyonlarda civanın rolü hakkında birçok bulgu fare türlerinden elde edilmiştir ancak, HgIA'nın klinik bulguları insandaki spontan SLE bulguları ile benzerdir.

İNSANLARDA HİPERSENSİTİVİTE

Klorid ve amidklorid gibi civa tuzlarına maruz kalmak hipersensitiviteye sebep olabilmektedir. Hipersensitivitenin semptomları egzema dermatiti ve stomatit gibi deri ve mukoza membranlarının değişimini içerir. Japonya'da yapılan bir çalışmaya göre gönüllülerin %13'ü derilerine yapıştıran civa bantlarına aşırı hassasiyet göstermişlerdir. 2276 hasta ile yapılan çalışmada hastaların %13.2 si etil civaklorid'e, %11.8'i thimerosala ve %8.9 u metalik civaya aşırı hassas bulunmuştur. Civalı kromun dermal uygulaması ve dövmelede bulunan civakonsantrasyonu ile de hipersensitivite gözlenmiştir. Civa kaynaklı mesleki temas dermatiti nadir görülür. Amalgam nadiren de olsa insanlarda alerjik reaksiyona sebep olabilmektedir. Bu oral mukoza değişimleri (liken planus veya likenoid reaksiyon) amalgam dolgunun mukozada temas ettiği yerlerde görülebilir. Bu bölgelere yapılan biyopsilerde dokulardaki civa oranında ve mononükleer hücrelerde artış görülmektedir. Hücre sayılarındaki artış bazı hastalarda tip 4 alerjik reaksiyonla, bazı hastalarda immün sistemin belirsiz reaksiyonu ile bağlantılı bulunmuştur. Amalgam dolgu çıkarıldığında mukozadaki bu oluşum normale dönebilmektedir.

AMALGAM DOLGULAR VE ZARARLI ETKİLERİ

Amalgam dolguların genelde insan sağlığına ve özelden immün sisteme olan zararlı etkileri tartışılacak; yine, çevreye olan kirlenici etkilerinden bahsedilecektir.

SONUÇ

Civa, laboratuvar hayvanlarında nispeten düşük dozlarda immünolojik etkilere sebebiyet vermektedir. Civa bu nedenle otoimmünite araştırmalarında bir model metal haline gelmiştir. Civa, türüne ve deney koşullarına bağlı olarak yalnızca hipersensitivite ve otoimmünite geliştirmekle kalmamakta, aynı zamanda bağışıklık sisteminin koruyuculuğunu da düşürmektedir.

RUTİN İMMÜNOLOJİ LABORATUVARINDA YAPILAN TESTLER

Handan Akbulut

Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji AD, Elazığ

Rutin araştırma ve klinik çalışmalarda laboratuvar tekniklerinin çoğu antikorların kullanımına dayanır. Modern moleküler teknikler immün sistem hakkında önemli bilgi sağlar. Antijen-antikor hassas spesifikliği, antijenlerin saflaştırılmasında, tayininde ve kantitasyonunda antikorları değerli yapar. Antikorlar makro molekül ve küçük kimyasalların herhangi bir tipine karşı üretilebilir (monoklonal antikorlar). Antijenler organizmada kendilerine karşı oluşturdukları antikorlarla özgül olarak birleşirler. Makromoleküller (kompleks karbonhidratlar, fosfolipidler, nükleik asitler, proteinler....) lenfosit aktivasyonunu uyarak antikor yanıtına neden olurlar. Antikor, aşırı değişken bölümdeki aminoasitlerden oluşan ve özgüllüğü sağlayan paratop adı verilen kısmı ile makromoleküldeki determinant veya epitop adı verilen, yüzeyde yer alan, hidrofil, genellikle sıralı aminoasitlerden oluşan antijenin özgüllüğünü sağlayan bölüme bağlanır. Çok büyük özgüllük nedeni ile antijen ve antikorlar arasındaki tepkimeler, bunların birini kullanarak diğerini belirlemeye izin verir. Bu olay serolojik tepkimelerin temelini yapar. Diğer bilim dalları tarafından da sıkça kullanılan teknikler arasında özellikle antijen-antikor etkileşimine dayalı olanları immünoloji biliminin özgün yöntemleri arasındadır. Antijen ve antikor birleşmesi özgül bir reaksiyon olduğu için, bilinen bir antijen olduğunda örnek materyal içerisinde özgül antikor aranabilir veya bilinen bir antikor olduğunda örnek materyal içerisindeki özgül antijen değişik tekniklerle saptanabilir. Antijen-antikor birleşmesine dayanan kantitatif testler ile serum örneklerindeki antijen veya antikor miktarındaki artışlar kolayca saptanabilir. Serolojik testler esas olarak enfeksiyon ve otoimmün hastalıkların tanısı, transplantasyondan önce kan ve dokuların tiplendirilmesinde kullanılmaktadır. Mikroorganizmanın kültürü yapılamadığında, kültürünün yapılmasının çok tehlikeli olması veya çok vakit alması halinde serolojik testler kullanılmaktadır. Enfeksiyonun akut bir enfeksiyon mu yoksa daha önce geçirilmiş bir enfeksiyon mu olup olmadığı, antikor yanıtındaki yükselme veya azalmanın saptanması ile enfeksiyonun gidişini, serumda antijenin kaybolması yanında özgül antikor oluşumunun saptanmasıyla enfeksiyonun geçtiği öğrenilir. Çok sayıda değişik immünolojik yöntemler kullanılıyor olmasına karşın rutinde yapılan temel bazı yöntemler genel olarak tanımlanacaktır.

Presipitasyon reaksiyonları: Özgül antijen ve antikor belirli oranlarda (optimum konsantrasyon) karıştırıldığında bunların birleştirilmesine bağlı olarak oluşan kompleks (presipitat) gözle görülür hale gelebilmektedir. Çözünür haldeki antijenin özgül antikoru ile birleşmesi sonucu oluşan reaksiyona "presipitasyon reaksiyonu" denir. Jelde (immünodifüzyon) veya sıvı ortamda (türbidometrik veya nefelometrik yöntem ile) saptanmaktadır. Jelde presipitasyon reaksiyonunu saptamada kullanılan teknikler; çift yönlü

immünodifüzyon testi (Quchterloney tekniği), radial immünodifüzyon yöntemi (Mancini tekniği), İmmünoelektroforez yöntemi, zıt yönlü immünoelektroforez ve roket immünoelektroforezi şeklinde tanımlanmıştır. Jelde presipitasyon testi teknik olarak daha kolay olmasına karşın, çok sayıda ayrı örneğin aynı anda değerlendirilmesi söz konusu olduğunda yapılacak iş zorlaşmaktadır. Bu nedenle antijen ve antikor bağlanması ile oluşan immün kompleks miktarını daha hızlı ölçmek için türbidometrik ve nefelometrik yöntemler geliştirilmiştir. Bu tekniklerde immün kompleks süspansiyonu içeren küvete monokromatik bir ışık gönderilir. Gönderilen ışık immün kompleksler tarafından hem absorbe edilir, hem de sapmaya uğratılır. Türbidometrik yöntemde immün kompleksler tarafından absorbe edilen ışık miktarı spektrofotometrik olarak ölçülür. Nefelometrik yöntemde ise orijinal ışık kaynağına belirli açılarda yerleştirilmiş olan dedektörler ile immün kompleksler tarafından sapmaya uğratılan ışık miktarı ölçülür. Hem türbidometrik yöntemde hem nefelometrik yöntemde absorbe edilen veya sapmaya uğratılan ışık miktarı sıvı ortamdaki immün kompleks miktarı ile doğru orantılıdır. Bilinen antijen ve antikor miktarları ile önce standart eğri oluşturulduğunda, içeriği bilinmeyen örneklerdeki antijen veya antikor miktarları saptanabilir.

Elektroforez: Antijenlerin elektriksel alanda molekül büyüklüklerine, taşıdıkları elektriksel yüke ve ortamın pH'sına bağlı olarak gerçekleştirdikleri harekete elektroforez denir. Moleküllerin bir matris içerisindeki (poliakrilamid jel gibi) hareketlerini uygulanan voltaj, ısı ve matrisin özellikleri de etkilemektedir. Kullanılan matris açısından selüloz asetat elektroforezi, poliakrilamid jel elektroforezi, kağıt elektroforezi, agaroz jel elektroforezi gibi değişik elektroforez tipleri bulunmaktadır. İmmünoelektroforez, elektroforez ile immünodifüzyon yönteminin birleştirilmesi ile oluşan tekniktir. Elektroforez sistemiyle yapılan çalışmaya molekül büyüklüğü bilinen standart maddeler eklendiğinde, içeriği bilinmeyen örnekteki proteinlerin standartlarla karşılaştırılması yapılarak molekül ağırlıkları saptanabilmektedir. İstenildiğinde jelde ayrıştırılmış olan protein bantları protein boyaları ile boyanarak görünür hale getirilebilir, izole edilebilir veya jeldeki bantlar naylon veya nitro selüloz membrana aktarılarak immünoblot yöntemi için kullanılabilir. İmmünoblot yöntemi, saflaştırılmış ve membran şeritlere aktarılmış özgül antijenlere karşı blotlama yöntemiyle antikor saptanmasıdır. Tek reaksiyonda farklı antikorlar saptanır. Otoimmün hastalıkların tanısında sıklıkla kullanılmaktadır.

Antikorlar solüsyonlardan proteinleri saflaştırmada ve proteinleri tanımlamada ve karakterize etmede kullanılabilir. Proteinleri saflaştırmada yaygın olarak kullanılan metod immünopresipitasyon ve afinite kromatografisidir. Western Blotting bir biyolojik örnekte bir proteinin varlığını ve büyüklüğünü tanımlamada yaygın olarak kullanılan tekniktir.

Aglütinasyon reaksiyonları: Partiküler yapıdaki antijenin özgül antikor ile birleşmesi sonucu oluşur. Partiküler antijenler; bakteri hücresi, eritrosit olabilir veya bazı çözünür antijenler inert yapıdaki lateks, polystren veya bentonit gibi partiküler taşıyıcı maddeler üzerine bağlanarak kullanılır. Bunların antijen ile kaplanması zordur. Çözünür yapıdaki bazı antijenlerin eritrosit yüzeyine bağlayarak partiküler özellik kazandırılarak aglütinasyon testlerinde kullanımı kolaydır. Sıvı ortamda karıştırılan partiküler antijen ile özgül antikoru homojen görünümü zamanla çıplak gözle görülebilen çöküntü (kümeleşme) haline dönüşür. Aglütinasyon testi ile antijenin özelliği de tanımlanabilir, salmonella, shigella, streptokok türlerini tanımlamada kullanılır. Aglütinasyon testleri; tüpte, lamda veya mikropalaklarda yapılabilir. Ko-aglütinasyon, hemaglütinasyon (aktif ve pasif hemaglütinasyon testi) hemaglütinasyon inhibisyon ve Coombs testleri (direkt ve indirekt Coombs) aglütinasyon yöntemi ile yapılan testlerdir.

Kompleman fiksasyon testi: Antijen ve antikor birleşmesinin komplemanı uyarmasına dayanarak geliştirilen bir testtir. Antijen ve buna özgül antikor birleşmesi ile immün kompleks oluşur, immün kompleks oluşumu antikoru Fc kısmında konfigürasyonel değişikliğe neden olur. Antikoru Fc kısmında oluşan bu değişiklik, kompleman proteinlerinin bağlanmasına ve aktivasyona neden olur. Antijen eritrosit ise buna bağlanan antikor aracılığı ile aktive olan kompleman proteinlerinde zincirleme reaksiyon gelişerek eritrosit hücre membranında zımba delikleri şeklinde zedelenme olur ve hücre ölür (lizis). Bu yöntem ile 1µg/ml'den daha düşük konsantrasyonlardaki antikor düzeyleri saptanabilir.

İmmünfloresan yöntemler: Doku ve hücrede bulunan antijenlerde olduğu gibi *in situ* antijenlerin ya da dokudaki veya hücresel antijenlere karşı gelişmiş ve bunlara bağlanmış antikorların (otoantikorlar) saptanması amacıyla sıkça kullanılır. Özellikle doku kesitlerinde antijen varlığı UV ışık kaynağı olan mikroskop yardımı ile ve floresan bir madde ile işaretli özgül antikorlar kullanılarak saptanabilmektedir. Antikorlar bazı florokrom maddeler ile işaretlenmektedir, en sık FITC kullanılmaktadır, UV ışık ile uyarıldığında gözle görülebilen yeşil renkli ışımaya yapar. Direkt ve indirekt immünfloresan yöntemler vardır. Otoimmün hastalıkların tanısında sıklıkla indirekt immünfloresan yöntem kullanılmaktadır.

ELISA (Enzyme linked immünosorbent assay): Özgül antijen-antikor bağlanmasını göstermek amacıyla enzimle işaretli konjugat ve enzim substratı kullanılarak renklendirilmesi ve bu renklenmenin spektrofotometri ile ölçülmesi esasına dayanır. Kompetitif, non-kompetitif ELISA, indirekt, sandwich, makro ve mikro ELISA, avidin-biyotin ekli ELISA yöntemleri vardır. Katı faz olarak 96 kuyucuklu, düz tabanlı polistren plaklar kullanılabilmektedir.

Radioimmünoassay (RIA): Özellikle düşük miktarlardaki antijen veya haptenlerin tayininde spesifitesi çok yüksek olan bir testtir. Bu yöntemde, antijen veya antikor bazı radioizotop maddeler ile (^{125}I , ^{57}Co) işaretlenerek daha çok kompetisyon esasına dayanmak üzere özgül olduğu antikor veya antijenin varlığı ve miktarı gamma sayacında ölçülerek saptanmaktadır. Sandwich ELISA yöntemindeki gibi farklı şekillerde de yapılabilir. Serumda hormon veya ilaç aranmasında sıklıkla kullanılır. Radioallergosorbent test (RAST) ve radioimmünosorbent test (RIST) RIA yöntemiyle yapılan testlerdendir.

Akan hücre ölçer: Özel hücre tiplerinin içerisinde veya üzerinde betimlenen antijenler için spesifik antikorlar kullanılarak, dokulardan veya hücre süspansiyonlarından bu hücreleri idantifiye etmede ve karışık popülasyonlardan bu hücreleri ayırmada yaygın olarak kullanılır. Akan hücre ölçer, hücrelerin birçok fiziksel ve biyolojik özelliğini aynı anda araştırmak için geliştirilmiş bir metoddur. Süspansiyon halindeki hücrelerde tek hücre seviyesinde araştırma yapar. Hızlıdır, saniyede 3000-5000 hücre incelenir. Akan hücre ölçer; bilgisayar teknolojisi, optik, elektronik, laser teknolojisi, monoklonal antikorların üretimi, sitokimyasal boyamalar ve florokrom kimyası gibi pek çok teknik kullanılmaktadır. Florokrom madde ile işaretli ligandın bağlı olduğu hücreler sıvı bir ortamda sıra halinde lazer ışığının önünden geçerler. Uyarıcı ışık etkisi ile florokrom maddenin yaydığı ışığın niteliğini ve şiddetini algılayan dedektörlere bağlı bilgisayar sistemi hücrenin özelliğini belirler. Hücre membranındaki veya hücre içerisindeki antijene özgül monoklonal antikor işaretlemek için genellikle FITC, PE, PI, PerCP, PC5, ECD gibi florokrom maddeler kullanılır. Lenfosit alt grupları, lösemi ve lenfoma immünofenotipleme, trombosit, retikülosit, kök hücre, apoptosis, fagositoz ve oksidatif burst, intrasitoplazmik sitokin tayini, DNA miktar ve ploidi analizleri, RNA çalışmaları, tümör drug resistans çalışmaları, organ transplantasyonunda crossmatch, enzim kinetik çalışmaları, hücre fonksiyonu, intrasellüler ionize Ca ve pH tayini, hücre membran potansiyel çalışmaları, NK hücre, kromozom analizi, sperm ve fertilitate çalışmaları, mikrobiyolojik ve parazitolojik çalışmalar, hücre ayırıştırma çalışmaları gibi akan hücre ölçer kullanım alanları çok çeşitlidir.

Günümüzde, antijen-antikor birleşme reaksiyonuna dayanan pek çok serolojik yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerle hem immün yanıt ve patolojisi belirlenmekte, hem de antijen veya antikoru kantitatif veya kalitatif ölçümü yapılmaktadır. Temel immünoloji bölümü olarak rutin laboratuvar şartlarında çalışılan antijen-antikor reaksiyonlarına dayalı bu yöntemlere sahip çıkmalı ve temel immünologların görevlendirildiği immünoloji laboratuvarlarını geliştirmeliyiz.

GEBELİK İMMÜNOLOJİSİ

Fulya İlhan

Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji AD, Elazığ

İmmün sistemin doğurganlığı nasıl etkilediği ya da emriyoya karşı verdiği cevap uzun yıllardır araştırmalara konu olmuştur. Antijenik olarak yarı yabancı bir doku yani allograft olarak da tanımlanabilecek olan embriyo anne vücudunda sağlıklı gelişip büyüebilmek için immün sistemin uyumuna ihtiyaç duyar. Gebeliğin 12. haftasında fetal HLA klas II antijenleri belirir. Spermiler de yabancı antijenik yapılarına rağmen sağlıklı kadında bir red cevabı ile karşılaşmaz. Bu bir tepkisizlik olmaktan çok bu süreçte fetusu kabüle uygun maternal bir immün yanıt oluşmasını gerektirir. İmmün sistem fetusu rejeksiyondan koruyan mekanizmalar geliştirir. Bunlardan en bilineni Th2 polarizasyonudur ve bu sayede fetus hücresel yanıtı korunur. Maternofetal bölgedeki trofoblastların antijenitesinin az olması, maternal ve fetal dolaşımların birbirinden ayrı olması, maternal Treg hücrelerinin rolü, plasentadaki HLA-G ekspresyonu aracılığıyla embriyonun NK sitolizinden korunması gibi engelleyici faktörler, sağlıklı gebeliğin oluşumu ve sürdürülebilmesi için gereklidir. NK hücreleri ve özellikle IFN- γ etkisi plasentanın ilk oluşumu aşamasında damarlanma için gereklidir. Bunun tersi durumlara en bilindik örneklerden birisi antisperm antikorlardır. Bu antikorlar infertilite nedenleri arasında yer alırlar. İmmün cevabın etkili olduğunun düşünüldüğü çeşitli gebelik dönem hastalıkları ve implantasyon defektleri vardır. Konuya paralel olarak bunlar irdelenecektir.

I-Preeklampsi:

Gebelikte hipertansiyonla birlikte albüminürinin görüldüğü bir durumdur. Etiyopatogenezi henüz net olarak aydınlatılamamıştır. Bu hastalığa immün fenomenin katkısı noktasında değişik çalışmalar yapılmıştır ve immünolojik temeli olduğu konusunda bilgiler mevcuttur. Preeklampsiye yol açan primer plasentasyon defekti değerlendirildiğinde temel olay invazif plasental trofoblastik hücreler ile uterus duvarındaki maternal lökositler arasında gerçekleşmektedir. Plasentasyon bölgesindeki bu maternal-fetal immünolojik ilişkideki sapmalar ya da problemler; implantasyon sorunu olarak değerlendirilen spontan gebelik kayıpları, intrauterin gelişme geriliği ve preeklampsi ile karşımıza çıkabilmektedir. Preeklampsiye yol açan primer plasentasyon defekti değerlendirildiğinde, temel olay invazif plasental trofoblastik hücreler ile uterus duvarındaki maternal lökositler arasında gerçekleşmektedir. Bu hastalıkta trofoblastik invazyon yetersizdir. Plasentasyon bölgesindeki bu maternal-fetal immünolojik ilişkideki sapmalar ya da problemler; implantasyon sorunu olarak değerlendirilen spontan gebelik kayıpları, intrauterin gelişme geriliği ve preeklampsi ile karşımıza çıkabilmektedir. Preeklampsinin patogenezinde pro ve antiinflamatuvar etkileri olan çeşitli interlökinlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca Matzinger'in savunduğu tehlike hipotezi vardır bu hipoteze göre immün sistem self-nonself ayırımından çok kendine tehlike yaratacağını düşündüğü durumda cevap oluşturur. Preeklampsi de işte bu tehlike hipoteziyle

açıklanabilir. Normalde paternal antijenler antijen sunucu hücre (ASH)'leri uyarmazlar. T hücreleri eş uyaran sinyalleri almadıkları için yanıt oluşturmazlar. Dolayısıyla maternal bir immün baskılamaya da gerek yoktur. Ancak stres, nekroz, enfeksiyonlar metabolizma değişiklikleri, DAMP ekspresyonunun artmasına neden olur ve ASH'ler aktive olabilir. Aktivasyon SH'lerin fetal antijenlerin T hücrelerine sunulmasına da neden olabilir. Bu sunum sürerse fetal kayıp gelişebilir. Ancak immün yetkin hücreler kısa ömürlüdür ve immün yanıt ta önemli bir bulguya yol açmadan sonlanabilir.

T hücrelerinin reaktif olması plasentasyon defektine ve maternal hipertansif yanıtı neden olabilir. IL-2 ve IL-12 ile aktive edilen T hücrelerinin veya LPS'in hayvan modellerinde proteinüri ve hipertansiyona yol açması bunu desteklemektedir. (Zencussen, 2006) or LPS (Faas et al., 2000) NK hücre yanıtı bozursa veya trofoblastlar sinyal alamıyorsa da stres veya hasarla ilgili sinyaller sekonder immün cevabı başlatabilirler. İnhibitör KIR reseptörlerinin preeklampsiyle ilgili olabileceği bildirilmiştir (Hiby et al., 2004). Preeklampsili kadınlardan alınan plasentalarda TLR-4'ün fazla sunulduğu izlenmiştir (Kim et al., 2005).

II-HELLP (Hemolysis-Elevated Liver enzymes-Low Platelets) sendromu hemoliz, yükselmiş karaciğer enzimleri ve trombosit sayısında azalma ile karakterize, yüksek maternal ve perinatal morbidite ve mortalite ile ilişkili bir tablodur. Preeklampsi gebelerin yaklaşık %4-20'sinde görülür. Genellikle üçüncü trimesterde preeklampsi ile birlikte olsa da daha erken gebelik haftalarında bildirilen olgular da vardır ve hipertansiyon olmayabilir. Endotel hasarı vardır hasarlı vasküler endotele adezyon sonucunda trombosit dönüşümü artar ve ömür kısalır ve trombosit aktivasyonunda artış saptanır.

III-IVF başarısızlıkları:

İn vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) tedavilerinin başarısında belirleyici basamaklardan biri ve hatta en önemlisi embriyo implantasyonudur. İmplantasyon penceresi döneminde gerçekleşen implantasyon işleminde medyatör olarak rol oynayan üç ana sistem immün hücreler, sitokinler ve adezyon molekülleridir. Treg hücreleri (CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺) özellikle self antijenlere toleransı sağlamada önemli rol oynamaktadır.

IV-RSA(recurrent spontan abortus)

Tekrarlayan gebelik kaybı, 3 veya daha fazla ardı ardına 20 hafta altı gebelik sonlanmasıdır. Dünya çapındaki en sık reproduktif problemlerden biri olup çiftlerin %1'ni etkilemektedir. Maternal ve fetal faktörler etyopatogeneizde yer almakla beraber vakaların %50'den fazlası idiopatiktir. Bu %50 içinde yer alan hastalarda hücresel immünitenin baskın olmasının bu sonuca yol açabileceği düşünülmektedir. Altta yatan maternal mekanizmalar uterin patoloji, endokrin disfonksiyon, trombofililer ve antifosfolipid sendromudur (5). Fetüsteki genetik ve gelişimsel anomaliler de etyolojide yer

alır (1). Fakat, vakaların %50'den fazlası idiopattir.

Lupus antikoagulan(LA) gibi antifosfolipid antikorlar, anti-kardiolipin antikor (aCL) ve anti-b2 anti-glikoprotein 1 antikor (ab2GP1) daha önce RSA'da daha önce etkisi belirlenmiş antikorlar olarak sayılabilir. Farklı otoimmün antikorların örneğin antitiroid antikorlarının RSA neden olduğu konusunda yapılmış çalışmalar vardır (Dendinos S).

Özellikle 1.trimesterde plasenta içindeki oksijen dengesi fetus için çok önemlidir ve oksijen basıncının artması ROS üretiminin artmasına ve plasentanın oksidatif strese maruz kalmasına neden olabilir. Plasentayı oksidatif stresten koruyan antioksidan proteinlere örnek olarak; Peroksiredoksinler (Prx) sayılabilir. 6 alt grubu vardır ve özellikle Prx3 ve Prx6 sitotroblastlardan sunulur ve implantasyon ve normal plasentasyon için gereklidir. RSA hastalarında Prx3 and Prx4 proteinlerine karşı antikorlar bulunduğunu bildiren bir çalışma vardır. Plasental proteinler maternal immün sistemle olan yakın ilgilerinden dolayı maternal immün cevabı uyarabilirler (Ghahesi-Fard B).

(1). Erken gebelik kayıplarında hücrel immünite disfonksiyonu bildirilmiştir (6). Bu disfonksiyonda sitokinler, büyüme faktörleri ve materno-fetal yüzdeki immünsupresif faktörlerin defektinden bahsedilebilir (7). Gebelik maternal immün sistemin fetal antijenlere karşı duyarsızlık geliştirdiği bir dönem olup bu süreçte gelişen bir defekt, gebelik akıbetini negatif yönde etkilemektedir. T lenfositlerin alt grubu olan T regülatör (Treg) hücrelerin disfonksiyonu gebelik kaybına sebebiyet vermektedir (8). Normal gebeliklerde periferik kan mononükleer hücrelerinden anamlı bir IL-10 artışı olurken (9) IL-2 ve IFN- γ 'da azalma görülmektedir (10). Yapılan çalışmalarda, IFN- γ gibi Th1 tipte sitokinlerin gebelik kaybına yol açabileceği ve IL-10 gibi Th2 tipte sitokinlerin de önleyebileceği ileri sürülmektedir (11,12). Treg hücrelerin, fetal antijenlere karşı annenin immünitesini baskıladığı bilinmektedir (13,14).

Th1 hücre kemokin reseptörleri olan CCR5 and CXCR3'ü ve Th2 aracılı ekspresse edilen CCR3 and CCR4 kemokin reseptörlerinin araştırıldığı bir çalışmada hem Th1 hem de Tc1 hücrelerdeki kemokin reseptör sunumunun RSA'lı hastalarda anlamlı ölçüde yüksek olduğu izlenmiştir (Kheshtchin N). Bu veriler hücrel immünitenin baskın olduğu yanıtın spontan abortusa neden olabildiğini desteklemektedir. NK hücrelerinin gerek oransal gerekse sitotoksik kapasitelerinin RSA'lı hastalarda fertil kadınlara göre daha yüksek olduğu ve aynı hastalarda CD8+ T hücrelerin de sayıca az olduğu saptanmış ve bu araştırmacılar bu aktivitenin CD8 hücrelerin NK üzerindeki immün modülasyonunu azalttığını iddaa etmişlerdir (Ji Hee Yoo).

Kheshtchin N, Gharagozloo M, Andalib A, Ghahiri A, Maracy MR, Rezaei A: The expression of Th1- and Th2-related chemokine receptors in women with recurrent miscarriage: the impact of lymphocyte immunotherapy. Am J Reprod Immunol 2010; 64:104-

Dendinos S, Papasteriades C, Tarassi K, Christodoulakos G, Prasinos G, Creatsas G: Thyroid autoimmunity in patients with recurrent spontaneous miscarriages. Gynecol Endocrinol 2000; 14:270-274.

Presence of autoantibody against two placental prote-

ins, peroxiredoxin 3 and peroxiredoxin 4, in sera of recurrent pregnancy loss patients.

Ghahesi-Fard B, Jafarzadeh L, Ghaderi-Shabankareh F, Zolghadri J, Kamali-Sarvestani E.

Am J Reprod Immunol. 2013 Mar;69(3):248-55. doi: 10.1111/aji.12042

Yoo JH, Kwak-Kim J, Han AR, Ahn H, Cha SH, Koong MK, Kang IS, Yang KM. Peripheral blood NK cell cytotoxicities are negatively correlated with CD8(+) T cells in fertile women but not in women with a history of recurrent pregnancy loss.

Am J Reprod Immunol. 2012 Jul;68(1):38-46. doi: 10.1111/j.1600-0897.2012.01133.x. Epub 2012

İmplantasyon bölgesinde özellikle desidua bazaliste Treg hücre oranlarının araştırıldığı bir çalışmada Ki67⁺ Treg hücrelerinin immün aracılı gebelik kaybına yol açabileceği vurgulanmıştır. (Characterization of regulatory T cells in decidua of miscarriage cases with abnormal or normal fetal chromosomal content.

Inada K, Shima T, Nakashima A, Aoki K, Ito M, Saito S. J Reprod Immunol. 2013 Mar;97(1):104-11. doi: 10.1016/j.jri.2012.12.00

Daha önceki çalışmalarda preeklampitik vakalarda da Treg hücre miktarında azalma olduğu (Sasaki et al., 2007) ve normal gebeliklerde de doğumdan hemen önce benzer şekilde azaldığı gösterilmiştir (Zhao et al., 2007).

NK hücreleri materno-fetal yüzdeki Th17 aracılı lokal inflamasyonu azaltan düzenleyici hücreler olarak görev yapar. CD56(parlak)CD27(+) NK alt grupları salgıladıkları IFN- γ ile buna neden olurlar.

Fu B, Li X, Sun R, Tong X, Ling B, Tian Z, Wei H. Natural killer cells promote immune tolerance by regulating inflammatory TH17 cells at the human maternal-fetal interface.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Jan 15;110(3):E231-40. doi: 10.1073/pnas.1206322110

Yapılan son çalışmalar anti-TNF α ve granülosit-koloni stimulan faktör (G-CSF) tedavisinin RSA'lı hastalarda canlı doğum olasılığını artırdığını desteklemektedir.

Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2013 Apr;61(2):159-164. Epub 2013 Jan 24.

Granulocyte-Colony Stimulating Factor as Treatment Option in Patients with Recurrent Miscarriage.

Santjohanser C, Knieper C, Franz C, Hirv K, Meri O, Schleyer M, Würfel W, Toth B.

Farklılaşan insan endometrial stromal hücreler (HESCs) IL-11 and IL-15 salgılayarak uterin NK toplanmasına ve farklılaşmasına yol açarlarkı bu hücreler güçlü anjiojenik etki oluşturlar.

Zhang J, Chen Z, Smith GN, Croy BA (2011) Natural killer cell-triggered vascular transformation: maternal care before birth? Cellular & molecular immunology 8: 1-11.

Desidual hücrelerin etrafı ise anahtar kemokinlerin genlerini susturarak fetusu sitotoksik T hücre saldırısından korur.

Nancy P, Tagliani E, Tay CS, Asp P, Levy DE, et al. (2012) Chemokine gene silencing in decidual stromal cells limits T cell access to the maternal-fetal interface. Science 336: 1317-1321

Solubl gp130'un menstüriyal siklusun proliferatif fazında yani 20-26.günler arasında 20 kat arttığı saptanmış yine luteinizasyonun 6. ve 12. günlerinde fertil kadınlarda yüksekten infertillerde düşüktür.

IL-11 desiduaaya özgül NK hücrelerinin olgunlaşması ve canlı bir gebelik için gereklidir.Özellikle implantasyonda görev alır.

IL-15 ise uNK hücrelerinin tip 2 sitokin üretiminde gereklidir. uNK hücreleri periferedekinin aksine sitolitik etkili hücrelere dönüşmez bu da materno fetal yüzdeki trofoblastları hasarlanmaktan korur özellikle ilk trimesterde desiduada saptanmıştır. IL-15 geni olmayan farelerde uNK gelişmediği spiral arterlerin olgunlaşmadığı saptanmıştır.

IL-1 trofoblastik ve desidual hücrelerden salınır. IL-1 endometriumda balastokist etkisinin ilk sinyalıdır ve prostaglandin E2, LIF, ve integrin $\beta 3$ altbiriminin üretimini arttı-

arak implantasyonda rol alır.

Guzeloglu-Kayisli O, Kayisli UA. Taylor SH, The Role of Growth Factors and Cytokines during Implantation: Endocrine and Paracrine Interactions Semin Reprod Med. 2009 January ; 27(1): 62-79. doi:10.1055/s-0028-1108011.

Th1-tip cevap proinflamatuvar sitokinleri uyardığı için endometriumun kabul şansını ve erken implantasyonu uyarırkenTh2 yanıt (IL-4, IL-5 and IL-10) regülatör ve antiinflamatuvar etkili sitokinlerle gebeliğin sürdürülmesine katkı sağlar. IL-33



SÖZEL BİLDİRİLER



BAĞIŞIKLAMA

S-001

Ref. No: 142

NÜKLEİK ASİT İÇEREN TLR LİGANTLARI İLE BİRLİKTE ANTİJEN YÜKLÜ NANO-LİPOZOMLARIN UZUN SÜRELİ ETKİLİ KANSER AŞISI OLARAK KULLANIMI**Banu Bayyurt¹, Gözde Güçlüler¹, Defne Bayık¹, Esin Alpdündar², Soner Yıldız², Mayda Gürsel², İhsan Gürsel¹**¹Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, THORLAB, Ankara
²ODTÜ, Biyoloji Bölümü, Ankara

AMAÇ: Nükleik asit içeren TLR ligantları anti-kanser, aşı adjuvanı ya da anti-allerjen olarak tasarlanıp klinik faz deneylerinde kullanıldığında nükleazlarca yıkımlarından ve serum proteinlerine bağlanarak vücuttan hızlı atılımlarından dolayı düşük performans göstermiştir. Bu faktörleri önlemek için lipozom içerisine yüklenecek immünohistimülasyon etkisini uzatmak mümkündür. Bu çalışmanın amacı farklı TLR ligantlarını ve antijeni lipozomların içerisine aynı anda yükleyerek uzun süreli ve etkili bir bağışıklık sağlamak ve uzun süreli bir anti-kanser bağışıklığı oluşturmaktır.

YÖNTEM-GEREÇLER: Serbest veya yüklü pI:C ve/veya CpGODN (TLR3 ve TLR9 ligandı) ile ovalbümün (OVA) antijeni, C57/BL6 farelere iki kez karın içi yolla enjekte edildi (1. ve 14. günlerde). Farelerin kuyruğundan sekiz ay boyunca her ay kan alındı. OVA'ya özgü IgG antikor tiplerinin miktarları toplanan serumlardan ELISA yöntemiyle saptandı. Bir sonraki aşamada, hayvanlara OVA ifade eden EG7 timoma hücreleri (4x10⁶ hücre/ hayvan) farelerin sırt bölgelerine subkutan enjeksiyonla yerleştirildi. Hayvanlarda oluşan tümörlerin boyutları gün aşırı ölçümlerle mm³ olarak belirlendi. Bu hayvanlardan çıkarılan dalak hücreleri CD8 spesifik T-hücre tepkisini belirlemek için bir MHC-I tipi OVA epitobu olan SIINFEKL peptidiyle inkübe edilerek IFN-γ üretim miktarları ELISPOT yöntemiyle belirlendi.

BULGULAR: En yüksek Th1 tipinde bağışıklık CpG+OVA veya CpG+pI:C+OVA gruplarında gözlemlendi. Sadece salin enjekte edilen kontrol gruplarında, EG7 hücreleri farelere verildikten 4-5 gün sonra ele gelen tümörler oluşmuşken, OVA antijeniyle birlikte pI:C veya D35 veya kombinasyonları yüklü olan lipozomlarla aşılanmış farelerde tümör gelişimi hücre enjeksiyonundan üç hafta sonra bile gözlemlenmedi. ELISPOT yöntemiyle CpG+OVA ve pI:C+CpG+OVA ile aşılanmış hayvanlardan elde edilen dalak hücrelerinde IFN-γ spotlarının sayılarının diğer gruplara göre 5-6 kat daha fazla olduğu belirlendi.

SONUÇLAR: Uygun TLR ligandı ile antijenin verimli bir şekilde nanolipozomlara hapsedilerek hazırlanan kanser aşısına uygun formülasyonlarla tümöre özgü oluşan sitotoksitenin aşılama- dan 8 ay sonra bile etkisini koruyarak tümör oluşumunu önlediği gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, antijen ile birlikte ssDNA ve dsRNA TLR ligantları yüklü lipozomlar gelecek vaat eden anti-kanser aşı formülasyonları klinikte kullanım potansiyeline sahip formülasyonlardır.

Anahtar Kelimeler: TLR Ligandları, Lipozom, Anti-kanser aşısı

TEMEL İMMÜNOLOJİ

S-002

Ref. No: 129

POLISAKKARİT-TLR LİGAND NANOKOMPLEKSLERİNİN İMMÜNÖTERAPÖTİK UYGULAMALARI**Gizem Tinçer¹, Cevayir Coban², Ken J. Ishii³, İhsan Gürsel¹**¹Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, THORLAB, Ankara,²Laboratory of Malaria Immunology, WPI Immunology Frontier Research Center, Osaka University, Suita, Osaka, Japonya³Laboratory of Adjuvant Innovation, National Institute of Biomedical Innovation, Japonya

AMAÇ: Doğal polisakkaritlerin (PS) immün stimulan etkilerinin araştırılmasının yanı sıra, PS ile nükleik asit temelli TLR agonistleri nanokompleksleştirilerek influenza aşı adjuvanı veya antikanser ajan olarak kullanımını belirlemek.

YÖNTEM: Farklı mantarlardan izole edilmiş olan β-glukan polisakkaritlerin immün sistemi uyarım mekanizmaları, çeşitli immün-spesifik genlerden yoksun (knock-out, k/o) veya yabancı ırk farelerden elde edilmiş immün hücrelerinden salınan sitokin miktarlarıyla belirlenmiştir. Ardından immüstimulan etkisi en güçlü PS, pIC (TLR3), R848 (TLR7) ve CpG ODN (TLR9) ligandlarıyla (TLRL), tek, çift, ve üçlü kombinasyonlarla nanokompleks haline getirilmiştir ve doza bağlı olarak immün yanıtları belirlenmiştir. Ayrıca nanokompleks formülasyonları (PS-pIC/R848/CpG ODN)) influenza A virüsüyle (Split virüs aşısı, SV) aşı adjuvanı olarak farelerde test edilmiştir. PS/TLRL formülasyonlarının anti-kanser etkileri de farelerde oluşturulan EG.7 timoma modeliyle araştırılmıştır.

BULGULAR: Dört değişik doğal PS tipinin ortaya çıkardığı immün yanıtlardan, PS4'ün, düşük dozlarda bile diğer üç PS tipine göre daha etkin davranmıştır. PS'in, TLR2 reseptörüyle direkt olarak etkileşime girdiği ve sitozola ulaştığında inflamazom aktivasyonunu başlattığı gösterilmiştir. PS, Dektin-1, TLR4 gibi sensörler tarafından tanınmamaktadır. PS4'ün ayrıca *ex vivo* da sitokin salımlarıyla en aktif davranan polisakkarit olduğu gösterilmiştir. Bu sebeple immüstimulan etkisi en güçlü olarak çalışmanın sonraki evrelerinde kullanılmak üzere PS4 seçilmiştir. Kompleks yapısındaki ligandlar DNaz atağından PS sayesinde %80'den fazla korunmuştur. Daha sonra PS4, nükleik asit bazı TLR ligandlarıyla, nanokompleks haline getirilmiştir. PS veya TLR agonistleri düşük dozlarda immün stimulan etkilerini kaybederken, nanokompleksler *in vitro* ve *in vivo* koşullarda etkin sitokin üretimine neden olmuştur. Nanokompleksler, aşı adjuvanı olarak, SV ile birlikte, farelere intranasal ve intradermal yollarla verilmiştir. Nanokompleksler anti-influenza antikor (Total IgG, Ig2c, IgA) üretimini artırmıştır. Ayrıca, farelerde EG.7 timoma modelinde, özellikle ikili/üçlü PS nanokompleks formülasyonları tümör büyümesini etkin bir biçimde geriletmiştir.

SONUÇ: Kendi başlarına bağışıklık sistemini uyarabilen, kolay elde edilebilen, amfifilik yapıdaki polisakkaritlerin, kararsız yapıdaki TLR agonistleriyle oluşturdukları nanokompleksler, gerek bulaşıcı hastalıklarda gerek kanserde etkin bir tedavi edici ajan olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptirler.

Anahtar Kelimeler: Doğal bağışıklık, polisakkarit, nanokompleks, ilaç salım sistemi, TLR, CpG ODN, kanser immünöterapi, aşı, adjuvan

MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN DENTRİTİK HÜCRE İMMÜNMODÜLASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**İsmail Ögölür¹, Gülben Gürhan¹, Ayça Aksoy², Gökhan Duruksu², Deniz Filinte³, Işıl Barlan¹, Erdal Karaöz², Tunç Akkoç¹**¹Marmara Üniversitesi, Pediatrik Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul²Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre Merkezi, Kocaeli³Marmara Üniversitesi, Patoloji AD, İstanbul

AMAÇ: Son yıllarda, mezenkimal kök hücrelerin (MKH) akut ve kronik hastalıklarda rejeneratif ajanlar olarak potansiyel kullanımı dikkat çekmektedir. Yapılan deneysel çalışmalar bu hücrelerin immün hücreler üzerinde immünmodülatör etkilerinin olduğunu ve monositten farklılaştırılmış dentritik hücre fonksiyonlarını baskıladıklarını göstermektedir. Bu çalışmada, BALB/c ırkından izole edilmiş olan fare kemik iliği kökenli (fKI) mezenkimal kök hücrelerin, aynı ırktan fare kemik iliği kökenli dentritik hücre (fKI-DH) farklılaşması üzerine etkisinin *in vitro* ortamda belirlenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: BALB/c farelerden KI-MKH'ler elde edildi ve karakterizasyonları yapıldı. Farelere 0. ve 7. günlerde intraperitoneal yol ile 10ug OVA uygulandı ve 14. gün itibariyle 7 gün %1 OVA nebulize yolla verilerek akut astım modeli oluşturuldu. Astım modeli oluşturulmuş ve sağlıklı farelerden GM-CSF ve IL-4 kullanılarak KI-DH'ler izole edildi. KI-DH'ler OVA proteini ile yüklenerek 2 gün süre ile 37°C inkübatörde kültüre edildi. Aynı zamanda astım modeli oluşturulmuş farelerin akciğerlerinden lenfosit hücre izolasyonu yapılarak CFSE ile işaretlendi. OVA ile yüklenmiş DH ve akciğer lenfosit hücreleri MKH bulunan ve bulunmayan uygun koşullarda 3 gün boyunca kültüre edildi ve akım sitometrik analizleri yapıldı.

BULGULAR: OVA proteini uygulanan farelerde akut astım modelinin geliştirilmiş olması, PAS ile boyanmış akciğer kesitlerinde hiperplazik goblet hücre sayısının distal ve proksimal havayollarında anlamlı derecede ($p < 0.05$) artması ve mikroskopik görüntülere göre belirlendi. Akut astım modeli geliştirilmiş fareden elde edilen KI-DH'lerin (CD11b⁺/CD11c⁺ %64, CD11c⁺/B220- %53) aynı şartlarda sağlıklı kontrol fareden elde edilene (CD11b⁺/CD11c⁺ %57, CD11c⁺/B220- %49) göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Hücre kültürlerinin 3. gününde OVA ile yüklenmiş astım modeli fare DH'leri ile kültüre edilen OVA astım modeli akciğer lenfosit hücrelerinin proliferasyonu, MKH bulunan ortamda (%8.9) bulunmayan ortama (%10.3) göre azaldı.

SONUÇ: Yapılan akım sitometrik analizlere göre, MKH'lerin aynı ırktan elde edilen DH'lerin fonksiyonlarını baskılayarak, aynı zamanda OVA astım modeli farelerden elde edilen akciğer lenfosit hücrelerin proliferasyonunu da engellediği gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Akut astım modeli, Dentritik hücre, Histopatoloji, Mezenkimal kök hücre

MİKROVASKÜLER ENDOTEL HÜCRELERİN TOLL-BENZERİ RESEPTÖR 3 LİGANDIYLA UYARIMI, ANTİ-ENDOTEL SİTOTOKSİK İMMÜN YANITLARI BASKILAR**S Altuğ Kesikli¹, Guenther Eissner², Emin Kansu¹, Ernst Holler³**¹Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji AD, Ankara,²Herzchirurgische Klinik der Universität München, Münih, Almanya³Abteilung für Haematologie und internistische Onkologie, Universitätsklinikum Regensburg, Regensburg, Almanya

AMAÇ: Çeşitli insan tümör hücre hatlarında ve kanser dokularında varlığı gösterilmiş, farklı kanserlerde bir tümör aşısı adjuvanı olarak denenilen TLR3'ün uyarılmasının, deneysel tümör modellerinde

rinde tümör mikroçevresine bağlı olarak tümör gelişimini destekleyebildiği veya engelleyebildiği bildirilmiştir. TLR3 uyarımının, tümör mikroçevresindeki mikrovasküler endotele karşı gelişen immün yanıtlar üzerindeki etkileri hakkında bilgimiz ise sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı, TLR3 uyarımının anti-endotel sitotoksik immün yanıtlara olan etkilerini, bir *in vitro* endotel hücre modeli kullanarak incelemektir.

GEREÇ-YÖNTEM: TLR3 ve membran CD54, CD106, HLA-I, NKG2D, MICA ve MICB (MHC class I polypeptide-related sequence A/B) moleküllerinin ekspresyonu akım sitometri kullanılarak, *in vitro* endotel hücre kültürlerinde ve postkapiller venüler koşulları simüle eden akım altında belirlenmiştir. 24 saatlik TLR3 ligandı polyI:C uyarımı sonrasında, kültür süpernatantlarında MICA ve MICB düzeyleri ELISA ile değerlendirilmiştir. Allojenik anti-endotel sitotoksik yanıtlar, endotel hücreleriyle CD8⁺ T hücrelerinin 7 gün kokültürü sonrasında, standart 4 saatlik 51Cr salınımı testiyle değerlendirilmiştir.

BULGULAR: Primer endotel hücrelerin ve endotel hücre hatlarının yapısal olarak TLR3 eksprese ettikleri görülmüştür. PolyI:C ile uyarılmış endotel hücrelerinin CD54, CD106 ve HLA-I ekspresyonları artmıştır. PolyI:C ile uyarılmış endotel hücreleriyle 7 günlük ko-kültür sonunda gelişen allo-sitotoksik CD8⁺T hücre yanıtlarının, uyarılmamış endotele karşı gelişen yanıtlara göre anlamlı derecede azaldığı bulunmuştur. 24 saat polyI:C ile uyarılan endotel hücreler hedef olarak kullanıldığında, allo-sitotoksik yanıtların anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Endotel hücrelerin yalnızca MICB moleküllerini eksprese ettikleri, polyI:C uyarımının endotelal MICB ekspresyonunu azalttığı ve polyI:C uyarımı sonrasında kültür süpernatantlarında MICB miktarının arttığı gösterilmiştir. MICB moleküllerinin antikorlarla blokajı, PolyI:C ile uyarıma benzer şekilde allo-sitotoksikiteyi azaltmıştır. 7 günlük ko-kültür sonunda CD8⁺T hücrelerinin, MICA ve MICB ligandlarının reseptörü olan NKG2D reseptörlerini eksprese ettikleri belirlenmiştir.

SONUÇLAR: PolyI:C'nin, endotel hücre aktivasyonu sağlayabilmesi ve aynı anda, olasılıkla MICB moleküllerinin endotelal yüzeylerde ekspresyonunu azaltarak, sitotoksik yanıtları baskılayabilmesi, TLR uyarımının birbirinden farklı ve çok yönlü etkilerinin olabileceğini aklaya getirmektedir. Adjuvan TLR3 ligand uygulamasının tümör mikroçevresi üzerine etkileri ayrıntılı olarak belirlenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Allo-sitotoksikite, MICB, mikrovasküler endotel, toll-benzeri reseptör 3, tümör mikroçevresi, PolyI:C.

İTERLÖKİN-33 ÜN J774.1 MAKROFAJ HÜCRE HATTINDA CCL22 VE İP-10 KEMOKİNLERİNİN ÜRETİMLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**Handan Aksoy, Vedat Bulut**

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, Ankara

Bu çalışma makrofaj hücre serisi J774.1'de CCL22 ve IP-10 kemokinleri ve makrofaj plastisitesi üzerine IL-33'ün etkisini araştırmayı hedeflemiştir. İnterlökin-33 (IL-33) IL-1 ailesinin üyesi olup, bu ailenin üyelerinden IL-1 ve IL-18 Tip I immün cevap yönünde immün sistem düzenleyicisiyken, IL-33'ün Tip II cevap yönünde Th2 kutuplaşmasına yol açtığı rapor edilmektedir. IP-10 kemokini mikrobisidal etkisi baskın Tip I makrofajların, CCL22 kemokini ise anjiyogenezis ve doku tamiri işlevleri baskınlaşan Tip II (2a) makrofajların göstergeleri olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, hücreler 24 saat öncesinde interferon (IFN)- γ ve lipopolisakkarit (LPS), mrlL-4 ve mrlL-13 veya mrlL-10 ile muamele edildi. Uyarımlı ve uyarımsız J774.1 hücre kültürlerine IL-33 eklenerek, ELISA yöntemiyle CCL22 ve IP-10 kemokin düzeyleri, Griess tepkimesiyle de NO üretimleri ölçüldü. Uyarımsız kontrol grubunda CCL22 düzeyi 68,6 $\pm$ 5 pg/ml, İP-10

düzeyi 1575+241 pg/ml olarak bulundu. IFN- γ ve düşük doz LPS uyarımı aldıktan 24 saat sonra IL-33 ile muamele edilen hücre grubunda CCL22 düzeyi 659,9+39 pg/ml, IP-10 düzeyi 3688+197 pg/ml bulunurken, IL-33 almamış grupta CCL22 düzeyi 567+6,5 pg/ml, IP-10 düzeyi 2107+38 pg/ml tespit edildi. Bu bulgularla daha önceden IFN- γ ve düşük doz LPS almış hücrelerde CCL22 düzeyleri değişmezken, IP-10 düzeyleri istatistiki anlamlı olarak yükselmiştir ($p<0,05$). IL-4 ve IL-13 ile bir gün muamele edilen hücrelere IL-33 eklendiğinde CCL22 üretimi 575+51 pg/ml, IP-10 üretimi 2378+135 pg/ml, IL-33 almayan grupta ise CCL22 düzeyi 31+5 pg/ml, IP-10 düzeyi ise 1525+147 pg/ml ($p<0,05$) olarak bulundu. IL-10 ile bir gece muamele edilen ve IL-33 eklenen makrofajlarda CCL22 düzeyi 5,8+5 pg/ml, IP-10 düzeyi 1931+121 pg/ml, eklenmeyen grupta ise CCL22 düzeyi 43+4 pg/ml, IP-10 düzeyi 1165+65 pg/ml olarak bulundu ($p<0,05$).

Bu verilerle IL-33 M1 tipine yönlendirilen makrofajlarda IP-10 düzeylerini yükseltmekte ve böylece M1 etkinliğini güçlendirmektedir. M2a yönünde uyarımlı hücrelerde ise her iki kemokinin düzeyini artırmaktadır. M2b yönünde uyarımlı makrofajlarda ise CCL22 kemokini azaltmakta, IP-10 düzeyini artırmaktadır. NO ölçümleri de sonuçlarımızı desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: İntelökin-33, IP10, CCL22, Nitrik oksit, Makrofaj

S-006

Ref. No: 58

TNF- α İLE İNDÜKLENEN PAI-1 mRNA EKSPRESYONU VE SERUM SEVİYESİNİN METABOLİK SENDROM ÜZERİNE ETKİSİ

Sema Bilgiç Gazioğlu¹, Gökçe Akan², Fatmahan Atalar³, Selçuk Görmez⁴, Barış Çaynak⁵, Volkan Sözer⁶, Günnur Deniz¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji AD, İstanbul

²İstanbul Bilim Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Çocuk Endokrinoloji Bilim Dalı, İstanbul

⁴Acıbadem Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Departmanı, İstanbul

⁵İstanbul Bilim Üniversitesi, Kalp ve Damar Cerrahisi AD, İstanbul

⁶Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyokimya AD, İstanbul

Metabolik sendrom (MetS), başta gelişmiş ülkeler olmak üzere dünyada giderek daha fazla insanı etkileyen ölümcül enflamatuvar bir hastalık olmaktadır. Tümör Nekrozis Faktör (TNF- α) gibi enflamatuvar sitokinlerin uyarımı sonucunda endotel ve yağ dokusu hücrelerinden salgılanan Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) ateroskleroz gelişimine neden olarak MetS patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Çalışmalar yağ dokusunda yüksek PAI-1 ekspresyonunun plazma seviyelerinde de yükselme ile paralellik gösterdiği yönündedir. Çalışmamızda epikardiyal (EAT), mediastinal (MAT) ve subkutan (SAT) yağ dokularında PAI-1 ve TNF- α gen ekspresyonları ile PAI-1 ve TNF- α serum seviyelerinin MetS ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya, 37 MetS'lu (60.6 ± 8.9) ve 20 obez olup ($BMI \geq 27 \text{ kg/m}^2$) MetS gözlenmeyen (54.85 ± 7.3) toplam 57 vaka dahil edilmiştir. Kalp operasyonu sırasında alınan yağ dokusu ve serum örneklerinde PAI-1 ve TNF- α serum seviyeleri ELISA yöntemi ile, EAT, MAT ve SAT dokularında PAI-1 ve TNF- α gen ekspresyon seviyeleri QRT-PCR yöntemiyle çalışılmıştır.

MetS'lu hastaların epikardiyal, mediastinal ve subkutan yağ dokularında TNF- α gen ekspresyonu ve serum seviyeleri MetS gözlenmeyen gruba göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$). Mediastinal yağ dokusunda PAI-1 gen ekspresyonu ve serum seviyeleri MetS gözlenen hastalarda MetS gözlenmeyen gruba göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır ($p<0.05$). Yüksek TNF- α serum seviyeleri MetS'lu hastaların mediastinal yağ dokusunda PAI-1 gen ekspresyon artışına sebep olurken, PAI-1 serum seviyesindeki artış ise medias-

tinal yağ dokusunda TNF- α gen ekspresyonunun artışına sebep olmaktadır (sırasıyla; $r=0.026$, $r=0.007$).

Sonuçlarımız, mediastinal yağ dokusunda TNF- α artışına bağlı olarak indüklenen PAI-1 artışının ateroskleroza neden olarak MetS'lu hastalarda ciddi kardiyolojik problemlere sebep olabileceğini ve MetS'un ölümcül enflamatuvar bir hastalık olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Metabolik Sendrom, PAI-1, TNF- α ,

ENFEKSİYON İMMÜNOLOJİSİ

S-007

Ref. No: 156

REGULATION OF A20 GENE EXPRESSION BY MIRNA IN ENDOTHELIAL CELLS EXPOSED TO HIGH CONCENTRATION OF GLUCOSE

İrem Esendemir, Jürgen Wittmann, N. Dilek Tiyekli, Hans Martin Jäck, Nese Akis

Division of Molecular Immunology, Friedrich-Alexander University Erlangen Nürnberg, Erlangen, Germany

It is well known that apoptosis is induced *in vitro* in endothelial cells that were exposed to glucose levels similar to that found in blood of diabetic patients. In addition, the A20 gene was described as an anti-apoptotic endothelial protective gene. In this study, we investigated if microRNAs could modulate expression of the A20 gene in endothelial cells.

METHODS: The presence of the A20 gene and the intactness of its 3'UTR region in endothelial cells were assessed by PCR and sequencing analysis, respectively. HEK293 cells were co-transfected with expression vectors encoding for miRNAs predicted *in silico* to target the A20 mRNA and a dual luciferase vector containing the wild 3'UTR region of A20 fused to the Renilla luciferase open reading frame.

RESULTS: The A20 gene and its 3'UTR region were present in the endothelial cells. SNP at positions 1555 (T→G), 1561 (T→C), and 1676 (T→C) were detected within the 3'UTR region. Amplification of the 3'UTR of A20 using proofreading polymerases turned out to be very inefficient, which could be due to a unusual folding pattern of the A20 3'UTR region as identified by molecular modeling. In silico analysis revealed a set of 24 miRNAs targeting the A20 3'UTR. Current works aim to reveal miRNAs which modulate A20 levels in endothelial cells responding to high glucose levels, and antagomirs or chemically synthesized miRNAs against A20 could be a feasible pharmaceutical approach to dampen the effect of high glucose levels.

Anahtar Kelimeler: A20, endotel, miRNA,

S-008

Ref. No: 13

HEPATİT B VİRÜS E ANTİJENİNİN DENTRİTİK HÜCRELERİN FARKLI LAŞMASINA OLAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

İbrahim Hatipoğlu, Duygu Ercan, Aynur Başalp, Deniz Durali, Ahmet Tarık Baykal

TÜBİTAK MAM Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Kocaeli

AMAÇ: Hepatit B virüs (HBV) enfeksiyonu dünya genelinde ciddi bir sağlık sorundur. HBV enfeksiyonu ve onunla bağlantılı hastalıklardan dolayı her yıl ortalama 1 milyon kişi ölmektedir. Kronik hepatitlilerde, akut HBV enfeksiyonlarında görülen aksine, viral enfeksiyonu organizmadan temizleyecek etkinliğe sahip bir immün cevap gözlenmemektedir. İmmün yanıtın tetiklenmesinde ve şekillenmesinde kilit rol alan dentritik hücre (DC)'lerin kronik

hepatit B hastalarında sitotoksik T hücrelerini uyarma kapasitelerinde ve sitokin sentezleme özelliklerinde bozukluk olduğu tespit edilmiştir. HBV'nin DC'ler üzerine etki mekanizmalarının aydınlatılması enfeksiyon ile mücadelede önemlidir. Bu çalışmada Hepatit B virüs e antijeninin (HBeAg) DC'lerin farklılaşmasına olan etkisi incelenmiştir.

YÖNTEM-GEREÇLER: Hibrit (C57BL/6J×BALB/c) fare kemik iliği hücreleri *in vitro* ortamda 20 ng/ml GM-CSF ve 200 U/ml IL-4 içeren RPMI 1640 besiyerinde 6 gün inkübe edilerek DC'ye farklılaştırıldı. Besiyerlerine gruplara uygun olarak farklı konsantrasyonlarda HBeAg (5 µg/ml, 0.5 µg/ml, 0.05 µg/ml) ile ilave edildi. Kontrol grubu olarak HBeAg ile muamele edilmeyen grup ve 5 µg/ml OVA içeren gruplar kullanıldı. Altıncı günün sonunda hücrelerin DC farklılaşması CD11c pozitifliği akım sitometri analizi ile yapıldı. Ek olarak 5 µg/ml HBeAg ile muamele edilmiş grup ve HBeAg ile muamele edilmeyen kontrol grubun hücreleri pellet haline getirilerek amonyum bikarbonat ile yıkandıktan sonra FASP kiti kullanılarak peptitlere ayrıldı ve LC-MS/MS cihazı ile proteom analiz yapıldı.

BULGULAR: Elde edilen sonuçlarda genel CD11c pozitif olan hücrelerin yüzdesi HBeAg'nin artması ile istatistiksel olarak azaldığı tespit edildi. Yapılan proteom analizi sonucunda ise 461 protein tanımlandı. Bu proteinlerden 64 tanesinin sentezlerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler olduğu belirlendi ve 14 farklı biyolojik proseste rol aldıkları tespit edildi. İmmünolojik proses'te yer alan proteinlerin sentezindeki değişimler incelendiğinde HBeAg'nin DC farklılaşmasındaki etkisi belirlendi.

SONUÇLAR: Bu çalışma sonucunda HBeAg'nin varlığının DC farklılaşması üzerine negatif etkisi olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dentritik hücre, Hepatit B virüsü, HBeAg, İmmün tolerans

NÖROİMMÜNOLOJİ

S-009

Ref. No: 21

NÖROENFLAMMASYONA BAĞLI REJENERATİF NEUROJENEZ MEKANİZMALARI VE MERKEZİ SİNİR SİSTEMİ REJENERASYONU

Çağhan Kızıl¹, Nikos Kyritsis¹, Volker Kroehne¹, Stefanie Dudczig¹, Jan Kaslin², Michael Brand¹

¹Center for Regenerative Therapies Dresden (CRTD), Cluster of Excellence, Dresden University of Technology, Dresden, Germany

²Australian Regenerative Medicine Institute, Monash University, Clayton, Victoria, Australia

Erişkin omurgalılarıdaki kök hücrelerin plastisitesi, balıklardan memelilere doğru azalma eğilimi göstermektedir. Örneğin zebra balığındaki kök hücre aktivitesi doku rejenerasyonuna yol açarken, memelilerde bu tip bir özellik görülmemektedir. Bu farkın altında yatan sebeplerden biri kök hücrelerin yaralanmalardan sonra aktive ettikleri moleküler mekanizmaların işleyişi olabilir. Dolayısıyla, erişkin kök hücrelerin plastisitelerinin moleküler kontrol mekanizmalarını anlamak, rejeneratif terapi ve uygulamalı tıp alanında yeni yollar açacaktır.

Ergin zebra balığı, memelilerin aksine, merkezi sinir sisteminde rejeneratif kapasiteye sahiptir. Bu durum, yetişkin balık beyindeki radyal glia hücrelerinin kök hücre özelliği sayesinde gerçekleşmektedir. Ancak bu rejeneratif kapasitenin altında yatan moleküler mekanizmalar bilinmemektedir. Yaptığımız çalışmalar sonucunda, balığın beyin rejenerasyonu sırasında aktive ettiği bir moleküler mekanizmayı açığa çıkarttık. Bu çalışmalara göre, beyindeki nöral kök hücreler, travmatik bir yaralanmadan sonra enflamasyon mekanizmalarını aktive etmekte, bu mekanizmalar akabinde hücre bölünmesi ve nörojenez kontrol eden çeşit-

li transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu sağlamakta, ve böylece radyal glia hücreleri rejeneratif nörojenez özelliğini kazanmaktalar. Bu mekanizmaların memelilerde aktif olmadığını ve balığın rejeneratif kapasitesine spesifik olduğunu da ortaya çıkarttığımız çalışmalarımız sonucunda merkezi sinir sisteminin rejenerasyonu için gereken ve gelişim mekanizmalarından farklı olan özel sinyal iletim yolları bulmuş bulunmaktayız. Bu sinyal mekanizmalarını normalde rejenerasyon kapasitesi olmayan memeli kök hücrelerinde aktive ettiğimizde ise, bu kök hücrelerin yaralanmalardan sonra nöron yapmaya başladığını gözlemledik. Bu bulgular, memelilerde rejeneratif kapasitenin açığa çıkartılması açısından önem arz etmektedir. Tüm bu çalışmaların sonucunda, omurgalılara özgü spesifik bir rejenerasyon sinyal iletim mekanizması bulmuş bulunmaktayız. Bu çalışmaların önemli bir noktası da, memelilerde nöron yenilenmesini negatif etkileyen akut enflamasyonun, zebra balığındaki etkisinin rejenerasyonu tetikleyici olmasıdır. Bu bulgular, nöroenflamasyonun modüle edilmesi ile memelilerde de rejenerasyon mekanizmalarının başlatılabileceği umudunu doğurmaktadır.

Referanslar:

Kizil ve Brand, 2011, PLoS ONE

Kizil et al., 2012, Dev Neurobiol

Kizil et al., 2012, Neural Dev

Kizil et al., Dev Cell

Kyristis, Kizil et al., Science

Kizil et al., JoVE, 2013

Anahtar Kelimeler: zebra balığı, rejenerasyon, enflamasyon, nöron, merkezi sinir sistemi

ROMATOİMMÜNOLOJİ

S-010

Ref. No: 54

BEHÇET HASTALARINDA BTLA GEN POLİMORFİZMİNİN TANIMLANMASI

Yasin Çetin¹, Fulya İlhan¹, Deniz Erol², Demet Çiçek³, Süleyman Serdar Koca⁴, Ahmet Gödekmerdan⁵, Yelda Karıncaoğlu⁶, Sevim Karakaş⁷, Murat Kara⁸, Fatma Başkaya Doğan³

¹Firat Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, Elazığ

²Firat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Genetik AD, Elazığ

³Firat Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD, Elazığ

⁴Firat Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji AD, Elazığ

⁵Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, Ankara

⁶İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD, Malatya

⁷Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Genetik AD, Zonguldak

⁸Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, Muğla

BTLA son yıllarda tanımlanan Ig süper ailesi üyelerinden birisidir. BTLA, CD4+ lenfositlerin aktivasyonunu ve IL-2 üretimini baskılar. Bu moleküller sekonder lenfoid organlardan çok periferde T hücre aktivasyonunu ve otoreaktif T hücreyi baskılamakta temel rol oynar. Özellikle enflamasyon bölgesinde, B7-1 ve B7-2 taşıyan aktive T hücrelerin olduğu bölgelerde CTLA-4 bağlantısı yoksa temel rol oynar. BTLA geni olmayan farelerin inflamatuvar hastalıklara daha duyarlı oldukları belirtilmiştir. Behçet hastalığı kronik inflamatuvar bir hastalıktır ve T hücre uyarımı ile yakından ilgilidir. Sonuç olarak, BTLA yolağı Behçet gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda kritik rol alabilir. Bu çalışmada Behçet hastalarında BTLA geni rs1844089 ve rs9288952 gen polimorfizmleri arasındaki ilişki incelenmiştir.

Çalışmada Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)-Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi kullanılarak 108 Behçet hastası ve 108 sağlıklı bireyde, BTLA geni rs1844089 C>T ve rs9288952 C>T polimorfizmleri çalışılmıştır.

rs1844089 genotip dağılımları hasta grubunda CC: %60,2, CT: %35,2, TT: %4,6, kontrol grubunda ise CC: %67,6, CT: %31,5, TT: %0,9 olarak bulunmuştur. rs9288952 polimorfizmi için genotip dağılımları hasta grubunda TT: %69,4, CT: %26,9, CC: %3,7, kontrol grubunda ise TT: %80,6, CT: %17,6, CC: %1,9 olarak bulunmuştur. Her iki genotip ve allel frekansları açısından hasta grubuyla kontrol grubu arasında istatistiksel fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). Ancak bu iki polimorfizm için haplotip analizi yapıldığında gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur. Aynı anda rs1844089 polimorfizmi için T, rs9288952 polimorfizmi için C alelini taşımak hastalık riskini 4.6 kat arttırmaktadır ($p = 0.006$).

Çalışmamızın sonucunda elde edilen veriler bu iki polimorfizmin direkt olarak Behçet hastalığıyla ilişkili olmadığını düşündürmekle birlikte TC haplotipinin bir risk oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu haplotipin Behçet hastalığının otoinflamatuvar patogenezindeki risk oranı veya rolünün ortaya konulması için çalışma daha büyük bir hasta popülasyonu ile yapılarak desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı, BTLA, Polimorfizm

TÜMÖR İMMÜMOLOJİSİ

S-011

Ref. No: 55

NMU ARACILI MEME KANSERİ MODELİNDE MYELOİD KÖKENLİ BASKILAYICI HÜCRELERİN TANIMLANMASI

Yusuf Dölen, Gürçan Günaydın, Güneş Esendağlı, Dicle Güç

Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji AD, Ankara

AMAÇ: Kimyasal aracılı oluşturulan sıçan meme kanseri modelinde farklı immün kompartmanlardaki myeloid kökenli baskılayıcı hücrelerin (MDSC) tespiti ile fonksiyonel alt-tiplerini tanımlayan yeni belirteçlerin gösterilmesi.

YÖNTEM: Dişi Sprague-Dawley sıçanlara haftalık 50mg/kg N-Methyl N-Nitrosourea (NMU) 4 hafta enjeksiyon yapılarak tümör gelişimi izlenmiştir. Sakrifikasyonun ardından dalak, kemik iliği ve periferik kandan hücre izolasyonları gerçekleştirilmiştir. İmmünotipendirme amacı ile anti-rat CD11b/c, HIS48, CD172a, RP-1 ve RT1-B (MHC-II) antikorları kullanılmıştır. Antijen spesifik T hücre gelişimi için ayak tabanı ve intraperitoneal CFA-conalbumin enjeksiyonu yapılan sağlıklı hayvanların dalak ve popliteal lenf nodlarından hücre izolasyonları gerçekleştirilmiştir. CFSE ile işaretlenen hücrelerin 96 kuyulu plaklarda, tümörlü hayvanlardan izole edilmiş splenositler ile 25µg/ml conalbumin varlığı ve yokluğunda ko-kültürleri yapılmıştır. FACS ARIA II aracılığıyla veri kaydı, Kaluza yazılımı aracılığıyla da veri analizleri gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizlerde, Mann Whitney U ve student's T testleri kullanılmıştır.

SONUÇLAR: Fenotipik analiz sonuçlarına göre tümörlü hayvan dalaklarında artan nötrofil oranları ve düşen MHCII pozitifliği gibi farklılıklar bu dokuya öncelik verilmesine neden olmuştur. Tümörlü hayvan splenositleri (tmSPL) ve conalbumin spesifik splenositler ile yapılan kokültürlerde tmSPL oranı arttıkça proliferasyon oranlarında düşüş görülmektedir (1/1 oranında proliferasyonda %30 düşüş; $p < 0.05$). Dansite gradientine göre iki ayrı faza ayrılan tmSPL ile yapılan proliferasyon testleri sonucunda ise bu baskılamadan büyük oranda granülositik hücrelerin sorumlu olduğu tespit edilmiştir.

TARTIŞMA: Çalışmamızda bir nötrofil belirteci olarak bilinen Rp-1 pozitif hücrelerin, dalaktaki birikimleri, MHCII negatif fenotipleri ile proliferasyonu baskılama kapasiteleri; farklı hayvan modellerinde farklı antikorlar ile tanımlanmış granülositik MDSC'lerin karakterleri ile örtüşmektedir. Bu nedenle RP-1 sıçan kanserlerinde MDSC'leri tanımlayan yeni bir belirteç olabilir. Besiyerindeki conalbumin'in büyük kısmı MHC II yolu ile sunulmaktadır. Dolayısıyla MHC I yolunu tercih ettiği bilinen MDSC'lerin baskılama po-

tansiyelleri sürmekte olan hücre içi antijen transferi uygulaması sonrasında tespit edilebilecektir. Ek olarak farklı belirteçlere göre ayrımlanacak hücrelerin ROS, fagositoz ve ELISA analizleri ile fonksiyonel özellikleri belirlenerek potansiyel MDSC alttıplerinin daha detaylı fenotiplendirilmesi ve baskılamada kullandıkları mekanizmalar gösterilmiş olacaktır.

Anahtar Kelimeler: NMU, MDSC, Meme kanseri, rat, Rp-1

S-012

Ref. No: 37

MEME KANSERİ HÜCRELERİNİN MYELOİD HÜCRE FARKLIlaşMASI ÜZERİNE ETKİSİ

Gürçan Tunalı, Güneş Esendağlı

Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji AD, Ankara

GENEL BİLGİ ve AMAÇ: Meme kanseri hem hücresel hem de moleküler düzeyde heterojenlik gösteren bir kanser türüdür. Tümör mikroçevresi meme kanseri gelişiminde önemli rol oynar ve immün hücrelerde fenotipik - fonksiyonel değişikliklere yol açar. Miyeloid-kökenli hücreler stromanın önemli bir bileşenidir. Tümörden kaynaklanan faktörler miyeloid hücre farklılaşmasını etkiler. Bu çalışmada, meme kanserinin lüminal ve bazal-benzeri moleküler sınıflarına dahil tümör hücre hatlarının miyeloid farklılaşma üzerindeki etkisi incelenmiştir.

YÖNTEM: AML hücre hatları (HL-60, KG-1, U937 ve THP-1) *in vitro* immatür miyeloid hücre modeli olarak kullanıldı. Miyeloid hücrelerin bazal-benzeri (MDA-MB-231, HCC38) ve lüminal (MCF-7, BT-474) meme kanseri hücre hatları ile ko-kültürü veya bu hücrelerin süpernatantları ile kültürü yapıldı. Akım sitometri ile miyeloid farklılaşma belirteçlerinin (CD13, CD33, CD11b, CD11c, HLA-DR, CD14, CD34, CD15, CD16, CD103, CD40, CD62L, CD66b, CD83, CCR5 ve CCR7) düzeyi belirlendi. Miyeloid hücrelerin fonksiyonel değişimini gözlemlemek için diklorodihidrofloresan-diasetat (DCFH-D) kullanılarak reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi, opsonize lateks boncuklar kullanılarak fagositoz ve kemotaksis kabı kullanılarak migrasyon yetenekleri değerlendirildi.

SONUÇ: Miyeloid hücre matürasyonunu en iyi yansıtan miyeloid hücre hatları THP-1 ve U937 olarak belirlendi. Bu hücrelerin meme kanseri hücreleri ile yapılan ko-kültürlerinde ve bu hücrelerden elde edilen süpernatantlar varlığında bazal-benzeri meme kanseri hücreleri immatür miyeloid hücrelerde CD11b, CD11c, CD14, CD40 ve CCR7 belirteçlerinin ekspresyonlarını arttırdı. Lüminal meme kanseri hücreleri ise THP-1 ve U937 hücrelerinde anlamlı düzeyde değişikliğe neden olmadı. Lüminal ve bazal-benzeri meme kanseri hücrelerinin THP-1 ve U937 hücrelerinde ROS üretimini ve fagositoz kapasitesini benzer düzeyde artırdığı gözlemlendi. Diğer taraftan, lüminal hücrelere kıyasla bazal-benzeri meme kanseri hücrelerinin THP-1'in kemotaktik aktivitesini arttırdığı belirlendi.

TARTIŞMA: Lüminal meme kanseri hücreleri ile karşılaştırıldığında bazal benzeri meme kanseri hücreleri ve bu hücrelerin ortama salgıladığı faktörler miyeloid hücre farklılaşmasını etkin şekilde uyarmaktadır. Çalışmanın devamında miyeloid hücrelerin T hücre farklılaşmasını nasıl etkilediği araştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, miyeloid hücre, farklılaşma, kemotaksis, fagositoz, ROS

S-013

Ref. No: 76

KANSERLE İLİŞKİLİ FİBROBLASTLARIN TÜMÖRÜN İMMÜN KAÇIŞ MEKANİZMALARINDAKİ FONKSİYONEL ROLLERİNİN, SIÇAN KİMYASAL MEME KANSERİ MODELİNDE ARAŞTIRILMASI

Gürçan Günaydın, Yusuf Dölen, Neşe Ünver, Sacit Altuğ Kesikli, Dicle Güç

Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji AD, Ankara

AMAÇ: Fibroblastlar, tümör mikroçevresinde Kanserle-ilişkili-fibroblast (KİF)'lere dönüşürler. Tümöre karşı gelişen yetersiz immün yanıtlarda KİF'lerin önemli rolü olduğu düşünülmektedir, ancak bu konuda çalışmalar kısıtlıdır. Bu çalışmayla, KİF'lerin efektör T-hücre yanıtları üzerindeki etkilerinin aydınlatılması; böylece tümör mikroçevresinin tümöre karşı immün yanıtlardaki rolüne yeni bir bakış açısı getirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Nitrozometilüre (NMU) aracılı kimyasal meme kanseri modeli kullanılarak 21-günlük dişi Sprague-Dawley sıçanlara NMU enjeksiyonları yapılmıştır. Steril koşullarda çıkarılan meme tümörlerinden KİF'ler, sağlıklı meme dokularından normal fibroblastlar (NF)'ler; Kollajenaz/Hyaluronidaz aracılı yöntemle izole edilmiştir. KİF'ler ve NF'ler; αSmooth-Muscle-Actin (αSMA) ve vimentin gibi yüzey belirteçlerindeki ekspresyon farklılıklarının gösterilmesi için immünsitokimya ile değerlendirilmiştir. NMU'ya bağlı olası DNA hasarı, Comet analizleriyle incelenmiştir. KİF'ler, splenositlerle kokültür edilmiş ve Carboxyfluorescein-succinimidyl-ester (CFSE) proliferasyon deneyleriyle fonksiyonel analizler yapılmıştır. KİF-splenosit etkileşiminin T hücre immün fenotipi üzerine etkileri, kokültür sonrası T hücrelerinde immün aktivasyon belirteçlerinden CD25'in yüzey, IFN-γ'nın hücre-içi ekspresyonunun akım-sitometrik analiziyle incelenmiştir. KİF'lerin, sitokin sekresyon profili üzerine etkileri KİF-splenosit kokültür süpernatantlarından IFN-γ, IL4, IL10, IL17A, TGFβ, TNFα düzeyleri incelenerek yapılmıştır. KİF'lerde TGFβ, PDL1, VEGF, IFNγ; KİF ile ko-kültür yapılmış splenositlerde de aktivasyon belirteçleri CD25, CD69; kostimülatör moleküller CD28, CD40L, CD95, 4-1BB-L; sitotoksikite belirteçleri perforin, granzim B gen ekspresyonları incelenmiştir.

BULGULAR: İmmünsitokimya, KİF'lerde αSMA ekspresyonunun NF'lerden belirgin olarak daha yüksek olduğunu göstermiştir. Histolojik incelemeler bu 2 hücre tipi arasında belirgin morfolojik farklar göstermiştir. Comet analizlerinden, NMU enjeksiyonundan 2 ay sonraki DNA hasarı, kontrol düzeyine benzer bulunmuştur. CFSE proliferasyon deneyleriyle yapılan fonksiyonel analizler, KİF'lerin splenositler üzerinde immünsupresif etkileri olduğunu göstermiştir. KİF'lerle kokültürleri yapılan T hücrelerinin immün aktivasyon belirteçlerinden IFNγ'nın hücre içi ekspresyonunun azaldığı izlenmiştir. KİF-splenosit kokültür süpernatantlarından yapılan incelemelerde de, IL4 düzeyleri artmış olarak gözlenmiştir. Ayrıca KİF ile kokültür yapılmış splenositlerde kostimülatör moleküllerin gen ekspresyonlarında düşüş olduğu izlenmiştir.

SONUÇ: Sıçan kimyasal meme karsinogenez modeli başarıyla uygulanmış, KİF izolasyonları stabil olarak gerçekleştirilmiştir. T hücrelerinde meydana gelen değişikliklerin hem fonksiyonel incelemeler hem de gen ve protein düzeyinde analizlerle gösterildiği bu araştırma sonucunda KİF'lerin anti-tümör immün yanıtlar üzerinde baskılayıcı etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: fibroblast, kimyasal karsinogenez, meme kanseri, mikroçevre, T hücre, tümör immünolojisi

S-014

Ref. No: 47

KOLOREKTAL KANSERLER İÇİN YENİ BİR PROGNOSTİK BİYOBELİRTEÇ OLAN BİR DOĞAL BAĞIŞIKLIK LİGANDI

Barış Emre Dayanç¹, Seçil Demirkol², Murat İşbilen², Ezgi Özyerli², Bengisu Uluata², İsmail Gömçeli³, Mesut Tez⁴, Mithat Gönen⁵, Ali Osmay Güre²

¹İnönü Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Malatya

²Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara

³Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji Cerrahisi Kliniği, Ankara

⁴Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Cerrahi AD, Ankara

⁵Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, Department of Biostatistics, NY, USA

Kolorektal kanserler insidans bakımından dünyada kadınlarda ikinci, erkeklerde üçüncü sıradadır ve en yaygın ve ölümcül kanserler arasında listelenmektedir. Diğer bazı kanserlerin aksine (örneğin prostat kanserinin tanısı ve prognozunda kullanılan Prostat Spesifik Antijen (PSA) gibi), halihazırda kolorektal kanser için rutin olarak uygulanan ve evrensel olarak kabul edilmiş tek bir tanı testi vardır (Dışkıda gizli kan testi (FOBT)), fakat bu testin hassasiyeti düşüktür. En önemlisi de kolorektal kanserler için bir rutin prognoz testinin olmamasıdır. Bu sebeple bu çalışmadaki amacımız kolorektal kanserler için bir prognoz biyobelirteci adayı tanımlamaktır. Bu biyobelirteç adayı klinik kullanımda kolaylık için hasta kanında belirlenebilir olmalıdır. Bu amaçla biz biyoenformatik temelli bir yaklaşımla kendi laboratuvarımızda geliştirdiğimiz bir algoritmayı kullanarak olası hedef gen ürünlerini tanımlamak ve onaylamak için herkese açık mikroarray bilgi bankalarından amacımıza uygun iki mikroarray deneyini seçtik. Bir sonraki aşamada aday gen ifadesi aralıkları, hasta yaşam bilgisi ile ilişkilendirilerek, istatistiki olarak anlamlı olan aday genleri listeledik ve listemizin en üstünde yer alan genin her iki mikroarray veri kümesinde gen ifadesi dağılımının eşit olduğunu kontrol ettik. Sonuçlarımız bizi aktive edici NK hücre reseptörlerinden NKG2D'nin bir ligandı olan "UL-16'ya bağlanan protein 2" (ULBP2)'ye yönlendirdi. Ardından ULBP2'nin gen ifadesinin 45 kolon ve 42 rektum kanseri hastasından oluşan bir Türk kolorektal hasta kohortu'nun yaşam sürelerine bağlantısını onayladık ve bu hastaların serumlarında bulunan çözünür ULBP2 proteini seviyeleri ile tümör dokularındaki ULBP2 proteini varlığını belirledik. Hedefimiz hasta yaşam süresini kolorektal kanser prognozuna bir belirteç olarak kullanarak, hasta serumlarında optimal bir çözünür ULBP2 seviyesi ile kolorektal tümörlerde ULBP2 ifadesi sınırını tanımlamaktır. Yakın gelecekteki amacımız biyoenformatik temelli metodumuzu diğer prognoz biyobelirteçleri tanımlanmamış patolojilere de uyarlamaktır.

Anahtar Kelimeler: biyobelirteç, biyoenformatik, doğal immünite ligandı, hasta yaşam süresi, kolorektal kanser, mikroarray, prognoz, türk hasta kohortu, ULBP2

MEME KANSERİ HÜCRELERİNDE B7 KOSTİMÜLATÖR AİLESİ MOLEKÜLLERİNİN EKSPRESYONU VE YARDIMCI T HÜCRE YANITLARINA ETKİSİ

Pınar Karaşar, Güneş Esendağlı

Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji AD, Ankara

AMAÇ: B7 ligandları T hücre yanıtlarını düzenleyen en kritik kostimulatör molekülüdür. Bu moleküller esas olarak profesyonel antijen sunucu hücreler üzerinde bulunmalarına rağmen tümör hücreleri üzerinde de eksprese olabilirler. B7 ligand ailesi üyelerinden B7-1 ve B7-2 T hücre üzerindeki CD28 ile bağlandıkları zaman aktive edici, aktive T hücre üzerinde eksprese olan CTLA-4'e bağlanarak inhibe edici özellik gösterir. B7-H1, B7-DC ve B7-H4 inhibe edici, B7-H2 aktive edici, B7-H3'ün ise T hücre yanıtlarında düzenleyici etkileri vardır. B7-H6'nın NK hücre-aracılı anti-tümör immün yanıtlarda önemli olduğu bilinmektedir. Meme kanseri hücrelerinde bulunan B7 ligandlarının yardımcı T hücre yanıtları üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Lüminal tip MCF-7, BT-474, SK-BR-3, T-47D, ZR-75-1; bazal-benzeri tip, MDA-MB-231, MDA-MB-468, HCC38 meme kanseri hücre hatlarının ve normal meme epiteli hücre hattı MCF-12A'nın kültürleri gerçekleştirildi. Uyarılmış koşul için hücreler LPS ve IFN- γ ile 24 saat boyunca inkübe edildiler. Tüm B7 ailesi molekülünün mRNA düzeyleri RT-PCR ile; B7-H1, B7-H2 ve B7-DC protein düzeyi ise akım sitometri ile belirlendi. Periferik kandan ayrımlanan CD4+ T lenfositler anti-CD3 uyarıcı antikor varlığında miyeloid hücreler ile uyarıldı ve daha sonra geri saflaştırıldı. Bu hücrelerin farklı oranlarda meme kanseri hücreleri ile ko-kültürü yapıldı. CD154, CD25 ve CD69 T hücre aktivasyon belirteçleri ve CFSE analizi ile çoğalma düzeyleri değerlendirildi.

BULGULAR: PD-1 ligandları, B7-H1 ve B7-DC ko-inhibitör molekülünün bazal-benzeri molekül türündeki meme kanseri hücre hatlarında, ICOS ligandı B7-H2 ko-aktivatör molekülünün ise luminal tipteki hücrelerde seçici ve belirgin düzeyde eksprese oldukları bulunmuştur. LPS ile uyarım ekspresyon düzeylerinde belirgin bir fark yaratmazken, IFN- γ 'nın bazal-benzeri hücrelerde B7-H1 ve B7-DC düzeylerini artırdığı gözlenmiştir. İlginç olarak, ko-kültürler sonucunda bazal-benzeri meme kanseri hücre hatlarının T lenfosit aktivasyonunu ve çoğalmasını desteklemekteydi. Yapılan analizlerde bu kanser hücreleri tarafından salgılanan faktörlerin uyarıcı olduğu, yüzey molekülünün ise inhibe edici etkisi olduğu saptandı. Bulgularımız, bazal-benzeri meme kanserlerinin tercih ettiği bir immün kaçış mekanizmasına işaret etmektedir. Ko-kültürlerdeki T hücre farklılaşması üzerine çalışmalarımız devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: B7 ailesi ligandları, kostimülasyon, meme kanseri



POSTER BİLDİRİLER



ALLERJİ

P-001

Ref. No: 19

ATOPIK DERMATİTLİ ÇOCUKLARDA IL-4 VE IL-10 SALGILAYAN NK HÜCRELERİ**Esin Aktaş Çetin¹, Nilgün Akdeniz¹, Safa Barış², Muhammed Koşker³, Yıldız Camcıoğlu³, Işıl Barlan², Günnur Deniz¹**¹*İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE), İmmünoloji AD, İstanbul*²*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk Allerji İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul*³*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik İmmünoloji Allerji Bilim Dalı, İstanbul*

Atopik dermatit (AD) yaygın ekzematöz deri lezyonları ile karakterize kronik tekrarlayıcı enflamatuvar bir deri hastalığıdır. Hastalık atopik sendromlarla ortaya çıkmakta ve bu hastalarda astım ve allerjik rinit görülme sıklığı artış göstermektedir. AD hastalarında IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılayan allerjen spesifik Th2 hücrelerinin arttığı gösterilmekle beraber doğal öldürücü (NK) hücrelerin hastalık patogenezindeki rolleri tam bilinmemektedir. Çalışmamızda AD hastalarda NK1, NK2 ve regülatör NK hücre sitokin profilleri, NK hücre alt grupları, aktivatör reseptör ekspresyonları ve NK hücre sitotoksitesi araştırılmıştır. Hasta grubu olarak AD'li çocuk hastalar (n=14, yaş ort=7 ± 3.8) ve sağlıklı çocuklar (n=14, yaş ort=10 ± 4) çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm hastaların serum total IgE değerleri yüksek ve en azından üç aeroallerjene karşı deri testleri pozitif sonuç vermiştir. Sitotoksik aktivite, CD16^{bright} CD56^{dim} ve CD16^{dim} CD56^{bright} NK hücre alt grupları, NK hücre aktivatör reseptörleri ve hücre içi IL-4, IL-10 ve IFN-γ salınımı flow sitometride analiz edilmiştir. CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD16^{bright}CD56^{dim} NK hücre alt grupları ile aktivatör reseptör NKG2D oranı AD'li hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır (p=0.000, p=0.000 and p=0.04, sırasıyla). AD'li hastalarda, IL-10 salgılayan regülatör ve IL-4 salgılayan NK2 hücre alt grubundaki artışa karşılık, IFN-γ salgılayan NK hücreleri ve NK hücre sitotoksik aktivitesi düşük saptanmıştır (p=0.000, p=0.000, p=0.014 ve p=0.016, sırasıyla). Sonuçlarımız azalmış CD16^{bright} hücre alt grubu, NKG2D ekspresyonu ve sitotoksik aktivite gibi bozulan NK hücre fonksiyonları ile birlikte artmış IL-10 & IL-4 salınımının AD patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Atopik dermatit, NK hücreleri, Sitokin

P-002

Ref. No: 98

PROTON POMPASI İNHİBİTÖRLERİNE İLAÇ AŞIRI DUYARLILIĞI OLAN KİŞİLERDE BAZOFİL AKTİVASYON TESTİ (BAT) GÜVENLİ TEŞHİS ARACI OLABİLİR Mİ?**Nilgün Akdeniz¹, Leyla Pur Özyiğit¹, Derya Ünal², Aslı Gelincik², Suna Büyüköztürk², Günnur Deniz¹**¹*İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE), İmmünoloji AD, İstanbul*²*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Allerji Bilim Dalı, İstanbul*

Yaygın olarak kullanılan proton pompa inhibitörleri ile bildirilen ani aşırı duyarlılık reaksiyonları hayatı tehdit edici olabilmektedir. Tanı için deri duyarlılık testleri sınırlıdır ve oral provokasyon testi (OPT) ise çeşitli risklere sahiptir. Bu çalışmada; proton pompa inhibitörlerine duyarlılık öyküsü olan hastalarda *in vitro* tanınal test olan bazofil aktivasyon testi (BAT), CD203c molekülü üzerinden flow sitometri ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen bulgular doğrultusunda *in vitro* testlerin proton pompa inhibitörlerin duyarlılığı tanısındaki yeri ve öneminin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla çalışmaya proton pompa inhibitörlerine karşı ani aşırı duyarlılık reaksiyonu olan 7 hasta ile bu ilaçlara tolerans gösteren 6 sağlıklı gönüllü katılmıştır. Tüm olguların heparinize kan örnekleri sulandırılmış çeşitli proton pompa inhibitör solüsyonları ve allerjen türevleri ile stimüle edilmiş, allerjen stimülasyonu sonrası aktifleşen bazofil hücre membranında ekspresyonu artan anti-CD203c yüzey proteini flow sitometri ile ölçülmüştür. Tüm olguların allerjenle uyarı sonrası aktif bazofil değeri ile negatif kontrol değeri arasındaki fark %15' eşit veya daha büyük olduğunda testin sonucu pozitif olarak değerlendirilmiştir. BAT sonuçları hastaların geçmişleri ve deri testleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Proton pompası inhibitörlerinden, lansoprozole (n:6) ve esomeprazole (n:1) karşı hastalarda aşırı duyarlılık reaksiyonları anjiödem ve ürtiker (% 70) tespit edilmiştir. Sağlıklı kontrollerin tümünde test negatif olarak bulunmuştur. Proton pompası inhibitörlerinden lansoprozole (%33) karşı tüm allerjik hastalarda pozitiflik tespit edilmiştir. BAT aşırı duyarlılık reaksiyonları tanısı için hızlı, güvenli ve kullanışlı olup, diğer testlere (deri testi, OPT) ek bir yöntemdir. Çalışmamız proton pompası inhibitörlerine karşı aşırı duyarlılığın tespit edildiği ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: Bazofil Aktivasyon testi, proton pompası inhibitörü, ilaç alerjisi, Flow sitometri

BAĞIŞIKLAMA

P-003

Ref. No: 121

C-di-GMP ULAĞI İÇEREN PEPTİD KOMPLEKSLERİNİN VE KESECİKLERİN AŞI ADJUVANTI OLARAK ETKİNLİKLERİ**Soner Yıldız¹, Esin Alpdündar¹, Banu Bayyurt², Gözde Güçlüler², Defne Bayık², Mine Özcan¹, Bilgi Güngör¹, İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹**¹*Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler, Ankara*²*Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, Ankara*

Bakterilerde evrensel ikincil ulak işlevi gören 3', 5'-Cyclic diguanylic asit (c-di-GMP) dinükleotidinin bağışıklık sistemini tetikleyici etkilerinin antijen sunum hücrelerinin sitozolünde bulunan STING alması tarafından tanınması ve bu hücrelerden tip 1 interferon salınmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Ancak kimyasal yapısı ve anyonik doğası itibarıyla c-di-GMP molekülünün hücre zarından etkili miktarlarda geçişi mümkün olmamakta ve sitozole transfer için transfeke edilmesi gerekmektedir. Biz, bu çalışmada, c-di-GMP molekülünün hücre zarından geçişini arttıracak ve bağışıklık sistemi üzerindeki etkisini iyileştirecek, basit moleküler kompleksleme temelli bir yöntem sunmaktayız. Buna ek olarak bakteri kökenli membran keseciklerinin c-di-GMP molekülü için taşıyıcı olarak kullanılabileceğini göstermekteyiz. Adjuvant olarak c-di-GMP/Arg peptidinin veya bakteri kesecikleri ile kapsüle edilmiş c-di-GMP formülasyonlarının model antijen OVA ile beraber kullanılarak aşılanmış farelerde yapılan deneylerin göstermiş olduğu üzere bu grupların, sadece OVA peptidinin veya OVA peptidi ile c-di-GMP molekülünün kullanıldığı gruplara nazaran daha fazla total İmmünoglobulin G üretimini tetiklediği gözlenmiştir. Aşılanmış farelere EG.7 tümör hücre hattı enjekte edildiğinde sadece OVA peptidi ile aşılanmış gruplarda görülen tümör gelişiminin aksine, aynı gruplar farelerde tümör enjeksiyonuna karşı tam koruma sağlamıştır. Bu formülasyonların anti-tümör etkinliklerine paralel olarak, aşılanmış farelerden alınan dalak hücrelerinin SIINFEKL peptidi ile *ex-vivo* uyarılması, İnterferon-γ üretiminin 8-10 kat artmasına yol açmıştır. Yapılan araştırmaların ışığında bu formülasyonların etkili aşı adjuvantı olarak kullanılabileceği ve tümöre spesifik CD8 T hücrelerini tetikleyebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: adjuvan, anti-tümör ajanı, bakteri kökenli membran kesecikleri, cyclic-di-GMP, katyonik peptidi, kompleksleşme

P-004

Ref. No: 139

CpG OLİGONÜKLEOTİD YÜKLÜ EG-7 EKSOZOM NANOKESECİKLERİNİN AŞI ADJUVANI VE ANTİ-KANSER AJANI OLARAK KULLANIMI

Gözde Güçlüler¹, Tamer Kahraman¹, Defne Bayık¹, Arda Gürsel¹, Mayda Gürsel², İhsan Gürsel¹

¹Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, THORLAB, Ankara

²ODTÜ, Biyoloji Bölümü, Ankara

AMAÇ: Eksozomlar, bir çok hücre tipinden salınan nanokeseciklerdir. Hedef hücre tarafından alındıklarında immün yanıtın düzenlenmesi gibi önemli fizyolojik görevlerde rol oynarlar. CpG DNA dizileri immün cevabı güçlendiren ve bu nedenle bulaşıcı hastalıklar, allerji ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaya aday ajanlardır. Ancak, bu DNA dizilerinin kararsız yapıları *in vivo* çalışmalarda kalıcı başarılarını engellemektedir. Bu çalışmada, eksozomların ODN-taşıyıcı nano-kesecik olarak immün- potansiyellerini tanımlamayı amaçladık.

YÖNTEM-GEREÇLER: OVA ifade eden EL-4 hücresi olan EG-7 hücrelerinden santrifüj yöntemiyle izole edilen eksozomlara, rehidrasyon-dehidrasyon yöntemi ile D-tipi CpG ODN yüklendi. D-ODN yüklü eksozomların *in vitro* immün aktiviteleri ELISA tekniği kullanılarak sitokin seviyelerinin ölçümü ve FACS (Akım sitometresi) tekniği kullanılarak yüzey markör ifade değişimlerinin ölçümü ile belirlendi. C57/Bl6 fareleri D-ODN yüklü EG-7 eksozomları ile aşılandıktan sonra fare serumları anti-OVA IgG tiplerinin cevaplarının değerlendirilmesi için analiz edildi. OVA bağışıklığı kazandırılmış bu farelere EG-7 hücreleri booster enjeksiyonundan 2-4 ay sonra enjekte edildikten sonra tümör gelişimi takip edildi.

BULGULAR: *In vitro* uyarma çalışmalarına göre D-ODN'lerin eksozomlara yüklenmesi, IL6, IL12, IFN γ ve IFN α üretimini serbest D-ODN'e göre belirgin bir şekilde arttırmıştır. Ayrıca, CD86 ve MHC-II ifade düzeyleri D-ODN/Ekso nano kompleksi ile serbest D-ODN'e göre 2-4 kat daha fazla artmıştır. *In vivo* çalışmalarda, D-ODN yüklü eksozomların enjekte edildiği farelerdeki anti-OVA cevabının sadece eksozom enjekte edilen farelere göre Th1 yönünde olduğu belirlenmiştir. Aşılanmamış ve OVA bağışıklığı kazandırılmış farelerdeki tümör oluşumu karşılaştırıldığında, tüm kontrol farelerde tümör oluşumu ve gelişimi gözlemlenirken, D-ODN yüklenmiş eksozomlarla tedavi edilen farelerin %85'inden fazlasında tümör oluşumu gözlemlenmemiş ve bu yönelim tümör hücrelerinin enjeksiyonundan sonraki 4 hafta boyunca böyle devam etmiştir.

SONUÇLAR: Bu çalışmada elde edilen sonuçlar D-ODN'lerin eksozomlara yüklenmesinin ODN'lerin immün tetikleyici etkinliğini arttırdığını ve tümör gelişiminin engellenmesine katkıda bulunan daha güçlü bir anti-OVA cevabını oluşturabildiğimizi göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: TLR, eksozom, bağışıklama, kanser immüno-terapi

P-005

Ref. No: 128

CpG DNA YÜKLÜ EKSOZOMLARIN İMMÜN-ADJUVANT ETKİLERİ

Tamer Kahraman¹, Gözde Güçlüler¹, Banu Bayyurt¹, Mayda Gürsel², İhsan Gürsel¹

¹THORLAB, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilkent Üniversitesi, Ankara

²Biyoloji Bölümü, ODTÜ, Ankara

AMAÇ: Çalışmamızın amacı, hücrelerden salınan ve hücreler arası iletişimde kritik görevleri olduğu bilinen eksozom nanokesecikle-

rine immün stimulan özelliği olan DNA parçacığı yüklenerek, bu moleküllerin hücre içine alımlarını ve immün stimulan etkilerini artırmayı sağlayacak bir nanokesecik formunda yeni nesil taşıyıcılar geliştirmektir.

YÖNTEM: RAW264.7 hücrelerinin süpernatant'larından eksozomlar diferansiyel santrifüj ile izole edilmiştir. Elde edilen eksozomlar, D-tipi CpG ODN ile dehidrasyon ve rehidrasyon yöntemi kullanılarak yüklenmiştir. D yüklü eksozomlar dalak hücreleri ile inkübe edilip hücre içine giriş kinetikleri akış sitometrisi ve konfokal mikroskop kullanılarak analiz edilmiştir. Ayrıca, hücreler tarafından üretilen pro-enflamatuvar sitokinler ELISA ile belirlenmiştir. Yüklü eksozomların hücreye giriş yolları ve DNase-I enzime karşı dirençleri de araştırılmıştır. D yüklü eksozomların *in-vivo* adjuvant etkileri C57BL/6 farelerinde OVA immünizasyon çalışması ile araştırılmıştır. İmmünize edilmiş hayvanların serumlarında OVA antijenine karşı ürettikleri IgG seviyeleri elde edildikten sonra, OVA ifade eden EG-7 hücreleri immünize hayvanlara subkutan yolla inoküle edilerek kanser oluşumu incelenmiştir.

BULGULAR: DNA parçacığı yüklenmiş ve SP-DiOC ile işaretlenmiş eksozomlar RAW264.7 ve dalak hücreleri tarafından 16 saatte tamamen alınmıştır. Yüklü eksozomlar, hücre içine scavenger reseptörleri tarafından alınmakta ve hücreler tarafından salınan IL-6 ve IL-12 seviyelerini artırmaktadır. IL-6 ve IL-12 salımlarının >90% oranında korunması, eksozomların ODN'i DNase-I den koruduğunu göstermiştir.

OVA immünizasyon çalışmaları ise CpG yüklü eksozomların, serbest ODN'e göre hem daha yüksek, hemde daha uzun süreli anti-OVA immün yanıtı oluşturduğunu göstermektedir. OVA'ya karşı immün farelere EG-7 hücreleri inoküle edildiğinde ODN yüklü eksozomlar ile immünize hayvanların %85'inde tümör kütlesi oluşmamıştır.

SONUÇ: D-Tipi ODNlerin eksozomlara yüklenmeleri, hem DNase enzimleri tarafından parçalanmalarını engellemekte, hem de immün stimulan özelliklerini arttırmaktadır. Dolayısıyla yapılan bu çalışma eksozomların hücreler arası iletişimi sağlamalarının yanı sıra etkin ilaç taşıyıcı kesecikler olarak da tasarlanabileceğini ve aşı ile anti-kanser tedavilerde etkinlikle kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Eksozom, CpG DNA, Nanokesecik, İmmün stimülasyon, İmmünizasyon, Kanser

P-006

Ref. No: 115

KOMMENSAL BAKTERİ KÖKENLİ MEMBRAN KESECİKLERİNİN İMMÜNOMODÜLATÖR ETKİLERİ

Esin Alpdündar¹, Soner Yıldız¹, Banu Bayyurt², Gözde Güçlüler², Defne Bayık², Mine Özcan¹, Bilgi Güngör¹, İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler, Ankara

²Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, Ankara

Hücre-dışı membran keseciklerinin salgılanması arkea, bakteri ve ökaryotların ortak özelliğidir. Gram negatif patojenik bakterilerin ürettiği membran keseciklerinin patogeneze üzerindeki etkileri kapsamlı bir şekilde çalışılmış olmasına rağmen kommensal bakterilerin bu kesecikleri salgılayıp salgılamadıkları henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada, mikrobiyotanın immün sistem üzerindeki düzenleyici etkisini göz önünde bulundurarak kommensal kökenli bakterilerin ürettiği keseciklerin immünomodülatör özelliklerini belirlemeyi amaçladık. Üç farklı insan kommensal laktobasil türünden izole edilen kesecikleri *E.coli*'den izole edilen keseciklerle karşılaştırarak etkilerini değerlendirdik. Atomik kuvvet mikroskopisi ve zeta potansiyel ölçümleri kommensal bakterilerden izole edilmiş keseciklerin yaklaşık 250 nm çapında ve negatif yüklü

(-40 mV) olduklarını gösterdi. Keseciklerin *in vivo* etkileri fare immünizasyon çalışmalarında incelendi. Bu amaçla, Şap hastalığına karşı kullanılan inaktive edilmiş viral aşı, kommensal bakteri kesecikleri ile beraber farelere uyguladığında, serotip-O antijenine karşı gelişen IgG2a antikor yanıtının azaldığı gözlenirken E.coli keseciklerinin ise uyarıcı etki yaptığı anlaşıldı. Aynı şekilde, kommensal keseciklerin farklı bir immünizasyon modelinde anti-OVA antikor cevabını baskıladığı ve bunun sonucunda OVA ifade eden EG7 tümör hücresi verildiğinde tümör oluşumunu şiddetlendirdiği gözlemlendi. Bu sonuçlar, kommensal kökenli membran keseciklerinin Th-1 tipi enflamatuvar yanıtı baskıladığını düşündürmektedir. Buna karşılık membran keseciklerine cyclic-di-GMP enkapsüle edildiğinde cyclic-di-GMP'nin uyarıcı etkisinin arttığı, keseciklerin immün baskılayıcı potansiyelinin kaybolduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar, kommensal bakteriden salgılanan keseciklerin güçlü immünomodülatör etkilerinin olduğunu ve anti-enflamatuvar ajan olarak kullanıma potansiyelleri olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: adjuvan, aşılama, kommensal bakteriler, membran kesecikleri, gram pozitif bakteriler

P-007

Ref. No: 91

HEPATİT B AŞILAMA PROGRAMINA ALINAN YÜKSEK RİSKLİ HASTALARDA AŞILAMA SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Şükran Köse, Gülgün Akkoçlu, Süheyla Serin Senger, Gülsün Çavdar

Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Allerji İmmünoloji Kliniği, İzmir

Hepatit B enfeksiyonu dünyada ve ülkemizde oldukça yaygın enfeksiyon hastalıklarından biridir. Kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinomaya yol açabilen hepatit B virüs enfeksiyonu, önemli bir sağlık problemidir. Hepatit B aşısının uygulamaya girmesiyle HBV enfeksiyonlarının önlenmesinde önemli bir aşama kaydedilmiştir. Bu çalışmada aşı polikliniğimize başvuran risk grubuna dahil kişilerin özelliklerinin ve aşılama sonrası immünitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Hastanemizin aşı polikliniğine Ocak 2004-Aralık 2013 tarihleri arasında başvuran kişilerden risk grubuna dahil olan hastalardan (ailesinde kronik Hepatit B enfeksiyonu olanlar, sağlık personeli, hemodiyaliz hastaları gibi) HBs Ag, anti-HBc ve anti-HBs sonuçlarına bakılarak aşılama programına alınanların özellikleri (yaş, cinsiyet, sigara kullanımı gibi) ve Anti-HBs antikor sonuçları değerlendirildi.

Toplam 2808 kişi aşılama programına alındı. Bunların %58.4'ü kadın, %90,5'i erişkin yaş grubundaydı. Risk faktörleri açısından değerlendirildiğinde, aile içinde kronik hepatit B enfeksiyonlu hasta varlığı 2360 (%84), sağlık personeli olmak 312 (%11.1), HCV pozitifliği ve kronik karaciğer hastalığı 156 (%5.5), hemodiyaliz hastası olma 86 (%3.1), onkoloji hastası olma 72 (%2.6) olarak bulundu. Aşı sonrası immünite 2346 hastada (%83.5) değerlendirilebildi ve bunların yalnızca 186'sinde (%6.6) aşı yanıtı olmadığı saptandı.

Çalışmamızda hepatit B aşılama programı sonrası anti-HBs pozitifliği oranı daha önce yapılan çalışmaların sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Etkinliği oldukça yüksek olan bu aşı ile öncelikle risk grupları olmak üzere tüm toplumun immünizasyonu amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: hepatit B, Aşılama

EDİNSEL İMMÜNİTE

P-009

Ref. No: 35

HELİCOBAKTER-AKTİVE B HÜCRELERİNDEN TGF-BETA ÜRETİMİNİN ANALİZİ

Miray Karayılan, Nesteren Mansur, Ayça Sayı Yazgan

İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, İstanbul

Helicobacter pylori gram negatif, mikroaerofilik ve hareketli bir bakteridir. Kronik gastrit ve ülserin nedenlerinden biri olmakla beraber mide kanserinin en önemli risk faktörüdür. Gelişmekte olan ülkelerin popülasyonunun % 80' i bu bakteri ile enfektir. Bu bireylerden yalnızca % 20'sinde mide komplikasyonları görülmektedir. Fare modellerinde ise immünojenitesi H.pylori 'ye göre daha yüksek olan H.felis yaygın şekilde kullanılmaktadır. Literatürde regülatör T (Treg) hücrelerinin Helicobakter'e karşı immün cevabı baskıladığı gösterilmiştir. Treg'lerin yanı sıra regülatör B (Breg) hücrelerinin de fare modellerinde Helicobakter kaynaklı mide patolojisini baskıladığı gösterilmiştir. Anti-inflamatuvar bir sitokin olan interlökin 10 (IL-10) Helicobakter-aktive regülatör B hücreleri tarafından (Hsps-Breg) Toll-benzeri reseptör-2 uyarımı ile üretilmektedir. IL-10'un yanı sıra transforme-edici büyüme faktörü-β (TGF-β)'nin de farklı Breg alt grupları tarafından üretildiği literatürde gösterilmiştir. Hali hazırda devam eden çalışmalarımız dahilinde Hsps-Breg'lerin IL-10 üretimine göre ayırımı gerçekleştirilmektedir. Hsps-Breg'lerin TGF-β üretimi hakkında bilgi bulunmamaktadır. Araştırmamız dahilinde H. felis ile muamele edilen B hücrelerinden manyetik ayırıştırma sonucu elde edilen IL-10 pozitif ve IL-10 negatif gruplardaki TGF-β üretiminin incelenmesi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, verilerimiz TGF-β'nin hem RNA düzeyinde (RT-PCR), hem de protein düzeyinde (TGF-β ELISA) IL-10 negatif hücrelerde bulunduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Helicobakter, TGF-beta, Hsps-Breg

P-010

Ref. No: 22

HELİCOBAKTER-SPEŞİFİK REGÜLATÖR B HÜCRELERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Nesteren Mansur, Miray Karayılan, Ayça Sayı Yazgan

İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

Helicobacter pylori, mide kanserinin gelişmesinde en önemli risk faktörlerinden birisi olarak tanımlanmıştır. Gelişmekte olan ülkelerin %80 i H.pylori ile enfekte iken, enfekte bireylerin sadece %20'si ülser, mide kanseri veya B hücre lenfoması gibi gastrik komplikasyonlar göstermektedir. Diğer %80 enfekte birey ise belirti vermemektedir. Regülatör T (Treg) hücrelerinin H. pylori enfeksiyonuna karşı oluşan immün cevapta baskılayıcı rolü olduğu literatürde gösterilmiştir. Bu Treg hücre popülasyonunun yanı sıra, fare modelinde bazı B hücre popülasyonlarının da H. pylori enfeksiyonunda immün regülatör olarak görev aldığı bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda Helicobakter-aktive regülatör B hücreleri (Hsps-Breg) Toll-like reseptör-2 aracılığı ile IL-10 ürettikleri gösterilmiştir. Farelerde yapılan otoimmün ve enfeksiyon hastalık modellerinde, regülatör B hücrelerinde CD1d*CD5⁺ ve CD21^{hi}CD23⁺ alt grupları tanımlanmıştır. Ancak, Hsps-Breg'lerin bu alt grupların hangisine dahil olduğu bilinmemektedir. Bu sebeple, çalışmamız Helicobakter-spesifik regülatör B hücrelerini moleküler düzeyde karakterize etmeyi amaçlamaktadır. Yapılan hücre ölçek analizlerinde, IL-10 pozitif Hsps-Breg'lerin %65'inin CD1d*CD5⁺ ve %40'ının CD21*CD23⁺ olduğu gösterilmiştir. IL-10 negatif B hücrelerinin ise yaklaşık %5'inin CD1d*CD5⁺ veya CD21*CD23⁺ olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, Helicobakter ile indüklenmiş B hücrelerinden salındığı gösterilen

IgM ve IgG2b, yaptığımız çalışmalarda IL-10 negatif B hücrelerince üretildiği anlaşılmıştır. Sonuç olarak, Helicobakter-spesifik IL-10 üreten B hücre popülasyonu CD1d⁺CD5⁺ ve CD21⁺CD23⁺ yüzey belirteçlerini eksprese ettiği gösterilmiştir. Aynı zamanda, IgM ve IgG2b antikorları temelde Hsps IL-10 negatif B hücreleri tarafından salınmaktadır.

Anahtar Kelimeler: H.pylori, IL-10, regülatör B hücresi

P-011

Ref. No: 3

İLERİ BİLEŞİK BAĞIŞIKLIK YETMEZLİĞİ KENDİLİĞİNDEN İYİLEŞEN FARELERDE GENETİK DÜZELMENİN KANITLARI

Neşe Akış¹, Norman Ruetsch³, Gayle C. Bosma², Melvin J. Bosma²

¹Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Trakya Üniversitesi, Edirne

²Immune Cell Development and Host Defense Div, Fox Chase Cancer Center

³Biotherapeutics in Inflammation and Fibrosis group, Sanofi Aventis

AMAÇ: Kromozom 16 üzerindeki DNA-PKcs geninin 85'inci ekzonunda 4045 amino asit pozisyonunu kodlayan TAT kodonunun üçüncü pozisyonundaki T'nin A'ya mutasyonu ile ortaya çıkan ORCHE stop kodonunun ileri bileşik bağışıklık yetmezliğine (scid) yol açtığı bilinmektedir. Scid farelerde kendiliğinden iyileşme sıklığı ve bu, T hücresinde ikinci uygun bir mutasyon ile başarılı V(D)J yeniden gen düzenlenmesi sonucu işlevsel T lenfosit gelişimine bağlı olabilir. Çalışmada bu hipotez test edilmek istenmiştir.

YÖNTEM: Fare dalağından lenfositçe zenginleştirilmiş hücreler izole edilip ışınlanarak besleyici / destekleyici hücre elde edildi. scid'i kendiliğinden iyileşmiş fareden izole edilen T hücre hatları (1287, 1374, 7176, 1280 ve 1233) besleyici/destekleyici hücre üzerinde, ayrıca, scid'li B lenfosit hattı (1142) ve doğal B lenfositleri (AC11, 7583 ve SN1) kültürde çoğaltıldı. Total DNA'lar izole edildi. DNA-PKcs geni 11410-12137 pozisyonları arasında 77-86 eksonları içeren sıcak bölgeyi kısmen örtüşen parçalar halinde çoğaltacak çoklu primerler tasarlandı ve hedeflenen bölgeler PCR ile çoğaltıldı. İlgili PCR ürünlerinde mutad scid mutasyonu Alu-I kesimi ile test edildi. PCR ürünleri TA-klonlama ile plazmide klonlandı, transfeksiyonla çoğaltıldı, rekombinant DNA içeren klonlar beyaz-mavi ayrımıyla seçildi ve DNA'dan kesilerek dizi analizi elde edildi. Hücre hatlarının radyo duyarlılıkları değişik dozlarda ışınlama ve apoptotik hücre sayımıyla bulundu.

BULGU: Scid'i kendiliğinden iyileşen fareden izole edilmiş 7167 T hücre hattının allellerinden birinde mutant TAA stop kodonunun ilk nükleotidinde T'den C'ye değişmeyi sağlayan ikinci bir mutasyonun olduğu ve ortaya glutamini kodlayan CAA tripletinin çıktığı saptandı. 7167 klonunun radyorezistans olduğu görüldü. İncelenen diğer hücre hatlarında bir değişime rastlanmadı, ancak klonlarda değişken radyo hassasiyetler saptandı. Görüş: 7167 T hücresi genetik düzeltme sonucu scid mutasyonundan kurtularak tam uzunlukta DNA-PKcs proteinini üretebilir hale gelmektedir. Bu bulgu, scid mutasyonunun nonsens mutasyon olduğunu göstermektedir. Diğer kendiliğinden iyileşen ve farklı radyorezistanslar geliştiren hücrelerdeki fenotipin nedeni ORCHE stop kodonunun düşük frakanslı okumaya müsaade etmesi olabilir.

Anahtar Kelimeler: T lenfosit, kendiliğinden iyileşen scid, genetik düzeltme

P-012

Ref. No: 24

HELICOBACTER PYLORI VİRULANS FAKTÖRLERİNİN MİDE EPİTEL HÜCRELERİNDEN BAFF ÜRETİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Emre Sofyalı, Miray Karayılan, Ayça Sayı Yazgan

İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, İstanbul

Gram negatif bir bakteri olan Helicobakter pylori kronik gastrite yol açmaktadır ve mide kanseri, ülser ve mide lenfoması ile ya-

kından ilişkilidir. Gelişmekte olan ülkelerde nüfusun %70-90'ı H. pylori ile enfektir. H. pylori kaynaklı mide inflamasyonu çocuklarda foliküler gastrite, yetişkinlerde ise MALT lenfomaya sebep olmaktadır. Bu iki hastalık da B hücre folikülleri varlığı ile karakterizedir. H. pylori'nin mide epitel hücrelerini etkileyerek gastrik immünopatoloji oluşumunda katkısını anlayabilmek amacıyla, araştırmamızda H. pylori ile enfekte mide epitel hücreleri tarafından üretildiği gösterilen B hücre aktive edici sitokin (BAFF) üzerine yoğunlaşmaktayız. BAFF, B hücre matürasyonu ve proliferasyonunda görev alan bir sitokindir. H. pylori Cag-PAI (patojenite adası)'nın ve bir H. pylori suşu olan G27'nin virulans faktörlerinin mide epitel hücrelerinden BAFF üretimi üzerindeki etkilerini araştırmaktayız. Bu amaçla iki farklı mide epitel hücresi (KATO-III ve MKN45) H. pylori G27 suşu ve onun ΔCagA, ΔCagE, ΔPAI [sırasıyla CagA, CagE virulans faktörleri ve cag-PAI (patojenite adası) bulunmayan] mutantları ile muamele edildi. Elde edilen bulgular H. pylori sonikatinin incelenen hücre hatlarından BAFF üretimine sebep olduğunu göstermektedir. MKN45 hücreleriyle karşılaştırıldığında BAFF, RNA düzeyinde KATO-III hücrelerinde daha yüksek oranda üretilmektedir. ΔCagA, ΔCagE, ΔPAI H.pylori sonikati ile muamele edilen KATO-III ve MKN45 hücrelerinde BAFF ekspresyonu yabancıl tip (G27) sonikati ile muamele edilmiş hücrelere göre daha düşük seviyede bulunmuştur. Protein düzeyinde yapılan araştırmalar, BAFF ekspresyonu ve üretimi açısından RNA düzeyinde bulunan sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Elde edilen sonuçlar, BAFF üretiminin H. pylori'nin cag-PAI durumu ile yakından ilişkili olduğunun göstergesidir.

Anahtar Kelimeler: H. pylori, BAFF, KATO-III, MKN45

P-013

Ref. No: 46

ASTIM HASTALARINDA Th17 İLİŞKİLİ SİTOKİNLER VE HASTALIK ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİ

Gamze Kırkıl¹, Handan Akbulut², Fulya İlhan²

¹Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD, Elazığ

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, Elazığ

Astımın temel özelliklerinden biri hava yolu inflamasyonudur ancak hastalık şiddeti ile inflamasyonun yoğunluğu arasındaki ilişki net olarak tanımlanmamıştır. Bu çalışmada astım hastalarında inflamasyon ile ilişkili olduğu düşünülen Th17 ilişkili sitokin düzeylerini belirlemeyi ve bu sitokinlerin astım kontrol test (AKT) skorları ve solunum fonksiyon parametreleri ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya 60 astım hastası ve 20 sağlıklı kontrol olgusu dahil edildi. Astım hastaları kontrol durumuna göre 3 gruba ayrıldı; "tam kontrol", "kısmi kontrol" ve "kontROLSÜZ". Tüm olguların serum tümör nekrotizan faktör -alfa (TNF-α), transforming growth factor beta (TGF-β), interlökin-6 (IL-6), IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22 ve IL-23 konsantrasyonları ölçüldü ve solunum fonksiyon testleri yapıldı.

Astım hastalarının sitokin düzeyleri, IL-23 hariç, kontrol grubundan belirgin yüksekti (TNF-α için p=0.004, TGF-β için p= 0.01, IL-6 için p=0.000, IL-17 için p=0.000, IL-17F için p= 0.008, IL-21 için p= 0.000, IL-22 için p= 0.015). IL-6, IL-21 ve IL-23 düzeylerinin AKT skorları ile anlamlı negatif korelasyon gösterdiği (sırasıyla r=-0.364, p=0.004, r=-0.295, p=0.022, r=-0.546, p=0.000), AKT skorları ile birinci saniyedeki zorlu ekspirasyon volümü (FEV1) değeri arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edildi (r=0.520, p=0.000). Sitokin düzeyleri ile FEV1 değeri arasındaki ilişki araştırıldığında; IL-6 ve IL-21 düzeyleri ile FEV1 değeri arasında negatif korelasyon varlığı tespit edildi (sırasıyla r=-0.30, p=0.017, r=-0.36, p=0.004)

Sonuç olarak, özellikle hastalığı kontrol altında olmayan astım hastalarında Th17 ilişkili sitokin düzeylerinin belirgin yüksek olduğunu saptadık. Bu hastalarda, Th17 sitokinlerini hedefleyen bir

tedavinin, nötrofilik inflamasyon ve steroid direncinin ön planda olduğu ağır astım hastalarında faydalı olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Astım, Th17 hücre, astım kontrol testi

P-014

Ref. No: 42

PREEKLAMPTİK HASTALARDA SİTOKİN PROFİLLERİNİN VE HASTALIK ŞİDDETİYLE İLİŞKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Fulya İlhan¹, Zehra Sema Özkan², Remzi Atılğan², Banu Kumbak Aygün³, Ahmet Gödekmerdan⁴, Gökçen Özdemir⁵, Mehmet Şimşek², Ekrem Sapmaz²

¹Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, Elazığ

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Elazığ

³Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, İstanbul

⁴İn vitro Laboratuvarı, Elazığ

⁵Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, Ankara

AMAÇ: Preeklampsia gebeliğin 20. haftasından sonra gelişen hipertansiyonun proteinüri ile birliktelik gösterdiği bir sendromdur. Bu bulgu ve semptomlara başağrısı, görme bozukluğu, trombositopeni ve karaciğer fonksiyon bozukluğu eşlik edebilir. Bu klinik tablo karaciğer, böbrek, beyin ve plasentada değişen şiddette meydana gelen mikroanjyopati ile ilerlemektedir. Bu vasküler patolojiyi başlatan durum hala net olarak bilinmemektedir. Anne ile bebek arasındaki immünolojik etkileşim preeklampsia etyopatogenezinde araştırılan güncel konulardır. Biz de çalışmamızda preeklampsi ve sağlıklı gebelerin prepartum serumlarında inflamasyonda, inflamasyonun kontrolünde ve immün cevapta aracı olan çeşitli sitokinlerin düzeylerini ve sitokin cevabının preeklampsia ile ilişkisini araştırdık.

MATERYAL-METOD: Çalışmaya hastanemizde Ağustos 2011-Ağustos 2012 tarihleri arasında doğum yapan 40 preeklampsi (çalışma grubu) ve 40 sağlıklı gebe(kontrol grubu) dahil edildi. Tüm vakalardan prepartum dönemde elde edilen serumlarda ELİSA ile IL6, IL4, IL10, IL17, IL35, TGF beta, TNF alfa ve SOCS3 düzeyleri çalışıldı. SPSS 15.0 programı kullanıldı.

Tablo-2: Sitokin düzeyleri

Parametre Preeklampsia Kontrol P değeri

IL17 1.5±0.6 1.6±0.5 ng/mL <0.01

IL6 0.8±1.6 0.6±1.2 0.29 pg/mL

IL4 3.6±6.2 2.4±2.3 0.75 pg/mL

IL35 54.4±178.3 89.4±212.3 pg/mL <0.01

SOCS3 111.1±150.2 158.7±166.7 0.08 pg/mL

IFNγ 1.1±4.3 0.5±1.3 pg/mL <0.01

TGFβ 3.1±1.3 2.9±3.1 pg/mL <0.01

TNFα 1.3±1.8 2.7±9.8 0.18 pg/mL

Not: Değerler ortalama± standard sapma olarak verildi.

Korelasyon ve regresyon analizinde;

1-) proteinüri şiddeti ile SOCS3 düzeyi arasında R=0.41 ve p=0.01 düzeyinde negatif korelasyon, regresyon analizinde RR=0.3 p<0.01 CI= 0.001- 0.004 düzeyinde etkileşim izlendi.

2-) SOCS3 ile gebelik haftası arasında R=0.24 p=0.04 düzeyinde pozitif korelasyon, regresyon analizinde RR=0.6 p<0.01 CI=2.85- 4.86 düzeyinde etkileşim izlendi.

3-) SOCS3 ile apgar skoru arasında RR=0.6 p<0.01 CI=0.02- 0.03 düzeyinde etkileşim izlendi.

4-) Karaciğer enzimleri ile IL-10 arasında pozitif korelasyon izlendi. (ALT için R=0.23, p=0.04 ve AST için R=0.28 p=0.01).

SONUÇ: Genel olarak bakıldığında preeklampsi hastalarında inflamasyondan sorumlu sitokinlerin yüksek antiinflamatuvar etkili olanların ise daha düşük düzeyde olması dikkat çekiciydi. Bu durum

iyi kontrol edilemeyen bir inflamatuvar cevabın preeklampsia vasküler patolojinin tetikleyicisi olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: sitokinler, preeklampsia

P-015

Ref. No: 136

İNSAN PERİFERAL KANINDAKİ NAİF CD4⁺T HÜCRELERİNDEN OLUŞAN Th17 HÜCRELERİNİN APOPTOZA DUYARLILIĞI

Seyda Demir, Müge Özkan, Bünyamin Akgül, Ayten Nalbant

İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Urla, İzmir

Th17 T hücreleri yakın zamanda tanımlanan ve IL-17 sitokini ekspres eden CD4⁺T hücrelerinin bir alt sınıfıdır. Farelerde Th17 farklılaşması için gereken kültür koşulları ve regülatör moleküller çok iyi tanımlanmış olmasına rağmen, insanda Th17 kültür koşulları ve bu hücrelerin sürdürülebilirliği üzerindeki çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmada, insan naif CD4⁺T hücreleri sağlıklı donörlerin periferik mononükleer kan hücrelerinden (PBMC) izole edilmiş ve çeşitli stimulantlar (IL-6, IL-23, IL-1β, TGF β, anti-IL-4, anti-IFN γ, anti-CD3 ve anti-CD28) ile birlikte kültüre konulmuştur. 5. gün kültürlerine taze besiyeri ve IL-23 eklenmiştir. Kültür sonlandırıldığında CD4⁺IL17A⁺T hücreleri Akım sitometrisi ile belirlenmiş ve bu hücreler sitokin salınım yöntemiyle diğer hücrelerden ayrıştırılmıştır. Sonuçlar Th17-farklılaşma kültür koşullarında CD4⁺T hücrelerinin aktive olduğunu (CD25⁺: 47%, p<0.01) ve aktifleşen hücrelerin IL-17 üreten hücrelere (33%, p<0.01) dönüştüğünü göstermiştir. Ancak IL17⁺CD4⁺T hücrelerinde önemli bir seviyede hücre ölümü (52%, p<0.5) gözlemlenmiştir. Elde ettiğimiz veriler IL17 üretimi yapan Th17 T hücrelerinin büyük çoğunluğunun öldüğünü göstermektedir. Dolayısıyla insan periferik kanındaki naif CD4⁺T hücreleri IL17 üreten Th17 hücrelerine farklılaşırken IL17 kültür koşulları altında aktivasyona bağlı hücre ölümüne (AICD) duyarlı hale gelmektedirler.

Anahtar Kelimeler: Th17 farklılaşması, T hücreleri ve Apoptoz

P-016

Ref. No: 117

BAĞIŞIKLIK SİSTEMİNDE ÖNEMLİ GENLERDE MÜTASYON İÇİN TALEN TEKNOLOJİSİNİN KULLANIMI

Bahar Shamloo, Seyda Temiz, Gulperi Yalcin, Batu Erman

Sabancı Üniversitesi, Biyolojik Bilimler ve Biyomühendislik Programı, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, İstanbul

In-vivo genom modifikasyonları moleküler biyoloji araştırmalarının önemli hedeflerinden biridir. Genomda istenilen bölgede mütasyon yaratmak için bu bölgeyi tanıyan proteinlerin tasarlanması gerekmektedir. Doğada bu fonksiyonu içeren transkripsiyon faktörlerinden yola çıkarak, Zinc Finger Nucleases (ZFN) adı verilen tasarlanmış DNA bağlama ve modifikasyon proteinleri son yıllarda sıkça kullanılmaya başlanmıştır. Bu proteinler modüler olarak bir DNA bağlama bölgesi ve bir DNA kesme bölgesinden oluşmaktadır. Ancak ZFN proteinlerinin tasarım ve DNA bağlama spesifitesini belirlemekteki zorluklar yeni genom modifiye eden proteinlerin keşfine neden olmuştur. Son yıllarda keşfedilen bitki patojeni Xanthomonas bakterisi türlerinin genomlarından ifade edilen Transcription activator-like effector (TALE) proteinleri de modüler olarak Fok I restriksiyon enzimine bağlanarak genomda istenilen bölgeyi tanıyıp burada mütasyonlar yapabildiği belirlenmiştir. Bu TALEN (TALE nucleaz) proteinlerinin DNA bağlama bölgesi, 17 kere tekrarlanan 34 amino asitlik tekrarlardan oluşmaktadır. Bu tekrar bölgelerinin her birinin repeat variable di-residues (RVD) adı verilen 12 ve 13'üncü amino asitleri proteinin hangi DNA bazına bağlanacağını belirlemektedir. Bu amino asit dizisinin DNA'ya bağlanmaktaki rolü, proteinlerin kristal yapısında

gözükmektedir. TALEN proteinlerinin DNA bağlanma spesifitesini belirleyen bir kod keşfedilmiş ve bu koda göre RVD amino asitleri NI olursa DNA'da A bazına, HD olursa C, NK olursa G, ve NG olursa T bazına bağlandığı belirlenmiştir. Araştırmalarımızda TALEN'ler kullanarak İnterlökin-7 reseptör (IL7R) geninin kontrol bölgelerine bağlanıp bu bölgelerde mütasyonlar yaratacak belirteçler geliştirdik. Hücre kültüründe IL7R genini ifade eden T lenfosit hatlarında bu TALEN'leri kullanarak genomik mütasyonlar yaratmakta ve bu mütasyonların gen ifadesi üzerindeki etkisini araştırmaktayız.

Anahtar Kelimeler: T-lenfosit, genom modifikasyonu, mutasyon, IL7R, transkripsiyon aktivasyonu, TALEN

P-017

Ref. No: 84

Balb-c FARE LÖKOSİT YÜZEY RESEPTÖR İFADESİNE YAŞLILIĞIN ETKİLERİ

Emine Yavuz, Süheyla Hasgür, Emin Ümit Bağrıaçık

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara

GİRİŞ: Yaşlanma ile immün sistemde geri dönüşümsüz bazı değişiklikler meydana gelir. Lökositlerin immünofenotipi değişir. Ancak şimdiye kadar farelerde primer ve sekonder lenfoid organlardaki immün hücrelerin yüzey belirteç ekspresyonlarının yaşa bağlı değişimleri kapsamlı biçimde tek bir çalışmada gösterilmemiştir. Bu çalışmanın amacı, genç ve yaşlı farelerin çeşitli lenfoid organlarındaki immün hücre popülasyonlarının hücre yüzey belirteçlerini analiz etmek ve yaşlanmanın etkilerini ortaya koymaktır.

GEREÇ-YÖNTEM: Balb-c farelerin dalak, lenf nodu ve timus lenfoid organlarından hücre izolasyonu yapıldı. Hücreler çeşitli yüzey antijenlerine özgü antikorlar ile boyanarak akım sitometri yöntemi ile analiz edildi.

BULGULAR: Timusta CD4/CD8 oranı yaşlanma ile anlamlı düşüş gösterdi. Dalak hücrelerinde CD4⁺CD45R⁺, CD4⁺CD28⁺, CD4⁺CTLA4⁺ve CD8⁺CD28⁺, NKpan⁺ hücre sayısı yaşlanma ile artarken; TCRαβ⁺ ve CD62L⁺ hücrelerin sayısı gençlere oranla düşük saptandı. Lenf nodlarında CD4⁺CTLA4⁺, CD8⁺CD45RB⁺, CD8⁺CD45R⁺, CD11b⁺ve CD11c⁺ hücreler yaşlılıkta artış gösterirken; CD8⁺CD28⁺, CD4⁺CD45RB⁺ hücrelerin sayısı azaldı.

SONUÇ: Bu çalışmada bazı immün sistem hücrelerinin çeşitli yüzey belirteçlerinin yaşa bağlı dikkate değer immünofenotipik değişikliklerini geniş ve kapsamlı olarak tek bir çalışmada gösterdik. İmmün sistem yaşlanmasının sebeplerinin tespit edilmesi yaşlılarda azalan immün cevabın tekrar aktive olması için yeni stratejiler belirlenmesini sağlayacaktır. Özellikle, lenfosit popülasyonunun gösterdiği yaşa bağımlı değişimlerin incelenmesi mekanizmaların çözümlenmesinde anahtar görevi görmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akım Sitometri, Balb-c fare, İmmün yaşlanma, Lenfoid organlar

P-018

Ref. No: 112

HEPATİT B VİRUS ENFEKSİYONUNDA DELTA ANTİKORU SIKLIĞI

Fatma Mutlu Sarıgüzel¹, Elife Berk¹, Çiğdem Karakükçü², Hatice Karaman³, Ahmet Karaman⁴, Barış Derya Erçal¹, Ahmet Gödekmerdan⁵

¹Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Kayseri

²Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, Kayseri

³Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji, Kayseri

⁴Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji, Kayseri

⁵Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji-Mikrobiyoloji, Kayseri

AMAÇ: Hepatit delta virusu (HDV), konakta hastalık oluşturmamak için Hepatit B virusuna ihtiyaç duyan defektif bir RNA virüsüdür. Bu çalışmada, HBsAg⁺ si pozitif kronik hepatit B hastalarında HDV birlikteliğinin araştırılması amaçlandı.

MATERYAL-METOD: Bu çalışmaya, Ocak 2012-Mart 2013 tarihleri arasında Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesinde takip edilen HBsAg⁺ si pozitif 2508 hasta dahil edilmiştir. Hastaların bilgilerine retrospektif olarak ulaşıldı. Bu hastaların anti-HDV antikorı mikro-enzim immunoassay (DIA.PRO, Italy) ile araştırıldı. Anti-HDV antikor pozitif bulunan hastaların aspartat transaminotranferaz (AST) ve alanin transaminotranferaz (ALT) testleri ise enzimatik metotla (OlympusAU 16000) çalışıldı. Karaciğer biopsisi yapılan hastaların fibrozis skorlaması METAVİR sistemine göre yapıldı.

BULGULAR: Toplam 2508 HBsAg⁺ si pozitif hastanın 59'unda (%2.3) anti-HDV pozitifliği saptanmıştır. Anti-HDV pozitif hastaların 36'sı (%61) erkek, 23'ü (%39) kadındı, yaş ortalamaları 47.7±14.1' di (21-82), AST ortalaması 100.7±304.5 (15-2094), ALT ortalaması 121.7±418.8' di (13-2875). KC biopsisi yapılan 12 hastanın fibrozis skor ortalaması 4.08±1.6 (2-6) olarak bulundu.

SONUÇ: Bölgemizde HDV enfeksiyonu Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgeleriyle kıyaslandığında daha düşük oranda bulundu. KC biopsisi yapılan hastaların fibrozis skor ortalaması yüksek olarak saptandı. HDV ancak HBV varlığında enfeksiyon oluşturduğu için öncelikle HBV'nin önlenmesine yönelik tedbirler alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: HBV, HDV

P-019

Ref. No: 155

İNDİREK İMMÜNFLORESAN YÖNTEMİ İLE ANTİNÜKLEER ANTİKOR (ANA) VE EKSTRAKTE EDİLEBİLİR NÜKLEER ANTİJEN ANTİKORU (anti-ENA) POZİTİF BULUNAN HASTALARDA PATERN DAĞILIMININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Keremettin Yanık, Nevzat Ünal, Asuman Birinci, Murat Günaydin

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Samsun

AMAÇ: Antinükleer antikor (ANA) pozitifliği ifadesinden, tüm ANA spektrumunu kapsayan genel bir pozitiflik anlaşılmaktadır. Ancak ANA spektrumundaki farklı otoantikor tiplerinin tek tek tayinleri de yapılabilmektedir. Çalışmamızda indirekt immüno floresan (IFA) yöntemi ile tespit edilen ANA paternlerinin, ekstrakte edilebilir nükleer antijenlere (ENA) karşı oluşan otoantikor varlığı yönünden karşılaştırılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarları İmmünoloji Subdisiplin Laboratuvarına Ekim 2010 - Aralık 2012 tarihleri arasında ANA varlığının araştırılması amacıyla gönderilen, ANA-IFA testi ile pozitif bulunmuş serum örneklerinden, anti-ENA istenen ve herhangi bir tip antikor pozitif bulunanlar çalışmaya dahil edildi. Serum örnekleri 1/100 oranında sulandırılarak, ANA varlığı ve boyanma paterni (EUROIMMUN AG, Almanya) ANA-IFA ve anti-ENA kitleri kullanılarak üretici firmaların önerileri doğrultusunda çalışıldı. Çalışılan testler Nikon Opti Phot - 2 model floresan mikroskop kullanılarak incelendi.

BULGULAR: Çalışmada 5453 hastaya ait örnek incelenmiş ve 843 (%15) hasta örneği ANA testi pozitif olarak saptanmıştır. ANA pozitif olup anti-ENA istenen 616 örneğin 131 (%21)'inde anti-ENA antikorları pozitifdir. Bu 131 örnekte, ANA paternleri sırasıyla granüler 94 (%72), nukleolar 17 (%13), homogen 9 (%7), sentromer 7 (%5), nukleolar-granüler 3 (%2), nukleer membran 1 (%1) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda anti-ENA pozitif hastalarda granüler patern en sık gözlenen patern olarak saptanmıştır.

SONUÇ: Granüler patern saptanan örneklerde en sık ss-A ve sırasıyla Ro-52, Scl-70, Sm/RNP, Sm, ss-B en az ise JO-1 antijenlerine karşı antikor varlığı belirlenmiştir. Çeşitli ANA paternlerinin varlığı bazen özgül bir hastalık yada sendrom ile ilişkili olabilir.

Anti-ENA antikorlarının, ANA pozitifliği saptanan tüm örneklerde pozitif olarak bulunmaması, çalışmadaki yedi anti-ENA antikorundan başka farklı birçok hücresel yapıya karşı da antikor varlığının araştırılması gerektiğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antinükleer antikor, indirekt imünofloresan, ekstrakte edilebilir nükleer antijen

P-020

Ref. No: 158

ÇÖLYAK HASTALIĞI TANISINDA KULLANILAN SEROLOJİK TESTLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Adil Karadağ, Nevzat Ünal, Hakan Odabaşı, Asuman Birinci, Murat Günaydın

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Samsun

AMAÇ: Çölyak hastalığı sıklıkla çocukluk çağında görülen nadiren ileri yaşlarda da rastlanabilen yaşam boyu süren otoimmün bir hastalıktır. Hastalığın tanısında klinik, serolojik testler, ince bağırsak biyopsisi ve glutensiz diyetle cevap verme sıklıkla kullanılan yöntemlerdir. Çalışmamızda çölyak hastalığı tanısında kullanılan serolojik testlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarları İmmünoloji Subdisiplin Laboratuvarına Ocak 2011 - Aralık 2012 tarihleri arasında gönderilen Çölyak hastalığı ile ilgili serolojik testler, serum örneklerinde; IFA yöntemi ile anti-Endomisyum IgA ve anti-Gliadin IgA, ELISA yöntemi ile anti-Gliadin IgA, IgG ve anti-doku transglutaminaz IgA, IgG antikorları araştırıldı. Klinik bulgu ve ince barsak biyopsi sonuçları ile Çölyak tanısı kesinleşmiş olgular hasta dosyaları incelenerek belirlendi.

BULGULAR: Çalışmada, Çölyak hastalığı tanısında kullanılan testleri incelenen 772 hastanın 391 (%51)'i erkek, 381 (%49)'i kadın ve yaş ortalamalarının 15 olduğu tespit edildi. Örneklerin 625 (%81)'i en sık olarak Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları kliniğinden gönderilmişti. Dosya incelemesinde, klinik ve patolojik olarak 40 (%5) hastanın Çölyak tanısı aldığı saptanmıştır. Anti-Endomisyum IgA IFA 36 (%90), anti-Gliadin IgA IFA 34 (%85), anti-Gliadin IgA 26 (%65), anti-Gliadin IgG 35 (%88), anti-Doku transglutaminaz IgA 38 (%95) ve anti-Doku transglutaminaz IgG 34 (%85) hasta da pozitif olarak bulunmuştur.

SONUÇ: Sonuç olarak, bulgular doğrultusunda özellikle anti-Doku transglutaminaz IgA, anti-Endomisyum IgA, anti-Gliadin IgA ve antikorlarının saptanmasının çölyak hastalığı tanısında önemli bir yeri olduğu, anti-Endomisyum ve anti-Doku transglutaminazlar tanıda değerli testler olmakla birlikte özellikle tüm serolojik testlerin kombine kullanımının klinisyene tanıda daha fazla katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Çölyak hastalığı, Tanı, Serolojik testler

P-021

Ref. No: 113

HEMODİYALİZ HASTALARINDA HBV, HCV SEROPREVALANSI VE HEPATİT B AŞILAMASI İLE OLUŞAN ANTİKOR CEVABININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Fatma Mutlu Sarıgüzel¹, Elife Berk¹, Çiğdem Karakükçü², Barış Derya Erçal¹, Nilufer Oğuzhan³, Ahmet Gödekmerdan⁴

¹Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Kayseri

²Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi, Biyokimya, Kayseri

³Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi, Nefroloji, Kayseri

⁴Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji-Mikrobiyoloji, Kayseri

AMAÇ: Hemodializ (HD) hastaları sık hastaneye yatmaları ve kan transfüzyonuna ihtiyaç göstermeleri nedeni ile normal popülasyona göre hepatit açısından riskli gruplarının başında gelmektedirler. Bu çalışmada, hastanemizdeki HD servisindeki hastaların

Hepatit B (HBV) ve Hepatit C (HCV) seroprevalansını belirlemek ve Hepatit B aşı uygulamasının başarısının belirlenmesi amaçlandı.

MATERYAL-METOD: Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi HD servisindeki 99 hasta çalışmaya alındı. Veriler retrospektif olarak belirlendi. Hasta örneklerinde HBsAg, anti-HBs ve anti-HCV seropozitiflikleri Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi, aspartat transaminotranferaz (AST) ve alanin transaminotranferaz (ALT) testleri ise enzimatik metodla (OlympusAU 16000) çalışıldı.

BULGULAR: Çalışmaya alınan 99 hastanın 54'ü erkek, 45'i kadındı ve yaş ortalaması 52.6±19.3 (20-97) idi. Hastaların 2'sinde (%2) HBsAg pozitif iken 6'sında (%6) anti-HCV pozitifliği tespit edildi. Hastaların 97' nin anti-HBs titresi elde edilebildi ve ortalama anti-HBs titresi 1163.5±1635.7 idi. Anti-HBs titresi bu hastaların 7'sinde (%7.2) 0-10 mIU/mL, 28'sinde (%28.8) 10-100 mIU/mL iken 62'sinde (%64) 100-1000 mIU/mL idi. Hastaların AST ortalaması 19.8±6.8 (6-36), ALT ortalaması 14.3±5.5' di (3-33).

SONUÇ: Hastanemizdeki takip edilen HD hastalarında HBV ve HCV seroprevalansı ülkemizde yapılan çalışmalara göre düşük ve Hepatit B aşısına karşı oluşan antikor cevabı genç yaşlarda daha yüksek bulundu. Viral hepatitler HD hastaları için önemli bir sağlık sorunu olduğu için sıkı enfeksiyon kontrol önlemleri ve aşılamaya ile yeni bulaş olasılığı önenebilir.

Anahtar Kelimeler: Aşı, Hemodializ, HBV, HCV

P-022

Ref. No: 110

KAYSERİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİNE BAŞVURAN 0-16 YAŞ GRUBU ÇOCUKLARDA HEPATİT A PREVALANSI

Fatma Mutlu Sarıgüzel¹, Elife Berk¹, Çiğdem Karakükçü², Barış Derya Erçal¹, Yasemin Altuner Torun³, Ahmet Gödekmerdan⁴

¹Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, Kayseri

²Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, Kayseri

³Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Kayseri

⁴Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji - Tıbbi Mikrobiyoloji, Ankara

AMAÇ: Dünyada akut viral hepatitin en sık nedeni Hepatit A'dır. Bu çalışmada, Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi çocuk polikliniğine başvuran çocuklardaki Hepatit A seropozitiflik oranının ve bu hastalardaki karaciğer enzim düzeylerinin belirlenmesi amaçlandı.

MATERYAL-METOD: Ocak 2012- Şubat 2013 tarihleri arasında hastanemizin çocuk polikliniklerine başvuran 0-16 yaş grubu 1287 çocuk çalışmaya dahil edildi. Hastaların Anti-HAV IgM, Anti-HAV IgG ve Anti-HAV IgM-IgG birlikte pozitiflik bilgileri retrospektif olarak incelendi. Bu testler Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile (Abbott Architect) üretici firmanın önerileri doğrultusunda, AST ve ALT enzimatik metodla (OlympusAU 16000) çalışıldı.

BULGULAR: Çalışmaya alınan 1287 çocuk hastanın 30'unda (%16) Anti-HAV IgM, 24'ünde (%13) Anti-HAV IgM ve Anti-HAV IgG, 132'sinde (%71) Anti-HAV IgG pozitif olarak bulundu. Antikor test sonuçları pozitif olan 186 çocuğun 85'i (%45.7) kız, 101'i (%54.3) erkekti. Hastaların yaşları 0-16 arasında olup, yaş ortalaması 6.33±5.143 yıl olarak saptandı. Sadece Anti-HAV IgM pozitif olan hastalar Grup 1, Anti-HAV IgM ve Anti-HAV IgG birlikte pozitif olan hastalar Grup 2, Anti-HAV IgG pozitif olan hastalar ise Grup 3 olarak sınıflandırıldı. Grup 1'de yaş, AST, ALT, total ve direkt bilirubin değerleri Grup 2 ve Grup 3'e göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p < 0.05).

SONUÇ: Bulunan HAV seroprevalans oranının ülkemizde daha önce

yapılan çalışmalara göre düşük bulunmasının sebebi Kayseri ilinde sosyoekonomik seviyenin ve hijyen koşullarının iyi olmasına bağlanabilir. Ayrıca, Eylül 2012 itibarıyla hepatit A aşısı Ulusal aşılama programına dahil edilmesiyle HAV enfeksiyonunun görülme sıklığı daha da azaltacaktır.

Anahtar Kelimeler: Çocukluk yaş grubu, HAV, Kayseri

P-023

Ref. No: 65

ETANERCEPT KULLANAN HBsAg (-), Anti HBs (+) ve Anti Hbc (+) RA 'LI BİR HASTADA HBV REAKTİVASYONU: OLGU SUNUMU

Emine Emel Koçman¹, Selda Erensoy¹, Vedat İnal²

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD-Romatoloji, İzmir

TNF alfa, akut faz reaktivasyonunu uyaran bir proinflamatuvar sitokindir. Apoptotik hücre ölümünü ve inflamasyonu indükler, tümör gelişimini ve viral replikasyonu engeller. TNF alfa inhibitörleri, RA, AS, psöriatik artrit gibi bir çok inflamatuvar hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Günümüzde klinik kullanımda olan beş adet Anti-TNF alfa ilacı bulunmaktadır (infliximab, etanercept, adalimumab, golimumab ve serolizumab pegol). Bu ilaçlarla tedavi edilen hastalar enfeksiyona yatkınlık açısından yüksek risk taşımaktadır. Viral enfeksiyonu olan hastalarda TNF alfa inhibitörlerinin kullanımı ile ilgili veriler sınırlıdır. Bu yazıda aktif RA nedeniyle etanercept başlanan (HBsAg Negatif - Anti Hbc Pozitif - Anti HBs Pozitif) bir hastada HBV reaktivasyonu gelişen bir olgu sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: TNF alfa inhibitörleri, RA, Etanercept, HBV reaktivasyonu

ENFEKSİYON İMMÜNOLOJİSİ

P-024

Ref. No: 90

HBV DNA NEGATİF VE POZİTİF HASTA GRUPLARINDA, PRO-İNFLAMATUVAR, TH1, TH2 VE BASKILAYICI SİTOKİN DÜZEY FARKLILIKLARI

Mehmet Araslı¹, Yücel Üstündağ², Nefise Öztoprak Çuvalcı³, Fûrûzan Köktürk⁴, İshak Özel Tekin¹

¹Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji AD, Zonguldak

²Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD,

Gastroenteroloji Bilim Dalı, Zonguldak

³Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları, Antalya

⁴Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstatistik AD, Zonguldak

AMAÇ: Hepatit B virüsünü almış, ancak, virüs çoğalmasının bas-
kalandığı hastalar ile Hepatit B virüsünün aktif olarak çoğaldığı
tedavi başlanmamış hastalarda, Pro-inflamatuvar (IL-1β, TNF-α,
IL-6), TH (IL-2), TH1 (IFN-γ), TH2 (IL-4, IL-5) ve Baskılayıcı (IL-10)
sitokin düzeyleri arasındaki farklılıkları, bunların sağlıklı bireyler-
den sapmalarını araştırarak, HBV ile immün sistem ilişkisine ışık
tutmayı ve hastalık patogeneze katkıda bulunmayı amaçladık.

GEREÇ-YÖNTEM: 18 HBV DNA negatif, 27 HBV DNA pozitif,
tedavi başlanmamış hasta ve 28 HBsAg negatif sağlıklı bireyin
serumunda, Human Th1/Th2 11plex FlowCytomix Multiplex kiti
kullanılarak (e-Bioscience Inc. Vienna, Austria) Akım Sitometrik
Çoklu Sitokin Antikorları ile Kaplı Boncuk yöntemi ile TNF-α, IFN-γ,
IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 ve IL-10 düzeyleri araştırıldı. Akım
Sitometri cihazı olarak FC500 Cytomix (Beckman Coulter Inc., Mi-
ami, FL, USA) kullanıldı. Sitokin hesaplamaları Flow Cytomix Pro
2.3 yazılımı (Bender MedSystems GMBH, Vienna, Austria.) kulla-
nılarak yapıldı. İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc.,
Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR-SONUÇ: IL-1β, TNF-α, IFN-γ, IL-4, IL-5 ve IL-10 düzey-
leri, her iki hasta grubunda, sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı
derecede yüksekti. IL-6 düzeyi, HBV DNA (+) grupta, sağlıklı kont-
rol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. IL-6 düzeyleri, sağ-
lıklı kontrol grubu ve HBV DNA (-) grup arasında anlamlı değildi.
HBV DNA (-) ve (+) gruplar arasında, TNF-α, IFN-γ, IL-4, IL-5 ve IL-
10 düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadı.
HBV DNA (-) grupta IL-1β düzeyi, HBV DNA (+) gruba göre anlamlı
derecede yüksekti. HBV DNA (+) grupta ise, IL-6 düzeyi, HBV DNA
(-) gruba göre anlamlı derecede yüksekti. IL-2 ve IL-8 düzeyleri
bakımından, hiç bir grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

Anahtar Kelimeler: Hepatit B, Sitokin, Akım Sitometri

P-025

Ref. No: 146

NLRP13 PROTEİNİNİN SAFLAŞTIRILMASI VE İŞLEVİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa Yalçınkaya, Yetiş Gültekin, Nesrin Özören

Bogaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

Nod benzeri alıcılar (NLRs) dokularda enfeksiyon, doku hasarı ve
patojenleri tespit ederler. NLR proteinlerinin yapısında kendileri-
ne özgü amino ucu protein etkileşim bölgesi (PYRIN), orta kısım-
da nükleotid bağlanabilen oligomerizasyon bölgesi (NACHT/NOD)
ve karboksil uçtaki lösince zengin tekrarlı bölge (LRR) mevcuttur.
NLR ailesinden NLRP13 proteini % 35 sıklıkla mitokondride olmak
üzere sitoplazmada bulunmaktadır ve bu nedenle sitoplazmik ba-
ğışıklık alıcısı olarak düşünülebilir. NLRP13'ün kaspaz 1 ve 5 ile
irtibat ettiği, hatta ASC adaptörü ile beraber enflamazom oluşum-
larında (speck veya zerre) bulunduğunu konfokal analizler sırasın-
da gözlemledik. NLRP13 proteininin ödem sürecindeki rollerinin
bulunması için öncelikle NLRP13 antikorunu tavşanda üretilmeye
çalışıldı. Bunun için histidin-etiketli NLRP13 klonlanıp bakteriler-
de IPTG indüksiyon sonrasında saflaştırıldı. Daha sonra tavşana
enjeksiyon yapıp antikor üretildi ve saflaştırması yapılmakta-
dır. Saflaştırılacak NLRP13 antikoruna daha sonra immün çöktürme
deneylerinde kullanılarak NLRP13'ün etkileştiği diğer proteinler
bulunmaya çalışılacaktır. Bunun yanı sıra NLRP13'ün ifade edil-
diği hücreler qPCR yöntemiyle tespit edildi ve bu hücreler knock-
down deneyleri için kullanılacaktır. Bunun için NLRP13 shRNA
vektörleri klonlanıp lentivirüs üretildi ve bu hücrelerde NLRP13
baskılanacaktır. Ayrıca ödem sırasında NLRP13'ün IL-1β salını-
mı etkileyip etkilemediği aşırı ifade deneyleriyle araştırılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: NLRP13, antikor, bağışıklık

P-026

Ref. No: 95

BRUSELLOZDA ARTMIŞ SERUM HEPSİDİN DÜZEYLERİ

Emel Yılmaz¹, Ayşe Oğuz Ayarç¹, Deniz Sığırlı², Meltem Öner
Torlar¹, Ferah Budak³, Güher Göral⁴, Haluk Barbaros Oral³

¹Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik
Mikrobiyoloji AD, Bursa

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD, Bursa

³Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, Bursa

⁴Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Bursa

Hem CD4⁺ hem de CD8⁺ T lenfositler interferon (IFN)-γ sekrete
ederek makrofajlarda bakterisidal işlevleri aktive ettikleri için
çok önemli roller oynar. Hepsidin inflamasyona ve artmış sitemik
demir düzeylerine yanıt olarak karaciğerden üretilen antimikro-
biyal bir peptittir. Son çalışmalarda dolaşımdaki monositlerin ve
Kupffer hücrelerinin hepsidin'in bazal ve inflamasyondaki ifade
düzeylerini etkilediğini göstermiştir. Makrofajlar ve hepatositler
arasındaki etkileşim önem taşımaktadır ve inflamasyon sırasında
bu iki tip hücre hepsidin yapımı için bir ilişki içerisine girmektedir-
ler. Çalışmamızda bruselloz ile hepsidin düzeylerinin ilişkisi araş-

tırılmıştır. 50 Brusellozlu hastadaki serum hepsidin düzeyleri 52 sağlıklı kontrolün düzeyleri ile karşılaştırılmıştır. Serum hepsidin düzeyleri brusellozlu hastalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Buna karşın akut, subakut ve kronik brusellozlu hastaların serum hepsidin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bununla beraber, kronik olgulardaki serum hepsidin düzeyleri akut ve subakutlarla karşılaştırıldığında daha yüksek gibi görünmektedir. Bu ilk sonuçlarımıza göre hepsidin düzeylerinin Brusellozun tanısında diagnostik bir belirteç olarak kullanılabileceği düşünülebilir. Ancak, özellikle hepsidin düzeylerinin brusellozun üç farklı formunu (akut, subakut ve kronik) ayırt etmede kullanılabilirliğini araştırmaya yönelik daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Brusella, hepsidin, demir

P-027

Ref. No: 133

CORONAVİRÜS ENFEKSİYONUYLA TRANSİENT RESEPTÖR POTENSİYEL PROTEİNLERİ (Trp) ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa Ulaşlı¹, Aytaç Kocabaş², Recep Bayraktar¹, Serdar Öztuzcu¹, Yusuf Ziya İğci¹, Mehri İğci¹, Ahmet Arslan¹

¹Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Gaziantep
²Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Kamil Özdağ Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Karaman

Coronavirüsler (CoV), 27-32 kb arasında değişen büyük genomlara sahip, zarflı ve pozitif polariteye sahip RNA virüsleridir. CoV'ler insanlarda ve hayvanlar da üst solunum yolu ve bağırsak enfeksiyonlarına neden olmaktadır. CoV'ler hücrelerde çift membran kesecikler şeklinde replikasyon kompleksleri oluştururlar. CoV'lerin replikasyonunu ve transkripsiyonunu çalışmak için prototip olarak mouse hepatit virus (MHV) kullanılmaktadır. MHV'lerin 16 tane yapısal olmayan ve dört tane de yapısal proteini bulunmaktadır. Transient reseptör potansiyel proteinleri (TRP) bir çok hücrel aktivitede rol almaktadır. Literatürde CoV enfeksiyonu ile TRP kanalları arasındaki ilişkiyi gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Kışları gribal enfeksiyonlara karşı öncelikli olarak Citrus sinensis (portakal) tüketilmektedir.

Citrus sinensis in etil alkol kullanılarak yapılan ekstraktının toksisitesi MTT assay ile HeLa CEACAM hücreleri üzerinde test edilmiştir. Citrus sinensis ekstraktının 1/10 dilüsyonun toksik olduğu sonucuna varılmıştır. Citrus sinensis ekstraktının HeLa CEACAM hücrelerinde IL8 salınımı üzerinde bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. MHV ile enfekte edilen HeLa CEAMCAM hücrelerine, Citrus sinensis ekstraktı ile muamele edilerek yapılan çalışma sonucunda TRP ekspresyonlarına bakılmıştır. TRPM1, TRPM3, TRPC5, TRPC7, TRPV3 ve TRPV5 ekspresyonlarında en az 3 kat artma tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: coronavirüs (CoV), TRP, enfeksiyon, IL8, Citrus sinensis

P-028

Ref. No: 135

AÇIKLANAMAYAN SİTOPENİLERİN NADİR BİR NEDENİ: HEMOFAGOSİTİK SENDROM

Mehmet Sinan Dal¹, Bilal Elbey², Esmâ Şenses³, Sengül Baran⁴, Tuba Dal⁵, Mehmet Orhan Ayyıldız¹

¹Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Diyarbakır

²Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji AD, Diyarbakır

³Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD, Diyarbakır

⁴Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Diyarbakır

⁵Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji AD, Diyarbakır

Hemofagositik sendrom(HFS) histiositoz grubu hastalıklar içinde makrofajlarla ilişkili olup tek bir hastalığın değil de farklı durumların aynı tipte inflamatuvar yanıt fenotipini oluşturduğu bir klinik sendromu temsil eder. Proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi sonucu yüksek ateş, hepatosplenomegali ve sitopeninin ön planda olduğu hiperferritinemi, koagulopati ve kemik iliği ya da retiküloendotelial sistemde hemofagositoz ile karakterize klinik bir tablodur. Yirmiiki yaşında erkek hasta, üşüme titreme ile yükselen ateş, boğaz ağrısı şikayetleri ile başvurdu. Öyküsünden bu yakınmalarının yedi gün önce başladığı, başvurduğu hekimlerce verilen nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlardan ve antibiyotik tedavilerinden fayda görmediği öğrenildi. Yakınmalarının şiddetinin artması üzerine başvurduğu enfeksiyon polikliniğince ileri tetkik ve tedavi amacıyla yatırılmış. Öz ve soy geçmişinde bir özellik saptanmadı. Fizik muayenede vücut ısısı 38.9°C (aksiller), orofarenks muayenesinde her iki tonsil hipertrofik ve hiperemik saptandı. Kan basıncı 100/60 mmHg,nabız 115/dk,solunum 20/dk. Dinlemekle sağ akciğer alt zonda ralleri duyuluyordu. Batın muayenesinde karaciğer kot kavsinin 4 cm kadar geçmekte ve yumuşak kıvamdaydı, dalak 1 cm ele geliyordu, Traube kapalıydı. Diğer sistem bulguları ve nörolojik muayenesi normal olarak değerlendirildi. Laboratuvar incelemesinde; Hemoglobin 10 g/dl, kırmızı küre 3.5x10⁶/mm³, trombosit 51x10³/mm³, beyaz küre 2.700/mm³, periferik yaymada %62 nötrofil, %23 lenfosit, %15 monosit vardı.CRP 148 mg/dl, ESH 30 mm/saat idi.

Biyokimyasal incelemede BUN 15 mg/dl, kreatinin 0.7 mg/dl, AST 414 IU/L, ALT 193 IU/L (13-40),Laktik dehidrojenaz (LDH) 1561 IU/L (230-460),gamma-glutaril transferaz (GGT), ALP 184 IU/L,total bilirübin 3.5 mg/dl, ferritin 49078 ng/ml, trigliserid 400 mg/dl,PTZ 22 sn,aPTT 40 sn, fibrinojen 100 mg/dl saptandı.Kemik iliği aspirasyonu incelemesinde histiositlerin artmış olduğu ve bazı alanlarda eritrosit fagosite etmiş histiositlerin olduğu gözlenerek HFS tanısı konuldu. HFS etiyojisinin araştırılmasına yönelik olarak hastanemizde çalışılan Brusella agglutinasyon testi, EBNA IgM ve IgG, viral hepatit markerleri, anti-HIV, Rubella IgM, CMV IgM, HSV IgM ve ANA ile anti-ds-DNA negatif olarak değerlendirildi. Hastaya HFS tanısı konularak steroid ve etoposid tedavileri başlandı.Hastanın takipleri devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hemofagositik sendrom, ateş, hepatosplenomegali

P-029

Ref. No: 100

HASTANE PERSONELİNDE VARİSELLA ZOSTER ANTİKORLARININ ARAŞTIRILMASI**Neşe Evrensel¹, Elife Berk¹, Selma Karagöz¹, Barış Derya Erçal¹, Ahmet Gödekmerdan²**¹Kayseri İli Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi; Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kayseri²Kayseri İli Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi; Genel Sekreterliği, Kayseri

Su çiçeği sıklıkla çocukluk çağında görülen bulaşıcılığı yüksek, jeneralize ekzantematöz döküntülerle karakterize viral bir hastalıktır. Su çiçeği çocukluk çağı enfeksiyonu olmasına rağmen erişkinlerde çok daha ağır seyretmektedir. Hastalık, temel olarak solunum yolu ile ancak derideki veziküllerle temas ile de bulaşabilir. Hastalar semptomlar sırasında ve oluşmadan önce bulaştırıcıdır. Sağlık personeli de nosokomiyal varisella açısından risk altındadır. Bu çalışmanın amacı sağlık çalışanlarında varisella antikorlarının saptanması ve risk altındaki personelin aşı ile korunmasının sağlanmasıdır.

Varisella zoster virusu (VZV) karşı antikorları saptayan yöntemler kişilerin VZV'ye karşı bağışıklığını taramada kullanılmaktadır. Sağlıklı gönüllü 123 hastanemiz personeli VZV açısından sorgulandı ve serum örnekleri ELISA tekniği ile VZV IgG'leri çalışıldı. 112 (%91.1) kişide VZV IgG pozitifliği saptandı. 3 (%2.4) antikor negatif, 8'i (%6.5) sınır değer (gri zon) olarak bulundu.

Çalışmamızın sonucuna göre, VZV bulaşma olasılığı yüksek ortamlarda çalışan sağlık personelinin duyarlılığının saptanması, gerekli kişilerin bağışıklığının sağlanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Su çiçeği, VZV antikor

P-030

Ref. No: 145

KİST HİDATİK ŞÜPHELİ HASTALARDA ECHINOCOCCUS GRANULOSUS SEROPOZİTİFLİĞİNİN İNDİREKT HEMAGLÜTİNASYON TESTİ İLE ARAŞTIRILMASI**Nesibe Aygün Ünal, Halime Özdemir, Mesut Bulut, Mustafa Çağatay, Nilay Çöplü, Ümmü Gül Bahar Erdem***S.B. Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara*

AMAÇ: Kist Hidatik, Echinococcus granulosus'un larva formunun çeşitli organlarda yerleşmesi ile ortaya çıkan bir hastalıktır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde değişen oranlarda morbidite ve mortaliteye sahip bir hastalık olarak önemini korumaktadır. Bu çalışmada hastanemizde Kist Hidatik ön tanısıyla irdelenen hastalarda antikor dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Çalışmamızda Eylül 2011 - Şubat 2013 tarihleri arasında laboratuvarımızda 880 hastanın serumu Anti-Echinococcus granulosus antikorları araştırılmak üzere İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHAT) (Fumouze Diagnostics, Echinococcus Fumouze, France) ile çalışıldı.

BULGULAR: Çalışılan örneklerin 400'ü (%45,6) Genel Cerrahi, 262'si (%29,8) Dahiliye, 43'ü (%4,8) Enfeksiyon Hastalıkları, 52'si (%5,9) Göğüs Hastalıkları, 59'u (%6,8) Üroloji, 64'ü (%7,3) diğer kliniklerden gönderilmişti. Hastaların 289'u (%32,8) erkek, 591'i (%67,2) kadındır. IHAT sonucunda örneklerin 122'si (%13,9) pozitif, 758'i (%86,1) negatif bulunmuştur. Pozitif sonuç 37 (%12,8) erkek, 85 (%14,3) kadın hastada saptanmıştır. Pozitif sonuca sahip hastaların 93'ü (%76) 20-50 yaş arasında bulunmuştur.

SONUÇ: Hasta serumları ağırlıklı olarak genel cerrahi ve dahiliye kliniklerinden gönderilmiştir ve bayan hastalar çoğunluktadır.

Klinik bulguları kist hidatik düşündürse de hastaların küçük bir yüzdesi pozitif bulunmuştur, ancak başvuruda olduğu gibi kadın hastaların sayısı daha fazla bulunmuştur, ancak yine de seropozitiflik yüzdeleri her iki cins için yakın bulunmuştur. Sonuçlarımız literatürle uyumlu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Echinococcus granulosus, IHA, Kist Hidatik

P-031

Ref. No: 94

ALT SOLUNUM YOLU ENFEKSİYONU TANISIYLA TAKİP EDİLEN BEBEKLERDE RSV ANTİJENİ POZİTİFLİĞİ VE LABORATUVAR ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**Derya Sağlam¹, Barış Derya Erçal¹, Fatma Mutlu Sarıgözel¹, Ahmet Gödekmerdan²**¹Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji, Kayseri²Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji - Tıbbi Mikrobiyoloji, Ankara

GİRİŞ-AMAÇ: Respiratuvar sinsitiyal virüs (RSV), dünyada olduğu gibi Türkiye'de de bebeklerde ve küçük çocuklarda görülen akut bronşiyolit ve pnömoninin en önemli etkenlerinden biridir. Yapılan çalışmalar iki yaşına kadar bütün çocukların en az bir defa RSV enfeksiyonu geçirdiğini, %10-20'sinin ise birden çok defa virüsle enfekte olduğunu göstermektedir. RSV ile primer enfeksiyon, konakta uzun süreli immüniteye yol açmaz. Bu nedenle reenfeksiyonun çocuklar ve yüksek riskli hastalarda yaygın olduğu gösterilmiştir. RSV'ye bağlı hastalık mevsimsel özellik gösterir. Ülkemizde yapılan çalışmalar enfeksiyonun Aralık ve Ocak aylarında pik yaptığını göstermektedir. Bu çalışmada Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi Kadın-Doğum kliniği pediatri bölümünde alt solunum yolu enfeksiyonu (ASYE) ön tanısıyla takip edilen bebeklerde RSV antijeni pozitifliği ve laboratuvar özelliklerinin incelenmesi amaçlandı.

GEREÇ-YÖNTEM: Şubat 2012-Ocak 2013 tarihleri arasında ASYE tanısı alan ve solunum yolu örneklerinde RSV antijeni bakılan 0-3 aylık 158 bebeğin dosyaları retrospektif olarak taranarak RSV antijeni pozitifliği, laboratuvar bulgularından da CRP ve lökosit sayıları değerlendirildi. RSV antijeni, Respi-Strip RSV (Coris Bio-concept, Belgium) kiti kullanılarak enzim immünoassay yöntemi ile araştırıldı.

BULGULAR: 158 hastadan ASYE ön tanısıyla laboratuvara gönderilen solunum yolu örnekleri çalışmaya alındı. Bu örneklerden 45 (%28,5)'inde RSV antijeni pozitif saptandı. Bu 45 pozitif örneğin 22'si Şubat ayında, 19'u Ocak ayında ve 2'ser örnek ise Aralık ve Mayıs aylarında tespit edildi. RSV pozitif hastalardan sadece birinde CRP pozitifliği saptandı. Hastaların eş zamanlı bakılan lökosit sayıları ortalaması 9,63/µl olarak tespit edildi. Pozitif bulunan örneklerin 21'i erkek, 24'ü de kız bebeklere aitti.

SONUÇLAR: Yenidoğan döneminde özellikle kış aylarında RSV göz önünde bulundurulması gereken ve 3. basamak hizmet veren merkezlerde mutlaka araştırılması gereken bir etkenidir. Böylece, hem etken doğru bir şekilde saptanacak hem de antibiyotiklerin gereksiz kullanımı önlenecektir. Ayrıca etkenin hızlı bir şekilde tespiti özellikle yenidoğan ve yoğun bakım ünitelerinde gerekli izolasyon önlemlerinin erken uygulanmasıyla olası salgınların önüne geçilebilecektir.

Anahtar Kelimeler: Alt solunum yolu enfeksiyonu, RSV, yenidoğan

P-032

Ref. No: 5

RELAPS BRUSELLOZ HASTALARINDA İNFLAMATUVAR VE ANTİ-İNFLAMATUVAR SİTOKİN DÜZEYLERİ**Başak Kayhan¹, Üner Kayabaş², Elçin Latife Kurtoğlu¹, Servet Kolgelier⁶, Barış Otlı⁴, Mehmet Gül³, Yaşar Bayındır², Mehmet Doğanay⁵**¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Karaciğer Nakil Enstitüsü, Transplantasyon İmmünolojisi AD, Malatya,²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Malatya,³İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, Malatya,⁴İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, Malatya,⁵Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıklar AD, Kayseri,⁶Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları AD, Adıyaman,

Bruselloz, evcil ve yabani hayvanlarda Brucella cinsi bakteriler tarafından oluşturulan zoonotik bir enfeksiyondur. Hastalık insanlara, pastörize olmamış süt ve süt ürünleri, enfekte hayvanlarla direkt temas veya enfekte aerosollerini soluyarak bulaşır. Hastalık dünyada yaygındır ve ülkemizde hiperendemiktir. Hastalığın morbiditesi yüksek olup, önemli ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır.

Brucella cinsi bakteriler fakültatif hücre içi bakteriler olup, konağa girdikten sonra retiküloendotelial sistemin hücrelerinde tutunur. Hücre içine giren bakteri, konak immün sistemi ve intrasellüler öldürmeden kurtulur ve mononükleer fagositlerin içinde (monositler veya makrofajlar) yaşayabilir. Bu hücreler Brucella'nın diğer organlara, örneğin dalak, beyin, kalp, kemiklere yayılımında önemli bir rol alır ve bakterinin konaktaki hücre dışı immün mekanizmalardan (örn; kompleman ve antikorlar) kaçışını sağlar.

Bruselloz klinik olarak akut, subakut ve kronik bir seyir gösterebilir ve tedavi edilen hastalarda relaps gelişebilir. Relaps her zaman için antibiyotik direncine bağlı değildir, farklı nedenlerle de ilişkili olabilir. Farklı araştırma gruplarının çalışmaları sonucunda akut, sub-akut ve kronik Bruselloz enfeksiyonunda gelişen immün yanıt hakkında bilginin olmasına karşın, relaps bruselloz enfeksiyonu esnasında immün yanıt gelişimi hakkında yeterli düzeyde bilginin bulunmamaktadır. Araştırmamızda 12 relaps, 16 akut Bruselloz hastası ile 20 sağlıklı gönüllünün serum örneklerinde pro-inflamatuvar (IL-6, TNF- α , IL-18), inflamatuvar (IFN- γ , IL-17, IL-15) ve anti-inflamatuvar (IL-4 ve IL-10) sitokin düzeyleri karşılaştırılmıştır ve tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, Relaps, inflamatuvar, anti-inflamatuvar, sitokin

P-033

Ref. No: 157

KAYSERİ İLİNDE BRUSELLOZ SEROPREVALANSI**Tuba Kayman¹, Ahmet Gödekmerdan²**¹Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Kayseri²Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Ankara

Bruselloz tüm dünyada sık görülen bir zoonoz hastalığıdır. Hayvanlardan insanlara bulaş, genellikle enfekte hayvanın sekresyonlarının, bütünlüğü bozulmuş deri ile direkt teması, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin kullanımı, inhalasyon ve konjunktival temas yoluyla olmaktadır. Aynı zamanda Bruselloz laboratuvar kaynaklı en sık görülen bakteriyel enfeksiyondur. Ülkemizde en sık olarak Güneydoğu Anadolu Bölgesinde görülmekle birlikte, Türkiye genelinde önemli bir halk sağlığı problemi olarak güncelliğini sürdürmektedir.

Bu çalışmada, Kayseri ilinde Bruselloz seroprevalansının belirlenmesi için laboratuvar verilerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Seroloji Laboratuvarı'na Brucella Tüp Aglütinasyonu istemiyle gönderilen, 2011 yılında 3873 ve 2012 yılında 4521 olmak üzere toplam 8394 adet serum örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Örneklerin 368 (%4.4)'ünde 1/160 ve üzeri titrelerde pozitiflik saptanmıştır. Toplam 368 pozitif olgunun 199 (%54.1)'unu erkekler ve 169 (%45.9)'unu kadınlar oluşturmuştur.

Bruselloz pozitifliği, erkeklerde kadınlara göre daha fazla saptanmıştır. Hem erkek hem de kadınlarda bruselloz pozitiflik oranının en sık 30-39 yaş grubunda olduğu belirlenmiştir. Mevsimsel dağılım incelendiğinde bruselloz pozitif olguların en sık yaz ve güz aylarında görüldüğü tespit edilmiştir.

Brusellozun önlenmesi, hayvanlarda enfeksiyonun kontrolü ve insanların eğitimiyle mümkündür. Halkın, çiğ süt ve ürünlerini kullanmaması, çiğ süttan üretilen peynirleri salamura yaptıktan sonra tüketmeleri, veteriner, mezbahada çalışanlar ve hayvancılıkla uğraşanların hayvan atıkları ile direkt temas etmemeleri yönünde bilinçlendirme yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, Brucella tüp aglütinasyon testi, Kayseri, seroprevalans

İMMÜN YETMEZLİKLER

P-034

Ref. No: 39

PRİMER İMMÜN YETMEZLİKLİ OLGULARIMIZIN DEĞERLENDİRİLMESİ**Can Öztürk¹, Sümer Sütçüoğlu², Şükran Köse³**¹Sağlık Bakanlığı Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk İmmünoloji ve Romatoloji, İzmir²Sağlık Bakanlığı Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, İzmir³Sağlık Bakanlığı Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve İmmünoloji, İzmir

AMAÇ: Konak immün yanıtının herhangi bir basamağında kalıtsal eksiklik primer immün yetmezlik olarak tanımlanır. Çalışmamızda primer immün yetmezlik tanısı ile izlenen hastalarımızın özellikleri ve klinik gidişlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Çocuk İmmünoloji ve Romatoloji Polikliniğinde, Ocak 2005 ile Ocak 2013 tarihleri arasında izlenen 151 hasta çalışmaya alındı. Hastaların izlem dosyaları retrospektif olarak incelendi. Hastaların yaş, cinsiyet, aile öyküsü, tanı yaşları, özgeçmişlerinde yer alan hastalıklar, enfeksiyon varlığı ve sıklığı, klinik tanı sınıflandırmaları, uygulanan tedaviler ile hastaların prognozu araştırıldı. Hastalığın bulgularının ortaya çıkması ile hastalığa tanı konması arasında geçen süre hesaplandı. Solunum yolu enfeksiyonları ve ishalde, bir mevsim döneminde 3 ve 3'den fazla hastaneye başvuru gerektirebilen hastalık varlığı enfeksiyonu sık geçirme olarak kabul edildi. Ayrıca immün yetmezliğin derecesine göre immünglobulin düzeyleri de kaydedildi.

BULGULAR: Tanı yaşı ortanca değeri 16 ay olan 151 hastanın 110'u (%72.8) erkek, 41'i (%27.2) kızdı. Hastalarımızda antikor eksikliklerine bağlı immün yetmezlik %82.1, kombine immün yetmezlik %6.6, immün yetmezliğe neden olan hastalıklar %5.3, fagositler işlev bozuklukları %2.6, iyi tanımlı immün yetmezlik sendromları %2.6, kompleman eksiklikleri %0.7 oranında saptandı. Akraba evliliği % 43, ailede immün hastalık ve/veya tanısı konamayan sık enfeksiyon varlığı % 19 bulundu. Tanıda gecikme süresi ortancası 27.5 (1-120) ay, izlem süresi ortancası 24 aydı. Hastaların %82.8'de sık enfeksiyon geçirme tanımlanırken, en sık enfeksiyonla başvuru zamanı 7-12 aylarda idi. En sık ge-

çirilen enfeksiyonlar açısından değerlendirme yapıldığında tüm hastaların üst solunum yolu enfeksiyonlarını sık geçirdiği, diğer sık enfeksiyonların sırasıyla, alt solunum yolu enfeksiyonu, ishal, idrar yolu enfeksiyonu, sepsis, moniliyazis olduğu belirlendi. Ağır kombine immün yetmezlik tanısı alan 10 hastanın üçü (T-,B+), beşi (T-,B-), bir olgu Omenn sendromu, bir olgu retiküler disgenезis tanıları ile izlenmişti, bu olgulardan dokuzu kaybedildi.

SONUÇ: Primer immün yetmezlik tanılı hastalıklar grubunda antikor eksiklikleri sıktır. Özellikle sık enfeksiyon geçiren çocukların immün yetmezlikler açısından değerlendirilmesi gereklidir. Prognoz olumlu etkilenebilir için erken tanı farkındalığının artırılması önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Çocukluk çağı, primer immün yetmezlik

P-035

Ref. No: 119

YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİKTE OKSİDATİF STRES

Sevgen Tanır Başaranoğlu, Şükrü Çekic, Şebnem S. Kılıç Gültekin

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı, Bursa

GİRİŞ: Reaktif oksijen radikalleri oksidatif strese yol açıp lipid, protein ve DNA gibi yapıları etkileyerek hücre hasarına neden olmaktadır. Bu çalışmada; YDİY (Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik) tanılı hastalarda, oksidatif stresin belirteçleri olan; serum katalaz, eritrosit süperoksit dismutaz, eritrosit redükte glutatyon ve serum malondialdehid düzeyleri ile oksidatif denge durumunun değerlendirilmesi amaçlandı.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışma grubu; yaş ve cinsiyet dağılımları birbirine benzeyen, YDİY tanılı 21 hasta ile sağlıklı kontrol grubundan 27 birey olmak üzere toplam 48 kişiden oluşmaktaydı. Deneklerin hiçbirisi çalışma öncesinde immünsupresif tedavi almamıştı. Çalışma grubundaki bireylerden alınan kan örneklerinde; serum katalaz, eritrosit süperoksit dismutaz (SOD), eritrosit redükte glutatyon ve serum malondialdehid (MDA) düzeylerinin ölçümleri yapıldı.

BULGULAR: YDİY tanılı 21 hastanın; 13'ünde (%61,9) enfeksiyon dışı komplikasyon (örn: splenomegali, hipersplenizm, mediastinal LAP), 4'ünde (%19,6) otoimmün hastalık (örn: JİA, Sjögren send) vardı. Eritrosit SOD düzeyi YDİY tanılı hastalarda medyan: 215,7U/ml, kontrol grubunda medyan: 234,7U/ml, eritrosit redükte glutatyon düzeyi YDİY tanılı hastalarda medyan: 85,9mg/dl, kontrol grubunda medyan: 88,5mg/dl, serum MDA düzeyi YDİY tanılı hastalarda medyan: 1,1 nmol/ml, kontrol grubunda medyan: 0,8 nmol/ml bulundu. Her üç parametre karşılaştırıldığında YDİY'li grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). Serum katalaz düzeyi YDİY tanılı grupta medyan: 34,7kU/L, sağlıklı kontrollerde medyan: 56,52kU/L bulundu, iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$). SOD düzeyi, enfeksiyon dışı komplikasyonları olan YDİY'li hastalarda (medyan: 224,0U/ml) olmayanlara (medyan: 98,6U/ml) göre yüksek ($p = 0,053$) saptandı, iki grup arasında bakılan diğer parametreler (serum katalaz, eritrosit redükte glutatyon, MDA) arasında anlamlı fark yoktu. Otoimmün hastalığı olan YDİY'li hastalarda katalaz düzeyi (medyan: 18,3kU/L) olmayanlara (medyan: 46,8kU/L) göre anlamlı olarak düşük saptandı ($p < 0,05$), iki grup arasında MDA, SOD ve eritrosit redükte glutatyon düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu.

SONUÇ: Katalaz seviyesi; YDİY tanılı hastalarda, oksidatif stresin arttığı durumlarda azaldığını gösteren literatürle paralel olarak düşük bulundu. Persistan immün aktivasyonun gözlemlendiği YDİY de artmış oksidatif stresin, immünpatogeneze rol oynayabileceği ve belli klinik bulgulara neden olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik, Oksidatif stres

P-036

Ref. No: 9

KRONİK GRANÜLOMATOZ HASTALIKTA FAGOSİTER SİSTEM ÜZERİNE İNTERFERON GAMMA TEDAVİSİNİN ETKİSİ

Serkan Filiz¹, Dilara Fatma Kocacık Uygun¹, Emel Şahin², Sadi Köksoy², Olcay Yeğin¹

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İmmünoloji ve Alerji Bilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri ve Uygulama Merkezi, Antalya

Kronik Granülomatöz Hastalık (KGH): Fagositik hücrelerin, bazı bakteri ve mantarları fagosite ettikten sonra öldürememesi ile karakterize heterojen, kalıtsal primer bir immün yetmezlik hastalığıdır. IFN- γ ; T hücreleri, doğal öldürücü (natural killer-NK) hücreler ve NKT hücreleri tarafından üretilen doğal ve kazanılmış bağışıklık cevapta rol oynayan önemli bir sitokindir. KGH'de doksanlı yıllardan beri kullanılmasına, etkinliği ile ilgili birçok çalışmaya rağmen tedavideki yeri ve etkinliği hala tartışılmaktadır. Çalışmamızda, 14 farklı merkezden toplam 57 hasta ve 21 kontrol olmak üzere 78 olgunun fagositik hücrelerin oksidatif patlama yapma kapasitelerinin DHR -123 testi ile ölçülerek stimülasyon indeksleri (SI) hesaplanarak bu aktiviteye interferon gamma'nın etkisi in-vitro olarak değerlendirildi. Ayrıca merkezlerdeki hastalara ait enfeksiyöz ve diğer komplikasyonlar ve interferon gamma kullanımının bunlar üzerindeki etkisini içeren anket formları incelendi. Elde edilen demografik ve klinik verilerin, laboratuvar verileriyle ilişkisini incelendi.

Hastaların özellikle Gp91phox ve P67phox alt gruplarında nörofillerin in-vitro INF- γ sonrası SI'lerinin özellikle 1. saatten sonra artışa geçtiği ve 24.saatte de devam ettiğinin görülmesine rağmen monositlerde in-vitro INF- γ sonrası SI'lerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. INF- γ alanlarda, almayanlara göre enfeksiyöz ve granülomatöz komplikasyonların sayısının belirgin şekilde daha az olduğu görüldü. Bu fark Gp91phox alt tipinde daha belirgin idi. Çalışmamız, ülkemizde KGH ile yapılmış demografik ve laboratuvar dataları içeren çok merkezli ilk çalışma örneğidir. KGH tedavisinde INF- γ tedavisinin yeri ve etkinliği ile ilgili tartışmanın devam edeceği düşünülmekle birlikte çalışmamız literatürü destekler şekilde belli alt gruplarında (gp91phox) süperoksit yapımını artırabileceğini göstermiştir. Önerimiz, tanı anında tüm KGH'li olgulara DHR testi ile INF- γ 'nın in-vitro etkisinin ölçülmesi, bu verinin hastanın genotipik verileri ile ilişkisi konusunda daha geniş serilerde önebakış (prospektif) araştırma ve klinik gözlem bilgilerinin artırılmasının, pahalı bir tedavi seçeneği olan INF- γ tedavisine başlanırken hastaya özgü karar verilmesi konusunda klinisyenlere yararlı olacağı kanısındayız

Anahtar Kelimeler: Kronik Granülomatöz Hastalık, İnterferon Gamma, DHR-123, Stimülasyon İndeksi

P-037

Ref. No: 75

NADİR GÖRÜLEN BİR İMMÜN YETMEZLİK: DNA LİGAZ 4 EKSİKLİĞİ

Şükrü Nail Güner¹, Sevgi Keleş¹, Bahar Göktürk¹, Mine Kırac¹, Jacques Jm Van Dongen², Mirjam Van Der Burg², İsmail Reisli¹

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk İmmünoloji ve Alerji Bilim Dalı, Konya

²Department of Immunology, Erasmus MC, University Medical Center Rotterdam, the Netherlands

DNA ligaz 4 homolog olmayan uçların birleştirilmesi [NHE] (Non-HomologousEnd-Joining)) ile DNA çift zincir kırıklarının tamirinde görevli olan proteinlerden biridir. Bu tamir mekanizması hem B

hem de T hücre V(D)J gen rekombinasyonu için gereklidir. DNA çift zincir kırıklarının tamirinde görevli olan proteinlerde oluşan mutasyonlar, radyosensitif T(-) B(-) NK(+) ağır kombine immün yetmezlik (SCID), mikrosefali ve diğer immün yetmezliklerle seyreden sendromlara neden olurlar. DNA ligaz 4 eksikliği otozomal resesif kalıtılan, radyosensitif ağır kombine immün yetmezliklerin nadir görülen bir formudur. Mikrosefali, kuş yüzü görünümü, IUBG, büyüme ve gelişme geriliği bu hastalıkta sık karşılaşılan klinik bulgulardır. Bugüne kadar DNA Lig4 eksikliği olan toplam 14 vaka bildirilmiştir. Bu hastalar T(-) B(-) NK (+) ağır kombine immün yetmezlik fenotipinde başvurabildikleri gibi hafif lenfopeni ve hipogammaglobulinemi ile de başvurabilirler. Literatürde pansitopeni ile başvuran olgular da bildirilmiştir. Biz burada 5 aylık dismorfik yüz görünümü, büyüme ve gelişme geriliği, pansitopeni ve T(-) B(-) NK (+) ağır kombine immün yetmezliği olan, DNA ligaz 4 geninde yeni bir mutasyon tespit edilen bir hasta sunduk.

Anahtar Kelimeler: Primer İmmün yetmezlik, DNA Ligaz 4 eksikliği, çocuk

P-038

Ref. No: 109

MHC CLASS I EKSİKLİĞİNDE GRANÜLOMATÖZ ÜLSERLERİN MEZENKİMAL KÖK HÜCRE NAKLİ İLE BAŞARILI TEDAVİSİ

Figen Doğu¹, Zehra Şule Haskoloğlu¹, Birsal Küçükersan¹, Savaş Serel², Zeynep Yasavur², Ercüment Ovalı³, Aydan İkinciogulları¹

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünolojisi ve Alerjik Hastalıklar Bilim Dalı, Ankara

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahisi Anabilim Dalı Ankara

³Acıbadem Labcell, İstanbul

GİRİŞ: MHC Class I eksikliği nadir bir primer immün yetmezliktir. Tekrarlayan üst-alt solunum yolu enfeksiyonları, bronşiektazi ve granüloamatöz cilt lezyonları ile karakterizedir. MHC Class I moleküllü tüm çekirdekli hücrelerin yüzeyinde ekspres edilir. Endojen proteinlerin sitozolde parçalanması sonucu oluşan 8-10 aminoasitlik endojen peptidleri CD8⁺ sitotoksik T lenfositlere sunarlar. Bu peptidler sitoplazmadan endoplazmik retikulumun lümenine aktif transportla; antijen işleme ile ilişkili taşıyıcı proteinler (TAP) tarafından taşınmaktadır. TAP1 ve TAP2 olarak isimlendirilen iki ayrı alt birimden oluşan bir heterodimerdir. Bu iki proteini kodlayan gendeki mutasyonun saptanması ve periferik kan lenfosit alt gruplarında HLA-ABC ekspresyonunun olmaması ile tanı konur. Mezenkimal kök hücreler (MKH), birçok dokudan izole edilebilen, mezoderm kökenli, fibroblast benzeri hücrelerdir. *In-vitro* ve *in-vivo* olarak kemik, yağ dokusu ve kırık gibi dokulara differansiye olabilmemesinin yanında doku tamiri, tedaviye rezistan akut graft-versus-host hastalığı, allograft organ rejeksiyon tedavisi ve otoimmün hastalıklar gibi birçok alanda başarıyla kullanılmaktadır.

OLGU: 16 yaşında erkek hasta, 9 yaşından itibaren ağız ve burunda çıkan yaralar nedeniyle anti tbc tedavi de dahil çeşitli sistemik ve lokal tedaviler almış. Burunda septal perforasyon ve kırıkdağının tam destrüksiyonu gelişmiş. 2005 yılında kliniğimize danışılan hastanın immünolojik değerlendirmesinde periferik kan lenfosit alt gruplarında HLA-ABC ekspresyonunun olmaması ile MHC Class I eksikliği tanısı konuldu. EBV transforme B hücre dizilerinde komplementasyon çalışmalarında TAP2 defekti, genetik incelemesinde de TAP2 geninde 7 ve 8. transmembran domain arasında 340. kodonda frame shiftte neden olan 1022. nükleotidde C insersiyonu (homozigot) gösterildi. HLA haplotiplerinin homozigot olduğu görüldü. Aile içi ve akraba dışı donör taramasında uygun donör bulunamadı. IVIG ve TMP-SMX profilaksisi başlandı. Bu tedaviler altındayken dudakta doku kaybı ve ekstremitelerindeki yaralarda ilerleme saptandı. Temmuz ve Ağustos 2012'de 2 kez otolog mezenkimal kök hücre nakli (1x10⁶/kg) yapıldı. Yarala-

rında belirgin düzelme saptandı.

SONUÇ: MKH doku tamirinde düşük yan etki, tolerabilitesi ve başarılı sonuçları nedeniyle etkin ve güvenilir bir tedavi seçeneğidir.

Anahtar Kelimeler: MHC Class I eksikliği, mezenkimal kök hücre, granüloamatöz ülsür

P-039

Ref. No: 85

SIK ENFEKSİYON GEÇİREN HASTALARDA PRİMER İMMÜN YETERSİZLİK AÇISINDAN TANISAL DEĞERLENDİRME

Yıldız Camcıoğlu, Sonay Aldırmaz, Esra Özek, Necle Akçakaya

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Enfeksiyon Hastalıkları, Klinik İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, İstanbul

Primer immün yetersizliklerin en önemli bulgusu tekrarlayan enfeksiyonlardır. Bu araştırmada, kliniğimize sık enfeksiyon geçirme yakınmasıyla başvuran ve primer immün yetersizlik (PİY) için uyarıcı bulguları olan çocuklar arasında PİY oranının belirlenmesini amaçladık.

Çalışmamızda sık enfeksiyon yakınması ile doktora başvuran, şüpheli PİY öyküsü olan ve sık enfeksiyona neden olabilecek PİY dışı hastalıklar dışlanarak, Çocuk İmmünoloji polikliniğine yönlendirilen, tetkikleri yapılarak izleme alınan 1-18 yaş arasındaki 232 çocuğun dosyası geriye dönük olarak araştırıldı. Olguların %36'sı (n=84) kız, %64'ü (n=148) erkekti. Olguların %72,4 (n=164)'ünde PİY saptanmasına karşın, %27,6 (n=64)'inde PİY dışı tanımlar konulmuştu ve bunların içinde %11,6'sında (n=27) herhangi bir hastalık saptanmayarak sağlıklı kabul edilmişlerdi. En sık saptanan PİY %26,3 (n=61) selektif IgA eksikliği idi. Bunu sırasıyla %18,5 (n=43) süt çocuğunun geçici hipogammaglobulinemisi, %8,2 (n=19) IgG alt grup eksiklikleri, %5,6 (n=13) sınıflandırılmayan hipogammaglobulinemi, %3,9 (n=9) X'e bağlı agammaglobulinemi (XLA), %2,6 (n=6) doğumsal nötrofil bozuklukları, %1,7 (n=4) hiper IgM, %4,3 (n=10) yaygın değişken immün yetersizlik (CVID), %0,9 (n=2) hiper IgE sendromu ve %0,4 (n=1) ağır kombine immün yetersizlik izledi. PİY dışında saptanan hastalıklar ise %34,4 (n=22) reaktif hava yolu hastalığı ve/veya atopi, %12,3 (n=8) adenoid vejetasyon, %6,3 (n=4) kronik hastalık ve %4,6 (n=3) PFAPA (periyodik ateş, aftöz stomatit, adenopati) idi.

Olguların çoğunluğu %90,5 (n=210) yineleyen üst solunum yolu enfeksiyonu yakınmasıyla gelmişti. Alt solunum yolu enfeksiyonu geçiren, enfeksiyon nedeniyle hastaneye yatan ve ciddi enfeksiyon öyküsü olanlarda, olmayanlara göre CVID ve XLA tanısı oranları anlamlı oranda yüksek bulundu (p<0.05) (p<0.01). Bronşiektazi saptanan tüm olgularda PİY saptandı. SCID ve hiper IgM tanılı hastalarda büyüme gelişme geriliği diğer olgulara göre anlamlı olarak yüksek saptandı (p<0.01). Yaş grupları arasında PİY oranlarında fark bulunmadı, ancak başvuru yaşı arttıkça XLA tanısı alma oranları da artmaktaydı ve bu XLA olgularının geç tanı aldığının bir göstergesi olarak kabul edildi. Sık enfeksiyon geçiren olgular, PİY uyarıcı belirtilerine göre seçildiğinde PİY oranının oldukça yüksek (%72,4) olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: primer immün yetersizlik, sık enfeksiyon, çocukluk çağı

P-040

Ref. No: 88

PSORİAZİSLİ HASTALARDA OMENTİN SERUM SEVİYESİ VE OMENTİN Val109Asp POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**Hakan Turan¹, Kürşat Oğuz Yaykaşlı², Hatice Soğuktaş³, Emine Yaykaşlı³, Cihangir Aliağaoğlu¹, Teoman Erdem⁴, Mutlu Karkucak⁵, Ertuğrul Kaya⁶, Taner Uçgun⁷, Anzel Bahadır⁸**¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji AD, Düzce²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Düzce³Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Düzce⁴Sakarya Üniversitesi Araştırma ve Eğitim Hastanesi, Dermatoloji AD, Sakarya⁵Sakarya Üniversitesi Araştırma ve Eğitim Hastanesi, Tıbbi Genetik AD, Sakarya⁶Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji AD, Düzce⁷Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Düzce⁸Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik AD, Düzce

Psoriasis, patogenezi tam olarak bilinmeyen kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Omentin antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu düşünülen, yakın zamanda bulunan bir adipokindir. Psoriasis ile omentin arasında ilişki olup olmadığı henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışma da omentin serum seviyeleri ve omentin geni 4. ekzondaki Val109Asp polimorfizminin psoriasis ile ilişkisini değerlendirmek için tasarlandı.

Çalışmaya 49 plak tip psoriasisli hasta ve 39 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Serum Omentin seviyesi ELISA yöntemiyle tayin edildi. Omentin geni 4. ekzondaki Val109Asp polimorfizmi is PCR-RFLP yöntemiyle araştırılıp, genotipler agaroz jel elektroforezindeki bantlara göre tayin edildi. İstatistiksel analizler için $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

Psoriasis hastalarında serum omentin seviyesi ($354,2 \pm 152,0$) kontrol grubuna ($488,7 \pm 190,3$) göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p = 0,001$). Serum omentin seviyesi ile BMI ve bel çevresi arasında orta derecede negatif korelasyon saptandı. Omentin Val109Asp polimorfizmi genotipleri ve allel frekansları açısından hasta ve kontrol grubunda anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). Omentin serum seviyesi psoriasisli hastalarda anlamlı derecede düşük bulunduğu psoriasisin patogenezinde rol aldığı düşünülebilir. Fakat omentin Val109Asp polimorfizmi açısından anlamlı farklılık saptanamadı. Çalışmamız psoriasis ile omentin ilişkisini hem serum hem de genomik düzeyde inceleyen ilk klinik çalışmadır. Elde edilen bu sonuçlar daha büyük popülasyonlarla yapılacak çalışmalarla desteklenmelidir. Ayrıca omentin geninin diğer polimorfizmleride araştırılmasıyla, omentinin psoriasis hastalığı patogenezindeki muhtemel rolü tam olarak açıklığa kavuşturulabilir.

Anahtar Kelimeler: omentin, oto-immün hastalık, polimorfizm, psoriasis

P-041

Ref. No: 108

DİGEORGE SENDROMLU (DGS) OLGULARIMIZIN KLİNİK VE LABORATUVAR ÖZELLİKLERİ**Zehra Şule Haskoloğlu¹, Figen Doğu¹, Hatice İlgin Ruhi², Tuğba Ramaslı³, Miray Yılmaz³, Deniz Güloğlu¹, Birsal Küçükersan¹, Aydan İkinciogulları¹**¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünolojisi ve Alerjik Hastalıklar Bilim Dalı, Ankara²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Ankara³Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Ankara

DiGeorge Sendromu (DGS) 22. kromozomdan geniş bir bölgenin

silinmesi sonucu 3. ve 4. farengial arkın gelişimsel bozukluğuna bağlı timus hipoplazisi/aplazisi, paratiroid aplazisi ve konotrunkal kardiyak defektler ile seyreden genetik bir anomalidir. 1/3000-6000 canlı doğumda bir görülür. Timus aplazisi/hipoplazisi nedeniyle T hücre sayısında azalma veya fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak tekrarlayan enfeksiyonlara yatkınlık ile ilişkili bir primer immün yetmezlik hastalığıdır. Total timus aplazisi olan olgular Complete DGS olarak tanımlanır, tüm olguların %1'inden daha az görülürler. Ağır kombine immün yetmezlik fenotipine benzerler, kök hücre veya timus transplantasyonu yapılmazsa kaybedilirler. Anormal lokalizasyonlu veya küçük hacimli timus varlığı ise parsiyel DGS olarak tanımlanır. Parsiyel DGS'nda T hücre ilişkili immün yetmezlik, konotrunkal anomaliler ve hipokalsemi klasik triattır. Fasiyal dismorfizm de DiGeorge Sendromuna eşlik edebilir.

Tanı FISH ile 22.kromozom delesyonunun tespiti ile konur. Kliniğimizde parsiyel DGS ile izlediğimiz 10 hastanın klinik ve laboratuvar bulgularını retrospektif olarak değerlendirdik.

BULGULAR: Olguların 7'si erkek, 3'ü kız idi. Tümü parsiyel DGS özelliklerini taşıyordu. İlk başvuru nedenleri; 6 hastada sık enfeksiyon geçirme, 4 hastada hipokalsemi, 1 hastada öğrenme güçlüğü, 1 hastada konuşma bozukluğu idi. Hücresel immünitede; 8 olguda sayısal, 2 olguda fonksiyonel yetersizlik saptandı. Konjenital kalp/vasküler anomaliler 7 olguda, hipokalsemi (başvuru esnasında veya öyküsünde) 7 olguda vardı. Tüm olgularda dismorfik yüz bulguları mevcuttu. 22q11.2 delesyonu tüm hastalarda gösterildi. Bir olgumuzda OD geçiş saptandı, fenotipik olarak benzerlik gösteren anne de parsiyel DGS tanısı aldı. Üç hasta çocuk psikiyatrisi, iki hasta çocuk kardiyolojisi, iki hasta da çocuk enfeksiyon kliniğinden danışılmıştı.

SONUÇ: Çeşitli kliniklere farklı şikâyetlerle başvurabilen bu hastalarda erken ve doğru tanı; multidisipliner izlem yaşam kalitesini artırıcı ve hatta hayatı kurtarıcıdır. Konjenital kalp hastalığı, hipokalsemi, yarı damak ve velofarengial yetmezlik olan her çocukta DiGeorge Sendromu düşünülmelidir.

Anahtar Kelimeler: Di George Sendromu, Klinik, laboratuvar özellikleri

P-042

Ref. No: 32

KOMBİNE İMMÜN YETMEZLİKLİ 3 OLGUDA HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ SONRASI GELİŞEN AKUT GRAFT VERSUS HOST HASTALIĞININ ALLOJENİK MEZENKİMAL KÖK HÜCRELER İLE TEDAVİSİ**Aydan İkinciogulları¹, Zehra Şule Haskoloğlu¹, Figen Doğu¹, Birsal Küçükersan¹, Deniz Güloğlu¹, Ercüment Ovalı²**¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünolojisi Alerjik Hastalıklar Bilim Dalı, Ankara²Acibadem Labcell, İstanbul

Mezenkimal kök hücrelerin (MKH), hematopoetik kök hücre naklinde (HKHN) immünsüpresif özellikleri ve stroma desteği sağlaması sayesinde önemli katkıları olduğu bilinmektedir.

İmmünsüpresif etkilerini; T lenfosit aktivasyonunu önleyerek, aktive B hücreleri inhibe ederek, T regülatör hücreleri uyarak ve solubl faktörler ile gerçekleştirirler. Allojenik hematopoetik kök hücre nakli sonrasında hayatı tehdit eden ciddi bir komplikasyon olan steroide dirençli akut Graft versus Host Hastalığı (GvHH) tedavisinde de; güçlü immün modulator etkileri nedeniyle MKH öne çıkan bir tedavi seçeneği olmuştur.

Ağır Kombine İmmün Yetmezlik (AKİY) nedeniyle iki olgu ve DOCK 8 eksikliği nedeniyle HKHN nakli yapıldıktan sonra immünsüpresif tedavilere dirençli akut GvHH gelişen toplam 3 olgunun allojenik MKHN ile sağlanan tedavi sonuçları değerlendirildi.

Olgu1: 3 aylıkken T-B-NK+ AKİY tanısı alan hastaya teyzesinden

yapılan kemik iliği nakli sonrası akut deri ve karaciğer GvHH (Grade II) gelişti. Olgu 2: 3 aylıkken T-B⁺NK⁺ AKİY nedeniyle HLA tam uygun babaannesinden yapılan periferik kök hücre nakli (PKHN) sonrasında akut deri, bağırsak, akciğer, karaciğer GvHH gelişen (Grade III), 1 yıl CsA tedavisi sürdürüldü. CsA kesildikten sonra kemik iliği aplazisi (Grade IV GvHH) gelişti.

Olgu 3: 4 yaşında, kombine immün yetmezlik (DOCK 8 eksikliği) nedeniyle HLA tam uygun annesinden yaptığımız PKHN sonrası akut deri ve karaciğer GvHH (Grade II) gelişti. Tüm olgular GvHH profilaksisi için CsA almaktaydı. GvHH tedavisi için sistemik steroid verildi, ancak yeterli yanıt alınmadı. Üç hastaya toplam 5 kez allojenik MKHN yapıldı. Hiçbir infüzyon sonrası komplikasyon gelişmedi. Üç hastanın da GvHH bulguları tamamen geriledi.

SONUÇ: Donörün erişkin yaşta ve kadın olmasının GvHH riskini ve şiddetini artırdığı düşünüldü. Mezenkimal kök hücre transplantının immünsüpresif tedavilere dirençli, ciddi mortalite riski taşıyan ve şiddetli seyir gösteren akut GvHH için etkili bir tedavi seçeneği olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Kombine immün yetmezlik, aGvHH, mezenkimal kök hücre nakli

P-043

Ref. No: 147

ATAKSİ TELENJEKTAZİLİ HASTALARIMIZIN KLİNİK VE LABORATUVAR ÖZELLİKLERİ

Bahar Göktürk¹, Sevgi Keleş¹, Mine Kırac¹, Şükrü Nail Güner¹, Hasibe Artaç², Ümrân Çalışkan³, Sevgi Pekcan⁴, İsmail Reisli¹

¹1. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Pediatrik İmmünoloji ve Allerji Bölümü, Konya

²2. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik İmmünoloji ve Allerji Bölümü, Konya

³3. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji ve Onkoloji Bilim Dalı, Konya

⁴4. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Pediatrik Göğüs Hastalıkları, Konya

GİRİŞ: Ataksi telenjektazi (AT), progresif serebellar ataksi, okülokutanöz telenjektazi, radyasyona artmış duyarlılık, lenfoid malignansilere yatkınlık ve değişken immünyetmezlik tablosuyla karakterize otozomal resesif kalıtılan primer immünyetmezliktir.

MATERYAL-METOD: 2002-2013 tarihleri arasında poliklinimizde AT tanısı alan 16 hastanın (11 erkek, 5 kız) dosyaları incelenerek klinik ve laboratuvar özellikleri kaydedildi.

BULGULAR: Hastaların hepsinde karakteristik yüz-postural özellikleri mevcutken, tonsil dokuları aplazik/hipoplazikti. Ortalama takip süresi 7.9 yıl, ortalama başvuru zamanı 8.2 yaştı. Büyüme-geriliği hastaların hepsinde belirgin bir özellikti. Tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar hastaların %81'inde, viral enfeksiyonlar %25'inde saptandı. Ağır viral enfeksiyonların varlığıyla T hücre absölu sayıları ilişkili bulundu ($p < 0.05$). Hipotiroidizm (n:1), osteoporoz (n:1), kronik blefarit (n:1) ve atopik dermatit (n:1) saptanan diğer bulgular. Hastalarda malignensi insidansı %12.5 iken, akrabalarında bu oran %7 idi. Beş hastada (%18.7) kronik akciğer hastalığı mevcuttu. Kronik akciğer hastalığı gelişimi için risk faktörü saptanamadı. Hastaların yarısında absölu lenfosit sayısı düştü. On bir (%68.7) hastanın IgG seviyesi düşükken, bu hastaların 7'sinde IVIG replasmanına ihtiyaç duyuldu. Bir hastada (%6.2) parsiyel IgM eksikliği saptandı. Beş hastada (%31.2) IVIG replasman sonrası düzelen IgM yüksekliği mevcuttu. Dokuz hastada (%56.2) selektif, 2 hastada taktipe gelişen parsiyel IgA eksikliği (%12.5) mevcuttu. On hastanın IgG altgrupları değerlendirilebildi ve bunların 8'inde IgG alt gruplarından en az birinde düşüklük saptandı. İzlemde 3 (%18.7) hasta kaybedildi. Kaybedilen 3 hastadan biri 10 yaşındayken disgerminoma, 14 yaşındayken posterior fossa tümörü tanısı almıştı. Bu hasta, hasta grubu içindeki

en düşük absölu lenfosit sayısına sahipti. İkinci kaybedilen olgu otoimmün lenfoproliferatif sendrom tanısı nedeniyle 7.5 yaşında kemoterapi alırken akciğer kanaması nedeniyle kaybedilmişti ve belirgin bir immün yetmezlik tablosu yoktu. Üçüncü olgu ise 17 yaşında pnömoni nedeniyle kaybedildi. Bir hastada lenfomayı taklit eden kendiliğinden düzelen lenfoproliferasyon görüldü.

SONUÇ: Ataksi telenjektazi henüz tedavisi olmayan bir hastalık olup, günümüzde bu hastalara sadece destek tedavisi verilmektedir. Otozomal resesif kalıtım nedeni ile bu ailelere mutlaka genetik danışmanlık verilmeli, yeni olguların ortaya çıkması engellenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Ataksi telenjektazi, malignensi, immün yetmezlik

P-044

Ref. No: 150

CD19 EKSİKLİĞİ İZOLE B HÜCRE YETMEZLİĞİ MİDİR?

İsmail Reisli¹, Sevgi Keleş¹, Mine Kırac¹, Bahar Göktürk¹, Şükrü Nail Güner¹, Zafer Çalışkaner²

¹1. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Konya

²2. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Erişkin İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Konya

GİRİŞ: CD19 eksikliği, tekrarlayan enfeksiyonlar, hipogammaglobulinemi, antikor eksikliği ve akım sitometride CD19(+)B hücrelerinin yokluğu ile karakterize otozomal resesif kalıtılan primer immün yetmezliktir. Literatürde ikisi Konya'dan olmak üzere toplam 7 vaka bildirilmiştir. Bugüne kadar tanımlanmış hastalardan edindiğimiz bilgiler hastalığın izole B hücre hastalığı olduğunu düşündürmektedir. Burada 12 yaşında tekrarlayan enfeksiyonlarla başvuran ve takibinin 1.yılından itibaren lenfopeni ve CD4(+) T hücrelerinde düşüklük gelişen CD19 mutasyonu olan bir hasta sunulmuştur.

OLGU: 12 yaşındaki erkek hasta 6 aylıktan beri, ayda bir defa tekrar eden, yılda 1-2 defa yatış gerektiren alt solunum yolu enfeksiyonu ve tekrarlayan kulak enfeksiyonu ile başvurdu. Anne ve babası aynı köyden olan hastanın kardeşleri sağlıklı idi. Hastanın kuzeni poliklinimizde CD19 eksikliği (CVID) nedeni ile takip ediliyordu. Laboratuvar incelemesinde immünglobulin (Ig) A, IgM, IgG düzeylerinde ve antikor yanıtlarında düşüklük tespit edildi. Akım sitometrik analizinde CD19(+) B hücrelerinin olmadığı CD20(+), CD22(+) B hücrelerinin ise düşük olduğu (%4) saptandı. Mutasyon analizi ile CD19 geninde kuzeni ile aynı mutasyon tespit edildi. Hastaya intravenöz immünglobulin (IVIG) replasman tedavisi başlandı.Çekilen toraks tomografisinde bronşiektazik değişiklikleri olan hastanın tedavisine inhale steroid eklendi. Hastada takibinin 1. yılından itibaren lenfopeni (900-1200/mm³) ve akım sitometrik analizlerinde CD4(+)T hücre oranında düşüklük (%14-18) gelişti. Hastanın CD4(+) ve CD8(+)T hücreleri PHA ile aktive edildiğinde CD25 aktivasyonunun da düşük olduğu izlendi. Hasta halen 3 haftada bir IVIG replasman tedavisi, antibiyotik profilaksisi ve inhale steroid ile genel durumu iyi olarak poliklinimizde takip edilmektedir.

SONUÇ: Konya'dan tanımlanan ilk hastanın takibinde otoimmün hastalık (SLE) gelişmesi ve ikinci olgumuzun takibinde lenfopeni ve yardımcı T hücrelerinde düşüklük gelişmesi bu hastalıkta T hücre yetmezliği/disregülasyonunun da görülebileceğini ve hastalığın izole B hücre yetmezliği olmadığına işaret etmektedir. Bu hastaların uzun süre izlemi hastalık hakkında bilgilerimizin artmasını sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: CD19 eksikliği, B hücre yetmezliği, T hücre yetmezliği

P-045

Ref. No: 137

PRİMER İMMÜN YETMEZLİKLERİN NADİR GÖRÜLEN HASTALIK GRUBU: KALITSAL KOMPLEMAN DEFECTİ TANISI ALAN OLGULARIMIZ

Ferah Genel, Nesrin Gülez

Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İmmünoloji Bölümü, İzmir

Kompleman sistemi, hem doğal hem de adaptif immün yanıtta görevli olup, 2 sistem arasında köprü kurmaktadır. Kalıtsal kompleman defektleri, primer immün yetmezliklerin içinde en nadir grup olup, tüm immün yetmezliklerin % 1-3'ünü oluşturmaktadır. Kırkbeşten fazla gen tarafından kodlanan kompleman proteinlerinin eksikliklerinin büyük bir çoğunluğu otozomal resesif kalımla geçmektedir. Erken komponentler dediğimiz C1-C4 eksikliğinde otoimmün hastalıklar ve piyogenik enfeksiyonlara eğilim artmıştır. Geç komponentler olan C5-C9 eksikliklerinde ise tekrarlayan Neisseria enfeksiyonların sıklığı artmaktadır. C3 eksikliğinde, tekrarlayan piyogenik enfeksiyonlar pnömoni, menenjit ve peritonit şeklinde görülebilir. C1 inhibitör eksikliği ise anjionörotik ödem ile karşımıza gelir.

Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi İmmünoloji Bölümünde 2003-2013 tarihleri arasında immün yetmezlik tanısıyla izlenen 700 olgudan 10'una (%1) kalıtsal kompleman defektli tanısı kondu. Yaş ortalaması $15,9 \pm 4,7$, semptomların başlama yaşı $7,1 \pm 2,6$, tanı yaşı $10,5 \pm 3,7$ yıl idi. Olguların 7'si (%70) kız, 3'ü (%30) erkekti. İki farklı aileden toplam 5 olgu (%50) C1 inhibitör eksikliği, 1 (%10) olgu C1q eksikliği, 1 (%10) olgu Faktör I eksikliği, 1 (%10) olgu Properdin eksikliği ve 2 (%20) olgu C8 eksikliği tanısı aldı. Olguların hepsinde ailede aynı hastalığa sahip birey öyküsü mevcuttu. Otozomal resesif kalıtılan C1q eksikliği ve Faktör I eksikliği olan olguların (%20) ebeveynleri arasında akrabalık mevcuttu.

C1 inhibitör eksikliği ile gelen olguların geliş şikayetleri zaman zaman eklemelerde, yüzde ve dudaklarda olan şişlikti, ailelerinde benzer şikayeti olan bireyler mevcuttu. C1q eksikliği olan olgumuzda tekrarlayan pnömoni, menenjit öyküleri vardı. Ailesinde başka C1q eksikliği saptanmadı. Faktör I eksikliği olan olgumuz Henoch Schönlein Vaskülit tanısıyla başvurmuştu. İzleminde membranoproliferatif glomerulonefrit gelişen olgumuzun 6 kardeşinden 5'inde Faktör I eksikliği saptandı. Properdin defektli olgumuzda ve abisinde tekrarlayan Neisseria menenjit öyküsü vardı. C8 eksikliği olan 2 kardeş olgularımızdan biri tekrarlayan Neisseria menenjit ile başvurmuşken diğeri sağlıklıydı. Literatür ile uyumlu bulguları olan olgularımız, otoimmün hastalıklar, piyogenik enfeksiyonlar ve tekrarlayan menenjitlerde, immün sistemde anahtar rol oynayan kompleman sistemi defektlerine dikkat çekmek için sunuldu.

Anahtar Kelimeler: Kalıtsal kompleman defektleri, C1q, C1 inhibitör, properdin, C8, Faktör I.

P-046

Ref. No: 143

CD3Y EKSİKLİĞİ VE OTOİMMÜNİTE BİRLİKTELİĞİ

Bahar Göktürk¹, Sevgi Keleş¹, Mine Kırac¹, Hüseyin Tokgöz², Şükrü Nail Güner¹, Ümrân Çalışkan², Zafer Çalışkaner³, Neil V Morgan⁴, Mirjam Van Der Burg⁵, Hasan Ali Yüksekaya⁶, İsmail Reisli¹

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Pediatrik İmmünoloji ve Allerji Bölümü, Konya

²Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji ve Onkoloji Bilim Dalı, Konya

³Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Erişkin İmmünoloji ve Allerji Bölümü, Konya

⁴Department of Medical and Molecular Genetics, School of Clinical and Experimental Medicine, University of Birmingham College of Medical and Dental Sciences, Institute of Biomedical Research, Edgbaston, Birmingham, United Kingdom

⁵Department of Immunology, Erasmus MC, University Medical Center Rotterdam, the Netherlands

⁶Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Pediatrik Gastroenteroloji Bölümü, Konya

GİRİŞ: CD3y eksikliği, otozomal resesif kalıtılan, nadir görülen bir T-hücre yetmezliğidir. Bu hastalar kombine immün yetmezlik kliniğinde başvurabildikleri gibi sadece otoimmünite ile de basvurabilir. Literatürde 2'si Konyadan olmak üzere toplam 6 vaka bildirilmiştir. Bildirilen olguların tümünde otoimmün hastalık mevcut olup, olguların üçü aile taraması sırasında tanı almıştır. Bu durum, otoimmün hastalıkların sık görüldüğü ailelerin CD3y eksikliği açısından taranması gerektiğini akla getirmektedir.

METOD: Polikliniğimizde CD3y eksikliği tanısı alan, farklı iki aileden 5 olgu, taşıyıcılar ve akrabalarındaki otoimmünite sıklığı araştırılmıştır. Taşıyıcılar ve otoimmünite tesbit edilen akrabalar immünolojik yönden tetkik edilmiştir.

BULGULAR: Olgularımızın tanı yaşları ortancası 11 yaş (14 ay-20 yaş), ortalama takip süresi 25 ay (12-44 ay) idi. Beş olgunun ailesi tarandığında 6 kişinin taşıyıcı olduğu saptandı. Otoimmün tiroidit, hastaların hepsinde, taşıyıcıların 4'ünde (%66.6) ve taşıyıcılık tespit edilmeyen 1 bireyde saptanırken, hastaların üçünde ayrıca otoimmün hemolitik anemi, otoimmün hepatit ve yaygın vitiligo saptandı. Hastaların akrabaları otoimmünite varlığı yönünden sorgulandığında, 4 kişide otoimmün tiroidit olduğu öğrenildi. Hastalar immünolojik yönden tetkik edildiğinde lenfopeni hastaların sadece 1'inde (steroid alırken) görüldü. Hastaların hepsinde CD3+T, CD3+CD8+T ve TCRαβ ekspresyon oranı düşükken, 3'ünde CD3+CD4+T hücre oranı düşük ve 4'ünde NK-hücre oranı yüksekti. Taşıyıcılar immünolojik olarak değerlendirildiğinde taşıyıcılar ve yaş uyumlu kontrol grubu arasında, lenfosit sayısı, CD3, TCRαβ, TCRγδ ekspresyonları bakımından istatistiki fark saptanmadı. Antinükleer antikor pozitifliği hastaların 3'ünde (%60), taşıyıcıların 2'sinde (%33.3), taşıyıcı olmayan bir bireyde ve taşıyıcı olup olmadığı bilinmeyen 5 bireyin 3'ünde (%60) saptandı. Bu 3 birey taşıyıcılık açısından halen analiz edilmektedir.

TARTIŞMA VE SONUÇ: Otoimmün tiroidit CD3y eksikliği olan hastalarda ve taşıyıcılarda en sık görülen otoimmün hastalıktır. Hastaların sadece otoimmünite ile başvurabilmeleri ve akrabalarında otoimmün hastalıkların sık görülmesi, otoimmün hastalıkların sık görüldüğü ailelerin CD3y eksikliği açısından taranması gerektiğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: CD3 gamma eksikliği, T hücre reseptörü, otoimmünite

P-047

Ref. No: 144

SÜT ÇOCUĞUNUN GEÇİCİ HIPOGAMAGLOBULİNEMİSİNDE TROMBOSİT DAĞILIM ARALIĞI (PDW) VE ORTALAMA TROMBOSİT HACMİ (MPV)

Hülya Özdemir, Ayça Ceylan, Hasibe Artaç

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Konya

GİRİŞ: Süt çocuğunun geçici hipogamaglobulinemisi (SGH), antikor üretiminde gecikmenin neden olduğu, patofizyolojisi tam anlaşılamamış bir primer immün yetmezliktir. Bu çalışmanın amacı, SGH'nın erken teşhisinde ve takibinde yol gösterici olabilecek bir belirleyici bulmaktır.

METOD: 2010-2012 yılları arasında SGH tanısı almış 38 hasta ve 30 sağlıklı kontrol çalışmaya alındı. Dosya kayıtları retrospektif

olarak incelendi. Tanı anındaki lökosit, lenfosit, nötrofil ve eosinofil sayıları ile trombosit dağılım aralığı (PDW) ve ortalama trombosit hacmi (MPV) değerleri kaydedildi. IgG düzeyi normale dönen SGH'lı olgular grup 1, takipte hipogamaglobulinemisi devam eden olgular grup 2 ve kontroller grup 3 olarak sınıflandırıldı.

BULGULAR: Olguların 16'sı kız, 22'si erkek olup tanı yaşları 6 ile 45 ay (ort±SD; 21.3±9.8), enfeksiyonların başlangıç yaşı 1 ile 30 ay (10.7±7.5) arasındaydı. En fazla başvuru nedenleri %71'inde tekrarlayan pnömoni ve/veya bronşit ve %37'sinde tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonları olarak belirlendi. Tüm olgularda IgG düşüklüğü mevcuttu. Hastaların 23'ünde IgG düzeyi takipte düzeldi ve düzelleme zamanı 9 ile 54 ay arasındaydı (30.1±11.2). Diğer SGH'lı 15 olgunun takip süresi 11 ile 27 ay arasında (12.2±6.1) olup hipogamaglobulineminin devam ettiği görüldü. Hipogamaglobulinemisi devam eden olgularda tanı anında lenfosit sayısının kontrollere göre daha yüksek olduğu saptandı (grup 2, 6552±1554/mm³; kontrollerde, 5103±2291/mm³, p<0.05). Trombosit sayısı, PDW ve MPV değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı.

SONUÇ: Bu çalışmada, halen hipogamaglobulinemisi devam eden olgularda tanı anında lenfosit sayısı yüksek bulunmuştur. SGH'lı hastaların takibinde düzelmeyi öngören çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: lenfosit sayısı, MPV, PDW, süt çocuğunun geçici hipogamaglobulinemisi

P-048

Ref. No: 105

PRİMER İMMÜN YETMEZLİK TANISI İLE TAKİP EDİLEN HASTALARIN RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ (BEŞ YILLIK DENEYİM)

Yasemin Kınalı Çetin¹, İsmail Reisli², Bahar Göktürk², Mine Kırac², Sevgi Keleş²

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Konya

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Çocuk Allerji ve İmmünoloji, Konya

GİRİŞ: Primer immün yetmezlik (PİY) immün sistem bileşenlerinin bir veya daha fazlasının bozukluğunun sonucu enfeksiyonlara karşı artmış duyarlılık, otoimmün hastalıklar ve malignite gelişimine yatkınlık ile karakterize bir grup heterojen kalıtsal bozukluktur. Bu çalışmanın amacı 2006 - 2011 yılları arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalında PİY tanısı konulan hastaların klinik, laboratuvar ve demografik özelliklerini retrospektif olarak değerlendirmektir.

MATERYAL-METOD: Bilim Dalımızda takip edilen 1163 PİY'li hastaya ait bilgiler, hastane dosyası ve takip kartlarındaki kayıtlar kullanılarak incelendi.

SONUÇ: 1163 hastanın 714'ü (%61,3) erkek, 449'u kız (%38,6) ve erkeklerin kızlara oranı 1.59 idi. Hastaların tanı yaşı ortalama 56,5 ay (1-996 ay), izlem süresi ortalama 12,1 ay ve tanıda gecikme süresi ortalama 27,4 ay (0-438 ay) idi. En sık, antikor eksikliğine bağlı immün yetmezlikler (%90,2) saptandı. Bunu sırasıyla diğer iyi tanımlanmış immün yetmezlik sendromları (%4,9), fagositer sistem bozuklukları (%0,34), kombin T ve B hücre immün yetmezlikleri (%2,5), immün sistemin regülasyon bozuklukları (%0,25), kompleman eksiklikleri (%0,5), Otoinflamatuvar hastalıklar (%1,02) ve doğal immün sistemde eksiklikle seyreden hastalıklar (%0,25) izliyordu.

Hastalarda tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE) %56,9, astım bulguları %42, tekrarlayan alt solunum yolu enfeksiyonu (ASYE) %17,2, tekrarlayan otitis media %13,7, sinüzit %7,1, gastroenterit %8,4, moniliyazis %11,6, idrar yolu enfeksiyonu (İYE) %3,4, alerjik deri bulguları %3,2, tekrarlayan cilt enfeksiyonu %3,2, tekrarlayan lenfadenit %4,5, sepsis %1,9, menenjit %0,2 oranında saptandı.

Hastaların anne babaları arasında akrabalık oranı %31,8 idi. Akraba evliliği oranı, AKİY'de %74, fagositer işlev bozukluğunda %66,7, YDİY'de %46,2 oranında saptandı. Hastaların %12,3'ünde kardeş ölüm hikayesi, %10'unun ailesinde ise PİY hikayesi vardı. %95,6 oranında antibiyotik profilaksisi ve %5,8(68) oranında IVIG desteği başlandı. Doksanbir (%7,8) hasta da kronik akciğer bulguları tesbit edildi. Hastalarımızdan 474'üne (%42,1) astım tanısı konuldu ve tedavisi düzenlendi. PİY hastalıklarında erken tanı yaşam kurtarıcı olabileceği gibi, uzun dönemde yaşam kalitesinin artırılmasını, genetik danışma ya da prenatal tanıyı olanaklı kılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Primer immün yetmezlikler, Akraba evliliği, Enfeksiyon

P-049

Ref. No: 80

İLAÇLA İLİŞKİLİ SEKONDER İMMÜN YETMEZLİK: ANTİEPİLEPTİK VE PERİFERİK KANDA B LENFOSİT YOKLUĞU

Hülya Özdemir¹, Hasibe Artaç¹, Onur Ural², Hakan Karabağlı³, Ahmet Zafer Çalıskaner⁴

¹Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Konya

²Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları AD, Konya

³Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi AD, Konya

⁴Necmettin Erbakan Üniversitesi, İç Hastalıkları AD, İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Konya

GİRİŞ: Antiepileptik ilaçların immün sistem üzerindeki çok sayıda yan etkisinden biri de, bazı olgularda B lenfositlerin sayısını azaltmak yoluyla immünglobulin düzeylerini düşürerek sekonder immün yetmezliklere neden olabilmeleridir.

OLGU: 45 yaşında bayan hasta hipofiz tümörü nedeniyle transnazal girişim ile opere edilmiş, operasyon sonrası gelişen rinore (BOS sızıntısı) nedeniyle tamir amaçlı ikinci operasyona gerek duyulmuş. Takiben hastada menenjit tablosu gelişmiş ve uygun antibiyotik tedavisine rağmen 1 aylık süre içinde klinik ve laboratuvar iyileşme olmayınca, "şimik menenjit" şüphesiyle kraniotomi yapılarak tekrar opere edilmiş. Bu kez de postoperatif epileptik ataklarla komplike olan hastaya antiepileptik tedavi (Levetiracetam) başlanmış. BOS sıvısında yüksek sayıda inflamatuvar hücre varlığının devam etmesi ve ateşli dönemler nedeniyle tekrarlayan menenjit atakları geçirdiği düşünülen hasta, immün yetmezlik ön tanısı ile kliniğimize refere edildi.

BULGULAR: Hastanın immünolojik değerlendirmesinde, IgG ve IgG1 düşüklüğü saptandı. Periferik kanda CD19⁺ B lenfositleri izlenmedi (<%2). Buna karşın diğer periferik lenfosit alt grupları normal sayılarda; nötrofil kemotaksis, fagositoz ve respiratuvar burst testleri normal sınırlarda idi. Spesifik antikor düzeyleri de normal olarak bulundu. Epileptik atakların kontrol edilmesi sonrasında antiepileptik ilaçlar kesildi. İki hafta sonra tekrarlanan tetkiklerinde B lenfosit oranlarının yükseldiği gözlemlendi (CD19⁺ B lenfosit: %4). Hasta klinik ve akım sitometrik olarak (B hücre sayısı) takip edilmektedir.

TARTIŞMA: Hipofiz cerrahisi öncesinde immün yetmezlik düşündürecek kişisel ve ailesel tıbbi öyküsü olmayan, spesifik antikor düzeylerinin de "önceki normal işlevli immün sistemi" işaret ettiği bu hastada, dura materin açıldığı her intrakraniyal cerrahide hemen her hastaya verilen antiepileptik ilaçlara bağlı "sekonder" immün yetmezlik gelişmiş olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antiepileptik ilaç, B hücre yokluğu, hipogamaglobulinemi, immün yetmezlik

P-050

Ref. No: 159

OTOZOMAL RESESİF HİES DOCK8 MUTASYONLU HASTALARIMIZ**Ferah Genel, Nesrin Gülez, Tekin H Nacaroglu, Canan Şule Karkiner, Demet Can***Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Alerji İmmünoloji Bölümü, İzmir*

Hiperimmünglobulin E sendromu (HES) serum immünglobulin E düzeyinde yükseklik, kronik ekzema, tekrarlayan stafilokok enfeksiyonları, pnömatosel, nötrofil kemotaksis bozukluğu ve değişken T hücre fonksiyon bozukluğu ile karakterize nadir bir primer immün yetmezliktir. Kombine immün yetmezlik grubu içinde kabul edilen bazı otozomal resesif formlarında, 2009'da DOCK8 mutasyonu tanımlanmıştır. Oğünden itibaren bu mutasyona sahip birçok otozomal resesif HİES hastaları bildirilmektedir. Bu grup hastalarda dikkat çeken özellikler dismorfik yüz görünümü, büyüme gelişme geriliği, ağır yaygın viral (molloscum contagiosum, HPV), bakteriyel ve mantar enfeksiyonları, artmış kutanöz malignite eğilimidir. Tek küratif tedavi ise kemik iliği transplantasyonudur. Ülkemiz açısından dikkat çekici diğer bir durum ise mutasyon saptanan hastalar arasında Türk hastaların çokluğudur. Burada İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi'nde DOCK8 mutasyonuna sahip otozomal resesif HİES tanısı alan ve üçünde akraba evliliği tanımlanan beş hasta değerlendirildi. Olguların ortalama yaşı, semptom yaşı ve tanı yaşı sırası ile 7,4±3,2, 5,5±1,1, 3,6±1,5 yıl idi. Tüm hastalarda başlıca yüz ve saçlı deride olmak üzere ekzematöz dermatit, yineleyen bakteriyel deri ve akciğer enfeksiyonları izlendi. Kutanöz viral enfeksiyonlar ve tırnaklarda kronik kandidiyazis 1 hastada saptandı. Bir hastada yaygın papillomlar var iken bir hastada otoimmün karaciğer hastalığı gelişti. Tüm hastaların serum IgE düzeyi yüksekti. Hipererozinofili ve CD4 lenfopeni tüm hastalarda bulunmaktaydı. IgM düşüklüğü diğer ortak özellikleri idi. Phagoburst testleri ise normal düzeylerde idi. Ortalama NIH skoru 39 olarak bulundu. Antibakteriyel ve antifungal profilaksi ile immünglobulin replasman tedavisi tüm hastalara uygulanırken yaygın papillomlar ile başvuran bir hastaya interferon alfa tedavisi uygulandı. Tüm hastalar hematopoeitik kök hücre transplantasyonu açısından değerlendirilerek bu yönden izleme alındı.

Akraba evliliğinin yaygın olduğu ve otozomal resesif geçişli hastalıkların rölatif yüksek beklenebileceği ülkemizde erken yaşta ağır enfeksiyonlar ve atopi varlığında otozomal resesif HİES DOCK8 mutasyonu aklımıza gelmelidir. Erken tanı ile hastanın daha iyi koşullarda kemik iliği transplantasyonu ve tam iyileşme mümkün olabilir.

Anahtar Kelimeler: hiperimmünglobulin E, dock8, immün yetmezlik

P-051

Ref. No: 57

KRONİK GRANÜLOMATÖZ HASTALIK TANILI ÜÇ OLGU**Can Öztürk¹, Sümer Sütçüoğlu², Şükran Köse³***¹Sağlık Bakanlığı Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk İmmünoloji ve Romatoloji, İzmir**²Sağlık Bakanlığı Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Klinikleri, İzmir**³Sağlık Bakanlığı Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve İmmünoloji, İzmir*

AMAÇ: Kronik granülomatöz hastalık (KGH), nadir görülen genetik geçişli bir nötrofil fonksiyon bozukluğu olup erken sütçocukluğu döneminde başlayan yineleyen katalaz-pozitif bakteri ve mantar enfeksiyonları ile tanınır. KGH'lı hastalarda pnömoni, abseler, sü-püratif adenit, osteomyelit, sellülit, sepsisemi, menenjit, jinjivit

ve periodontit olabilir. Bu sunumda, yedi yıllık sürede tanı alan üç olgunun, klinik ve laboratuvar bulguları ile tedavi sonuçlarının bildirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Kronik granülomatöz hastalık tanılı üç olgunun klinik izlem dosyaları geriye dönük tarandı. Olguların belirti ve tanı yaşları, başvuru yakınmaları, anne-baba akrabalığı, ailede benzer hastalık veya ölüm öyküsü, fizik muayene bulguları, tanı yöntemleri, takipte ve tedavide karşılaşılan sorunlar incelendi.

BULGULAR: Üç olguda semptomların bir yaşından önce başladığı, hastalık tanısının tüm hastalarda iki yaşından sonra konduğu belirlendi. İki olguda, başvuruda lenfadenomegali, apse, septik artritis, osteomyelit, pnömoni tanımlanırken, üçüncü olguda bunlara ek olarak karaciğer apsesi tespit edildi. Üçü de erkek olan olguların oksidatif patlama testleri patolojikti. Akraba evliliği tanımlanmayan olguların sadece birinde ailede benzer hastalık öyküsü vardı. X'e bağlı geçiş saptanan bu olguda uygulanan tedaviye (itrakonazol, TM-SMX ve interferon-γ) karşın klinik bulgular diğer olgulara göre daha ağır seyirli idi. Kök hücre nakli planlanan olgu, bu uygulamaya öncesinde beş yaşında yaygın tüberkülozdan kaybedildi. Profilaktik tedavi uygulanan 14 ve 18 yaşlarındaki iki olgu sekelsiz olarak izlenmektedir.

SONUÇ: Tekrarlayan ve dirençli enfeksiyonları olan hastalarda, akraba evliliği ve ailede benzer hastalık öyküsü olmaksızın KGH görülebileceği düşünülmeli, erken tanı ve uygun tedavi ile kalıcı sekellerin önlenilebileceği akılda tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Kronik granülomatöz hastalık, çocukluk çağı

P-052

Ref. No: 12

CD40 EKSPRESYONU NEGATİF BİR HİPER İMMÜNOGLOBULİN M SENDROMU OLGUSU**Suzan Çınar¹, Çağdaş Uğur Adaş¹, Selda Hancerli Törün², Ayper Somer², Günnur Deniz¹***¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji AD, İstanbul**²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, İstanbul*

Hiper immünoglobulin M (HlgM) sendromu, serum IgM seviyesi normal veya yüksek ancak IgM üretimini IgG, IgA veya IgE'ye dönüştürememe sonucu IgG ve IgA düzeyleri düşük seyreden Primer immün yetersizlik hastalıklarından biridir. HlgM'e neden olan genetik bozukluklardan en yaygını, üretimi X kromozomunda bulunan CD40L geni tarafından düzenlenen, aktive T hücre yüzeyindeki CD40 ligand (CD40L veya CD154) adı verilen proteinin bozuk veya yetersiz ekspresyonudur. Sadece erkek çocukları etkileyen bu hastalığa X'e bağlı HlgM denilmektedir. Otozomal geçiş gösteren diğer HlgM formları hem kız hem de erkek olgularda gözlenmektedir. CD40 sinyal yolağını yöneten genlerdeki defektler, diğer immün sistem hücrelerinde CD40 bulunmaması veya işlevsiz olması, B hücresinin izotip kayma yapmasını sağlayan AID ve UNG genlerinde defektler HlgM'e neden olmaktadır. Otozomal HlgM ön tanısıyla laboratuvarımıza gönderilen kız olguda Flow sitometri ile saptanan CD40 negatif ekspresyon bulgularının paylaşımı amaçlanmıştır. HlgM öntanısı almış 6 yaşındaki kız olgudan alınan heparinli periferik kan örneği anti-CD45, -CD19, -CD20, -CD40 monoklonal antikorları ile işaretlendikten sonra lize et-yıkı yöntemiyle hazırlanmış, B hücrelerindeki CD40 ekspresyonu FACSCalibur flow sitometri cihazında CellQuest yazılımı ile saptanmıştır. Kontrol olarak sağlıklı erişkin olgu periferik kan örneği ve anti-CD40 monoklonal antikor floresans kontrolü için CompBead boncukları eş zamanlı olarak boyanmış ve değerlendirilmiştir.

Sağlıklı erişkin olguda CD40 ekspresyonu saptanmış, HlgM ön tanılı kız olguda ise B hücrelerinde CD40 ekspresyonu gözlen-

memiştir. Deney bir gün sonra ikinci kere tekrarlanarak bulgular doğrulanmıştır.

HlgM düşünülen kız olgularda otozomal resesif geçiş göz önüne alınarak, CD40 ekspresyonu flow sitometri ile incelenmelidir. Eğer olguda CD40 ekspresyonu varsa AID, UNG gibi HlgM'in otozomal geçişinden sorumlu genlerde mutasyon araştırılmalıdır. Bu olguda B hücrelerinde CD40 ekspresyonu yoktur. Bundan sonraki aşama CD40 molekülünü kodlayan gen bölgesinde mutasyon olup olmadığını araştırmaktır.

Anahtar Kelimeler: Primer İmmünyetersizlik, Hiper IgM sendromu, CD40, otozomal

P-053

Ref. No: 149

SON 5 YILDA TANI ALAN AKİY' Lİ HASTALARIMIZIN ÖZELLİKLERİ

Yasemin Kınalı Çetin¹, İsmail Reisli², Bahar Göktürk², Mine Kırac², Sevgi Keleş²

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Konya
²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Çocuk Allerji ve İmmünoloji, Konya

GİRİŞ: Ağır kombine immün yetmezlik sendromu (AKİY), T ve B lenfosit fonksiyonlarında yetmezlikle karakterize bir grup heterojen hastalığı temsil eder.

MATERYAL-METOD: Çocuk İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalında Aralık 2006-Aralık 2011 tarihleri arasında AKİY tanısı ile takip edilen hastaların dosya kayıtları retrospektif olarak incelenmiştir.

BULGULAR: AKİY tanısı alan 23 hastanın (10K/13E) ortalama tanı yaşı 9,3±10,3 ay (1-24 ay), şimdiki ortalama yaş 34±20,6 ay (5-227 ay), ortalama tanıda gecikme 3,5±5,7ay(0-21 ay) idi. 23 hastanın 17'inde (%74) akraba evliliği mevcuttu. Bunlardan 13'ü (%52) 1. derece idi. Periferik kan lenfosit alt gruplarında 13 hastanın T-B-NK⁺, 2 hastanın T-B⁺NK⁺, 2 hastanın T-B⁺NK⁻, 6 hastanın T-B⁺NK⁻ olduğu tespit edildi. Bu hastaların 9'unda mutasyon çalışılabilir; ADA enzim eksikliği (n=2), RAG2 mutasyonu (n=1), JAK-3 mutasyonu (n=2), tip III BLS (n=1), X-linked SCİD (n=1), ARTEMİS gen defekti (n=2) olduğu saptandı. Hastaların başvuru anında saptanan klinik bulgularına göre ASYE %69 (16), moniliiazis %73 (17), gastroenterit %56 (13), sepsis %39 (9) oranında idi. 9 (%39) hastada büyüme ve gelişme geriliği, 20 (%86) hastada da lenfopeni saptandı. BCG enfeksiyonu %13 oranında, timus yokluğu %83.3 (20) oranında gözlemlendi. Sekiz hastamızda kronik akciğer hastalığı vardı. Tüm hastalara İVİG profilaksisi, TMP-SMX ve antifungal profilaksi başlandı. AKİY tanısı ile takip ettiğimiz 12/23 hastaya KHN yapıldı. Bu hastaların 8/12'ü T-B-AKİY, 4/12'ü T-B⁺AKİY olup bu hastalarımızdan kaybedilen olmadı. AKİY tanısı alan tüm hastalarımızdan onu kemik iliği transplantasyonu yapılamadan kaybedildi, bir hastamız da ADA enzim tedavisi alarak KHN için beklemektedir.

SONUÇ: Bölgemizde akraba evliliği oranı yüksek olduğundan AKİY'in T-B-NK⁺ tipi literatürden daha yüksek oranda görülmektedir. Ancak primer immün yetmezlik taraması yapılmamaktadır. Hastalığın erken tanısı ve tedavisi için, AKİY tarama programları başlatılmalıdır. Ayrıca erken tanı konularak moleküler defektin gösterilmesi genetik danışma ve prenatal tanı için de gereklidir. Genetik defekti bilinen vakalarda yeni gebeliklerde amniyosentez ve koryon villus örneklemesi ile prenatal tanı yapılabilir.

Anahtar Kelimeler: Ağır kombine immün yetmezlik, akraba evliliği, Primer immün yetmezlik tarama programı

P-054

Ref. No: 106

KALITSAL KOMPLEMAN 8 EKSİKLİĞİ: TEKRARLAYAN MENENJİT İLE BAŞVURAN OLGU VE SAĞLIKLI KARDEŞ

Nesrin Gülez, Ferah Genel

Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Pediatrik İmmünoloji Bölümü, İzmir

Kompleman sistemi doğal bağışıklığın önemli bir bileşeni ve adaptif bağışıklığın da önemli bir efektörü olup dolaşan ve membran ile ilişkili 30'dan fazla proteinden oluşur. Kompleman alt birimleri, reseptörleri ve düzenleyici proteinleri kodlayan 45'den fazla gen tespit edilmiştir. Kompleman aktivasyonu 3 ana yoluyla izleyerek gerçekleşir. Klasik yol, lektin yolu ve alternatif yol. Tüm bu yollar C5'in ve sonunda membran atak yolunun aktivasyonuna yol açar. Bu yolda oluşan Membran atak kompleksi (MAC) 5 terminal kompleman proteininden oluşur. (C5a, C6, C7, C8, C9). MAC formasyonu ile özellikle gram (-) bakterilerin lizisi gerçekleşir. Terminal kompleman komponentlerinin genetik defektleri, genelde 10 yaştan sonra ortaya çıkan, Neisseria gibi gram (-) bakterilerin neden olduğu tekrarlayan sistemik enfeksiyonlara yol açar. Günümüze kadar Hispanikler, Kafkaslar, Tunuslular ve Japonlar'da olmak üzere 30 kadar hastada C8 eksikliği tanımlanmıştır.

Yüksek ateş ve vücudunda yaygın mor renli döküntüler ile hastanemize başvuran 7 yaşında kız olgu meningokoksik menenjit tanısı aldı. Beş yaşında da meningokoksik menenjit tanısı ile izlendiği ve 1 kız kardeşinin 3 yaşında menenjit nedeni ile öldüğü öğrenildi. Anne baba arasında akrabalık yoktu ve 2 sağlıklı kızkardeşi mevcuttu. Yapılan laboratuvar tetkiklerinde serumda klasik yol kompleman hemolitik aktivite (CH50) ve C8 saptanamadı. On sekiz yaşında olan kardeşin CH50 ve C8 düzeyi normal iken, 9 yaşında olan diğer kızkardeşte de CH50 ve C8 serumda saptanmadı. Kalıtsal C8 eksikliği tanısı alan olgumuz ve kızkardeşine meningokok ve pnömokok aşılması yapıldı, penisilin profilaksi başlandı. Genetik analizleri yurtdışında devam eden olgular, Türkiye'de saptanan ilk vakalar olmaları nedeni ile sunuldu.

Anahtar Kelimeler: Kompleman sistemi, C8, meningokok menenjit

İMMÜNOLOJİDE YENİLİKLER

P-057

Ref. No: 60

KRONİK KALP YETMEZLİĞİNDE BÖBREK HASARI BELİRTECİ: SİSTATİN-C

Nilgün Işıksağan¹, Mehmet Ertürk², Murat Koşer¹, İbrahim Faruk Aktürk², Serkan Yazan², Mehmet Rifat Yıldırım², İhsan Bakır³

¹İstanbul Mehmet Akif Göğüs, Kalp ve damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya

²İstanbul Mehmet Akif Göğüs, Kalp ve damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji

³TKHK İstanbul Bakırköy Bölgesi Genel Sekreteri

Kronik kalp yetersizliğinde (KKY) New York Heart Association (NYHA) sınıflaması güçlü bir prognoz göstergesi ve risk belirleyicisi olmaktadır. NYHA sınıflamasında fonksiyonel sınıf derecesi yükseldikçe mortalite oranı artmaktadır. KKY'de renal disfonksiyon sıkça eşlik etmektedir. Sistatin-C böbrek fonksiyonlarının tespitinde önemli rolü olan 13 kDa ağırlığında, nükleuslu hücrelerden salgılanan, böbreklerde glomerulus ve proksimal tübülde metabolize edilen bir proteindir. Bu çalışmada NYHA sınıflamasına göre gruplandırılan kalp yetmezliği hastalarının Sistatin-C düzeyleri ile arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Bu çalışmaya kardiyoloji polikliniğine ayaktan başvuran KKY tanısı konmuş, yaş ortalamaları 67 ± 12 yıl olan toplam 100 hasta

alınmıştır. Hastalar fonksiyonel kapasitelerine göre NYHA sınıfılaması kullanılarak 4 gruba ayrılmıştır. Hastaların gruplara göre dağılımı Sınıf I 24(%24.8) (ort. yaş 64 ±11 yıl), sınıf II 32(%31.7) (ort. yaş 67 ± 12 yıl), sınıf III 28(%27.7) (ort. yaş 71 ± 1 yıl) ve sınıf IV 16(%15.8) (ort. yaş 70 ± 11 yıl) hasta şeklindedir. Yerel etik kurul onayı alınan çalışmada sistatin-C ölçümü kemilüminesans metod ile Architect i2000 cihazında gerçekleştirilmiştir. Sistatin-C düzeyleri sınıf I'de 1.20 ± 0.2, sınıf II'de 1.36 ± 0.2, sınıf III'te 1.60 ± 0.24, sınıf IV'te ise 2.31 ± 0.7 olarak saptanmıştır. Sistatin-C düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında, sınıf derecesi yükseldikçe Sistatin-C düzeylerinin arttığı saptanmış ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir, sırasıyla; sınıf I ve III (p<0.001), sınıf I ve IV (p<0.001), sınıf II ve IV (p<0.001), sınıf III ve IV (p<0.001).

Spearman korelasyon analizinde Sistatin-C düzeyleri ile hastaların fonksiyonel kapasiteleri arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır (r=0.606 p<0.001). Sistein proteazlar üzerine inhibitör etki göstererek proteolitik doku hasarına karşı koruyucu rol oynayan Sistatin-C'nin akut faz proteini olmamasına karşılık, doku hasarı ve immün yanıtlar ile doğrudan ilişkisi ortaya konmuştur. Hücrel immünitenin hasar görmesi ile Sistatin-C kanda birikmektedir. Bu çalışmada KKY derecesi ile doğru orantılı olarak Sistatin-C düzeylerinde artış gözlenmektedir. Bulgularımız bu testin KKY'li hastalarda böbrek hasarının tespitinde bilgi verici bir belirteç olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: KKY, NYHA, Sistatin-C

P-058

Ref. No: 53

ANTI-DROG ANTİKORLAR VE KLİNİK ÖNEMİ: MULTIPL SKLEREZ'DA ANTI-INTERFERON BETA ANTİKORLARI DENEYİMİ

Bülent Çakal¹, Selim Badur², Aksel Siva³

¹İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü

²İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fak. Mikrobiyoloji AD

³İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fak. Nöroloji AD

Biyoterapötikler günümüzde başta kanser ve Multipl skleroz (MS) gibi patogenezinde immünolojik mekanizmalardaki aksaklıkların kritik rol oynadığı hastalıkların tedavisi amacıyla sıklıkla kullanıma karşın, potansiyel immünojeniteleri nedeniyle hastaların bir kısmında özellikle nötralizan etkinliğe sahip anti-drog antikorlarının (ADA) gelişmesi ise tedavi etkinliğini olumsuz yönde etkileyebilen önemli faktörlerden biridir. ADA'lara ilişkin gerek bilimsel gerekse klinik veri ve deneyimler MS'de Anti-İnterferon beta (Anti-IFNβ) antikorları üzerinde yoğunlaşmıştır. MS'li hastalarda IFNβ tedavisi sırasında oluşan özellikle yüksek titrede ve kalıcı nitelikteki nötralizan antikorların (NAB); NAB negatif hasta gruplarına göre, radyolojik olarak lezyon yükünde artışa, klinik olarak relaps şiddeti, hızı ve oranında artışa, remisyon sürelerinde kısalmalara, tartışmalı olmakla birlikte hastalığın özüllülük düzeyi ve progresyonunda da artışa neden olarak, IFNβ'nın tedavi etkinliğinin azalmasına ve/veya tamamen yok olmasına neden olabildiği bildirilmektedir. Bu nedenle IFNβ ile tedavi edilen MS'li hastalarda, anti-IFNβ antikorlarının neden olabildiği tedavi başarısızlığının önlenmesi ve daha etkin tedavi stratejileri geliştirmek amacıyla, hastalarda anti-IFNβ antikorlarının ve/ya bu antikorlar ile ilişkili *in vivo* biyolojik aktivite kaybının belirlenmesini içeren laboratuvar yöntemleri ile tanı ve izleminin yararlı ve gerekli olduğu genel bir kabul görmesine karşın bu antikorların yada biyoaktivite kaybı saptanan hastaların tedavilerinin bir başka tedavi seçeneği ile değiştirilmesi konusunda henüz net bir uzlaşma yoktur. Tartışmalar bu amaçla kullanılacak laboratuvar metod ve yöntemlerin yanında ağırlıklı olarak anti-IFNβ antikorlarının IFNβ'nın tedavi yararı üzerindeki etkinliğini değerlendirmede kullanılacak objektif ölçümlerin sınırlı olmasından kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla rutin klinik pratikte henüz; IFNβ tedavisi alan MS'li hastalarda anti-IFNβ

antikorlarına ilişkin laboratuvar verilerinin klinik uyarlanımı ilişkin henüz net bir uzlaşma mevcut değildir. Buna karşın, anti-IFNβ antikorlarının ve/ya *in vivo* biyolojik aktivite kaybının belirlenmesini içeren laboratuvar verilerinin özellikle bireysel bazda gerek hastaların tedavi yanıtlarının daha objektif ve daha etkin bir şekilde değerlendirilip planlanmasında, gerekse olası komplikasyonların engellenmesi, ekonomik ve etik açılarından, hastanın diğer tüm klinik verileri ile birlikte kullanıldığında, kritik öneme sahip yardımcı biyolojik belirteçler olarak, rutin pratikte analiz edilmesi yararlıdır.

Anahtar Kelimeler: Anti-Drog antikor, biyoterapötik, immünojenite, tolerans, multipl skleroz, interferon-beta.

P-059

Ref. No: 122

CpG OLIGODEOKSİNÜKLEOTİD/KATYONİK PEPTİD NANOHALKALARIN İMMÜNOTERAPÖTİK AJANLAR OLARAK KULLANIMI

Bilgi Güngör¹, Fuat Cem Yağcı², Gizem Tinçer², İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹

¹Biyolojik Bilimler Departmanı, Orta Doğu Teknik Üniversitesi

²Moleküler Biyoloji ve Genetik Departmanı, Bilkent Üniversitesi

CpG içeren sentetik oligodeoksinnükleotidler (ODN), bakteri DNA'sının aktivitesini taklit ederek Toll benzeri almaç 9 (TLR9) yoluyla üzerinden güçlü bir proinflatuvar yanıt oluşturmalar. Bugüne dek yapılan klinik denemelerin çoğu K tipi ODN olarak bilinen TLR9 agonisti ile yapılmıştır. Diğer bir ODN tipi olan D ODN G-kuadrupleks yapıdadır ve tip I interferon üretimine neden olur. Ancak agregat oluşturan D-ODNler, ilaç üretimi koşullarına uymadıkları için terapötik potansiyelleri klinik çalışmalarca test edilememiştir. Bu çalışmada, kısa bir K tipi ODN in ve HIV den türetilmiş katyonik bir peptid olan Tat(47-57) in biraraya gelerek nükleazlara dirençli nanohalkalar oluşturduğu ve bu halkaların D tipi ODN e benzer şekilde, insan kan hücrelerinden yüksek miktarda tip I interferon salgılanmasına yol açtığı gösterilmektedir. Ayrıca plazmasitoid dendritik hücrelerden IFN alfa üretilmesine yol açan nanohalkalar buna uygun olarak erken endozomlarda lokalize olmaktadır. Sonuç olarak, immünoestimulan özellikteki bu nanohalkaların klinik uygulamalara yönelik anti-viral ve anti-kanser ajanlar ve aşı adjuvantları olarak D tipi ODNler yerine kullanılabilecekleri düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: nanohalka, CpG ODN, TLR 9, IFNa, Tat peptid

P-060

Ref. No: 86

KAN VE HÜCRE SÜSPANSİYONU ÖRNEKLERİNDEN RNA ELDESİ İÇİN KULLANILAN KİTLERLE DÜŞÜK FİBRİNLİ DOKU ÖRNEKLERİNDEN RNA İZOLASYONU

Özgür Albayrak¹, Gülderen Yanıkkaya Demirel², Zehra Eren³, Fatma Tuba Akdeniz⁴, Gökhan Terzioğlu⁴

¹Yeditepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Yüksek Lisans Programı

²Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD

³Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Nefroloji Bölümü

⁴Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Hematoloji Bölümü Kök Hücre Laboratuvarı

Fibrinli dokulardan yüksek saflıkta RNA izolasyonunun her zaman mümkün olmaması, izolasyon sonrasındaki işlemler için kısıtlayıcı olmaktadır. Bunun nedenleri; manuel lizis tamponlarının optimizasyonunda sorunlar ve dokunun yüksek protein içeriği nedeniyle homojenize olamamasıdır. Bistürilerle doku parçalama veya şırınga ile homojenizasyonun yanı sıra RNA izolasyonunda standart olan Guanidin İzotiyosiyon (TriReagent - Invitrogen, Sigma etc) organik kontaminasyonu RNA kalitesini düşürmektedir, ayrıca dokudan RNA izolasyonu için maliyetin yüksek olması da bir

sorundur. Çalışmamızda, dokudan RNA izolasyon kitlerinden daha ucuz olan, kan ve hücreden RNA izole etmekte kullanılan RNA izolasyon kiti (Roche High Pure, CH) optimize edilerek böbrek dokusundan RNA izole edilmiş, bu örneklerden cDNA elde edilerek GZ-PZR işlemleri yapılmıştır. Bu RNA izolasyon kiti ve TriReagent kullanılarak izole edilen RNA örneklerinde TriReagent ile yüksek konsantrasyon elde edilmesine rağmen (TriReagent 490,6 ng/μl ± 216,46; High Pure 62,53 ng/μl ± 34,74). High Pure kiti kullanılarak elde edilen RNA izolatları, TriReagent ile elde edilenlere göre daha saf olarak elde edilmiştir (Absorbans ölçümleri; High Pure 1,96 ± 0,15; TriReagent 1,34 ± 0,46). Dört farklı madde ile uyarım yapılarak sıçanlardan elde edilen RNA örneklerinde High Pure kiti ile TriReagenta göre daha düşük konsantrasyonda ürün elde edilmesine rağmen, RNA saflığı tümünde High Pure kiti ile daha yüksektir (p=0,0017, p=0,0090, p=0,0495, p=0,0090). Her iki yöntemle izole edilen RNA'lardan elde edilen cDNA örneklerinde konsantrasyon, saflık bakımından bazı gruplar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, diğer gruplarda farklılık görülmemiştir. Yapılan GZ-PZR tepkimelerinde Roche High Pure kiti ile elde edilen RNA örnekleri daha kaliteli sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır. Sonuçta, böbrek, dalak, beyin ve karaciğer gibi düşük fibrinli dokularda Roche High Pure izolasyon kiti, dokudan RNA izolasyon kitleri ya da TriReagent protokolü gerektirmeden, ortalama konsantrasyonda ve yüksek saflıkta RNA izolasyonu yapılmasını sağlamakta, elde edilen cDNA örnekleri GZ-PZR işlemlerinde rahatlıkla kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Doku, RNA, İzolasyon, Kit, TriReagent

NÖROİMMÜNOLOJİ

P-061

Ref. No: 130

DENEYSEL OTOİMMÜN ENSEFALOMİYELIT İMMÜNOPATOGENEZİNDE NÖTROFİLLERİN ROLÜ

Ahmet Kasım Kılıç¹, Güneş Esendağlı², Güliz Sayat¹, Beril Talim³, Dicle Güç², Rana Karabudak¹, Aslı Tuncer Kurne¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Bilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri AD, Pediatrik Patoloji Ünitesi

AMAÇ: Edinilmiş bağışıklık multiple skleroz (MS) immünopatogenezinde kritik önem taşımaktadır. Diğer taraftan, doğal bağışıklık elemanlarının bu süreci desteklediği yönünde bilgiler artmaktadır. Bu çalışma otoimmün inflamasyonun erken fazında nötrofillerin de rol oynadığı hipotezine dayanmaktadır. Bu amaçla, N-formilmetionil-lösil-fenilalanin (fMLP) ile uyarılan nötrofillerin deneysel otoimmün ensefalomyelit (DOE) hastalık modeli üzerine etkileri araştırılmıştır.

YÖNTEM: MOG35-55 peptid antijen, pertussis toksin ve complete freunds adjuvan ile C57BL/6 fareler immünize edilmiştir. fMLP ile ek uyarım yapılan bir grup da oluşturuldu. Splenik nötrofil düzeyi, CXCR1 ve CXCR2 kemokin reseptörleri akım sitometri ile değerlendirildi. Serum ve merkezi sinir sistemi dokularında inflamatuvar sitokinlerin varlığı ELISA array ve RT-PCR ile belirlendi. Hastalığın klinik değerlendirilmesi ve histopatolojik analizler gerçekleştirildi.

SONUÇLAR: fMLP verilen DOE grubunda kinik skorlar fMLP verilmeyen gruba göre daha yüksek ve ağır olarak seyretti. CXCR1/CXCR2(+) nötrofil düzeylerinin fMLP verildikten sonraki erken dönemde arttığı görüldü. Özellikle, beyin örneklerinde TNF-a ve CXCL1 ekspresyonu fMLP ile artmıştır. Serum örneklerinde ise erken dönemde IL-12, IL-13 ve IL-17A'nın yanı sıra, özellikle IL-2 artışı dikkati çekmiştir. Histopatolojik örneklerde fMLP verilen grupta beyin ve spinal kord örneklerinde nötrofil infiltrasyonu mononükleer hücreler birlikteliğinde görülmüştür. Bulgularımız, T

hücre aracılığı ile gerçekleştiği bilinen MS immünopatogenezinde doğal immün sistemin ve nötrofillerin de etkisi olabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Deneysel otoimmün ensefalomyelit, nötrofil, multipl skleroz, fMLP

P-062

Ref. No: 131

MYASTHENİA GRAVİS'DE CD4+ T HÜCRE YÖNELİMİNİN BELİRLENMESİ

Vuslat Yılmaz¹, Piraye Oflazer², Fikret Aysal³, Yeşim Gülşen Parman², Haner Direskeneli⁴, Feza Deymeer², Güher Saruhan Direskeneli¹

¹İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, İstanbul

²İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, İstanbul

³Bakırköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi Nöroloji Kliniği, İstanbul

⁴Marmara Üniversitesi, Marmara Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, İstanbul

Myasthenia gravis (MG)'de, hastaların % 85-90'nda asetil kolin reseptörüne karşı otoantikor (AChR-MG) gelişirken, bu antikoru gösterilemeyen seronegatif hastaların (SN) bir grubunda da kasa özgü kinaza (MuSK) karşı antikor (MuSK-MG) bulunabilmektedir. MG verileri, hastalık patogenezinde Tip 1 yardımcı T hücresi (Th1) ve Tip 2 yardımcı T hücresinden (Th2) salgılanan sitokinlerin etkisini ve regülatör T hücre (Treg) fonksiyonlarının baskılandığını göstermektedir. Foliküler yardımcı T hücresi (TFH) ve interlökin (IL)-17 salgılayan yardımcı T hücre (Th17) gruplarına dair veriler ise sınırlıdır. Bu çalışma, MG'de yardımcı T hücre alt tiplerinin etkinliğini değerlendirmeyi ve romatoid artrit (RA) ile karşılaştırmayı amaçlamaktadır.

Çalışma grubu 30 MG (K/E:19/11, yaş:40,1±16) (8 AChR-MG, 10 MuSK-MG ve 12 SN-MG), 8 RA (K/E:6/2, yaş:54±13) ve 6 sağlıklı kontrolden (KON, K/E:3/3, yaş:46,3±4,2) oluşuyordu. MG hastalarının % 57'si immünoşüpresan kullanmaktaydı. Periferik kandan pozitif seçilen CD4+T hücrelerinde, relatif kantitasyon için RT-PCR ile T hücre yönelimini sağlayan TBET, GATA3, RORγ, FOXP3 BCL6 transkripsiyon faktörleri ve IFNG, IL10, IL21 sitokinlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri GAPDH genine göre değerlendirildi.

Transkripsiyon faktörlerinden Th2'ye özgü GATA3 ekspresyonu, MG grubunda KON'dan düşük (p=0,005), RA'dan yüksekti (p=0,001). TBET ve RORγ ekspresyonları MG grubunda KON'dan düşük olmasına rağmen, BCL6 düzeyinin RA ve MG grubunda anlamlılığa ulaşmayan artışı gözlemlendi. RA grubundaki RORγ ekspresyon düzeyi ise MG ve KON grubundan anlamlı olarak düşüktü (p=0,007 ve p=0,03). CD4+T hücrelerindeki IL21, IL10 ve IFNGagen ekspresyon düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermedi. İmmünoşüpresan kullanmayan MG ve alt grupları ile KON arasında bu gen ekspresyonlarında fark yoktu. Ancak bu MG grubunda FOXP3 ekspresyonunun KON'dan düşük olması (p=0,036) Treg hücre grubunun hastalıktaki rolüne işaret etmektedir.

Hastalık patogenezinde T hücre alt tiplerinin etkisini belirlemeyi hedeflediğimiz bu çalışmada, seçilen belirteçler arasından GATA3 ekspresyon düzeyinin MG grubunda düşük olması, antikor yanıtının ön planda olduğu bu hastalıkta Th2 baskılanmasını ve FOXP3 ekspresyonunun düşüklüğü ise Treg hücrelerinin bozukluğu ile antikor yanıtının baskılanamamasına işaret edebilir. Çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: CD4+T hücresi, Myasthenia gravis, transkripsiyon faktörleri

P-063

Ref. No: 30

MULTİPLE SKLEROZ HASTALARINDA UCP2 GENİNİN MUHTEMEL ROLÜ

Ali Bayram¹, Mehri İğci¹, Remzi Yiğiter², Mehmet Ali Elçi², Beyhan Cengiz³, Serdar Öztuzcu¹, Yusuf Ziya İğci¹, Mustafa Ulaşlı¹, Recep Bayraktar¹, İbrahim Bozgeyik¹, Ecir Ali Çakmak¹, Ahmet Arslan¹

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

²Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, Gaziantep

³Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, Gaziantep

GİRİŞ ve AMAÇ: Multiple skleroz (MS), genetik olarak duyarlı kişilerde çevresel etkenlerin tetiklediği otoimmün mekanizmalar yoluyla gelişen, merkezi sinir sisteminin (MSS) birden fazla yerinde tutulum gösterebilen kronik bir hastalıktır. MS üzerine yapılan birçok çalışmaya rağmen nedeni tam olarak bilinmemektedir. UCP2 (uncoupling protein 2) geni; mitokondrial yerleşimlidir ve 11. kromozomun uzun kolu üzerinde yer alır (11q13). UCP2, iç mitokondrial zarın karşısında proton iletkenliğini sağlayan mitokondriyal taşıyıcı bir protein olup temel işlevi mitokondri kaynaklı reaktif oksijen türlerinin kontrolüdür. Kesin olmamakla beraber fizyolojik rolünün kalsiyum homeostasisin korunması ve nöronal etkinliğin düzenlenmesi ve sonuç olarak hücre hasarını engellenmesi olduğu düşünülmektedir. Bu faktörler çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda sinir hücrelerinin ve beyindeki hasarın kaderinin belirlenmesinde oldukça önemlidir. Bu çalışmada UCP2 gen ifade düzeyinin incelenmesi ve MS gelişimiyle muhtemel ilişkisinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM: Bu amaçla 95 MS hastası ile herhangi bir nörodejeneratif hastalığı bulunmayan sağlıklı 95 kişinin periferik kan örneklerinden mRNA eldesi gerçekleştirilmiş Real Time PCR ile her iki grupta UCP2 geninin ifade düzeyleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen veriler Beta Aktin ve GAPDH genlerinin normalizasyonu ile Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA: İstatistiki değerlendirmeler neticesinde UCP2 gen ifadesinin hasta grubunda anlamlı biçimde az olduğu tespit edilmiştir ($p=3,44e-0.7$). UCP2, ATP üretimini durdurarak besindeki enerjinin yalnızca ısı olarak açığa çıkmasını sağlar. Yeni kanıtlar UCP2 gen ifadesinin ve etkinliğinin artması ile inme ve travma sonrası nöronal sağ kalımın ilişkili olduğu yönündedir. Yaptığımız çalışmada UCP2 geni ifade düzeyinin hastalarda anlamlı şekilde düştüğü gözlenmiş takip eden süreçte ileri analizlere tabi tutulmaları planlanmıştır. UCP2 ve dahil olduğu yollarındaki etkileşimleri MS hastalığının tanı ve tedavisi için umut verici olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: UCP2, Mitokondri, Multiple Skleroz, Real Time PCR

P-064

Ref. No: 2

MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ HÜCRE SİTOKİN İÇERİKLERİ VE SİTOTOKSİK YANITLAR

İlhan Tahralı¹, Umut Can Küçüksezer¹, Esin Aktaş Çetin¹, Nilgün Akdeniz¹, Abdullah Yılmaz¹, Uğur Uygunoğlu², Ayşe Altıntaş², Günnur Deniz¹

¹İstanbul Üniversitesi, DETAE, İmmünoloji AD, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, İstanbul

Multipl skleroz (MS), insanlarda genetik ve çevresel etmenlerin bir araya gelmesi sonucu ortaya çıktığı düşünülen otoimmün bir hastalık olup, santral sinir sistemindeki enflamasyon, demiyelinizasyon, aksonal/nöronal kayıp ve gliosis ile karakterizedir. Oto-reaktif T hücrelerinin hastalığın oluşumunda primer rol oynadığı öne sürülmekle birlikte NK hücrelerinin, MS'in bir alt tipi olan

relapsing-remitting MS (RR-MS) seyrinde veya hastalığın kronik gelişiminde rol aldığı düşünülmektedir. Deneyisel hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda NK hücrelerinin rolü ile ilgili sonuçlar tartışmalıdır.

MS hastalığında CD16⁺CD56^{dim} ve CD16⁺CD56^{bright} NK hücre alt gruplarının ve fonksiyonlarının araştırıldığı bu çalışmada; herhangi bir immün modülatuar tedavi almamış olan RR-MS olguları, en az 6 aydır interferon tedavisi almakta olan RR-MS hastaları, klinik izole sendromlu (KİS) hastalar ile yaş ve cinsiyet uyumu gözetilerek seçilen sağlıklı kontrollerden alınan heparinize periferik kan örnekleri Flow Sitometrik yöntemle incelenmiştir. Bu amaçla gönüllülerden alınan periferik venöz heparinize kan örneklerinde ilk önce hücre yüzey molekül ekspresyonları (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56) saptanmış ve periferik kan örneklerinden izole edilen periferik kan mononükleer hücreler (PKMH) ayrı ayrı hrIL-2, hrIL-12, hrIL-4 sitokinleriyle uyarılarak ve uyarılmadan 24 ve 72 saat süreyle 37C %5 CO₂ içeren etüvde kültüre edilmiştir. Ayrıca yine PKMH'ler kullanılarak K-562 eritromyeloid lösemi hücre serisi ile sitotoksik aktivite tayin edilmiştir. 24 saat hücre kültürünün ardından hücre içi IFN- γ , IL-10 ve IL-22 seviyeleri Flow Sitometri ile tespit edilmiş, 72 saat hücre kültüründen sonra ise NK hücre alt gruplarının frekansları ölçülmüştür.

Sonuçlarımız, sağlıklı kontrollere karşılaştırıldığında hasta gruplarında CD16⁺CD56^{dim} ve CD16⁺CD56^{bright} NK hücre alt gruplarında IL-10 ve IL-22 seviyelerinin yüksek olduğu yönündedir. Tedavi görmemiş RR-MS'li hastalar ile KİS hastalarının NK hücre sitotoksik aktiviteleri incelendiğinde sağlıklı kontrollere göre düşüş saptanmıştır.

Elde edilen bulguların hastalık patogenezinde rol oynayan etmenler mi olduğu, yoksa hastalığın meydana gelmesinden sonra ortaya çıkan cevabı mı yansıttığı sorusu tartışılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Multipl Skleroz, Doğal Öldürücü Hücreler, Otoimmünite

P-065

Ref. No: 31

MULTİPLE SKLEROZ HASTALIĞINDA LXR GENİNİN MİYELİN KAYBINA ETKİSİ

Ali Bayram¹, Mehri İğci¹, Remzi Yiğiter², Mehmet Ali Elçi², Beyhan Cengiz³, Serdar Öztuzcu¹, Yusuf Ziya İğci¹, Mustafa Ulaşlı¹, İbrahim Bozgeyik¹, Recep Bayraktar¹, Ecir Ali Çakmak¹, Ahmet Arslan¹

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

²Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, Gaziantep

³Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, Gaziantep

GİRİŞ ve AMAÇ: Karaciğer X reseptörleri [liver X receptors (LXRs)], LXR-alfa ve LXR-beta çekirdeksel reseptör süper ailesine mensup transkripsiyon faktörleridir. Kolesterol ve yağ asidi metabolizmasına dahil olan genlerin düzenlenmesini kontrol ederler. LXR besin yoksunluğunda SIRT1 tarafından aktive edilerek yağ asidi oksidasyonu ve glukoneogeneze rol alır. Merkezi sinir sisteminde kolesterol zar yapısına dahildir ve işlevsel rolü vardır. Kan-beyin bariyeri dolaşımından kolesterol alımını engellediği için mevcut kolesterolün varlığı *de novo* senteze bağlıdır. Yetişkin beyin nöronları kolesterol sentezini aşağı yönlü olarak düzenler ve astrositlerden salınan ApoE lipoproteinlerine ihtiyaç duyarlar. ApoE transkripsiyonu ise nöronlardan LXR etkinliği sonucu salınan 24S-hidroksikolesterol (24OHC) tarafından düzenlenir.

Bu çalışmamızda LXR geninin multiple skleroz hastalarında ifade düzeylerinin incelenmesi ve MS gelişimiyle muhtemel ilişkisinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM: Bu amaçla 95 MS hastası ile herhangi bir nörodejeneratif hastalığı bulunmayan sağlıklı 95 kişinin periferik kan örneklerinden mRNA eldesi gerçekleştirilmiş ve Real Time

PCR ile her iki grupta LXR genlerinin ifade düzeyleri karşılaştırılmıştır. Bulgular Beta Aktin ve GAPDH genlerinin normalizasyonu ile Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA: Çalışmamızda MS hasta grubunda LXR-alfa gen ifadesinin anlamlı biçimde düşük olduğu gözlenmiştir ($p=2,8e-0,2$).

MS hastalarında nörodejenerasyon genellikle beyin hem lezyonlarında hem de normal görünebilen beyaz maddede gözlenir. Takiben gri maddede beyin atrofi ile sonuçlanan nöronal kayıp söz konusudur.

Çeşitli çalışmalar LXR ligandlarının inflamasyon, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklarda tedaviye yönelik bir ajan olarak kullanımının faydalı olacağına işaret eden sonuçlar ortaya koymuştur. Max-Planck Deneysel Tıp Enstitüsü'nde farelerle yapılan bir araştırmada yüksek kolesterolü beslenmenin, beyindeki sinir hücrelerinin etrafında miyelin kılıfının üretimini artırabileceğini göstermiştir. Merkezi sinir sisteminde lipit metabolizmasında önemli role sahip LXR geninin tanı ve tedavi amaçlı kullanılabilmesi olası görünmektedir. Zira 24OHC plazma seviyesinin gri maddede metabolik olarak aktif nöron hücrelerinin sayısını belirlemede kullanılabileceği tartışılırken yolakta önemli rolü olan LXR gen ifadesinin seviyesi de hasta için önem arzedecektir.

Geniş popülasyonlarda yapılacak çalışmaların bulgularımızı destekleyeceğine inanmaktayız.

Anahtar Kelimeler: Multiple Skleroz, LXR, Lipit metabolizması, Real Time PCR

P-066

Ref. No: 83

"MUSCLE-SPECIFIC RECEPTOR TYROSİNE KINASE" (MuSK) MİYASTENİA GRAVİSİ DENEYSEL HAYVAN MODELİNDE İSKELET KASI PATOLOJİSİ

Canan Aysel Ulusoy¹, Vuslat Yılmaz², Nikolaos Trakas⁴, Konstantinos Poulas⁴, Haydar Armağan³, Selin Turan¹, Murat Giriş¹, Socrates Tzartos⁴, Feza Deymeer³, Güher Saruhan Direskeneli², Erdem Tüzün¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim AD, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, İstanbul

⁴Patras Üniversitesi, Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Patras, Yunanistan

Miyastenia gravis (MG) asetilkolin reseptörü (AChR) veya "muscle-specific receptor tyrosine kinase" (MuSK) antikoruyla indüklenen kas zaafıyla karakterize otoimmün bir hastalıktır. MuSK-MG hastaları ağır hastalık seyri ve kas atrofi göstermektedir. MuSK otoimmünitesinin kas patolojisine etkisini araştırmak için çalışmamızda MuSK ilişkili deneysel otoimmün MG (MuSK- DOMG) modeli C57BL/6 farelerinde oluşturulmuştur.

Rekombinan insan MuSK proteini ve "complete Freund's adjuvant" (CFA) (n=14) ile immünize farelerin immüнопатолоjik bulguları sadece CFA ile immünize (n=14) kontrol farelerle karşılaştırılmıştır. Kas zaafı; klinik skorlama ve asma testi ile değerlendirilmiştir. Serum anti-MuSK Ig izotip ve kompleman C3 seviyeleri ELISA ile ölçülmüştür. Nöromüsküler bileşkedeki (NMB) Ig ve kompleman depozitleri immünofloresan ile değerlendirildi. NMB AChR miktarı α -bungarotoksin(α -BTx), NMB MuSK miktarı anti-fare MuSK antikoru ile immünofloresan ve Western Blot yöntemi kullanılarak belirlendi. Kas histolojisi hematoksil-eosin (H&E), süksinat dehidrogenaz (SDH) ve sitokrom oksidaz (COX) boyamalarıyla değerlendirildi.

MuSK+CFA ile immünize 14 farenin 13'de (%93) orta ila ciddi seviyede kas zaafı gözlemlendi. Anlamlı derece artmış serum anti-MuSK IgG, IgG1, IgG2b ve C3 seviyeleri; NMB'de IgG, IgG1,

IgG2b, C3 ve membran atak kompleksi (MAK) depozitleri görüldü. NMB'deki AChR miktarında anlamlı bir azalış gözlemlendi. H&E boyaması tip 1 kas liflerinde atrofi olduğunu gözlemlerken, SDH ve COX ekspresyonu normal bulundu.

MuSK immünizasyonunda DOMG insidansı ve klinik şiddet yüksek bulunmuştur. MuSK pozitif hastaların serumlarında komplemanı etkinleştiren IgG bulunmamakla birlikte, MuSK ile immünize farelerde kompleman depozitlerinin görülmesi, ağır seyirli MuSK-MG hastalarında NMB hasarının kompleman sistemi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Mitokondriyal enzimlerin normal ekspresyonu kas atrofisinin mitokondriyal fonksiyon bozukluğuyla ilişkili olmadığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Miyastenia gravis, MuSK, deneysel hayvan modeli, kas, antikor

P-067

Ref. No: 18

GLUTAMİK ASİT DEKARBOKSİLİZ ANTİKORU'NUN OTOİMMÜN ENSEFALİTTEKİ SIKLIĞI VE KLİNİK SPEKTRUMU

Selin Turan, Canan Aysel Ulusoy, Erdem Tüzün

İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim AD, İstanbul

Glutamik asit dekarboksilaz antikoru (GAD-Ab) 'nun otoimmün ensefalit hastalarında yüksek oranda saptanması hem tanıya yardımcı olmakta hem de bu hastalıkların patogeneğinde immünolojik mekanizmaların rol oynadığını düşündürmektedir. Olası otoimmün ensefalit tanılı 140 hastanın serum örneklerinde ELISA ile GAD antikoru inceledi ve Stiff-Man sendromu, serebellar dejenerasyonu, limbik ensefaliti ve epilepsisi olan 10 hastada (%17.5) bu antikor pozitif bulundu. Yüksek GAD-Ab düzeyleri limbik ensefaliti veya sadece epileptik nöbetleri olan hastalarda daha yüksek oranda saptandı. GAD-Ab pozitif hastalardan birinde akciğer kanseri gözlemlendi. Genel olarak, GAD-Ab olan hastalarda immünoterapiye tam veya kısmi yanıt saptandı. Otoimmün ensefalit hastalarında, GAD-Ab, kanser tarama endikasyonu ve immünoterapiye iyi yanıtın biyobelirteci olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Antikor, Otoimmünite, Glutamik Asit Dekarboksilaz, Ensefalit

P-068

Ref. No: 70

MULTİPL SKLEROZLU HASTALARDA SERUM MELATONİN, MIP-1 α , MCP-1 ve IL-17A DÜZEYLERİNDE NOKTURNAL VE DİJURNAL DEĞİŞİKLİKLER

Uğur Muşabak¹, Gencer Genç², Şeref Demirkaya², Rahşan Sağkan Ilıkçı¹, Özgür Kartal¹, Mustafa Güleç¹, Osman Şener¹

¹Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İmmünoloji ve Alerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

²Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Nöroloji AD, Ankara

AMAÇ: Multipl skleroz (MS), santral sinir sisteminin T hücre aracılı otoimmün hastalığıdır. Pineal bezden salgılanan melatonin hormonunun T hücreleri üzerinden immün yanıtı düzenlediği gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı, MS'li hastalarda serum melatonin macrophage inflammatory protein 1 alpha (MIP-1 α), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) ve interleukin-(IL)17A düzeylerinde gece ve gündüz değişikliklerini ortaya koymaktır.

YÖNTEM: Çalışmaya yeni tanı konulan 7 MS'li hasta (4 erkek, 3 kadın) alındı. Hastalardan saat 03.30 ve 10.00'da venöz kan örnekleri alınarak serumları ayrıldı ve çalışma gününe kadar uygun koşullarda saklandı. Melatonin, MIP-1 α , MCP-1 ve IL-17A düzeyleri Enzyme-linked immünosorbent assay (ELISA) metodu ile ölçüldü.

BULGULAR: Hastaların 03.30 serumlarında ölçülen melatonin ve MIP-1alpha düzeyleri, aynı hastaların 10.00'da ölçülen düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Ayrıca 10.00'da ölçülen MIP-1alpha ve IL-17A düzeyleri arasında pozitif korelasyon tespit edildi.

TARTIŞMA: MS'li hastalarda serum melatonin ve MIP-1alpha düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamasına rağmen, her iki parametrenin de eş zamanlı olarak artması ya da azalması bu parametrelerin MS patogeneğinde ortak rolleri olduğunu desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Multipl skleroz, melatonin, T hücreleri, interlekin

P-069

Ref. No: 79

SPİNAL KORD TRAVMALARINDA İMMÜN PARALİZİ VE KLİNİK FENOTİPLERLE İLİŞKİSİ

Bilge Yılmaz¹, Mustafa Gülec², Özgür Kartal², Uğur Muşabak², Ümit Güzelkçük¹, Osman Şener², Kenan Tan¹

¹Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD, Ankara

²Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Yapılan çalışmalar, immün yanıtın otonom sinir sistemi fonksiyonlarında meydana gelen değişikliklerden etkilendiğini göstermiştir. Bu çalışmanın amacı *in vivo* ve *in vitro* yöntemler kullanarak spinal kord travma(SKT)'lı hastalarda bazı humoral ve hücrel immün yanıt fonksiyonlarını araştırmaktır.

YÖNTEM: Çalışmaya SKT'lı 49 hasta alındı. Bu hastalar otonom disfonksiyon varlığına, yaralanma seviyesine (T6 üzeri, T7 altı) ve travmadan etkilenme durumuna (tam, kısmi) göre gruplara ayrıldı. İmmün yanıt değerlendirmesi deri prik testi (histamin, otolog serum), intradermal test (PPD, kandida) ve periferik kan CD3⁺ T hücrelerinde CD69 ve CD25 ekspresyonu ölçülerek yapıldı.

BULGULAR: Daha hafif klinik fenotip gösteren olgularda (otonom disfonksiyonu olmayan, paraplejik, kısmi) ölçülen deri yanıtları (histamin, kandida, PPD) ve CD3⁺ T hücrelerindeki CD69 ve CD25 ekspresyonları daha ağır klinik fenotip gösteren olgulardan (otonom disfonksiyonu olan, tetraplejik, tam) anlamlı yüksek bulunmuştur.

SONUÇ: Spinal kord travmalı hastalarda immün yanıt klinik fenotip ile ilişkilidir.

Anahtar Kelimeler: otonom disfonksiyon, spinal kord travması, immün yanıt

P-070

Ref. No: 107

TÜRK ŞİZOFRENİ HASTALARINDA OBEZİTE İLE İLİŞKİLİ GENLERİN EKSPRESYONLARI VE LEPTİN SERUM SEVİYELERİ DÜŞÜKTÜR

Adil Çolak¹, Gökçe Akan³, Özge Özgen⁴, Seda Acar⁵, Fatih Öncü⁶, Doğan Yeşilbursa⁶, Solmaz Türkcan⁶, Fatmahan Atalar²

¹Boğaziçi Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Biyomedikal Mühendisliği Enstitüsü, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Moleküler Endokrinoloji Laboratuvarı, Büyüme, Gelişme ve Pediatrik Endokrinoloji Bölümü, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, İstanbul

³İstanbul Bilim Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

⁴İstanbul Üniversitesi, Genetik Bölümü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul

⁵Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

⁶Bakırköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi, Psikiyatri Kliniği, İstanbul

Antipsikotik ilaçlar şizofreni hastalarında metabolik bozukluklara

sebebi olabilmektedir. Leptin reseptörü (LEPR), leptin (LEP) ve pe-roksizom proliferatör aktif reseptör gamma 2 (PPARG2) metabolik bozukluklara sebep olabilecek potansiyel genetik belirleyiciler arasındadır. Bu çalışmanın amacı, metabolik bozukluğu olan şizofren hastalar (n=132) ve kontrollerde (n=114) LEP c.-2548G>A, LEPR p.Q223R polimorfizmlerinin ve serum leptin seviyeleri ile birlikte LEP, LEPR, and PPARG2 gen ekspresyonlarının belirlenmesi ve metabolik bozukluklara olan katkılarının araştırılmasıdır.

METODLAR: Şizofren hastalarda ve kontrollerde klinik ve biyokimyasal parametreler, LEP ve LEPR gen polimorfizmleri ve LEP, LEPR ve PPARG2 gen ekspresyonları çalışılmıştır.

SONUÇLAR: Şizofren hastalarda BMI, kolesterol ve açlık glikoz seviyeleri kontroller ile karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur. LEP c.-2548 (GA+AA) genotipleri şizofrenlerde kontrollere göre 2 kat fazla görülmesinin yanında LEPR p.Q223R genotiplerinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. İlginç bir şekilde, şizofren hastalarda leptin serum seviyeleri kontrollere göre düşük bulunmuştur (p<0.05). Ayrıca, leptin, leptin reseptörü ve PPARG2 gen ekspresyonları şizofreni hastalarında kontrollere oranla düşük bulunmuştur (sırasıyla, p<0.001, p<0.001 ve p<0.05).

DEĞERLENDİRME: Şizofreni hastalarındaki metabolik bozuklukların gelişiminde leptin, leptin reseptörü ve PPARG2 genleri hep-birlikte rol oynamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Şizofreni, Polimorfizm, Leptin, LEPR, Obezite, Ekspresyon

P-071

Ref. No: 1

MİKROGLİAL HÜCRELER VE HÜCRE KÜLTÜRÜ

Ozan Ezgi Berberoğlu

İstanbul Üniversitesi, Sinirbilim AD, İstanbul

Santral sinir sisteminde, fagositoz, antijen sunumu ve çeşitli inflamatuvar ve nörotoksik faktörlerin salınımı gibi özellikler gösteren mikrogial hücreler, sinir sistemi immünitesindeki fonksiyon ve önemleriyle halen geniş bir araştırma konusudur. Klinik fayda sağlamaya yönelik nöroimmünolojik çalışmalar kapsamında Alzheimer, Parkinson ve Amiyotrofik Lateral Skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklarda mikrogial hücre biyolojisi adından çokça söz ettiren bir araştırma başlığıdır. Mikrogial hücrelerin kültürü bu anlamda önemli bir uygulama alanı oluşturmaktadır.

Mikrogial hücre kültürleri 1930'ların başlarından itibaren tanımlanmaya başladı. Ancak hücre kültürünün çalışmalarda kullanılması ancak büyük miktarda mikroglianin elde edilmesi ve kültürlenebilmesi ile mümkün oldu. Günümüzde mikrogia hücrelerinin nöroenflamasyondaki rollerini incelemeye yardımcı birçok hücre hattı mevcuttur. Primer mikrogia kültürleriyle, retrovirüs transforme ve non-retrovirüs transforme ölümsüzleştirilmiş mikrogial hücre kültürleri bunlar arasında sayılabilir. Bu hücre kültürü tipleri temel olarak ortak nitelikler gösterebilir de uygun nörodejeneratif araştırma modeli seçiminde, göz önünde bulundurulması gereken bazı farklılıklar içerirler.

Bu prezantasyonda özel mikrogial hücre hatlarının kültürü, farklı prosedürlerin teknik detayları ve başvuru mikrogial hücre kültürü metodlarının karşılaştırılmasına yer verilecektir.

Anahtar Kelimeler: hücre kültürü, mikrogia, nöroimmünoloji

P-072

Ref. No: 103

TOPOİSOMERAZ I'E KARŞI OLUŞAN ANTİKORLAR HEP-2 ANA IFA YÖNTEMİNDE ÖZGÜN BOYANMA MODELLERİYLE TANIMLANABİLİR Mİ?**Noushin Zibandeh¹, Türker Duman¹, Özgün Bağlan¹, Yasemin Genç², Rahime Aksoy¹, Ümit Ölmez¹, Hüseyin Tutkak¹**¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD, Ankara

Topoisomerez I (Scl-70) otoantikoru, diffüz kutanöz sistemik sikleroz (SSC) hastalarındaki prevalansı yaklaşık %40 olarak bildirilen en spesifik serolojik belirteçlerden biridir. Bu antikor çift yönlü immüdiffüzyon, ELISA, immüblot, westernblot yöntemlerinin yanında ANA IFA yönteminde nükleus ve/veya nükleolusta benekli tarzda boyanma modeli gösterdiği bildirilmiştir. HEP-2 hücrelerinin substrat olarak kullanıldığı ANA IFA testinde Dellavance ve arkadaşları (2009) Scl-70 otoantikor pozitifliğinin ANA IFA testinde; nükleus, nükleolus, interfazdaki hücrelerin stoplazması, NOR ve mitotik hücrelerin kromozomlarının metafaz hattında boyanma ile belirlenebileceğini bildirilmişlerdir.

Araştırmamızda ACR kriterlerine göre tanı almış 93 SSC'li hasta ve ANA IFA testinde nükleolar, benekli veya her iki boyanma modeli gösteren 90 kontrol olgusunun serumunda Scl-70 otoantikorunun özgün boyanma modeli gösterip göstermediğini Scl-70 ELISA, HEP-2 westernblot yöntemleriyle karşılaştırarak tespit etmeyi amaçladık.

Hep-20-20 hücreleri kullanılarak yapılan ANA IFA testinde Scl-70 otoantikorunun; nükleus, nükleolus ve mitotik hücre kromozomlarının metafaz hattındaki benekli tarzdaki üç farklı boyanma modelleriyle tanımlanabileceğini gösterdik. Daha önce yapılan çalışmada bu otoantikoru ayrıca NOR ve interfazdaki hücrelerin sitoplazmalarında da boyanma gösterdiği bildirilmiş olmakla birlikte araştırmamızda bu boyanma modellerini gözlemledik. SSC'lu hasta serumlarından 51'inde (%55) Scl-70 boyanma modelleri ve Scl-70 ELISA pozitif bulunmuştur. Hastalarımızın 46'sında (%49,5) HEP-2 WB 100kDa da nativ Scl-70'i gösteren bant gözlenmiştir. Kontrol grubumuzda 8 olguda (%8,9) Scl-70 boyanma modeli, Scl-70 ELISA pozitifliği ve HEP-2 WB 100kDa da nativ Scl-70'i gösteren bant saptanmıştır.

SSC'lu hasta grubunda ANA IFA boyanma modeliyle Scl-70 pozitifliğinin ve ELISA Scl-70 yöntemlerinin her ikisinde duyarlılığı %97,8, özgüllüğü %87,2 olup bu testlerin güven aralığı %95 (%88,6-99,6) dir. Scl-70 ELISA yöntemi için Roc Curve analizi yapılmıştır (eğri altındaki alan: 0,954, p=0,000). Sistemik siklerozlu hastalarda en sık rastlanılan Scl-70 ve sentromer antikorları HEP-2 ANA IFA testinde tanımlanabilmektedir. Otoantikorların taranmasında ekonomik ve kolay uygulanabilme özelliği olmakla birlikte mikroskopik değerlendirmeler subjektiftir ve deneyim gerektirmektedir. HEP-2 ANA IFA'da boyanma özellikleriyle Scl-70 antikorunun tanımlanması bu konudaki 2. çalışma olup sonuçlarımız kaynaklarda verilen bilgilerle uyumlu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: ANA, Otoantikor, Scl-70, topoisomerez I, sistemik sikleroz

ROMATOİMMÜNOLOJİ

P-073

Ref. No: 20

BEHÇET HASTALIĞINDA NK HÜCRE SİTOKİN POLARİZASYONU VE SİTOTOKSİK AKTİVİTE**Fulya Coşan^{1,2}, Esin Aktaş Çetin³, Nilgün Akdeniz³, Ayşe Cefle¹, Günnur Deniz³**¹Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Romatoloji Bilim Dalı, Kocaeli²Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Zonguldak³İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE), İmmünoloji AD, İstanbul

Behçet Hastalığı (BH) tekrarlayan oral aft, genital ülser, cilt bulguları, üveit atakları ve paterji pozitifliği ile karakterize multisistemik enflamatuvar bir hastalıktır. BH patogenezinde HLA-B*51 pozitifliği en kuvvetli genetik yatkınlığı oluşturmakla birlikte ne şekilde olduğu bilinmemektedir. Doğal öldürücü hücreler (NK) ile hedef hücre etkileşiminde HLA moleküllerinin önemli rolleri bulunmaktadır. Doğal immün sistemin elemanı olan NK hücreleri Th1, Th2 ve Th17 tip sitokin salınımlarıyla immün yanıtın regülasyonunda da rol oynamaktadır. Çalışmamıza, BH sınıflandırma kriterlerini dolduran ve kolşisin dışında herhangi bir immünsupresif tedavi almamış mukokutanöz tutulumlu hastalar (n=26, yaş ort=37.2 ± 9.7) ve sağlıklı bireyler (n=12, yaş ort=32.5 ± 8) dahil edilmiştir. Deneylerimizde periferik kan mononükleer hücreler (PKMH) efektor hücre, K562 hücre serisi ise hedef hücre olarak kullanılmıştır. PKMH'ler CD107a ile boyanmış ve efektor:hedef (10:1) olacak şekilde 4 saat inkübe edilmiştir. Hücreler CD107a ekspresyonunun belirlenmesi amacıyla anti-CD16 monoklonal antikorla boyanmış ve flow sitometride analiz edilmiştir. NK hücre alt grupları ve reseptörleri, sitotoksik aktivite (hedef hücre olarak CFSE işaretli K562), hücre içi IL-5, IL-10, IL-17 ve IFN-γ salınım düzeyleri de flow sitometri ile analiz edilmiştir. BH grubunda IFN-γ salgılayan NK1 hücre alt grubu yüksek (p=0,001), IL-5⁺CD16⁺ NK2 hücreleri, IL-10 salgılayan NK regülatör ve IL-17⁺CD16⁺ NK17 hücre alt grupları ise düşük saptanmıştır (p=0,001, p=0,001 ve p=0,015, sırasıyla). NK hücre oranı, CD16^{bright} CD56^{dim}, CD16^{dim} CD56^{bright} hücre alt grupları ile birlikte NKp46 ve NKG2D ekspresyonunda gruplar arasında bir farklılık saptanmamıştır. NK hücre sitotoksitesi ve CD107a ekspresyonu da gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermemiştir. BH tanısı ile izlenen hastalarda NK hücre degranülasyonu ve sitotoksik aktivite açısından farklılık saptanmamasına karşılık, NK hücre sitokin polarizasyonunun belirgin olarak NK1 yönünde artmış olduğu, NK2 ve NK17 sitokin yanıtlarının ise baskılandığı görülmektedir. Bulgularımız BH patogenezinde farklı NK hücre alt gruplarının rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı, NK hücreleri

P-074

Ref. No: 92

ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALARDA SERUM OMENTİN SEVİYESİNİN ARAŞTIRILMASI

Kürşat Oğuz Yaykaşlı¹, Emine Yaykaşlı², Safinaz Ataoğlu³, Mustafa Özşahin³, Ramazan Memişoğulları⁴, Esra Çelebi³, Taner Uçgun⁴, Muhammet Engin Özcan⁴, Mustafa Uslu⁵, Hüseyin Yüce¹

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Düzce

²Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Düzce

³Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD, Düzce

⁴Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Düzce

⁵Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji AD, Düzce

Romatoid artrit (RA), popülasyonun yaklaşık % 1 'ini etkileyen inflamatuvar ve otoimmün bir hastalıktır. En karakteristik özeliği, kıkırdak dokunun geri dönüşsüz bir şekilde tahribata uğramasıdır. Omentin ise son zamanlarda tanımlanmış ve çeşitli inflamatuvar hastalıklarda rol aldığı düşünülen bir adipokindir. Bu çalışmanın amacı omentinin RA hastalığının patogenezinde rol alıp almadığını araştırmaktır.

Bu çalışmaya Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniğine başvurmuş 87 hasta dahil edildi. Olguların demografik ve laboratuvar verileri kaydedildi. Serum omentin seviyeleri ELISA yöntemiyle tayin edildi. 0,05 den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Sedimentasyon, CRP ve RF gibi parametreler kontrol grubuna göre hasta grubunda anlamlı derecede yüksek bulunurken, serum omentin seviyesi açısından hasta (539.4 (47.8-2181,8)) ve kontrol 487.6 (279.4-784.9) grupları arasında anlamlı bir farklılık saptanamadı.

Bu çalışma omentin serum seviyesinin RA hastalığı Patogenezindeki muhtemel rolünü araştıran ilk çalışmadır. Çalışmamız sonucunda gruplar arasında serum omentin seviyesi açısından anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Bunun sebebi RA hasta grubunu oluşturan bireylerin daha önceden tanısı konmuş ve halihazırda ilaç kullanan hastalar olması olabilir. Bu, aynı zamanda çalışmamızın kısıtlayıcı faktörüdür. Omentinin RA hastalığı patogenezindeki muhtemel rolü, ilaç kullanmayan hastalarla ve daha büyük çalışma gruplarıyla yapılacak deneylerle tam olarak açıklığa kavuşturulabilir.

Anahtar Kelimeler: ELISA, Omentin, Romatoid Artrit

P-075

Ref. No: 96

STAT3 (SIGNAL TRANSDUCER AND ACTIVATOR OF TRANSCRIPTION 3) GEN POLİMORFİZMİNİN ÜLKEMİZ ANKİLOZAN SPONDİLİT HASTALARINDA İNCELENMESİ

Said Assadpour¹, Orhan Küçükşahin², Mine Havan¹, Semahat Akbay¹, Selcan Özgüçlü¹, Hülya Çetinkaya², Ümit Ölmez¹, Nuran Türkçapar², Hüseyin Tutkak¹, Türker Duman¹

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Romatoloji Bilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Spondiloartropatinin oldukça kalıtsal bir formu olan, Anki-lozan spondilit (AS) kronik, ağrılı, inflamatuvar bir artrit türüdür. Hastalık başlıcaları omurga, pelvisdeki sakroil eklem ve büyük eklemler olmak üzere eklem ve çevre yapılarını tutar. En iyi bilineni HLA-B27 olan birçok genin AS'e duyarlılıkta rol oynadığı bildirilmişse de, bir immün cevap geni olan B-27 dahil hiç biri tek başına hastalık için yeterli değildir. IL-17, IL-23 T hücre farklılaşma yolağında anahtar bir sinyal molekülü kodlayan, 17q21 kro-

mozom bölgesinde lokalize STAT 3 (signal transducer and activator of transcription 3), AS patogenezinde rol oynamaya aday bir gendir. Çinlilerde yapılan bir çalışmada da STAT 3 ün AS ile ilişkisi gösterilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, IL-23/IL23R sinyalizasyon yolağında yer alan STAT3 geninin, ülkemizde AS hastalığına yatkınlık yapan genlerden birisi olup olmadığının anlaşılmasıdır.

YÖNTEM: Ankara Üniversitesi etik kurulundan çalışma için onay alınmıştır. Çalışmaya, AÜ Tıp Fakültesine gelen ve imzalı onam formu vererek gönüllü olan 116 AS hastası ve 171 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir.

Genotiplendirmeler için, kandan genomik DNA izolasyonu yapılmış, STAT3 genindeki SNP rs8074524, PCR-RFLP yöntemiyle çalışılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Genotip dağılımları ve alel sıklıkları hasta ve kontrollerde karşılaştırılmıştır. Verilerin analizinde Binary logistic regression modeli kullanılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında odds ratios (OR) olarak ifade edilmiştir. Anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlenmiştir.

BULGULAR:STAT3 genindeki rs8074524 C/T polimorfizmi toplam 287 kişide çalışılmıştır. Hastalarda C/C 73, C/T 27 ve T/T genotipi 16 kişide, kontrollerde C/C, 130 C/T, 29 ve T/T genotipi 12 kişide belirlenmiştir. Hastalar ve kontroller karşılaştırıldığında T/T genotipinin hastalarda yüksek olduğu gözlenmiştir (OR: 2,12).

SONUÇ: Elde ettiğimiz bulgular, STAT3 genindeki polimorfizmlerin ülkemizde, AS hastalığına yatkınlık yapan genetik risk faktörlerinden biri olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçların daha yüksek sayıda hasta ve kontrolde çalışılarak doğrulanması ve AS yatkınlık yaptığı bilinen diğer HLA ve HLA dışı genlerle beraber değerlendirilmesi anlamlı olacaktır diye düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Ankilozan spondilit, STAT3

P-076

Ref. No: 97

ANKİLOZAN SPONDİLİT HASTALARINDA IL23R GEN POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ

Türker Duman¹, Orhan Küçükşahin², Semahat Akbay¹, Said Assadpour¹, Mustafa Özdemir¹, Murat Törüner³, Hüseyin Tutkak¹, Murat Turgay², Ümit Ölmez¹, Nuran Türkçapar²

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı, Ankara

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Romatoloji Bilim Dalı, Ankara

³Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji, Ankara

AMAÇ: Spondiloartropatinin oldukça kalıtsal bir formu olan, Anki-lozan spondilit (AS) kronik, ağrılı, inflamatuvar bir artrit türüdür. Hastalık başlıcaları omurga, pelvisdeki sakroil eklem ve büyük eklemler olmak üzere eklem ve çevre yapılarını tutar. En iyi bilineni HLA-B27 olan birçok genin AS'e duyarlılıkta rol oynadığı bildirilmişse de, bir immün cevap geni olan B-27 dahil hiç biri tek başına hastalık için yeterli değildir. Naif CD4 T hücrelerin Th17 T-hücrelerine farklılaşmasını teşvik eden, dentritik hücrelerde yüksek oranda eksprese olan İnterlökin 23 reseptör geni (IL23R) kromozom 1p31'da lokalizedir ve AS'inde dahil olduğu bazı kronik inflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada IL23R genindeki polimorfizmlerin AS'e yatkınlık yapan genetik faktörlerden biri olup olmadığının araştırılması planlanmıştır.

YÖNTEM: Ankara Üniversitesi etik kurulundan çalışma için onay alınmıştır. Çalışmaya, AÜ Tıp Fakültesine gelen ve imzalı onam formu vererek gönüllü olan 181 AS hastası ve 197 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir.

Genotiplendirmeler için, kandan genomik DNA izolasyonu yapılmış, IL23R genindeki SNP rs11209032, PCR-RFLP yöntemiyle

çalışılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Genotip dağılımları ve alel sıklıkları hasta ve kontrollerde karşılaştırılmıştır. Verilerin analizinde Binary logistic regression modeli kullanılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında odds ratios (OR) olarak ifade edilmiştir. Anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlenmiştir.

BULGULAR: IL23R genindeki G/A polimorfizmi toplam 378 kişide çalışılmıştır. Hastalarda G/G 66, G/A 102 ve A/A genotipi 13 kişide, kontrollerde G/G, 64 G/A, 98 ve A/A genotipi 35 kişide belirlenmiştir. rs11209032 SNP'inde, AS hastalığında G'nin heterozigot yada homozigotluğunun sağlıklılardan anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir (OR: 2,79, p = 0,002).

SONUÇ: Elde ettiğimiz bulgular IL23R genindeki değişikliklerin AS hastalığına yatkınlık yapan genetik risk faktörlerinden biri olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Ankilozan Spondilit, IL23R,

P-077

Ref. No: 114

BEHÇET HASTALARINDA SPESİFİK VE NONSPESİFİK ANA BOYANMA PATERNLERİ İZLENMELİ Mİ?

Fulya İlhan¹, Türker Duman², Rahime Aksoy², Mustafa Özdemir², Ümit Ölmez², Hüseyin Tutkak²

¹Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, Elazığ

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

Behçet hastalığının otoinflamatuvar karakterde olması araştırmacıları otoantikorların rolünü araştırmaya yönlendirmiştir. Ancak hastalıkta otoantikor testleri hakkında belirgin bir pozitiflik bildirilmemiştir. Bu çalışmada, Behçet hastalarında spesifik ve nonspesifik boyanma paternlerinin araştırılması amaçlandı. Toplam 140 (87 kadın, 53 erkek) Behçetli hasta ve 736 (464 kadın, 272 erkek) sağlıklı kontrol incelendi. Kontrol grubunda ANA pozitifliği %11.6 iken Behçet grubunda bu oran %10.7 olarak saptandı. Genel olarak otoantikor pozitifliği açısından hastalarla sağlıklı kontroller arasında herhangi bir fark saptanmadı (p>0.05). Ancak paternler açısından incelendiğinde az saptanan DFS-70, sentriol boyanması tarzı paternlerin Behçetlilerde daha sık izlenmesi dikkat çekiciydi (p<0.05). Bu bulgular Behçetlilerde klasik otoimmün hastalıklarda önemli yer tutan otoantikor testlerinin bu hastalarda gerekli olmadığı ancak nonspesifik paternler açısından incelenmesi gerektiğini göstermektedir. Sonuçlarımız nonspesifik paternlerin saptanabilmesinin hastalıkla dolaylı bir ilişki ihtimalini aklı getirmektedir ve bilinmeyenler araştırılmaya devam edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Behçet, DFS-70, ANA

P-078

Ref. No: 73

EKSTRAKTE EDİLEBİLİR NÜKLEER ANTİKOR POZİTİFLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Engin Karakeçe, Ali Rıza Atasoy, İhsan Hakkı Çiftci, Ahmet Özbek

Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Sakarya

Hücre nükleusunda bulunan, otoantikorların hedefi olabilen ekstrakte edilebilen proteinler, ekstrakte edilebilir nükleer antijenler (ENA) adını almaktadır. Bu çalışmanın amacı Sakarya yöresinde antinükleer antikor (ANA) pozitif hastaların ENA'ya karşı antikor pozitifliklerinin retrospektif olarak değerlendirilmesidir.

Çalışma kapsamında Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına Mayıs 2012-Şubat 2013 tarihleri ANA pozitif 394 hastanın ENA

sonuçları irdelenmiştir. İndirekt floresan antikor (IFA) testi (ANA HEp 2010, Euroimmun, Almanya) ve immüno blot testi (ANA profile 3 Euroline, Euroimmun, Almanya) üretici önerileri doğrultusunda 1/100 dilüsyonda çalışılmıştır. İmmüno blot değerlendirmeleri, tarayıcı (CanoScan Lide 100, Canon, Japonya) ve Euroline Scan (Euroimmun, Almanya) yazılımı kullanılarak yapılmıştır. ENA testi için en sık Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon (FTR) ve Dahiliye Romatoloji kliniklerinden (%53.0) ve FTR (%22.1) kliniğinden istem yapıldığı saptanmıştır. ENA testi için gönderilen 394 hastanın %42.1'inde (166) immüno blot testi pozitiflik bulunmuştur. ANA pozitif 228 hasta örneğinde immüno blot ile antikor pozitifliği tespit edilememiştir. Hastaların % 22,6' sında en az bir, %9.4'ünde en az iki antijene karşı pozitiflik saptanmıştır. En sık antikor pozitifliği %12,7 oranıyla SSA antijeni için tespit edilmiştir. Ek olarak hastalarda en fazla SSA ve Ro52 beraberliği saptanmıştır.

Bu çalışma ile Sakarya ve çevresinde ENA profilleri ile ilişkili ilk veriler sunulmuş olup yöremizde görülen otoimmün hastalıklar için yol gösterici olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Ekstrakte edilebilir nükleer antikor, otoimmünite

P-079

Ref. No: 102

KANSER TANISI ALMIŞ HASTALARDA SENTROMER F POZİTİFLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Engin Karakeçe¹, Fatih Altıntoprak², Özlem Sönmez Uysal³, Güner Çakmak², Taner Kivılcım², İhsan Hakkı Çiftci¹

¹Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Sakarya

²Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD, Sakarya

³Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahiliye AD, Oknoloji Bilim Dalı, Sakarya

Anti sentromer-F (CENP-F) antikorlarının meme ve akciğer kanseri ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir. Çalışmamızda kanser tanısı almış hastaların CENP-F pozitifliklerinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına Mayıs 2012-Şubat 2013 tarihleri arasında otoimmün hastalık şüphesiyle antinükleer antikor (ANA) aranması istenen kanser tanısı almış 36 hastanın sonuçları dahil edilmiştir. Çalışmada HEp 2010 (EURO-IMMUN) hücreleri ile hazırlanan preparatlar üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlanmış ve Eurostar III (EUROIMMUN, Almanya) floresan mikroskopunda değerlendirilmiştir.

İrdelenen hastaların 13'ü (%36) kadın, 23'ü (%64) erkek olup, Onkoloji ve Genel Cerrahi kliniklerinde ANA varlığının araştırılması amacıyla laboratuvara yönlendirilmiştir. Retrospektif olarak incelenen hasta örneklerinde değişik titre ve motiflerde %41 (15) oranında ANA pozitifliği saptanmıştır. ANA pozitifliklerinin 5 nükleolar, 5 nükleer granüler, 2 sitoplazma granüler, 1 mitotik granüler ve 2 CENP-F şeklinde olduğu gözlenmiştir. CENP-F pozitifliği 1 kadın ve 1 erkek hastada saptanmış, bu hastaların preparatlarında CENP-F pozitifliklerine zayıf sitoplazma granüler motif eşlik ettiği gözlenmiştir.

CENP-F pozitif hastaların her ikisinin de literatürle uyumsuz olarak kolorektal kanser tanısı aldıkları saptanmış. Meme kanseri tanısı almış hastalar arasında CENP-F pozitifliği saptanamamış, konunun aydınlatılması için büyük serilerle yapılacak araştırmalara gereksinim olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kanser, anti-sentromer F

P-080

Ref. No: 153

OTOANTİKOR TESTLERİN UYGUN KULLANIMI VE BİRİM PERFORMANS UYGULAMASININ GEREKSİZ TEST İSTEM ÜZERİNE ETKİSİ

Yavuz Doğan¹, Hülya Ellidokuz², Özlem Yılmaz¹, İsmail Hakkı Bahar¹¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İzmir²Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Onkoloji Enstitüsü Prevaltif Onkoloji AD, İzmir

AMAÇ: Otoimmün romatolojik hastalıkların (ORH) tanı ve takibinde serumda antinükleer antikor (ANA), anti-ekstrakte nükleer antikorlar (anti-ENA) ve ds DNA'ya özgü anti-dsDNA aranması en sık kullanılan test yöntemleridir. ANA IFAT testinin yüksek duyarlılığı nedeniyle birinci basamak tarama testi olarak kullanılması ve ancak pozitif bulunduğu durumda ikincil basamak test olarak anti-ENA ve/veya anti-dsDNA istenmesi önerilmektedir. Hastanelerde uygulanan sağlık paket ve birimlere özgü performans uygulamalarının klinik tanı laboratuvarlarında uygulanan test sayılarında hissedilir bir düşüşe yol açması beklenmektedir. Bu çalışmanın amacı Dokuz Eylül Üniversitesi hastanesinde 2010-2012 dönemi arasında ANA istemi yapılan hastalarda aynı anda birlikte istenen anti-ENA ve anti-dsDNA test sayılarının birimler arası performans uygulaması öncesi ve sonrası oranlarını ve gereksiz test istemlerinin getirdiği ekonomik yükü belirlemektir.

YÖNTEM: 2010-2012 dönem arasında başvuran hastaların otoantikor test sonuçları geriye dönük olarak incelendi. Performans öncesi ve sonrası test istem sayılarının yüzde dağılımları ve istatistiksel farklılıkları Ki-kare testi ile belirlendi.

SONUÇ: İncelenen 13364 ANA test sonucun 10106 (%75.62)'sı negatif, 3258 (%24.38)'i pozitif iken en az iki veya daha fazla test istemi yapılanların sayısı 3764 (%28.16) bulundu. Bu grup içerisinde ancak 1051 tanesi (%27.92) pozitif olarak saptandı. Performans öncesi ve sonrası dönem arasında test istem sayıları karşılaştırıldığında ikili istem oranı öncesi dönemde %71,35 iken %28,64'e üçlü istem oranı ise %67,23'den %32,77'e düştüğü (p: < 0,001) olduğu belirlendi.

TARTIŞMA: ANA sonucu belli olmadan gereksiz test isteminin 1000 test başına yaklaşık maliyeti 125.000 dir. ANA pozitif bulunan grupta ANA ile birlikte anti-ENA ve/veya anti-dsDNA pozitif bulunanların oranın tüm örneklem grup içerisinde oldukça düşük (%7.86) olması dikkat çekicidir. ORH tanısında basamaklı test istem uygulamasının zorunluluklardan daha çok bilimsel bir gereklilik olduğu ve bunun hastaya ve ülke ekonomisine getireceği yük tartışılmalıdır. Ancak bazı durumlarda ANA negatif, anti-ENA (anti-SSA, anti-Jo1, anti-ribozomal P protein) pozitif sonuçların (24 hastada) olabileceği de göz önüne alınarak daha fazla klinik yarar sağlayacak tanısal algoritmaların laboratuvar-klinik işbirliği çerçevesinde oluşturulması gerekir.

Anahtar Kelimeler: ANA IFAT, Basamaklı test istem, Otoimmün romatolojik hastalıklar

P-081

Ref. No: 29

IFA VE İMMUNBLOT YÖNTEMİ İLE SAPTANAN ANTİ-NÜKLEER ANTİKORLARIN DAĞILIMININ RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Esvet Mutlu¹, Derya Mutlu², Aylin Erman Daloğlu², Gözde Öngüt², Meral Gültekin¹¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Temel İmmünoloji Bilim Dalı, Antalya²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Antalya

AMAÇ: Otoimmün hastalıklar kişinin kendi antijenlerine karşı immün yanıt oluşturmaları sonucu meydana gelir ve bu antijenlere karşı oluşan otoantikorlar otoimmün hastalıkların tanısında, prognozunun belirlenmesinde ve tedavi takibinde yol göstericidir. İmmunfloresan antikor yöntemi (IFA) ile ANA saptanması tarama yöntemi olarak kullanılmaktadır. Hücre içindeki spesifik antijenlere karşı oluşan spesifik otoantikorlar ise hastalıklara ilişkin daha spesifik bilgi verebilmektedir. Bu çalışmada retrospektif olarak son üç yılda hastanemizin çeşitli bölümlerinden laboratuvarımıza gönderilen kan örneklerinde saptanan ANA paternlerinin ve otoantikorların dağılımını ortaya koymak amaçlandı.

YÖNTEM: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez laboratuvarına 01.01.2010-31.12.2012 tarihleri arasında gönderilen 20421 serum örneğinde IFA yöntemiyle ANA ve anti dsDNA testleri (EUROIMMUN, Germany) çalışıldı. Aynı süre içerisinde ANA immüblot istemiyle gönderilen toplam 5146 serum örneğinin 3684'ünde EUROIMMUN ANA Profile 1 EUROLINE (IgG) EUROIMMUN, Germany, 1462'sinde IMTEC LIA, Germany kiti kullanılarak çeşitli otoantikorların varlığı araştırıldı.

BULGULAR: IFA yöntemiyle ANA varlığı araştırılan 20421 serum örneğinde %17,1 (3484) oranında pozitiflik, %0,6 (132) oranında zayıf pozitiflik bulundu. ANA istemi olan hastaların %71,2'si kadın, %28,8'i erkekti ve kadınlardaki pozitiflik oranı (%20,4) erkeklerdekinden (%11,1) daha fazla olarak bulundu. En fazla sayıda örnek (6661, %32,6) hastanemiz Dahiliye ve Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim Dallarına ait romatoloji polikliniklerinden geldi. Tüm örneklerin %6,7'sini (Pozitif örneklerin %39,3'ü) oluşturan homojen patern ile tüm örneklerin %3,5'ini (Pozitif örneklerin %20,4'ü) oluşturan granüler patern en sık saptanan paternler oldu. IFA yöntemiyle anti dsDNA varlığı araştırılan toplam 2515 örneğin %3,7'si (93) pozitif olarak bulundu. Toplam 5146 serum örneğinde immüblot yöntemiyle otoantikorlar araştırıldı. EUROIMMUN kitiyle çalışılan 3684 örneğin %6,2'sinde (230) saptanan Ro52 ile IMTEC kitiyle çalışılan 1462 örneğin %7,8'inde (114) karşılaşılan SSA/Ro52 en sık görülen otoantikorlardı.

SONUÇ: Otoantikor saptama testleri, otoimmün hastalıkların tanısında ve tedavi takibinde ihtiyaç duyulan ve sık başvuru alan testlerdir. Otoantikorların saptanmasında kullanılabilecek testlerin duyarlılıkları ve özgüllükleri farklılık göstermekte olup; oluşturulacak tanı algoritmaları ile testlerden elde edilecek sonuçlar, hastalıkların tanısında ve takibinde daha yararlı olabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Anti-nükleer antikor, immünfloresan antikor testi, otoantikor, immüblot testi

P-082

Ref. No: 89

ANTİ NÜKLEER ANTİKOR (ANA) TESPİTİNDE KULLANILAN ELİSA İLE IFA YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Mesut Bulut, Halime Özdemir, Yusuf Afşar, Zeynep Dansuk, Mustafa Çağatay

Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji, Ankara

GİRİŞ: Anti-nükleer antikor birçok otoimmün hastalığın tanısında klinisyenin kullandığı bir antikordur. ANA çoğu laboratuvarında ELİSA veya IFA testleriyle araştırılmakta veya takip edilmektedir. Çalışmamızda bu iki testin hasta örnekleriyle karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda bu iki testin hasta örnekleriyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Çalışmamızda Aralık 2012-Şubat 2013 tarihleri arasında laboratuvarımıza ANA tespiti için gönderilen 146 örnek ELİSA ve IFA testleriyle çalışıldı. ELİSA testi Alisei (İtalya) Tam Otomatik Elisa cihazı ile AIDA ANA Screen (Almanya), IFA testi ise IMMCO IFA (Almanya)kitleri kullanılarak çalışıldı.

SONUÇ: 117 örnek her iki testte de negatif olarak değerlendirilmiştir. 16 örnek her iki testte de pozitif olarak değerlendirildi. 8 örnek ELİSA pozitif İFA negatifti. 5 örnek ise İFA pozitifken ELİSA negatifti. Bu sonuçlarla İFA testi referans test olarak değerlendirildiğinde ELİSA testinin duyarlılığı: % 76,2 özgüllüğü: %93,6 PPD: %66,6 ve NPD: %95,6 olarak bulundu.

TARTIŞMA: Altın standart olarak kabul edilen İFA testi eğitimli personele ihtiyaç duyulması, standardizasyon zorluğu ve iş yükü gibi dezavantajlarına rağmen 100'den fazla antijenik yapının kullanılması, patern değerlendirilebilmesi ve floresans şiddetinin değerlendirilebilmesiyle daha yüksek klinik korelasyona sahiptir. ELİSA yöntemiye hızlı, çok örneği çalışabilmesi ve iş yükünün çok az olması nedeniyle taramada yaygın olarak kullanılmaktadır. Klinik bilgi ile birleştirilerek değerlendirildiğinde her iki testin de tanı ve takipte oldukça değerli olduğu kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: ANA, ELİSA, İFA, TARAMA, ALTIN STANDART

P-083

Ref. No: 93

DFS70/LEDGF OTOANTİKORUNUN BULUNMA SIKLIĞI, TİTRESİ VE PRİMAT DOKU KESİTLERİNDE TANIMLANABİLME ÖZELLİKLERİ

Hüseyin Tutkak, Rahime Aksoy, Türker Duman, Mustafa Özdemir, Ümit Ölmez

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

Anti nükleer antikorlar (ANA) sistemik otoimmün romatolojik hastalıkların (SORH) önemli serolojik belirteçlerinden birisidir. HEp-2 hücreleri kullanılarak yapılan indirekt immünofloresans testinde son yıllarda interfaz hücreleri ve metafaz kromatinlerinde dağınık benekli boyanma modeliyle DFS70 (dense fine speckled) olarak tanımlanan antikorun, LEDGF (lens epithelium-derived growth factor) ve son dönemde DNA'ya bağlanan transkripsiyon kofaktör p75'e karşı bir antikor olduğu bildirilmiştir. DFS70 otoantikoru kronik inflamasyonda, interstital sistide, atopik dermatit ve sağlıklı bireylerde de saptanabildiği, SORH'da daha az sıklıkla bulunduğu rapor edilmiştir. Bu konuda daha önce yaptığımız çalışmada DFS70 otoantikoru 536 sağlıklı bireyin %1,9'da tesbit edilmiş, SLE (N:63), RA (N:31) ve siklerodermal (N:18) olgularda ise saptanmamıştır. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuvarında 2012 yılında çalışılan 11.003 ANA (HEp-2, İFA) testinde toplam 277 olguda (%2,1) DFS70 otoantikor pozitifliği rapor edilmiştir. DFS70 otoantikor pozitifliği saptanan olguların 238'i kadın (%1,8 yaş ortalaması: 43,2), 39'u erkek (%0,3 yaş ortalaması 41,6) olup bu olguların hastanemiz işletim sistemindeki ön tanıları incelendiğinde en sık olarak bağ dokusunun sistemik tutulumu %30,4, bunu allerji %4,1, ürtiker, RA ve Sjögren %3,5 olarak (bunların toplam oranı %45) kaydedildiği, geri kalanların çok değişik ön tanı aldığı görülmüştür. DFS70 otoantikor pozitiflik titreleri yönünden incelendiğinde, %87'si 1/100, %12,6'sı 1/320 ve %0,4'ü 1/1000 titrede pozitiflik saptanmış olup, antikor titreleri yönünden genelde olgularımızın çok büyük bölümünün düşük titredeki pozitifliği dikkati çekmektedir. DFS70 otoantikor pozitifliği saptanan olgularımızın %3,6'sında az nükleer noktali boyanma modeli ile karakterize p-80 coilin (80 kD'luk protein, Cajal cisimciği) ile birlikteliği saptanmıştır. DFS70 otoantikor pozitifliği gözlenen olgularımızın % 4,3'ünde stoplazmada ince benekli tarzda boyanma modelinin eşlik ettiği görülmüştür. Bu otoantikor HEp-2 hücrelerinin substrat olarak kullanıldığı ANA (İFA) testinde interfaz hücreleri ve metafaz kromatinlerinde dağınık benekli boyanma modeliyle tanımlanabilirken özellikle primat karaciğer dokusunda ve sıçan böbrek doku kesitlerinde çoğunlukla boyanma gözlenmemektedir. Ancak sıçan mide dokusunda bu pozitifliğin teyit edilebileceği gözlenmiş olup bu durum daha önce kaynaklarda rapor edilmemiştir.

Anahtar Kelimeler: ANA, Otoantikor, DFS70, LEDGF

P-084

Ref. No: 141

ANA HEP-2 HÜCRE HATLARINDA METAFAZ POZİTİF NÜKLEAR HOMOJEN BENZERİ PATERN (ANTI-DFS-70) VE ÖNEMİ

Yavuz Doğan, Özlem Yılmaz, İsmail Hakkı Bahar

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İzmir

AMAÇ: Anti-DFS-70 son zamanlarda sistemik otoimmün romatizmal hastalıkların dışlanmasında önemli bir belirteç olarak tanınan algoritmaların içinde yerini almaktadır. Bu çalışmada retrospektif olarak homojen patern ile benzerlik gösteren ve tanılamada karışıklığa neden olabilecek metafaz granüler reaktif nükleer homojen patern sıklığı (anti-DFS 70) ve klinik ön tanımlar ile olan ilişkisi araştırılmıştır.

YÖNTEM: Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarına 2012 yılı içerisinde değişik klinik yakınmalarla başvuran 6170 ANA İFAT sonuçları incelemeye alındı. ANA patern değerlendirilmesi EUROIMMUN ANA/HEp-20-10/Liver (Monkey) İFA test kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Pozitif bulunan örneklerdeki görülen patern sıklığı ve anti-DFS 70 ile klinik ön tanımları arasındaki ilişki karşılaştırıldı.

BULGULAR: Değerlendirmeye alınan 6148 ANA'nın 1576'sı (%25,63) pozitif, 4572 örnek negatif (% 74,37) olarak değerlendirildi. Pozitif örneklerinin ANA Hep-2 patern dağılımı incelendiğinde sırasıyla %30,07 granüler, %21,46 anti-DFS 70, %16,56 nükleer homojen, %8,37 nükleolar, %6,29 sitoplazmik, %5,34 mikst tip, %4,31 anti-Scl ve %4,06 sentromerik paternler oluşturmaktadır. Anti-DFS 70 saptanan grupta %43,58'i 1/100, % 49,85 1/320 ve %6,57 1/1000 titrasyonlarda reaktif olarak belirlendi. En sık olarak artrit (%13,43) ve sistemik bağ dokusu hastalıkları (%11,64) ön tanımlı hastalarda gözlenmesine rağmen özgül ANA pozitif grup ile karşılaştırıldığında bu patern ile birlikte herhangi bir klinik tanıya özgü anlamlı bir birliktelik belirlenemedi.

TARTIŞMA: Rutin ANA Hep-2 tarama testlerinde anti-DFS 70 benzeri patern laboratuvarımızda granüler patern'den sonra en sık ikinci karşılaştığımız paterndir. Bu paternin ayırıcılığı HEp-2 hücre hatlarıyla birlikte karaciğer dokusunun birlikte değerlendirilmesi önemlidir. Metafaz pozitifliğinin sık görülmesi kullanılan İFAT testinin özelleştirilmiş hücre hatlarına bağlı olabilir. Anti-DFS ve benzeri homojenimsi patern türlerin ayırımı kliniğin doğru yönlendirilmesi açısından önemlidir. Anti-DFS 70 pozitifliğinin sistemik bağ dokusu hastalığını dışlaması açısından tanınan algoritmadaki yeri ve pozitifliğinin klinikle olan ilişkisinin belirlenmesinde daha geniş çalışma gruplarında ileri dönemleri içeren takip çalışmalarının yapılması gerektiği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: ANA, Anti-DFS 70, Otoimmün romatizmal hastalık

P-085

Ref. No: 72

ANTİNÜKLEER ANTİKOR SAPTANMASINDA ÜÇ FARKLI KİTİN KARŞILAŞTIRILMASI

İhsan Hakkı Çiftçi, Engin K Karakeçe

Sakarya Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Sakarya

Otoimmün hastalıkların tanısında kullanılan antinükleer antikorlar (ANA) immün sistemin kendinden olana karşı ürettiği heterojen bir antikor grubudur. Halen bu antikorları saptamada yaygın olarak indirekt immünofloresan mikroskopi (İFM) yöntemi kullanılmaktadır. Yöntem; ucuz, kolay uygulanabilir, yüksek duyarlılıkta ve özgüllüktedir. Çalışmanın amacı üç farklı üreticiye ait ANA kitleri ile yapılan İFM inceleme sonuçlarının karşılaştırılmasıdır.

Çalışmaya laboratuvarımız serum arşivinde bulunan 40'ı ANA ho-

mojen pozitif 10'u negatif olmak üzere toplam 50 serum örneği dahil edilmiştir. Tüm serumlar 1/100 dilüsyonda Aesku HEp 2 (Almanya), BioSystems HEp 2 (İspanya) ve Euroimmun HEp 20-10 (Almanya) kitleri ile test edilmiştir. Laboratuvar çalışmaları ve test protokolü üretici önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Mikroskopik değerlendirmeler iki farklı gözlemci tarafından çift kör olarak yapılmıştır.

Gözlemciler tarafından gerçekleştirilen yapısal değerlendirmede Aesku, BioSystem ve Euroimmun ANA kitleri sırasıyla 3.5, 3.4 ve 4.3; çift kör olarak yapılan mikroskopik değerlendirmede sırasıyla 2.0, 1.7 ve 4.6 ortalama puanlar almıştır. Mikroskopik değerlendirmelerde hem Aesku HEp 2 hem de BioSystem HEp 2 kitlerinin floresan stabilitesinin hızla kaybetmesi dikkat çekici bulunmuştur. Euroimmun HEp 20-10 ise diğer testlere oranla yüksek maliyetli bulunmuştur. Diğer veriler Tablo 1 ve Tablo 2'de özetlenmiştir. Tanısal değerlendirmede düşük titre ANA homojen pozitiflikleri için her iki gözlemci Aesku HEp 2 ve BioSystem HEp 2 ürünleriyle çok sayıda yanlış negatif sonuç bildirmiştir.

Sonuç olarak; İFM yöntemiyle yapılan ANA testlerinde Euroimmun HEp 20-10 fiyat dezavantajı dışında her iki gözlemcinin yapmış olduğu üç farklı kategorideki değerlendirmelerde olumlu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Floresan mikroskopi, otoimmünite

P-086

Ref. No: 74

ANTİNÜKLEER ANTİKOR POZİTİFLİKLERİNİN İRDELENMESİ

Engin Karakeçe¹, Ali Rıza Atasoy¹, Güner Çakmak², Halil Harman³, İbrahim Tekeoğlu³, İhsan Hakkı Çiftçi¹

¹Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Sakarya

²Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD, Sakarya

³Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD, Romatoloji Bilim Dalı, Sakarya

Otoimmün hastalıkların tanısı, prognozu, aktivitesi ve tedavinin takibinde otoantikorların saptanması klinisyene önemli yol göstericidir. İndirekt floresan antikor (İFA) testleri otoantikorların saptanmasında kullanılan yöntemlerden en sık başvurulana ve en subjektif olanıdır. Bu yöntemde kullanılan hücreler yüzlerce proteini içermesi, subjektivitenin temel nedeni iken, bu durum aynı zamanda tüm dünyada, otoantikorların adlandırılmalarında ortak bir dil oluşmasını zorlaştırmaktadır. Bu çalışmada çeşitli kliniklerden otoantikor araştırılması için gönderilen hastalara ait sonuçların retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına Mayıs 2012-Şubat 2013 tarihleri arasında otoimmün hastalık şüphesiyle otoantikor aranması istenen 2268 hasta değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmada HEp 20-10 (Euroimmun, Almanya) hücreleri ile hazırlanan preparatlar üretici firma önerileri doğrultusunda Eurostar III (Euroimmun, Almanya) floresan mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Çalışmaya Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon (FTR) Romatoloji ve Dahiliye Romatoloji (%36.3), FTR (%14.8), Dahiliye (%12.7), Dermatoloji (%11.3) ve Nöroloji (%7.0) klinikleri başta olmak üzere 10 farklı klinikte takip edilen toplam 2268 hasta dahil edilmiştir. İncelenen hasta örneklerinde değişik titre ve motiflerde %33.3 (755) ANA pozitifliği saptanmıştır. ANA pozitifliği en sık %41.1 (310/755) oranı ile Romatoloji ve %15.0 (113/755) oranı ile FTR kliniklerinde saptanmıştır. Pozitif olarak bildirilen hastaların %30.1'inde nükleer granüler motif, %16.2'sinde nükleolar motif pozitifliği bildirilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen pozitiflik oranları literatürde bildirilen oranlara göre yüksek bulunmuştur. Özellikle düşük titre pozitifliklerinin gözden geçirilmesi, sonuçların optimizasyonu, testin po-

zitif ve negatif kestirim değerlerinin istenilen düzeyde tutulması için ilgili kliniklerle işbirliği planlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antinükleer antikor, otoimmünite

TEMEL İMMÜNOLOJİ

P-087

Ref. No: 26

TÜRKİYE ENDEMİK ASTRAGALUS (GEVEN) TÜRLERİNDEN SAFLAŞTIRILAN MOLEKÜLLERİN İMMÜNOSTİMÜLAN VE ADJUVAN OLARAK KULLANIM POTANSİYELLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşe Nalbantsoy, Erdal Bedir

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 35100 Bornova, İzmir

İmmünomodülatörler immün sistemi bloke eden immünosupresif faktörler ve organizma immün sistemini destekleyen immüno-stimülanları kapsamaktadır. İmmünostimülanlar kemoterapide, hastalıkların tedavisinde ve aşılama sonrası immün yanıt oluşumunu indüklemeye veya etkinliğini artırmada kullanılmaktadır. Geleneksel Çin Tıbbında Astragalus membranaceus çok eski zamanlardan beri immün sistem tetikleyicisi olarak kullanılan tıbbi bitki karışımlarının terkinde yer almıştır. Yapılan çalışmalarda biyo-aktif bileşenler olarak polisakkarit ve sikloarten tipi saponinlerin etkiden sorumlu olduğu saptanmıştır. Leguminosae familyasının en geniş genusu olan Astragalus, Türkiye florasında yaklaşık 450 tür ile temsil edilmektedir. Güneydoğu Anadolu'da Astragalus köklerinin sulu ekstreleri kan kanseri tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır. Türkiye Astragalus türleri üzerine yapılan ön çalışmalarla bu etkinin immün sistem üzerindeki modülatör etkilerden kaynaklandığı belirlenmiştir.

Bu çalışmaların devamı niteliğinde olan ileri araştırmalarda ülkemizin Astragalus türlerinden saflaştırılan ve potent olabileceği öngörülen iki molekülün (Astragaloside VII ve Macrophyllosaponin B) adjuvan potansiyellerinin *in vivo* modellerle ortaya konulmasına odaklanılmıştır. Swiss albino ırkı fareler kullanılarak, moleküllerin LPS ile uyarım sonrası, BSA model antijeni ile uygulaması yapılmış ve çalışmalar sonucunda bileşiklerin kontrol grubuna göre herhangi bir yan etki olmaksızın serum IFN- α , IL-2 ve TGF- β konsantrasyonlarında artışa neden olurken, IL-1 β , TNF α ve IL-4 üzerinde etki göstermediği görülmüştür. Yine moleküllerin kontrol grubuna göre B (IgG, IgG1 ve IgG2b) ve T hücrelerinin aktivasyonunu arttırdığı ELISA ve immünohistokimyasal çalışmalarla ortaya konmuştur. Sonuçta elde edilen veriler dünyada yaygın olarak kullanılan A. membranaceus preparatlarının yerini (ekstre veya kombine drog karışımları) saf bileşiklerin alabileceğini ve bu potent bileşiklerin ilaç adayı olarak ileri çalışmalarının yapılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur. Bileşiklerimizle devam eden çalışmalarımızın, etnobotanik kullanıma paralel olarak *in vivo* kanser modellerinde araştırılması üzerine kurulması planlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Endemik, Astragalus (Geven) İmmünostimülan, Adjuvan

P-088

Ref. No: 127

POPULASYON-TEMELLİ TURDEP-II ÇALIŞMASINDA YÜKSEK DUYARLIKLILIK C-REAKTİF PROTEİN İLE PREDİYABET, DİYABET, OBEZİTE VE HİPERTANSİYON İLİŞKİSİ

Yıldız Tütüncü¹, İlhan Satman¹, Selda Gedik Çelik¹, Fulya Türker¹, Ayşegül Telci², Nevin Dinççağ¹, Beyhan Ömer², Turdep II Çalışma Grubu³

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Klinik Biyokimya AD, İstanbul
³TURDEP-II Çalışma Grubu

AMAÇ/HEDEF: Bu çalışmada hsCRP düzeyleri ile prediyabet, diyabet (DM), hipertansiyon (HT) ve obezite (OB) ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

MATERYAL-METOD: Çalışmada Türk erişkin nüfusunda yeni tanımlanan Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrin Hastalıklar Prevalans Çalışması'nın (TURDEP-II, n=26499) verileri kullanılmıştır. Bilinen infeksiyon/inflamatuvar hastalığı olan ya da hsCRP >=10 mg/L olan katılımcılar çalışma dışı bırakıldı. Katılımcılar hsCRP düzeylerine göre dört eşit dilime ayrıldı. En düşük (1°CĐ) ile en yüksek (4°CĐ) dilimlerde cinsiyete özgü predM, DM, HT ve OB dağılımları karşılaştırıldı.

BULGULAR: Kadınların hsCRP düzeyleri erkekler göre anlamlı olarak daha yüksekti (ort±SEM: 3.95±0.05 vs. 3.53±0.09 mg/L, p<0.001). Cinsiyetlere göre hsCRP'nin 1°CĐ ile 4°CĐ yer alan predM, DM, HT ve OB dağılımlarının karşılaştırması tabloda verilmiştir.

SONUÇ: Çalışmamızın sonuçları, prediyabetik süreci hazırlayan risk faktörleri (OB ve HT) döneminden itibaren diyabetik sürecin gelişiminde düşük dereceli inflamasyonun önemli rolü olduğunu kanıtlar niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: İnflamasyon, hsCRP, Diyabet, Obezite, Epidemiyoloji

Tablo

	Kadın		Erkek	
	1°CĐ (hsCRP <0.88 mg/L) %64.8 (n=4023)	4°CĐ (hsCRP > 4.71 mg/L) %64.1 (n=4062)	1°CĐ (hsCRP <0.73 mg/L) % (2189)	4°CĐ (hsCRP >3.5 mg/L) % (2275)
Bozulmuş Açlık Glukozu	15.2 (612)	14.2 (575)	14.8 (323)	15.0 (341)
İzole Bozulmuş Glukoz Toleransı	8.9 (329)	9.7 (370)	5.3 (106) ^a	6.7 (142)
Kombine Glukoz Toleransı	6.1 (245) ^a	12.4 (505)	2.8 (62) ^a	7.6 (172)
Yeni DM	4.5 (183) ^a	11.7 (474)	3.0 (66) ^a	10.9 (249)
Bilinen DM	3.9 (156) ^a	14.0 (567)	5.8 (127) ^a	11.2 (255)
Yeni HT	7.4 (297) ^a	14.4 (584)	10.2 (223) ^a	18.7 (426)
Bilinen HT	9.6 (386) ^a	28.8 (1171)	9.2 (201) ^a	21.1 (481)
Genel OB	16.2 (634) ^a	63.0 (2466)	11.6 (249) ^a	34.5 (766)
Kilo lu	31.6 (1239) ^a	24.8 (970)	38.0 (1328) ^a	44.1 (981)
Santral OB	35.2 (1418) ^a	79.3 (3221)	15.9 (348) ^a	74.7 (1026)
Santral Kilo lu	23.5 (916) ^a	10.4 (409)	24.1 (512) ^a	27.7 (614)

Kadın: 1°CĐ vs. 4°CĐ *p<0.001
 Erkek: 1°CĐ vs. 4°CĐ *p<0.001; ^ap=0.007; ^bp=0.055

P-089

Ref. No: 48

NLRC3 PROTEİNİNİN ENFLAMASYONDAKİ ROLÜ VE NLRP3 ENFLAMAZOMU İLE OLAN ETKİLEŞİMİ

Elif Eren, Nesrin Özören

Boğaziçi Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

NLR ailesi proteinleri patojen molekülleri tanıyan sitoplazmik reseptörlerdir. Bu ailenin yeni üyesi olan NLRC3'ün TRAF6'nın übikitinasyonunu sağlayarak NFκB yolağını susturduğu ve NLRC3 anlatımının T hücreleri aktivasyonu ile ters orantılı olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Fakat NLRC3 proteininin IL-1β ve IL-18 gibi sitokinlerin üzerindeki etkisi henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada NLRC3'ün kendi başına IL-1β salınımına yol açıp açmadığı ve NLRP3'ün işleyişi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bunun için NLRC3, NLRP3 ve enflamazomu oluşturan proteinler hücrede ifade edilmiş ve IL-1β salınımına bakılmış, ASC zerrecikleri oluşturma potansyelleri ölçülmüş ve NLRP3 enflamazomu aktivasyonu NLRC3 anlatan ve susturulmuş hücrelerde karşılaştırılmıştır.

İlk bulgular NLRC3'ün ASC, Kaspaz 1 ve IL-1β ile birlikte HEK293FT hücrelerinde ifade edildiğinde, konsantrasyonu-

na bağlı olarak IL-1β salınımını tetiklediğini fakat bu salınımın NLRP3 ile karşılaştırıldığında daha az olduğunu göstermiştir. Ayrıca NLRC3'ün HEK293FT-ASC-GFP kararlı hücre hatlarında ifade edilmesi zaman ve konsantrasyona bağlı olarak ASC zerrecik oluşumunu tetiklemiş ama NLRP3 kadar etkili olmamıştır. NLRP3 ASC zerrecik oluşumunu anlamlı şekilde artırırken, NLRC3'ün eklenmesi zerrecik miktarını düşürmüştür. Bunun nedeni ise muhtemelen NLRC3 ve NLRP3 proteinlerinin ASC'a bağlanmak için rekabet etmesinden ileri gelmektedir. Özet olarak, NLRC3'ün IL-1β salınımını ve zerrecik oluşumunu arttırdığı fakat bu proinflamatuvar etkinin NLRP3 kadar kuvvetli olmadığı gösterilmiştir. NLRP3 aktivasyonu ile rekabet etmesi nedeni ile NLRC3'ün enflamasyon üzerinde düzenleyici bir rolü olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: NLRC3, NLRP3, IL-1β, Enflamasyon

P-090

Ref. No: 45

Gai3-, AGS3- ve RGS19-NAKAVT FARE MAKROFAJLARINDA NORMAL OTOFAJİ İNDÜKLENMESİ

Ali Vural¹, Joe B Blumer², Il Young Hwang¹, Chung Park¹, John H. Kehrl¹

¹Ulusal Sağlık Enstitüleri; Allerji ve Bulaşıcı Hastalıklar Ulusal Enstitüsü; B-Hücre Moleküler İmmünoloji Bölümü, Bethesda, MD, USA
²Güney Karolayna Tıp Üniversitesi, Hücre ve Moleküler Farmakoloji ve Deneysel Terapötik Bölümü, Charleston, SC, USA

Otofaji, hücre homeostazini sağlayan önemli bir katabolik aktivitedir. Otofaji, çeşitli stres koşullarının etkisiyle oluşan yanlış katlanmış proteinleri, zarar görmüş organelleri ve ayrıca uzun-ömürlü proteinleri yığın-kütle formatında yıkarak fonksiyonunu gerçekleştirmektedir. Otofaji, doğuştan- ve adaptif-immün hücrelerde, antijen sunumuna katkı yaparak ve inflamasyon aktivitesinin kontrolünü regüle ederek hücre savunmasına katkı sağlamaktadır. Engelleyici G-protein altbirim 3 (Gai3), G-protein sinyal aktivatörü 3 (AGS3) ve G-protein sinyal regülatörü 19 (RGS19) proteinlerinin, büyüme hormonu ve G-protein-araçlı sinyal iletim mekanizmaları vasıtasıyla otofajinin dengesini sağladıkları gösterilmiştir. Ancak literatürdeki bu çalışmaların çoğu transome olmuş çeşitli hücre tiplerinde protein seviyeleri artırılarak ve azaltılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızın ana hedefi, bu üç sinyal proteininin doğuştan-immün hücrelerde gerçekleşen otofajiye etkisini anlamaktır. Bunun için, normal ve nakavt farelerin kemik ilik hücrelerini izole ederek birincil makrofajlar türettik. Makrofajları gıda-yoksunluğu ve nigerisin uygulamasına maruz bırakarak otofajik aktivitelerini indükledik. Otofaji seviyelerini de ana etiket olan LC3 proteininin miktarını western blotla, otofajik vesikülleri de immünohistokimya aracılığıyla kantifiye ettik. Beklentilerin aksine, bu sinyal proteinlerinden yoksun makrofajların normal makrofajlarla benzer otofajik seviyelere sahip olduğunu gözlemledik. Ayrıca, G-protein-es reseptörlerinin guanin nükleotid değiş-tokuş aktivitesini engelleyen pertussis toksin uygulamamız da benzer sonuçlar verdi. Sonuç olarak, transome olmuş farklı hücre çeşitlerinin aksine, bizim bulgularımız Gai3, AGS3 ve RGS19 sinyal proteinlerinin birincil makrofajların otofajik indüklenmesinde herhangi bir regülatör rolü olmadığını gösteriyor.

Anahtar Kelimeler: otofaji, makrofaj, Gai3, AGS3, RGS19

P-091

Ref. No: 138

NLRP7 PROTEİNİNİN İMMÜN TOLERANSLA İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ**Aybüke Garipcan, Duygu Demiröz, Nesrin Özören***Boğaziçi Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Apoptoz ve Kanser İmmünolojisi Laboratuvarı, İstanbul*

İnsanda 23 üyesi bulunan, NOD-Benzeri-Alıcılar (NLR-NOD-Like Receptors) ailesi üyeleri apoptoz ve enflamasyonu regüle eden sitoplazmik alıcılardır. Bu grubun bir üyesi olan NLRP7'nin fonksiyonları henüz bilinmemektedir. Literatürde birkaç makalede, NLRP7'nin testiküler seminomada onkogenik bir rol üstlendiği ve bazı kanser türlerinde fazlaca ifade edildiği gösterilmiştir. Ayrıca, NLRP7 mutasyonlarının kadınlarda ölü doğumlarla ve düşüklerle sonuçlanan, hidatiform mollere sebep olduğu birçok farklı çalışmayla gösterilmiştir. Bizim çalışmalarımızda, NLRP7' nin kaspaz 1, 5 ve ASC ile irtibat ettiği tespit edilmiş ve IL-1 β kesilimini denetlediği gösterilmiştir. NLRP7' nin immün toleransla ilişkili dokulardaki gen ifadesi taraması qPCR yöntemiyle gerçekleştirilmiş ve bazı dokularda NLRP7 geninin ifadesinde artış olduğu tespit edilmiştir. Protein düzeyinde gerçekleştirilen çalışmalarda, NLRP7 proteini ve onun PYRIN, NACHT ve LRR bölgeleri klonlanmış ve izole edilmiştir. Bunlardan proteinin tümüne ve PYRIN bölgesine spesifik antikor üretme çalışmaları devam etmektedir. Çalışmaların bir diğer basamağında, immün çöktürme yöntemi kullanılarak bazı olası NLRP ailesi üyeleriyle partner analizi yapılmıştır. Ayrıca, shRNA'lar kullanılarak farklı baskılanmış hücre hatları elde edilerek, NLRP7' nin tetiklediği yollar araştırılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: NLRP7, immün ayrıcalık, testiküler seminoma, mol gebelik

P-092

Ref. No: 132

DNA-BAKTERİYOSİN KOMPLEKSLERİNİN İMMÜN DÜZENLEYİCİ ETKİLERİ**Fuat Cem Yağcı¹, Fadime Kıran², Kübra Almacioğlu², Özlem Osmanağaoğlu², İhsan Gürsel¹***¹Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*
²Ankara Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

AMAÇ: Metillenmemiş CpG dinükleotid motifleri içeren ve bakteri genomunda çok yüksek frekansta bulunan CpG motifleri memeli doğal bağışıklık hücrelerinde bulunan endozomal TLR9 tarafından tehlike sinyali olarak algılanıp Th1 ağırlıklı immün yanıtı yol açmaktadır. Ayrıca sentetik olarak da üretilebilen CpG-ODN'ler klinik ve klinik öncesi çalışmalarda aşı adjuvanı, anti-allerjen, anti-kanser ve profilaktik immün koruyucu ajan olarak da kullanılmaktadırlar. CpG-ODN'ler DNA omurga yapılarına göre başlıca 2 sınıfa ayrılmaktadırlar. K-tipi ODN'ler fosforotiyoat omurga yapısına sahiptirler ve B hücrelerini aktive ederler. D-tipi ODN'ler karma (fosfodiester+fosfotiyoat) omurga yapısına sahiptirler, 3' ve 5' uçlarında G tekrarları barındırılır ve pDC'lerden antiviral sitokin olan IFN α salımını arttırmaktadırlar.

Bu ODN'lerin etkileri umut verici olsa da, birçok klinik çalışma ODN'lerin etkinliklerinin terapötik seviyede olmadığını göstermektedir. Bu durumun başlıca sebepleri arasında ODN'lerin endonükleazlar tarafından parçalanması ve serum proteinlerince absorbe edilmeleri sayılabilir. Bu güne kadar literatürde ODN'lerin etkinliklerinin artırılması için birçok yaklaşım ortaya konmuştur. Bakteriyosinler, laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen hidrofobik yapıda ve katyonik antimikrobiyal peptidlerdir. Bu çalışmanın amacı, çeşitli bakteriyosinler ile bağışıklık uyarıcı farklı sınıf CpG-ODN'lerin ve/veya baskılayıcı ODN'lerin kompleks oluşturmalarını sağlamak ve immün düzenleyici etkilerini belirlemektir.

YÖNTEM-GEREÇLER: Balb/c fare dalak hücreleri kültür ortamında (5×10^6 /mL) daha önce oluşturulan komplekslerle inkübe edilerek uyarılmışlardır. CpG-ODN/Bakteriyosin kompleksleri farklı konsantrasyonlarda (3, 1, 0,3, 0,1 μ M) kullanılmıştır. Kompleksler, CpG-ODN'ler ve bakteriyosinlerin, oda sıcaklığında 40 dakika, 3 farklı oranda (1:2, 1:4, 1:8) bekletilmesinden sonra elde edilmiştir. Uyarılmadan 24 saat sonra hücre süpernatantlarındaki, IL6, IL12, IFN γ seviyeleri ELISA yöntemi ile belirlenmiştir.

BULGULAR: Bakteriyosinler, farklı bakteri suşlarından izole edilmiş olsalar da sonuçlarımız bu isolatların kendi başlarına herhangi bir immün yanıt oluşturmadıklarını göstermektedir. CpG-ODN'lerle kompleks oluşturan bu bakteriyosinler, serbest CpG-ODN ile kıyaslandığında fare dalak hücrelerinden çok daha yüksek seviyede IL6, IL12 ve IFN γ salımını indüklemektedirler.

SONUÇLAR: Bu çalışmanın sonuçları bakteriyosinlerin nükleik asit yapısındaki TLR agonistleriyle kompleks oluşturabildiklerine ve immünoterapötik uygulamalarda DNA ve/veya RNA bazlı ligandların *in-vivo* etkinliklerini arttırabileceklerine dair kanıtlar sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: aşı, antimikrobiyal katyonik peptid, CpG-ODN, doğal bağışıklık, immünmodülasyon

P-093

Ref. No: 140

ASC ZERRELERİNİN DIŞ KABUĞU HÜCRE İÇİNDEKİ PEPTİT VE PROTEİNLER İLE KAPLANMAKTADIR**Ali Can Sahillioğlu, Nesrin Özören***Boğaziçi Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul*

Enflamazom kompleksleri, hücre içindeki patojenik motifleri ya da patojenler tarafından oluşan hasarı tespit etmektedir. NLRP3, NLRC4 ve AIM2 enflamazomları uyarıldıktan sonra, hücre içinde mikrometre çapında küresel yapılar olan ASC zerreleri oluşmaktadır. ASC zerrelere enflamazom aktivitesinin gerçekleştiği bir platform olduğu düşünülmektedir. Oligomerik bir aktivasyon kompleksine karşın neden mikrometre ebatlarında bir yapı tercih edildiği bilinmemektedir. Çalışmamızda, HEK 293T hücrelerinde sitozolik peptit/proteinlerin ASC zerrelere dış kabuğunda hidrofobik etileşimler sebebi ile ko-agrege olduğu gözlemlendi. Rasgele seçilmiş/üretilmiş EGFP proteinine bağlı ufak peptitlerin ASC zerrelere ko-agrege olduğu fakat tek başına EGFP proteininin ASC zerrelere ko-agrege olmadığı gösterildi. Bu bulgu, enflamazom aktivasyonu sırasında sitozolde bulunması beklenen patojenik peptit/proteinlerin de benzer şekilde ASC zerrelere dış kabuğunu kaplayabileceğini önermektedir. PMA ile farklılaştırılan THP-1 makrofaj hücreleri monosodyum ürat kristalleri ile uyarıldığında hücre dışında ASC zerrelere tespit edilmiştir. Safleştirilmiş ASC zerrelere ile inkübe edilen THP-1 makrofaj hücrelerinin ASC zerrelere yuttuğu ve endozomal sistemde kademeli olarak yıktığı gözlemlendi. ASC zerrelere dış kabuğunun peptit/proteinler ile kaplanması, ASC zerrelere makrofajlar tarafından yutulması ve zerre yapısının hücre içinde kontrollü yıkımı, partikül aşılardan kullanılan stratejilerle paralellik göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: ASC, enflamazom

P-094

Ref. No: 120

REGÜLATÖR T HÜCRELERİNDE ÖNEMLİ FoxP3 PROTEİNİNİN APOPTOZ İNDÜKLEME AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**Canan Sayitoğlu, Batu Eрман***Sabancı Üniversitesi, İstanbul*

Regülatör T hücreleri keşiflerinden bu yana yaygın olarak Foxp3 genini ifade etmeleriyle nam saldırlar. Foxp3 proteini bir transkripsiyon faktörü olup, immün sistemi düzenlemekte kullanılan bir

çok hedef genin ifadesine neden olmaktadır. Foxp3 transkripsiyon faktörünün bağışıklık sistemi dışındaki hücre tiplerinde ifadesi konusunda yapılan araştırmalarda aynı faktörün kimi kanser hücre hatlarında programlı hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir. Bu doğrultuda yaptığımız araştırmada fare Foxp3 genini IRES-GFP ile birlikte ifade edecek retroviral vektörler oluşturduk. Elde ettiğimiz virüsleri kullanarak spin-enfeksiyon yöntemiyle yine fare NIH.3T3 hücre hattında genoma entegre ederek sürekli ifade ettirdik. Bu hücreleri floresan mikroskop ve akım sitometresi teknikleri ile 2 ay süresince takip edip GFP ifade seviyelerini analiz ettik. FoxP3 ifade etmeyen kontrol virüsler tarafından enfekte edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında Foxp3 ifade eden hücrelerin gün be gün GFP miktarlarında düşüş gözlemledik. Bu sistemi kullanarak hedefimiz protein ve RNA analizleri yaparak moleküler seviyede Foxp3 ile etkileşen faktörler belirlemek, FoxP3 proteininin yapısındaki önemli bölgeleri keşfetmek ve hücre ölümü mekanizmalarını aydınlatmaktır.

Anahtar Kelimeler: Regülatör T hücreleri, Foxp3, apoptoz

P-095

Ref. No: 123

B AKTİN GENİ YÜKSEK ORANDA FİBRİN İÇEREN DOKULARIN GERÇEK ZAMANLI-POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU TESTLERİNDE REFERANS OLARAK KULLANILMALI MI ?

Özgür Albayrak¹, Fatma Tuba Akdeniz², Zeynep Akbulut², Gökhan Terzioğlu², Zehra Eren³, Gülderen Yanıkkaya Demirel⁴

¹Yeditepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Yüksek Lisans Programı, İstanbul

²Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Hematoloji Bölümü Kök Hücre Laboratuvarı, İstanbul

³Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Nefroloji Bölümü, İstanbul

⁴Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, İstanbul

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR), günümüzde gen ekspresyonu analizlerinde moleküler biyoloji laboratuvarları tarafından en çok kullanılan tekniklerden bir tanesidir. Gerek bağıl olarak gerekse kesin bir gen niceliği bilgisi sağlaması nedeni ile özellikle yüksek işlem hacmi taramalarında genlerin kopyalanma sayısı veya birbirlerine göre nasıl ekspresyon değişimi gösterdikleri GZ-PZR ile çok hızlı bir şekilde araştırılabilir. Bunun için GZ-PZR'larında standart olarak "housekeeping gen" de denilen ve her dokuda her hücrede aynı oranda eksprese olduğu düşünülen metabolik aktivitelerden sorumlu genler referans olarak kullanılırlar. Özellikle fare ve sıçan deneylerinde en çok kullanılan referans genlerinden biri β -Actin genidir. Ancak son yıllarda β -Actin geninin özellikle yüksek fibrin içeren dokularda daha az sentezlendiği ve referans geni olarak kullanılamayacağı konusunda araştırmalar yapılmaktadır. Biz de sıçan böbrek ve aort dokularından elde edilen örneklerle yapmış olduğumuz çalışmamızda; CP değerlerinden yola çıkarak β -Actin geninin aort dokusunda ($CP=32,21 \pm 5,48$, $n=18$) böbrek dokusuna göre ($CP=22,43 \pm 1,15$, $n=30$) çok daha az sentezlendiğini göstermiş bulunmaktayız. Mann-Whitney-U testi sonuçlarına göre de β -Actin geninin aort dokularında böbrek dokularına göre çok daha az sentezlendiğini ($p<0,0001$, $naort=18$ $nböbrek=30$) göstermiş bulunmaktayız. Çalışmamızın sonucu göstermektedir ki, bu konuda yapılmış diğer diğer çalışmalarla bağlantılı olarak β -Actin geninin aort gibi yüksek fibrinli dokularda kullanılması GZ-PZR larında normalizasyon işlemlerinde hatalara yol açmaktadır ve aort gibi yüksek fibrinli dokularda β -Actin yerine farklı bir referans "housekeeping" geni kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: b-Aktin, Doku, Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Referans Gen

P-096

Ref. No: 56

TİP-1 DİYABET PATOGENEZİNDE CD3⁺CD56⁺CCR4⁺ VE CD3⁺CD56⁺CCR4⁺ NKT HÜCRE SIKLIĞI VE IL17A/IFN- γ DÜZEYLERİ

Çağdaş Uğur Adaş¹, İlhan Tahralı¹, Umut Can Küçüksezer¹, Abdullah Yılmaz¹, İlhan Satman², Günnur Deniz¹, Ali Osman Gürol³

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji AD, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, İTİF İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, Diyabet Uygulama ve Araştırma Merkezi (DİYAM), İstanbul

Diyabet'te Th17, Th1 ve NK hücrelerinin rolünü gösteren çok sayıda çalışmanın aksine, yeni tanımlanan NK17/NK1 (CD3⁺CD56⁺CCR4⁺) ve CD3⁺CD56⁺CCR4⁺ NKT hücrelerinin rolleri ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Deneysel çalışmalar, IL-17A'nın pankreas beta hücre apoptozunda, IFN- γ 'nın da diyabet sürecinde rolü olduğuna işaret etmektedir. Çalışmamızda, diyabet patogenezinde etkili olabilecek NK17/NK1 hücrelerin sıklığı ve IL17/IFN- γ düzeyleri Tip-1 diyabetli hasta grubunda çalışılmış sonuçlar sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

Tip-1 diyabetli hastaların heparinize periferik kan örneklerinden ficoll separasyonu ile elde edilen periferik kan mononükleer hücreler (PKMH), hrIL-2 varlığında ve yokluğunda 24 saat 37°C %5 CO₂'li etüvde kültüre edilmiş, kültürün 20. saatinde sitokin salınımlarının durdurulması amacıyla Brefeldin A eklenmiştir. Kültür sonrası hücre yüzey molekül ekspresyonları anti-CD3-FITC, anti-CD56-APC ve anti-CCR4-PerCp, hücre içi sitokin seviyeleri ise anti-IL17A-PE ve anti-IFN- γ -Pe/Cy7 monoklonal antikorlarıyla işaretlenerek Flow Sitometri (FACSAria II) ile ölçülmüş, FACSDiva yazılımıyla analiz edilmiştir.

Sonuçlar;

IL-2 uyarısından bağımsız olarak; CD3⁺CD56⁺ NKT hücreleri içerisindeki CCR4 ekspresyonunun, diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olmasına rağmen, salgıladıkları IL-17A miktarının daha düşük olduğu gözlemlenmiştir.

IL-2 uyarımına cevaben, CD3⁺CD56⁺CCR4⁺ NK hücre alt grubundan salınan IL-17A miktarının diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir ($0,97 \pm 1,37$ vs $2,48 \pm 0,21$).

Uyarımsız grupta; CD3⁺CD56⁺CCR4⁺ hücre içi IFN- γ düzeylerinin diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur ($6,61 \pm 0,62$ vs $2,53 \pm 1,36$). Sonuçlarımız, CD3⁺CD56⁺ ve CD3⁺CD56⁺ hücre gruplarındaki CCR4 ekspresyonunun ve bu hücre gruplarından salınan sitokinlerin, Tip 1 diyabet patogenezinde rolleri olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, IFN-gamma, IL-17, NK17/NK1, NKT

P-097

Ref. No: 4

İNFLAMASYON ESNASINDA BİR ANESTETİK AJAN OLAN DEKSMEDETOMİDİN'İN SİSTEMİK VE LOKAL İMMÜN YANITA ETKİSİGülşay Erdoğan Kayhan¹, Başak Kayhan², Mehmet Gül³, Ender Gedik¹, Ülkü Özgül¹, Elcin Latife Kurtoglu², Mahmut Durmuş¹, Mehmet Özcan Ersoy¹¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon AD, Malatya,²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Malatya,³İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, Malatya,

Cerrahi operasyon esnasında, sonrasında ve yoğun bakım ünitelerinde hastanın ağrı duyusunu en aza indirmek amacıyla kullanılan anestetik ajanlar, hastanın iyileşme sürecinde rol alan immün yanıtı etkileyebilmektedir. Bu nedenle anesteziyologların kullanacakları anestetik ajanı seçmeden önce immün sistem üzerine etkilerini bilmeleri ve göz önüne almaları gerekmektedir. Deksmetomidin; sıklıkla sedasyon ve analjezi amaçlı kullanılan selektif α_2 -adrenerjik reseptör agonistidir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda sedasyon oluşturmak amacıyla uygulanmaktadır. Deksmetomidin'in immün sistem üzerine etkisi farklı araştırma grupları tarafından araştırılmış olmasına karşın bu konuda sunulan veriler bir birinden farklılık göstermekte veya diğer sedatif ajanlarda olduğu gibi Deksmetomidin için net bir sonuca ulaşmak mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, araştırmamızda Deksmetomidin'in bir inflamasyon anında sistemik ve lokal immün yanıt üzerine etkisini araştırmayı hedefledik. Hedefimize uygun olarak deney hayvanlarında hem sistemik immün yanıtı hem de lokal immün yanıtı uyaran bir inflamatuvar hastalık modeli kullanıldı. İlk olarak bu model üzerinde Deksmetomidin'in parenteral yoldan uygulanmasının inflamatuvar süreç üzerine etkisi makroskobik ve mikroskobik parametreler incelenerek takip edildi. Ardından sistemik immün yanıtı temsilen serum örneklerinde ve lokal immün yanıtı temsilen dalak hücrelerinde *in vitro* uyarım sonrası pro-inflamatuvar sitokinler ile, Th1, Th2 ve Th17 lenfosit gruplarıncı üretilen sitokinlerin düzeyleri incelenerek Deksmetomidin'in inflamasyonu ne yönde etkilediği araştırıldı.

Deksmetomidin'in parenteral yoldan verilmesi hastalıkla ilişkili tüm patolojik verilerin düzelmesine neden olmaktadır. *In vitro* ve *in vivo* araştırma bulgularımıza göre Deksmetomidin Th2 yolağında rol alan IL-4 ve IL-10 sitokinlerinin düzeyinde artışa neden olmaktadır. Buna ilaveten inflamasyon anında Th17 lenfosit grubunun aktivasyonunda etkin rol oynayan IL-23 sitokin düzeyinin de azalmasına neden olmaktadır.

Bu çalışmada Deksmetomidin'in immün yanıtı düzenleyici etkisinin dokuya özgül olduğu kadar sistemik dolaşımda da yer aldığı anlaşılmıştır. Sonuç olarak Deksmetomidin bir inflamasyon anında Th2 yolağında yer alan sitokinlerden IL-4 ve IL-10 düzeyinde artışa ve Th17 yolağında rol alan IL-23 düzeyinde azalmaya neden olarak immün yanıtı düzenleyici etki göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Anestetik ajanlar -Deksmetomidin-, immün yanıt, sitokin

P-098

Ref. No: 81

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİNE BAŞVURAN HASTALARDA QuantiFERON®-TB GOLD İN TUBE TESTİ İLE LATENT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS ENFEKSİYONU PREVALANSININ ARAŞTIRILMASI

Ayşe Demir, Cengiz Çavuşoğlu

Ege Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İzmir

QuantiFERON®-TB Gold in Tube (QFT-GIT), M.tuberculosis'e spesifik ESAT-6, CFP-10 ve TB 7.7 (p4) antijenlerine karşı oluşan özgül hücresel bağışıklık yanıtını ölçen bir testtir. Birçok çalışmada Özgül peptid antijenlerin M. tuberculosis ile enfekte olan kişilerde T lenfositlerden IFN- γ salınımını uyardığı, ancak enfekte olmayanlarda veya BCG aşısı yapılan kişilerde uyarımın olmadığı gösterilmiştir. Testin pozitif olarak saptanması kişinin M. tuberculosis ile enfekte olduğunu göstermektedir. Sunulan çalışmada Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarına çeşitli kliniklerden QFT-GIT testi için kan örnekleri gönderilen hastalarda yaş gruplarına göre latent Mycobacterium tuberculosis enfeksiyonu (LTBE) prevalansının saptanması ve aynı yaş gruplarındaki tüberküloz olgu hızları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Mikobakteriyoloji Laboratuvarına 2010-2012 yılları arasında QFT-GIT testi için gönderilen toplam 793 örnekten 163'ünde (%20.6) test pozitif olarak saptandı. Pozitiflik oranı 0-4 yaş grubunda % 8, 5-14 yaş grubunda % 13.6, 15-24 yaş grubunda % 15.6 olarak bulunurken, 25-44 yaş grubunda % 26.4, 45-64 yaş grubunda % 37 ve 65 yaş üstünde ise % 25 olarak belirlendi. Çalışmada 65 yaş üstü yaş grubu dışında, yaş gruplarına göre belirlenen LTBE prevalanslarının T.C. Sağlık Bakanlığı, Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı'nın 2009 yılı tüm tüberküloz olgularında yaş gruplarına göre olgu hızları verileriyle paralellik gösterdiği saptandı. Sonuç olarak 65 yaş üstü yaş grubu dışında QFT-GIT testi pozitifliği oranının yaşa bağlı olarak arttığı ve tüberküloz insidansı eğilimi ile uyum gösterdiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: QuantiFERON®-TB Gold in Tube, latent tüberküloz enfeksiyonu

P-099

Ref. No: 69

ERGENLERDE (13 - 18 YAŞ) CİNSEL İSTİSMAR SONRASI İMMÜN SİSTEM DEĞİŞİKLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNilgün Akdeniz¹, Hamza Ayaydın², Osman Abalı², Günnur Deniz¹¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE), İmmünoloji AD, İstanbul²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD, İstanbul

Travma ve sonrasında gelişen birçok psikiyatrik hastalığın yanında son zamanlarda akut/kronik stres döneminde immünolojik değişikliklerinde olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda cinsel istismar mağduru ergenlerde ruhsal travma sonrası stres bozukluğunun (TSSB) immünolojik yanıtları araştırılmıştır. 13 - 18 yaş arası cinsel istismar mağduru olgu grubu (OG; n=33) ile istismara uğramamış sağlıklı kişiler (K; n=10) çalışmaya alınmış, periferik kan mononükleer hücre sayısı ve oranları, uyarılmış hücre içi sitokin seviyesi ve NK (doğal öldürücü) hücre sitotoksik aktivitesi saptanmıştır. Geçirilmiş TSSB tanılı (n=6) ve yeni TSSB tanılı olgu grubundaki ergenlerde (n:33) kontrol grubuna (n:10) göre eozonofil sayısı anlamlı derecede yüksek (p:0.046), uyarılmış IFN-gamma seviyeleri ise anlamlı derecede düşük (p:0.030) tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tekrarlayan cinsel istismara maruz kalan yeni TSSB tanılı olgularda (n:18) CD3+ HLA-DR+ T lenfosit sayısında (p:0.05) ve uyarılmış IFN-gamma seviyesinde

(p:0.024), fiziksel istismara uğramamış yeni TSSB tanılı olgular-
da (n:15) ise sadece uyarılmış IFN-gamma seviyelerinde anlamlı
derecede düşüş saptanmıştır (p:0.010). Majör depresif bozukluk
(MDB-S) tanısının eşlik etmediği yeni TSSB tanılı olgularda (n:6)
eozonofil sayısı (p:0.013) ile oranı (p:0.009) ve NK sitotoksite
(p:0.025) yüzdesi incelendiğinde kontrol'e göre artış gösterirken,
IFN-gamma seviyesinde (p:0.017) düşüklük gözlenmiştir. Tek-
rarlayan cinsel istismara maruz kalan yeni TSSB tanılı olgularda
(n:18) CD3+ HLA-DR+T lenfosit sayısı cinsel istismar tekrarla-
mayan yeni TSSB tanılı olgularla (n:8) karşılaştırıldığında anlamlı
düzeyde azalma (p:0.037) saptanmıştır. Cinsel istismara ek olarak
fiziksel istismara uğrayan yeni TSSB tanılı olgularda (n:11), total
lenfosit (p:0.027), B lenfosit (p:0.04) ve T lenfosit (p:0.05) sayıları
incelendiğinde, fiziksel istismara uğramamış yeni TSSB tanılı ol-
gularda (n:15) tüm hücrelerin sayısal olarak azaldığı görülmüştür.
Yeni TSSB tanılı olgularda (n:26) ise penetrasyona maruz kalan-
larda (n:18), kalmayanlara göre (n:8) eozinofil yüzdesi (p:0.046)
yüksek saptanmıştır. Sonuçlarımız, cinsel istismarın tekrarına ve
şiddetine bağlı olarak, immünolojik dengenin bozulmuş olduğu ve
hücrel immünitenin Th1 hücre yönünde baskılandığını düşün-
düremektedir.

Anahtar Kelimeler: Travma sonrası stres bozukluğu, Hücre içi
sitokinler, NK sitotoksitesi, flow sitometri

P-100

Ref. No: 125

TÜMÖR BASKILAYICI p53 T HÜCRESİ GELİŞİMİNDE İFADE EDİLEN PATZ1'E BAĞLANIYOR

**Nazlı Keskin, Emre Deniz, Manolya Ün, Jitka Eryılmaz,
Batu Erman**

Sabancı Üniversitesi, Biyoloji Bilimleri ve Biyomühendislik Programı, İstanbul

Bağışıklık sistemi çok hücreli organizmaları yabancı ve zararlı olan
her şeye karşı savunmak için evrimleşmiştir. Bağışıklık sisteminin
ana görevi patojenleri spesifik bir şekilde tanıyan ve yok eden
çok çeşitli hücreler üretmektir. Antijen spesifik T hücresi reseptör
çeşitliliği T hücresi gelişimi sırasında TCR gen bölgesinin yeniden
yapılandırılması ile sağlanır. Bu işlem sırasında doğal olarak DNA
çift sarmal yapısında kırıklar oluştuğu için tümör baskılayıcı p53
birikir.

T hücrelerinin gelişimi sırasında farklı aşamalarda ifade edilen
transkripsiyon faktörü PATZ1'in, homoloji modellemesinin ve
docking çalışmalarının sonucuna göre p53'e bağlandığını tahmin
ediyoruz. Bilgisayar tabanlı homoloji modelleme çalışmalarına
göre PATZ1'in p53'e bağlanma bölgesinin PATZ1'in altıncı ve ye-
dinci zincir bölgeleri arasında olduğunu tahmin etmekteyiz.
Bu sebeple deneylerimizde negatif kontrol olarak, alternatif uç-
birleştirmeden kaynaklanan ve p53'e bağlanma bölgesi olmayan
PATZ1-012 izoformunu kullandık. p53'ün PATZ1'e spesifik olarak
bağlandığını HEK293 hücre hattında ektopik olarak ifade ettik-
ten sonra, eş-immün çöktürme yöntemi ile kanıtladık. Bağlanma
bölgesinde farklı mutasyonlar yaptığımızda ise p53'ün bu mutant
versiyonlara vahşi tipe göre daha zayıf bağlandığını gösterdik.
Ayrıca, p53 ve PATZ1'in hücre içi seviyede de birbirine bağlandığını
HCT116 hücre hattında ispatladık. PATZ1'in DNA hasarı so-
nucunda azaldığını gözlemledik. Daha sonraki deneylerimizde bu
azalmanın ubiquitinasyon veya neddiyasyon bağımlı olup olma-
dığını test etmeyi planlıyoruz. Terapatik strateji açısından bakıl-
dığında, anormal V(D)J rekombinasyonu sırasında tamir olmayan
DNA hasarı sebebiyle oluşan lenfomagenez durumunda, PATZ1
tümör oluşumuna karşı muhtemel bir hedef olabilir.

Anahtar Kelimeler: PATZ1, p53, T hücresi, İmmün çöktürme,
Bağlanma

P-101

Ref. No: 49

NİKOTİN UYGULANAN SIÇANLARDA DERİDE CD117 EKSPRESYONU

**Sevgi Kalkanlı Taş¹, Nevin Kalkanlı², Engin Deveci³, Ayfer
Aktaş³, Özlem Baran³, Tuba Dal⁴**

¹Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, Diyarbakır

²Venividi Hastahanesi, Dermatoloji Kliniği, Diyarbakır

³Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, Diyarbakır

⁴Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, Diyarbakır

Bu çalışmada deney hayvanı olarak ağırlıkları 240-250g arasında
değişen 14 Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 2 gr-
ba ayrıldı. Deney grubu (n= 6) sıçanlara subkutan olarak 28 gün
süre ile 2mg/kg nikotin sülfat verildi. Kontrol grubu sıçanlara ise
(n= 6) deney süresince herhangi bir işlem uygulanmadı. 28.günün
sonunda sıçanlar ketamin anestezisi altında bayıltılarak deri biop-
sileri alındı. Deri biopsileri %10 formaldehit solusyonuna alındı.
Histopatolojik takiplerin ardından Hematosksilen-Eozin ve Tri-
kom mason boyaları ile boyandı. İmmünohistokimyasal inceleme
için CD117 antikoruna ile melanosit hücre ekspresyonu değeren-
dirildi. Histopatolojik değerlendirmenin sonucunda kontrol ve de-
ney gruplarında epidermal kalınlık ve kıl foliküllerinin çapındaki
değişiklikler karşılaştırıldı. Nikotin kullanımı sonucu epidermisteki
hücrelerde pigmentasyon, kıl foliküllerinde yapısal değişiklikler ve
dermisteki kan damarlarında bağ doku liflerinde değişikliklere ne-
den olduğu görülmüştür. Nikotinin cilt yaşlanması üzerinde etkili
olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: CD117, deri, immünohistokimya, nikotin, sıçan

P-102

Ref. No: 52

İMMÜNFİKSASYON YÖNTEMİ İLE OLİGOKLONAL BAND ANALİZİNİN VERİFİKASYON VE OPTİMİZASYONU

**Fatma Tuba Akdeniz, Zeynep Akbulut, Gülderen Yanıkkaya
Demirel**

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, İstanbul

Oligo klonal band incelemesi başta Multipl Skleroz olmak üzere,
beyni etkileyen pek çok otoimmün ve enfeksiyöz hastalığın ta-
nısında, klinik ön tanıyı desteklemek amacı ile kullanılır. Bu test
İmmün fiksasyon elektroforezi (IEF) ile BOS ve serum içerisindeki
immünglobulinlerin elektroforez ile ayrılarak spesifik antikor ile
çöktürülmesi esasına dayanır. İntratekal Ig G sentezi, paraprotein
varlığı, kan-beyin bariyerinin bütünlüğünün normal ya da bozul-
muş olması hakkında bilgi vermesi açısından serum örneği ile BOS
örneğinin eş zamanda çalışılması önemlidir. Test oluşturulurken
duyarlılık ve doğruluk ölçümlerinin amacı ile "spiking yöntemi" kul-
lanılmıştır. Oligoklonal band test sonucunun klinik açıdan yararlı
olacak bilgiler içerebilmesi için serum ve BOS'ta albumin ve IgG
konsantrasyonlarının çalışma öncesinde bilinmesi, serum IgG de-
ğerinin BOS IgG değerinin kaç katı olduğunun hesaplanması ve
buna göre serumun dilüe edilerek kullanılması gerekir. Verifika-
yon çalışmalarımızda, serumun çeşitli konsantrasyonlarındaki di-
lasyonu arasında (1/100, 1/200, 1/400, 1/800) serum yüklenen
kuyulardan oluşacak bandlarda net görüntünün 1/400 dilusyonda
elde edildiği gözlemlenmiştir. BOS örneklerinde ise 50mg/L IgG
değeri üzerindeki sonuçların dilusyonla çalışılması, BOS bandla-
rının net görünmesi için önemlidir. Oligo klonal band yönteminde
meydana gelebilecek nonspesifik bağlanmaların önlenmesi için
NaCl kullanılması daha iyi görüntüler elde edilmesini sağlamakta-
dır. Sonuçların Reiber diyagramları ile birlikte raporlanması klinik
karara katkıda bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: İmmünfiksasyon, oligo klonal band, optimizasyon.

P-103

Ref. No: 8

SALMONELLA'DA HAFIZALI BAĞIŞIKLIK SAĞLAYAN CRISPR REPERTUVARI**İrem Esendemir, Neşe Akış**

Sağlık Bil. Enst. İmmünoloji AD, Trakya Üniversitesi, Edirne

AMAÇ: Bu çalışmada Salmonella bakterisinin kendilerine saldıran fajlara karşı hafızalı savunma yapmak üzere oluşturduğu CRISPR bağışıklık repertuarının incelenmiştir.

YÖNTEM: Model Salmonella typhimurium LT2 bakterisinin CRISPR repertuarı uzaktan kumandalı biyoinformatik araç kullanılarak "crispr.u-psud.fr" veritabanından çıkartılmıştır. CRISPR repertuarları spacer denilen virüs temsili nükleotid dizileriyle oluştuğundan, her spacerlar aynı veritabanını blast motoru ile NCBI-USA sövründe bulunan nükleotid veritabanına karşı taranmıştır. Elde edilen ve model ile ortak spacer içeren salmonella alt türleri listelenmiş, 22 tanesinde yer alan suşların kendi içerisinde ve ilk iki CRISPR adasında bulunan spacerların ne kadarını içerdiği manuel incelenmiştir.

BULGU: (1) Model bakterinin kromozomunda 3 CRISPR adalarında toplam 55 adet spacer bulunmaktadır. (2) Model ile en az bir ortak spacer içeren 46 adet salmonella alt tür grubuna rastlanmıştır. Bu grupların % 9'u 41 ve daha fazla sayıda ortak spacer içerirken, % 65'inin 2 ve daha az sayıda içermektedir. (3) 21 alt türde 1-17 arasında ve birinde 148 suş bulunmaktadır. Bu 22 grubun hemen yarısında bulunan suşların büyük çoğunluğunun ilk CRISPR spacerlarının en az % 83'ünü içerdiği, diğer yarısındaki grupların suşlarının hemen hepsinin spacerların % 16'sını içerdiği bulunmuştur. Aynı inceleme 2. pozisyonundaki CRISPR için yapıldığında, grupların % 14'ünde bulunan suşların en az yarısının tüm spacerları içerdiği, grupların %68'inde bulunan suşların hepsinin ise spacerların en çok % 6'sını içerdiği tespit edilmiştir. Gruplarda spacer bulundurma sıklığının son virüs enfeksiyonuna doğru ilk CRISPR için % 35'de %45'e doğru ve 2. CRISPR için % 18'den % 30'a doğru arttığı saptanmıştır.

SONUÇ: Günümüz salmonellalarının yarısının faj enfeksiyonuna doğal direnç gösterdiği ve diğer yarısının kendisini hafızalı bağışıklık ile koruduğu anlaşılmaktadır. Hafıza edinme süreci incelendiğinde bakterinin zaman içinde daha fazla hafızalı savunmaya geçtiğinin saptanması bakterinin gittikçe daha patojenitesi evrilmiş virüslerle karşılaştığını düşünmektedir. Çalışmanın sonuçları, Salmonellaların en sık enfekte olduğu faj/plasmid popülasyonunu aydınlatarak, Salmonellalara karşı geliştirilebilecek drug fajların neler olabileceğini ortaya koyacaktır.

Anahtar Kelimeler: salmonella, crispr, bakteriyel bağışıklık

P-104

Ref. No: 51

AKAN HÜCRE ÖLÇERLE SİTOKİN ÖLÇÜMLERİNDE MANUEL YÖNTEMLE KANTİTATİF DEĞERLERİN ELDE EDİLMESİ**Fatma Tuba Akdeniz, Zeynep Akbulut, Özgür Albayrak, Gülderen Yanıkkaya Demirel**

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, İstanbul

Sitokinler doğal ve kazanılmış immünite hücreleri tarafından salınan immün sistem salgılarıdır. Proliferasyon, farklılaşma ve hematopoesisde görev alırlar. Yakın zamana dek, sitokin ölçümü yapmak için daha çok ELISA yöntemi kullanılmakta idi. Ancak akan hücre ölçer kullanımı ile bir çok sitokini eş zamanlı ölçmek mümkündür. Son yıllarda geliştirilmiş olan boncuk bazlı ölçüm kitleri kullanımı ile akan hücre ölçerde sitokin ölçümü; duyarlılık, çok parametreyi aynı anda ölçebilme ve ölçüm kolaylığı nedeni ile ter-

cih edilmektedir. Biz çalışmamızda on farklı sitokin ölçümünü eş zamanlı gerçekleştirdik. Akan hücre ölçer ile sitokin ölçümlerinin hesaplanmasında firmalar tarafından ücretli/ücretsiz sağlanan hazır yazılım programlarından yararlanılmaktadır. Çeşitli projelerde, akan hücre ölçer cihazında farklı sitokin kitleri kullanarak yaptığımız çalışmalar için yazılımın sağlanmadığı durumlarda, standart boncuklarla elde edilen kantitasyon değerlerine ait ortalama kanal sayıları, örneklerden elde edilen kanal sayıları ile karşılaştırılarak örneğe ait kantitatif sonuçlar elde edilmektedir. Manuel hesaplama yöntemi ile elde edilen sonuçlarla yazılımla elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında sonuçların minimal düzeyde etkilendiği (<0.1) tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akan hücre ölçer, manuel hesaplama, sitokin.

P-105

Ref. No: 154

FARKLI MONOSİT KÖKENLİ DENTRİTİK HÜCRE FARKLIlaştırma PROTOKOLLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**Dilek Demircan¹, Mehmet Aydoğdu², Abdullah Yılmaz³, Aydin Karabulut³, Günnur Deniz³**¹İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji & Moleküler Biyoloji Genetik Bölümleri, İstanbul²Fatih Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik & Elektrik Elektronik Mühendisliği Bölümleri, İstanbul³İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü İmmünoloji AD, İstanbul

Bağışıklık sisteminin önemli bir elamanı olan dendritik hücreler Antijen Sunucu Hücreler olarak görev yaparlar. Antijenleri işlemek ve diğer immün sistem hücrelerine sunmak olan dendritik hücreler, doğuştan gelen bağışıklık sistemi ile sonradan edinilmiş bağışıklık sistemi arasında köprü görevini üstlenirler. *In vivo* sistemde birçok alt gruplara ayrılmasına rağmen monositik ve plazmositik dendritik hücreler adı altında iki ana grupta toplanabilirler. *In vitro* sistemde monositlerden köken alan "monosit kökenli dendritik hücreler" ve kök hücrelerden köken alan "kök hücre kökenli dendritik hücreler" olarak sınıflandırılabilir. Monositik kökenli *in vitro* ortamda farklılaştırılan dendritik hücreler gerçek dendritik hücrelerle birebir aynı özellikleri göstermemesine rağmen deneylerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda iki farklı dendritik hücre farklılaştırma protokolü karşılaştırılmış ve farklılaştırma faktörü olarak GM-CSF ve FLT3 ligandı kullanarak yapılan deneyler sonucunda bir fark görülmemiştir. Hem GM-CSF hem de FLT3 ligandı kullanılarak farklılaştırılan dendritik hücre belirteçlerine farklılık saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Dendritik Hücre, *In vitro*, monosit kökenli Dendritik Hücre

P-106

Ref. No: 126

RHİNOVİRÜS İNFEKSİYONU, SAĞLIKLI BİREYLERİN PERİFERİK KAN MONONÜKLEER HÜCRELERİNDE ALLERJENE ÖZGÜ ÇEVRESEL TOLERANSI KIRICI ETKİLER GÖSTERİR**Umut Can Küçüksezer^{1,2}, Alar Aab², Beate Rueckert², Günnur Deniz¹, Cezmi Ali Akdiş², Mübcecel Akdiş²**¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji AD, İstanbul, Türkiye²İsviçre Allerji Astım Araştırma Enstitüsü (SIAF), Davos, İsviçre

Allerjene özgü T hücre toleransı çevresel allerjenlere sağlıklı yanıtlar geliştirilmesi açısından önem taşır ve oluşmuş toleransın ortadan kalması allerji gelişimiyle sonuçlanabilir. Allerjene özgü tolerans kaybının mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Çevresel T hücre yanıtıslığını inceleyen çalışmalar,

proinflamatuar sitokinler olan IL-1b ve IL-6 ile TLR4 ve TLR8 tetiklenmesinin tolerans kaybına yol açabildiğini göstermiştir. Rinovirüsler, insanlar için en sık rastlanan soğuk algınlığı etkenleridir. Rinovirüs enfeksiyonlarının astım gelişme riskini arttırdığı, yaygın astımlı çocuklar içerisinde astım alevlenmelerinin %85 kadarının rinovirüs enfeksiyonu ile ilişkili oldukları bilinmektedir. Üst solunum yolu, virüs için primer giriş yolunu teşkil etmektedir. Enfeksiyonu takiben virüs replike olur, yayılır ve kemokin ve sitokin salgılamak üzere infekte epitelyal hücreleri uyarır. Bu ilişkinin gerçek doğası da henüz bilinmemektedir. Bu ilişkiyi araştırmak üzere, rinovirüs suşları HELA hücrelerinin infekte edilmesiyle üretildi ve canlı virüs içeren kültür üst sıvıları kültürlerde kullanıldı. Viral enfeksiyonun %50 doku kültürü infektif dozu (TCID50) hesaplanarak, bulunan değere göre periferik kan mononükleer hücrelerinde dilüsyonlar gerçekleştirildi. Allerjenlere yanıtları belirlenmiş sağlıklı bireylerin periferik kan mononükleer hücreleri allerjenlerle, allerjenlerle, farklı dozlarda Rhinovirüs 1B ve 16 suşlarının varlığı veya yokluğunda uyarıldı. Kültürün 5. gününde T hücre proliferasyonu, timidin inkorporasyonu veya CFSE dilüsyonu metodlarıyla değerlendirildi. Bu çalışmanın ilk sonuçları allerjene özgü CD4⁺T hücre toleransının her iki virüs suşlarının farklı dozlarıyla kırılabileceğini göstermekte olup rinovirüs enfeksiyonu ile tolerans kırılma mekanizmalarının aydınlatılabilmesi için daha detaylı çalışmalar gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Allerjen, çevresel tolerans, rinovirüs, proliferasyon, inflamasyon

P-107

Ref. No: 41

HÜCRE PROLİFERASYON ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ VE FARKLI TİCARİ FİRMALARIN SUNDUKLARI PROLİFERASYON KİTLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Gökhan Terzioğlu¹, Ali Ümit Keskin²

¹Yeditepe Üniversitesi, Biyoteknoloji, İstanbul

²Yeditepe Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği, İstanbul

Bölünmeye girmiş hücrelerin, hücre proliferasyonunun tespiti özellikle kanserde önemlidir, kanser oluşumuna sebep olan mutasyonların bir kısmı da hücre bölünmesini kontrol eden sinyal yollarında gerçekleşmektedir, proliferasyon testleri tümör ikilenme hızı gibi parametrelerin belirlenmesinde kullanılabilir. Hücre bölünmesinde hücre DNA'sı ikilenir, kromozom yoğunlaşması ile bağlantılı olduğu düşünülen Histon H3'ün 10. konumdaki serin aminoasiti üzerinden fosforillenmesi gibi bölünme spesifik bazı değişiklikler gerçekleşir, hücre metabolizmasında yükselme görülür ve bölünme için gerekli yüksek enerji ihtiyacını karşılamak üzere hücre içerisindeki ATP miktarı artar. Hücre bölünme durumunu ya da proliferasyonunu tespit için farklı test yöntemleri kullanılmaktadır. Hücre proliferasyon testleri, DNA sentez hızının ölçülmesine dayalı testler, metabolik aktivitenin ölçülmesine dayalı testler, proliferasyon işaretleyicilerinin ölçümüne dayalı testler, hücrelerdeki ATP miktarının ölçümüne dayalı testler olmak üzere dört ana başlık altında toplanabilir. DNA sentez hızının ölçümüne dayalı testlerde, 3H Timidin gibi radyoaktif ya da BrdU ve EdU gibi floresan özellikli ve antikor kullanımını gerektiren timidin analogları kullanılmakta, böylece yeni sentezlenen DNA üzerinden, hücre proliferasyonu izlenebilmektedir. Timidin analogları dışında antikor kullanımı gerektirmeyen farklı DNA boya-ları da mevcuttur. Metabolik aktivitenin ölçümüne dayalı testler ise genelde WTS, XTT, MTT gibi tetrazolyum tuzlarının hücredeki artan dehidrojenaz aktivitesi sonucu formazan boya oluşurması ve oluşan renk değişiminin ölçümüne dayalıdır. Hücre içi esterase aktivitesine bağlı olarak renk veren Violet gibi bazı ticari moleküllerde aynı amaçla kullanılabilir. Hücre proliferasyon sürecinde hücrelerde bazı özel antijenler görülür, bu antijenler proliferasyon olmayan hücrelerde görülmemektedir Proliferasyon işaretleyicilerini (PCNA, topoisomerase IIb, fosfohiston H3) çalışmak

için kullanılacak fare ve insan spesifik antikorlar mevcuttur. Bölünmeye giren hücrelerde enerji ihtiyacını karşılamak üzere ATP miktarı artar, lusiferin-lusiferaz reaksiyonu da ATP gerektirmektedir, reaksiyon kullanılarak, oluşan ışığa üzerinden hücredeki ATP miktarı ve hücre bölünmesi belirlenebilir. ATP ve metabolizma ölçümüne dayalı testlerin diğerlerine göre daha dolaylı sonuç verdiği bilinmelidir. Bu farklı alternatifler arasından seçim yapılırken laboratuvar olanakları, çalışmanın karakteri (*in vivo* - *in vitro*) ve istenen sonuç (*in situ* -populasyon) dikkate alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: BrdU, cancer, cell division, cell proliferation, cell proliferation kit, EdU, Formazan, hücre proliferasyon kiti, hücre bölünmesi, hücre proliferasyonu, kanser, MTT, PCNA, tetrazolium, tumour doubling time, tümör ikilenme hızı, violet, WTS, XTT

P-108

Ref. No: 50

SIÇAN DERİLERİNDE FORMALDEHİTİN ETKİLERİ VE VİMENTİN EKSPRESYONU

Sevgi Kalkanlı Taş¹, Nevin Kalkanlı², Engin Deveci³, Ayfer Aktaş³, Tuba Dal⁴, Özlem Baran³

¹Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoji AD, Diyarbakır

²Venivid Hastahanesi, Dermatoloji Kliniği, Diyarbakır

³Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, Diyarbakır

⁴Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, Diyarbakır

Formaldehit, düşük molekül ağırlıklı organik bir bileşiktir. Bu çalışmada formaldehit inhalasyonu sonucu deride meydana gelen histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme yapıldı. Çalışmada ağırlıkları 180-200g arasında değişen 9 haftalık wistar cinsi 16 adet sıçan kullanıldı. Deney grubu sıçanlar (n= 8) 8 hafta boyunca haftada 5 kez 8 saat süre ile özel hazırlanmış cam fanus içinde 10ppm Formaldehit inhalasyonuna tabi tutuldu. Kontrol grubu (n= 8) sıçanlara inhalasyon işlemi uygulanmadı. 8.haftanın sonunda sıçanlar ketamin anestezisi altında bayıltılarak deri biopsileri alındı. Deri biopsileri %10 formaldehit solusyonuna alındı. Histopatolojik takiplerin ardından Hematoksilen-Eozin ve Trikom mason boyaları ile boyandı. İmmünohistokimyasal inceleme için Vimentin ekspresyonu değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmenin sonucunda epidermiste keratinizasyon artışı, epitel hücre sayısında azalma, dermiste inflamatik hücre infiltrasyonunda artış görüldü. İmmünohistokimyasal incelemede, dendritik hücrelerde yoğun vimentin immün reaksiyonu, dermis bölgesinde kıl folikülü ve yağ bezlerin ekspresyonunun arttığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: dendritik hücre, formaldehit, immünohistokimya, vimentin

TRANSPLANTASYON İMMÜNOLOJİSİ

P-109

Ref. No: 71

RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON(İR) İNJURİSİ OLUŞTURULAN RATLARDA ANTİ-TİMOSİT GLOBÜLİN(ATG)'İN T LENFOSİT VE DENDİRİTİK HÜCRE DEPLESYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Ali İnal¹, Yusuf Günay², Hüseyin Yüce Bircan², Ebru Ogan¹, Öznur Çetin¹

¹Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Merkezi, İmmünoji Bilim Dalı, İstanbul

²Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Merkezi, Genel Cerrahi AD, İstanbul

AMAÇ: Çalışmamızda rat böbreklerinde geliştirilen sıcak iskemik sonrasında Thücre subsetleri ve dendritik hücreler üzerinde periferik kan ve böbrek dokusunda ortaya çıkan deplezyona ATG uygulamasının etkisini araştırmayı amaçladık.

YÖNTEM-GEREÇ: Çalışmada 21 adet Wister albino erkek rat kullanıldı. Ratlar her grupta 7 adet olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu olarak belirlendi, IR uygulaması yapılmadı, herhangi bir madde verilmedi. İkinci gruba IR+SF; üçüncü gruba IR+rat-ATG uygulaması yapıldı. SF (serum fizyolojik) ve ATG uygulamaları IR'den hemen sonra, 24 ve 48. saatte 3 kez intraperitoneal olarak tekrar edildi. 72 saat sonra ratlar sakrifiye edildi. Kontrol grubunun periferik venöz kan ve böbrek doku ekstratlarında yapılan Tlenfosit subset ve dendiritik hücre immünofenotiplendirme sonuçları referans değer olarak kabul edildi. 2. ve 3. gruptaki ratlardan 72 saat sonra alınan periferik kan ve homojenize böbrek doku ekstratlarında da aynı ölçümler tekrarlandı. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı.

BULGULAR:

Periferik kan Tlenfosit subset

(%Total lenfosit, ortalama±SS).....Kontrol.....IR+SF.....IR+ ATG	
CD3+Thücce.....61,86±4,7.....82,47±5,8.....59,64±5	
CD4+Thücce.....37,63±4.....39,59±3,3.....26,17±3,2	
CD8+Thücce.....23,1±4,3.....43,68±4,9.....32,34±3,9	

Böbrek doku Tlenfosit subset

(%Total lenfosit, ortalama±SS).....Kontrol.....IR+SF.....IR+ ATG	
CD3+Thücce.....92,51±9,3.....96,23±11,7.....94,32±11,2	
CD4+Thücce.....7,9±1,8.....17,95±2,2.....16,42±2,7	
CD8+Thücce.....75,06±7,6.....79,74±9,1.....78,62±8,2	

Periferik Kan Dendiritik Hücre

(%Total Mononükleer Hücre, ortalama±SS).....Kontrol.....IR+SF.....IR+ ATG	
CD172,CD11b+.....16,66±2,7.....40,79±3,8.....25,56±3,2	

Böbrek dokusu Dendiritik hücre ve makrofajları

(%Total Mononükleer Hücre, ortalama±SS).....Kontrol.....IR+SF.....IR+ ATG	
CD172,CD11b+.....18,80±3,1.....36,40±5,2.....24,36±1,7	
Doku Makrofaj subset.....20,69±4,8.....29,80±3,7.....23,72±2,4	

SONUÇLAR: Bulgular Student's t-test ve chi-squared yöntemleri ile analiz edilmiştir. Kontrol grubu periferik venöz kan immünofenotiplendirme sonuçları ile karşılaştırdığımızda CD3+ ve CD8+ Thücce oranlarında IR+SF grubunda anlamlı düzeyde artış ($p < 0,0001$), IR+ATG uygulanan gruptaysa IR+SF grubuna göre anlamlı düzeyde azalma ($p < 0,0001$) gözlemledik. CD4+Thücce oranlarında gruplar arasında anlamlı bir değişim gözlenmedi. Periferik kandaki dendiritik hücre düzeylerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IR+SF grubunda anlamlı derece artış ($p < 0,0001$) olurken, IR+ATG grubunda IR+SF grubuna göre anlamlı derecede azalma ($p < 0,0001$) gözlemlenmiştir. Böbrek dokusundaki Thücce subset oranlarında gruplar arasında periferik kandaki kadar anlamlı değişiklikler gözlemlenmedi. Sadece CD4+ Thüccelerini IR+SF hücrelerinde IR+SF grubunda anlamlı artış ($p < 0,0001$) olmasına rağmen IR+ATG'deki azalma anlamlı değildi ($p = 0,167$). Böbrek dokusu dendiritik hücre ve doku makrofajlarındaki artış kontrol grubuna göre IR+SF grubunda anlamlıydı ($p < 0,0001$), ($p < 0,0001$). IR+ATG grubundaki azalmalarda IR+SF'e göre anlamlı ($p < 0,0001$), ($p < 0,005$) bulundu. Sonuçta böbrek dokusundaki IR hasarında dendiritik hücre ve doku makrofajlarının daha etkili olduğunu, ATG'nin bu hasarın azaltılmasında faydalı olacağını düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: anti-timosit globülin, dendiritik hücre, doku makrofaj subset, iskemi-reperfüzyon, Tlenfosit subset, transplan-tasyon

P-110

Ref. No: 7

DOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE DİYALİZ HASTALARINDA HLA-SINIF-1 VE HLA-SINIF-2 SIKLIĞI VE KAN GRUBU İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Başak Kayhan¹, Elçin Latife Kurtuluş², Gonca Otlu², Turgut Pişkin³, İdris Şahin⁴, Bülent Ünal³, Hülya Taşkapan⁴

¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Karaciğer Nakil Enstitüsü Transplan-tasyon İmmünolojisi AD, Malatya,

²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Malatya,

³İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD, Malatya,

⁴İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, Nefroloji Bilim Dalı, Malatya,

Bu çalışmanın birinci amacı Doğu Anadolu bölgesinde renal diyaliz hastalarının HLA-Sınıf-1 ve HLA-Sınıf-2 alel ve haplotip sıklığını belirlemektir. Çalışmamızın ikinci amacı ise; HLA alel ve haplotip-lerinin A,B,O ve D kan grubu antijen sıklığı ile ilişkisini saptamaktır.

Çalışmamızda 471 renal diyaliz hastasının HLA-Sınıf-1 ve HLA-Sınıf-2 alel tipleri sequence-specific primers (SSP) ve sequence specific oligonucleotides (SSO) yöntemleri ile belirlenmiştir. Aynı hastaların kan grubu antijenleri ise aglütinasyon yöntemi ile saptanmıştır.

Toplam 16 A*, 35B* ve 15 DRB1* alel saptanmıştır. Saptanan en sık HLA-A alelleri HLA-A*02, HLA-A*24 ve HLA-A*11'dir. En sık saptanan HLA-B alelleri; HLA-B*35, HLA-B*51 ve HLA-B*44'dür. HLA-DRB1'de ise HLA-DRB1*11, HLA-DRB1*13 ve HLA-DRB1*04 en sık saptanan aleller'dir. En sık saptanan HLA-A,B,DRB1 haplotip ise sırasıyla HLA-A*02B*51DRB1*11, HLA-A*11B*355DRB1*11 ve HLA-A*24B*35DRB1*11'dir. En sık saptanan kan grubu antijenleri sıklı değerleri ile 0.168 ARh(+), 0.019 ARh(-), 0.057 BRh(+); 0.013BRh(-), 0.123 ORh(+), 0.014 ORh(-), 0.018 ABRh(+) ve 0.001 ABRh(-)'dir. Her ne kadar ARh(+) bireyler içeisinde HLA-A*02 ve HLA-DRB1*11 alelleri ve ORh(+) bireyler içerisinde HLA-B*51 en sık görülen aleller olsa da HLA-alel sıklığı ile kan grubu antijen sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanamamıştır.

Anahtar Kelimeler: HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1, kan grubu, sıklık, renal diyaliz

P-111

Ref. No: 66

RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON (IR) İNJÜRİSİ OLUŞTURULAN RATLARDA ANTI-TİMOŞİT GLOBÜLİN (ATG)'İN FRACTALKİNE (CX3CL1) ARACILIKLI İNFLAMASYON CEVABINA ETKİSİ

Yusuf Günay¹, Ali İnal², Hüseyin Yüce Bircan¹, Ebru Ogan², Hanife Kaba²

¹Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Merkezi, Genel Cerrahi AD, İstanbul

²Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Merkezi, İmmunoloji Bilim Dalı, İstanbul

AMAÇ: Çalışmamızda, Rat böbreklerinde geliştirilen sıcak iskemi sonrasında ATG ve Fractalkine arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı ve ATG uygulamasının Fractalkine bağlı İskemi-Reperfüzyon hasarını azaltıp azaltmadığını araştırmayı amaçladık.

YÖNTEM-GEREÇ: Çalışmada 21 adet wistar albino erkek rat kullanıldı. Ratlar her grupta 7 adet olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu olarak belirlendi, IR uygulaması yapılmadı, herhangi bir madde verilmedi. İkinci gruba IR+SF; üçüncü gruba IR+rat-ATG uygulaması yapıldı. SF (serum fizyolojik) ve ATG uygulamaları IR'den hemen sonra, 24 ve 48. saatte 3 kez intraperitoneal olarak tekrar edildi. 72 saat sonra ratlar sakrifiye edildi. Kontrol

grubunun sıfırinci saatte plazma ve böbrek doku süpernatantlarında ölçülen kemokin ve sitokin düzeyleri referans değerleri olarak kabul edildi. 2. ve 3. gruptaki ratlardan 72 saat sonunda alınan plazma ve böbrek doku süpernatantlarında da aynı ölçümler takrarlandı. Ratların serum kreatinin düzeyleri ölçüldü. Elde edilen sonuçlar kontrol grubuyla ve diğer iki grup arasında karşılaştırıldı. Böbrek dokuları histopatolojik incelemeye alındı.

BULGULAR:

Sitokin/Kemokin(Plazma)

(pg/ml, ortalama±SS).....Kontrol.....IR+SF.....IR+ATG	
TNF-alfa.....0,07±0,02.....249,2±20.....31,2±40	
İnterlökin-10(IL-10).....0,088±0,04.....1637,4±180.....1544,5±170	
Fractalkine.....1,88±0,20.....1444,8±140.....508,6±43	

Sitokin/Kemokin(Böbrek Doku)

(pg/ml, ortalama±SS).....Kontrol.....IR+SF.....IR+ATG	
TNF-alfa.....446,4±38.....1895,7±159.....478,5±40	
İnterlökin-10.....349,6±28.....3436,1±470.....3725,0±412	
Fractalkine.....597,7±51.....7246,6±585.....2897,0±198	

(mg/dL, ortalama ±SS).....Kontrol.....IR+SF.....IR+ATG	
Serum Kreatinin.....0,58±00.....2,3±0,26.....2,0±0,28	

SONUÇLAR: Bulgular Student's t-test ve chi-squared yöntemleri ile analiz edilmiştir. Çalışmada Fractalkinle birlikte ölçümleri yapılan TNF-alfa(Tümör nekroz faktör) genel inflamasyon, IL-10 ise anti-inflamatuvar markerlar olarak değerlendirilmeye alınmış olup Fractalkin düzeyindeki değişikliklerin daha belirgin olarak ortaya konması düşünülmüştür. Plazma ve böbrek dokusundaki ortalama TNF-alfa ve Fractalkine düzeyleri IR+SF grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek(p<0,0001), IR+ATG grubunda ise IR+SF grubuna göre anlamlı olarak düşük(p<0,0001) bulunmuştur. Bir anti-inflamatuvar sitokin olan IL-10 düzeyi ise IR+SF grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış göstermesine rağmen (p<0,0001), IR+ATG grubunda IR+SF grubuna göre anlamlı bir değişiklik göstermemiştir(p=0,339). Ortalama serum kreatinin konsantrasyonu IR+SF grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken(p<0,0001) IR+ATG grubunda anlamlı bir düşme gözlemlenmemiştir(p=0,06). Sonuç olarak ATG uygulamasının plazma ve böbrek dokusunda IR+SF grubunda artan Fractalkine düzeyini inflamasyonu baskılayarak azalttığını düşünüyoruz. Elde edilen ön histopatolojik bulgulara bizi desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: anti-timosit globülin, fractalkine, İnterlökin-10, iskemi-reperfüzyon, transplantasyon, tümör nekroz faktör,

P-112

Ref. No: 134

LUMİNEX YÖNTEMİYLE YAPILAN PRA TANIMLAMA TESTLERİNİN SINIR MFI DEĞERLERİ

Hüseyin Tutkak¹, Semahat Özartam¹, Türker Duman¹, Mustafa Özdemir¹, Özgün Bağlan¹, Mine Havan¹, Ümit Ölmez¹, Kenan Keven²

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı, Ankara

Organ nakillerinde HLA antikorlarının rejeksiyona neden olabilen zararlı etkileri kırk yılı aşan süreden beri bilinmektedir. Bu antikorların oluşum nedeni; transfüzyon, gebelik ve organ reddi gibi durumlarda yabancı HLA antijenleriyle karşılaşılmasıdır.

HLA antikorlarının tayininde; CDC, ELISA, akış sitometresi ve Luminex yöntemleri kullanılmakta olup son iki yöntemin duyarlılıklarının yüksek olduğu bilinmektedir.

Luminex yöntemiyle çalışılan PRA sınıf I ve II tarama ve tanımlama testlerinde ortanca floresans yoğunluğu (MFI) ölçülerek analiz yapılır. MFI değerleri bağlı olarak HLA antikor titrelerini gös-

terir. PRA testlerindeki sınır MFI değerleri konusunda fikir birliği yoktur.

Araştırmamızda PRA sınıf I ve II tarama testlerinde MFI değeri 1000'nin altındaki 82 hasta ve 15 UKNeqas dış kalite kontrol serumunda (n:97) PRA sınıf I ve II tanımlama testlerinin neticeleri ve MFI değerleri incelenmiştir.

PRA sınıf I tarama testinde MFI değeri >1000 olan (ortalama MFI değeri: 549, en düşüğü 252) 45 örneğin 40'ında (%88,9) PRA tanımlama testinde HLA antikoru saptanmıştır (boncuk MFI değerlerinin en düşük pozitiflikler ortalaması 1719, en yükseklerinin ortalaması 6023). PRA sınıf II tarama testinde MFI değeri >1000 olan (ortalama MFI değeri: 633, en düşüğü 239) 52 örneğin 22'sinde (%42,3) PRA tanımlama testinde HLA antikoru saptanmıştır (boncuk MFI değerlerinin en düşük pozitiflikler ortalaması 1936, en yükseklerinin ortalaması 19000).

PRA sınıf I ve II tarama testlerindeki pozitifliklerin tanımlama testlerinde saptanamaması (sınıf I'de %11,1 i negatif, sınıf II'de %57,7 si negatif) her iki testte farklı HLA allelerinin kullanılmamasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Tanımlamadaki negatiflikler incelendiğinde taramada farklı allelerin mevcut olduğu görülmüştür. PRA tarama testlerinde düşük MFI değerlerindeki pozitifliklerin tanımlamada daha yüksek MFI değerlerine sahip olması, tanımlama testlerinin de mutlaka yapılması gerektiğini düşündürmektedir. PRA luminex yönteminin duyarlılığı yüksek olmakla birlikte transplantasyon yapılan olguların izlenmeleri, laboratuvarların MFI değerlerini daha doğru yorumlayabilmesini sağlayabilir. Ayrıca üreticilerin testlerin üretiminde aynı donör kaynaklı HLA antijeni içeren boncukları kullanması gereksiz tedarıkları engelleyebilir.

Anahtar Kelimeler: HLA antikorları, PRA sınıf I, PRA sınıf II, transplantasyon

P-113

Ref. No: 10

RENAL TRANSPLANTLI HASTADA İMMÜN SÜPRESİF TEDAVİYE SEKONDER GELİŞEN "POSTERİOR REVERSİBLE ENCEPHALOPATHY SYNDROME": NADİR BİR OLGU SUNUMU

Alparslan Merdin¹, Hüseyin Koçak², Ayhan Dinçkan², Bora Uslu³, Gültekin Süleymanlar³

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, İç Hastalıkları AD, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Organ Nakli Enstitüsü, Antalya

³Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Nefroloji Bilim Dalı, Antalya

GİRİŞ: Organ nakli yapılan hastalarda greft reddini önlemek amacıyla sürekli immün süpresif tedavi kullanılması gereklidir. Böbrek nakli yapılan hastalarda immün süpresif tedavi olarak steroidler, kalsinörin inhibitörleri (siklosporin, takrolimus), nükleotid sentez inhibitörleri (mikofenolat mofetil, azotioprin), mTOR inhibitörleri (sirolimus, evorelimus) ve monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. İmmünsüpresif ilaçlar greft rejeksiyonunu önlemekle birlikte birçok yan etkisi bulunmaktadır. En sık görülen yan etkiler lökopeni, ishal, böbrek toksisitesi ve fırsatçı enfeksiyonlar başta olmak üzere artmış enfeksiyon riskidir; daha nadir olarak da elektrolit bozuklukları hiperglisemi ve artmış malignite riskidir. Posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) başağrısı, görme kaybı, fokal nörolojik bulgularla karakterize çok nadir görülen klinik ve nöroradyolojik bir sendromdur. Beyin MRI'nda beyin oksipital bölgesinde ve beyin sapında belirgin ödem görülür. Bilinen sebepleri arasında hipertansiyon, bağ doku hastalıkları, porfiri, cisplatin benzeri sitotoksik ajanlar, immünsüpresif tedavilerdir. İmmünsüpresif tedaviler arasında takrolimus ve mikofenolat mofetil'e sekonder olgular literatürde bildirilmiştir.

OLGU: 28 yaşında karın ağrısı ile organ nakli kliniğinde takip edi-

len hasta takiplerinde görme kaybı, generalize-tonik nöbetler, bulantı ve kusma gelişmesi üzerine beyin MRI görüntülendi. Beynin oksipital lobunda ödem görülen hastaya tansiyon regülasyonu yapıldı ve immünsüpresif ajan olarak kullandığı mikofenolat mofetil kesilerek evorelimus tedavisi başlandı. Takiplerinde hastanın şikayetleri iki hafta içinde geriledi ve evorelimus tedavisi ile immünsüpresyon devam edildi.

TARTIŞMA: İmmünsüpresif tedavi kullanan renal transplant hastalarında uzun dönem sonuçları iyileştirmek adına yapılması gereken önemli girişimlerden biri de yeterli immünsüpresyon ile ilaç toksisitesi arasındaki dengeyi sağlamak ve yan etki geliştiği durumlarda farklı immünsüpresif ajanlarla tedaviye devam edebilmektir. Sık bilinen yan etkilerin aksine PRES gibi nadir görülen yan etkiler de özellikle kalsinörin inhibitörü kullanan renal transplant hastalarında akılda tutulmalı ve hastalarda sıkı tansiyon regülasyonu ve tedavi modifikasyonu sağlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: İmmünsüpresif tedavi, renal transplantasyon, posterior reversible encephalopathy syndrome

P-114

Ref. No: 6

TRAVMA KAYNAKLI AKUT RENAL REJEKSİYONA İMMÜNOLOJİK PARAMETRELER İLE YAKLAŞIM

Başak Kayhan¹, Üner Kayabaş⁴, Eicın Latife Kurtoğlu², Turgut Pişkin³, Bülent Ünal³, Hülya Taşkapın⁵, İdris Şahin⁵

¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Karaciğer Nakil Enstitüsü Transplantasyon İmmünolojisi AD, Malatya

²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Malatya

³İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD, Malatya

⁴İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıklar ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Malatya

⁵İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, Nefroloji Bilim Dalı, Malatya

Travma kaynaklı akut renal allograft rejeksiyon; iskemi sonucu gerçekleşen bir reaksiyon'dur. Hasar dış kaynaklı travma sonucunda gerçekleşebilmektedir. Travma sonucu gerçekleşen hasarda hastanın hekimi yeterli düzeyde bilgilendirmemesi organ red'dine neden olan reaksiyonu, immünolojik akut red reaksiyonundan ayırmak zor olabilmektedir. Bu, hem zaman kaybına neden olmakta hem de yanlış tedavi yöntemlerini takip edilmesine neden olabilmektedir.

Sunumumuzda immünolojik akut rejeksiyon önceden tespit edilip tedavi edilmiş bir hastanın immünolojik parametre değerleri ile düşme sonrası travma nedeni ile reaksiyon gelişen ve sonrasında tedavi edilen bir hastanın immünolojik değerleri karşılaştırılmış ve immünolojik yaklaşımın ayırt edici tanıda da yardımcı olabileceği tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Travma, akut rejeksiyon, immün yanıt

P-115

Ref. No: 59

P-115 Ref. No: 59

LÖSEMİ HASTALIKLARI İLE HUMAN LÖKOSİT ANTİJENLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Akgün Yaman¹, Filiz Kibar¹, Pınar Etiz¹, Salih Çetiner¹, İlgen Şaşmaz², Gülşah Seydaoğlu³, Bülent Antmen², Atilla Tanyeli⁴, Yurdanur Kılınç²

¹Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı, Adana

²Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik hematoloji Bilim Dalı, Adana

³Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik AD, Adana

⁴Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Onkoloji Bilim Dalı, Adana

AMAÇ: Birçok gelişmiş ülkede çocuklarda en yaygın ikinci ölüm

nedeni olan kanser, ülkemizde ilk dört sıra içinde yer almaktadır. İmmatür lenfohematopoetik hücrelerin malign proliferasyonu ve birikimi olan lösemi, en sık görülen çocukluk çağı kanseridir. En sık görülen alt tipi olan akut lenfoblastik lösemi (ALL), vakaların % 75-80'ini oluşturur. Spesifik bir HLA ile bazı hastalıkların ilişkisi bu hastalıkların tanısında klinik olarak faydalıdır. Çalışmamızın amacı, vücudun tümör yanıtında ve immünitede önemli rol oynayan molekül olan HLA allellerinin, çocukluk çağı ALL ile ilişkisini araştırmaktır.

YÖNTEM-GEREÇLER: Çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik hematoloji Bilim Dalı'nda izlenmekte olan ALL tanısı almış 90 hasta ve kontrol grubu olarak 90 sağlıklı birey alındı. HLA doku tiplendirimi PCR-SSO yöntemi ile gerçekleştirildi ve HLA-A, B, C, DQ, DR antijenleri tespit edildi.

BULGULAR: Toplam 90 ALL'li hastanın %58.9 erkek, %41.1'i kızdı. Kontrol grubunda ise bu oran sırasıyla %47.8, %52.2 idi. Gruplar arasında cinsiyet açısından farklılık yoktu ($p>0.05$). Hastalarımızın yaş ortalaması 8.50 ± 3.85 yıl ve kontrol grubunun ise 9.42 ± 4.64 yıl olup, hasta grubuyla uyumluydu. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, hastalarda HLA-A*02(%21.7), A*01(%11.1), B*50(%5.6), B*35(%17.8), Cw*06(%16.7), Cw*14(%6.9), DRB1*01(%5.6), DRB1*07(%4.4), DRB1*11(%25.6), DQB1*03(%39.0), DQB1*04(%1.8) sıklıkla görülürken bu oran kontrol grubunda sırasıyla (%13.3), (%7.2), (%2.2), (%14.6) (%6.4), (%2.3), (%3.4), (%2.2), (%21.2), (%38.8), (%1.2)'dir.

SONUÇLAR: HLA antijenlerindeki farklı lokusların ALL ile ilişkisi hastalığa yatkınlığı belirlemede kullanılabilir. HLA antijenleri herhangi bir hastalıkta toplumdan topluma farklı şekilde eksprese olacağından her toplum kendi doku tipini belirlemelidir. Toplum taramalarıyla risk antijenlerinin belirlenmesinin hastalığın erken tanısında faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akut Lenfoblastik Lösemi, HLA, PCR-SSO

TÜMÖR İMMÜNOLOJİSİ

P-116

Ref. No: 118

KOLON KANSERLİ HASTALARDA IL-32 GEN EKSPRESYONU

Gizem Övgü Erdem¹, Füsün Özmen¹, Mehmet Mahir Özmen², Emin Kansu¹

¹Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji AD, Ankara

²Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Ankara

GİRİŞ-AMAÇ: Karsinogenezde inflamasyonun etkin bir rol oynadığı bilinmektedir. IL-32 proinflamatuvar bir sitokindir ve T hücreleri, doğal öldürücü (NK) hücreler, monosit ve epitel hücreleri tarafından üretilir. Otoimmün hastalıklarla olan ilişkisi gösterilmiş fakat kanser gelişimine olan etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada amaçlanan, kolon kanseri ile IL-32 arasındaki ilişkinin, tümörlü ve normal dokulardaki IL-32 gen ekspresyon düzeyine bakılarak araştırılmasıdır.

GEREÇ-YÖNTEM: Kolon kanseri tanısı ile ameliyat edilen 21(10K) hastanın tümörlü ve normal doku örnekleri alınarak total RNA izolasyonları yapıldı. cDNA elde edildikten sonra eş zamanlı-PCR ile IL-32 gen ekspresyon düzeyleri ölçüldü. Relatif ekspresyon düzeyleri 2-DDCt yöntemi kullanılarak hesaplandı. IL-32 ekspresyon düzeyleri ile tümörün hacmi (cm^3), diferansiyasyon derecesi, T evresi, invazyon durumu (perinöral ve vasküler) ve metastaz (lenf nodu ve uzak organ) durumu arasındaki ilişki araştırıldı.

BULGULAR: Kolon kanserli hastaların tümörlü dokularında IL-32 gen ekspresyonunun normal dokuya göre relatif olarak artmış olduğu saptandı [$2\text{-DDCt} = 1.73$ (0.3 - 14.46)]. Ekspresyon düzey-

leri ile tümörün diferansiyasyonu, hacmi, T evresi, nöral ve perinöral invazyon varlığı arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki tespit edilemedi. Ancak, T evresi arttıkça IL-32 ekspresyon düzeyinin de artma eğiliminde olduğu görüldü.

SONUÇ: Kolon kanserli hastaların tümör dokularında IL-32 gen ekspresyon düzeylerinin artmış olarak bulunması, invazyon parametreleri ile ilişki gösterilemese de T-evresi ile aradaki korelasyon, IL-32'nin kolon kanseri etyopatogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Tümörlü dokularda IL-32 proteinin ekspresyon düzeyini göstermek üzere çalışmalara devam edilecektir.

Anahtar Kelimeler: IL-32, Kolon Kanseri, Gen Ekspresyonu,

P-117

Ref. No: 36

CRAM-A VE CRAM-B ATİPİK KEMOKİN RESEPTÖRLERİNİN KLONLANMASI VE FONKSİYONEL ANALİZİ

Parisa Sarmadi, Güneş Esendağlı

Hacettepe Üniversitesi, Temel Onkoloji AD, Ankara

Genel bilgiler: Atipik kemokin reseptörleri, inflamatuvar yanıtların sonlandırılmasında rol oynar. CCRL2 atipik kemokin reseptör ailesinin en yeni üyesidir. İnsan CCRL2 geninin CRAM (Chemokine Receptor on Activated Macrophages) -A ve -B olarak adlandırılan iki farklı transkript varyantı bulunmaktadır. Bu reseptörler CCL5, CCL19 ve chemerin ligandlarına bağlanarak ortamdaki kemokin miktarını azaltır ve immün hücre migrasyonu engellenir.

AMAÇ: Bu çalışmanın amacı, insan CRAM-A ve CRAM-B genlerini ökaryotik ekspresyon vektörüne klonlamak ve bu farklı varyantların fonksiyonelliğini ve kemokin gradyanı üzerindeki etkisini araştırmaktır.

YÖNTEM: Total cDNA RT-PCR ile sentezlendi. CRAM-A ve CRAM-B protein kodlayan cDNA dizileri, özel primerler ve pfu DNA polimeraz ile çoğaltıldı ve NheI-XmaI restriksiyon enzimleri ile kesildi. CRAM-A ve CRAM-B ampikonları ve pIRES2-EGFP ökaryotik ekspresyon vektörünün kesim ve izolasyonundan sonra T4 DNA ligaz reaksiyonu ile birleştirildi. Daha sonra, kompetan E.coli bakterilere transforme edildi. Koloni seçimi ve plazmid izolasyonundan sonra, rekombinant DNA ürünleri PCR, restriksiyon kesim ve DNA dizi analizleri ile doğrulandı. Bu rekombinant plazmidler ve boş vektör lipozomal transfeksiyonla HEK293T hücrelerine aktarıldı. Transfeksiyon verimliliği (GFP ekspresyonu) ve rekombinant CRAM ekspresyonu analizleri akım sitometri yöntemi ile incelendi. Klonlanan rekombinant CRAM genlerinin fonksiyonel analizleri, Ca²⁺ flux (FuraRed II boyası) ile, ligand bağlanma ve reseptör internalizasyon deneyleri CRAM geni aktarılan HEK293T hücrelerinde akım sitometri yöntemi ile yapıldı.

BULGULAR-SONUÇ: Rekombinant klonlar pCRAM-A-IRES2-EGFP ve pCRAM-B-IRES2-EGFP, CRAM ve EGFP'nin bisistronik ekspresyonunu sağladı. pCRAM-A/B-IRES2-EGFP ekspresyon düzeylerine göre transfeksiyon verimliliği %66.3-84.22, CRAM-A ekspresyonu %83.8 ve CRAM-B ekspresyonu %15.4 olarak bulunmuştur. Kemokin bağlanma deneyinden elde edilen sonuca göre, kemokinlerle uyarılmamış kontrol hücreleri ve CCL5, CCL19 ve chemerin kokteyli eklenen hücrelerde hücre-içi Ca²⁺ miktarında bir değişim görülmezken pozitif kontrol olarak kullanılan ionomycin iyonoforu varlığında hücre içine Ca²⁺ akümüasyonu gözlemlendi. Bu kemokinler varlığında CRAM reseptörünün de etkin bir şekilde yaklaşık 30 dk'lık periyodlarda internalize olduğu belirlendi. Bu rekombinant klonlar meme kanseri hücrelerine aktarılabilecek ve ilerde CCRL2'nin meme kanserinde oynadığı rolü araştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Atipik kemokin reseptörü, CCRL2, Kemokin, Rekombinant DNA teknolojisi

P-118

Ref. No: 38

MEME KANSERİ HÜCRELERİNDE FARKLI CD40 İZOFORMLARINA AİT GEN EKSPRESYONUNUN İNCELENMESİ

Neşe Ünver¹, Diğdem Yöyen Ermiş², Bahar Çamurdanoğlu¹, Esra Kuzyaka², Güneş Esendağlı¹

¹Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji AD, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Yaz Dönemi Staj Grubu 2011, Ankara

CD40, tümör nekroz faktörü reseptör (TNF-R) süperailisinin bir üyesidir. B hücre, makrofaj, dendritik hücrelerin yanı sıra meme kanseri hücrelerinin yüzeyinde de eksprese olduğu gösterilmiştir. CD40 gen ekspresyonu, "alternative splicing" aracılığıyla post-transkripsiyonel düzeyde düzenlenir ve farklı izoformları oluşur. CD40 geninin 6 farklı mRNA varyantı bulunur. Bu izoformlardan sadece üçü proteine dönüşebilir. CD40 Tip I varyantı en uzun izoformdur, proteine dönüşen diğer varyantlardan Tip II salgılanabilir formdur. CD40 Tip III varyantında ise ligand bağlama bölgesindeki sisteinden zengin altbirim-3 (CRD-3)'ün bir kısmı ile CRD-4 bölgesi eksiktir. Bu nedenle, ligand bağlama afinitesinin düşük olabileceği düşünülmektedir.

AMAÇ: Bu çalışmada meme kanseri hücre hatlarında CD40 mRNA varyantlarının ekspresyonu araştırılmıştır.

YÖNTEM: HCC-38, MDA-MB-468, MDA-MB-231, ZR-75-1, T-47D, BT-474, MCF-7, SK-BR-3 meme kanseri hücre hatlarının ve MCF-12A normal meme hücre hattının kültürü yapıldı. Bunun yanı sıra CD40 ekspresyonunu uyardığı bilinen LPS (1 ug/ml, 24h) varlığında da hücre kültürü gerçekleştirildi. RNA izolasyonunu takiben cDNA sentezlendi. CD40 izoformlarına özgül primerler tasarlandı. CD40 varyant I, II ve III'ün ekspresyonu RT-PCR yöntemiyle araştırıldı.

BULGULAR: MCF-12A, SK-BR-3, MDA-MB-231, T-47D ve HCC-38 hücrelerinde her üç CD40 varyantının da eksprese olduğu hem LPS içeren hem de içermeyen hücre kültürü koşulunda saptandı. BT-474 hücre hattında ise sadece LPS içermeyen hücre kültürü koşulunda CD40 varyant III belirlendi. LPS varlığında ise BT-474 hücreleri CD40 negatif idi.

SONUÇ: Anti-tümör immün yanıtları destekleyecek fonksiyonlara sahip olmayan CD40 Tip I mRNA varyantı dışındaki izoformların, meme kanseri hücrelerinin immün kaçışında etkili olabileceğini düşünülmektedir. Bu varyantlar tarafından kodlanan CD40 izoformlarının protein düzeyinde belirlenmesi ve fonksiyonel analizleri ancak ileriki çalışmalarla mümkün olabilecektir.

Anahtar Kelimeler: CD40, meme kanseri, alternative splicing

P-119

Ref. No: 64

PEDİYATRİK B HÜCRELİ AKUT LENFOBlastİK LÖSEMİ OLGULARDA MİNİMAL REZİDÜEL HASTALIK

Suzan Çınar, Burçin Aydın, İlhan Tahralı, Umut Can Küçüksezer, Abdullah Yılmaz, Günnur Deniz

İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünooloji AD, İstanbul.

Lenfoblastlardan kaynaklanan neoplazilerden Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL)'lerin %80-85'i prekürsör B hücrelerinden kaynaklanmaktadır. Tedavinin 15. günündeki kemik iliği (Kİ) submikroskopik lösemi hücreleri (minimal rezidüel hastalık, MRD) ile prognoz ilişkilidir. MRD tanısı, moleküler yöntemlere göre daha hızlı ve ucuz olması nedeniyle birçok merkezde "Flow sitometri" (FCM) ile yapılabilmektedir. MRD'nin FCM ile değerlendirilmesi AIEOP-BFM protokolüne göre, B hücreli (B-) ALL tanısındaki belirgin antijen

ekspresyonunun tedavinin farklı zaman dilimlerindekilerle karşılaştırılmasına dayanmaktadır. CD10 ve CD34 ekspresyonunda düşüş; CD19, CD20 ve CD11a ekspresyonunda artış saptanarak lösemik hücreler normal rezidüel B hücrelerinden kesin bir şekilde ayırt edilebilmektedir. Bu çalışmada B-ALL tedavisi uygulayan ve takibini yapan hastanelerden Aralık 2010 - Şubat 2013 tarihleri arasında gönderilen 185 örneğe ait demografik özellikler ve BFM protokolüne göre FCM ile elde edilen MRD riskleri değerlendirilmiştir. Tedavinin 0. ve 15. gününde B-ALL tanılı hastalardan alınan Kİ örneklerinde CD10, CD11a, CD19, CD20, CD34, CD38, CD45 ve CD58 ekspresyonu FACSCalibur cihazı ve CELLQuest yazılımı ile değerlendirilmiştir. Çekirdekli hücre sayısı Syto16 ile belirlendikten sonra, çekirdekli CD19⁺ B hücre popülasyonu içinde saptanan lösemik hücrelerin oranı %0.1'den az olanlar düşük (FLR), %0.1-10 arası orta (FMR) ve %10'dan büyük olanlar yüksek (FHR) risk olarak sınıflandırılmıştır. Çalışmadaki 185 olgudan (74 kadın, 111 erkek, 6.67 ± 4.67 yıl) 25'i (%13.51) MRD negatif, 160 (%86.49) olgu ise pozitifdir. MRD riske göre 62 olgu FLR (%33.5), 100 olgu FMR (%54.1) ve 23 olgu FHR (%12.4) olarak saptanmıştır. Yaş bakımından karşılaştırıldığında erkek ve kadın olgular; FLR, FMR ve FHR grupları; MRD negatif ve pozitif gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. MRD riski açısından değerlendirildiğinde örnek gönderen hastaneler arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. AIEOP-BFM partnerin tarafından Ağustos 2011 tarihinde verilen sertifika ile kendi B-ALL olgularını değerlendirebilen Türkiye'deki ilk merkeze ait bulgular sunulmuştur. Hasta takibi yapan kliniklerle FCM MRD riski ile prognoz/sağkalım ilişkisi veya PCR ile MRD bulguları ile uyumunun araştırılması ileride yapılacak daha detaylı çalışmalarla mümkündür.

Anahtar Kelimeler: B-Akut Lenfoblastik Lösemi, Minimal Rezidüel Hastalık, Flow sitometri

132

P-120

Ref. No: 124

CD4/CD8 T LENFOSİTLERİNİN GELİŞİMİNDE ÖNEMLİ PATZ1 İLE TÜMÖR BASKILAYICI p53 PROTEİNLERİNİN ETKİLEŞİMİ

Emre Deniz¹, Nazlı Keskin¹, Manolya Üni¹, Jitka Eryılmaz¹, Shinya Sakaguchi², Wilfried Ellmeier², Batu Erman¹

¹Biyoloji Bilimleri ve Biyomühendislik Programı, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Sabancı Üniversitesi, İstanbul

²İmmünoloji Enstitüsü, Viyana Tıp Üniversitesi, Viyana, Avusturya

BTB/POZ-zinc finger (ZF) transkripsiyon faktörü PATZ1 (ayrıca MAZR), DNA'ya bağlanma bölgesinde 7 tane zinc finger motifine ve protein-protein etkileşim bölgesinde POZ/BTB motifine sahiptir. Son çalışmalarda PATZ1'in ifadesinin kolorektal kanserinde ve testis tümörlerinde arttığı, ancak glioma hücrelerinde azalarak onları apoptotik sinyale karşı hassaslaştırdığı bulunmuştur. Ayrıca PATZ1, Cd8 gen ifadesini CD4-CD8⁻ evresinde, Th-POK gen ifadesini ise CD4-CD8⁺ evresinde baskılayarak, hücrelerin CD8⁺ yönüne doğru farklılaşmasını kontrol etmektedir. Bu bulgular, PATZ1'in CD4+CD8⁺ hücrelerin CD8⁺ yönüne doğru farklılaşmasında kritik bir rol oynadığını belirtmiştir.

PATZ1 ifadesi silindiği zaman, ThPOK geninin normalde CD4⁺ lenfositlerin işareti olmasına rağmen CD8⁺ lenfositlerde de ifade edilmeye başlandığı bilinmektedir. Bu CD8⁺ lenfositlerde PATZ1'i ektopik olarak tekrar ifade ettiğimizde, ThPOK geninin yeniden baskılandığını gösterdik.

PATZ1'i T hücre gelişiminde oynadığı role ek olarak, tümör baskılayıcı p53 proteininin muhtemel düzenleyicisi olarak belirledik. Bilgisayar temelli homoloji modellemeleri ve sanal peptit doking çalışmaları yaparak, PATZ1'in p53'e bağlanma ihtimali olduğunu fark ettik. Bu etkileşim için p53'ün C-terminal bölgesi ile PATZ1'in 6 ile 7inci zinc finger'ları arasının gerekli olduğunu tahmin ettik.

Bağlanmanın gerçekten var olduğunu Co-IP deneyleri ile hücre kültürü hatlarında kanıtladık. Bağlanmanın fonksiyonel olarak önemli olduğunu, lusiferaz aktivite deneylerinde PATZ1'in p53'ün transkripsiyon aktivitesini engellediğini bularak gösterdik. PATZ1'in p53'e bağlandığını düşündüğümüz bölgede hedefe yönelik mutasyonlar yarattık ve bu mutant PATZ1 versiyonlarından bazılarının p53'e daha zayıf bağlandığını ve PATZ1'in p53 üzerindeki baskılayıcı etkisini düşürdüğünü gözlemledik.

PATZ1'in, p53 kontrolündeki DNA hasar onarımında ve p53 temelli tümör gelişimindeki rollerini araştırmak için çeşitli fare modellerinde çalışmalar planlamaktayız. Tüm bu bulgular doğrultusunda PATZ1, tümör gelişimine karşı kullanılacak yeni terapötik stratejilerde umut vaat eden bir aday olabilir.

Anahtar Kelimeler: PATZ1, p53, CD8, ThPOK, Tümör Gelişimi,

P-121

Ref. No: 62

PEDİYATRİK OLGULARDA T HÜCRELİ - AKUT LENFOLASTİK LÖSEMİ MİNİMAL REZİDÜEL HASTALIK RİSKİNİN FLOW SİTOMETRİ İLE SAPTANMASI

Suzan Çınar, Burçin Aydın, Abdullah Yılmaz, Umut Can Küçüksezer, İlhan Tahralı, Günnur Deniz

İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji AD, İstanbul

Çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemi (ALL) tedavisinin 15. gününde kemik iliğinde (Kİ) submikroskopik düzeyde lösemi hücrelerinin (minimal rezidüel hastalık, MRD) saptanması ile prognoz arasındaki ilişki bilinmektedir. MRD tanısında moleküler yöntemlere göre daha hızlı ve ucuz olan "Flow sitometri" (FCM) yöntemi yaygın bir şekilde uygulanmaktadır. T hücreli ALL olguların Kİ'de erken T-ALL prekürsörleri mevcuttur ve T-ALL MRD sonuçları hasta takibi ve kemoterapi dozunun ayarlanması açısından önem taşımaktadır. Çalışmamızda lösemi tedavisi uygulanan merkezlerden enstitümüze gelen T-ALL örneklerinde BFM protokolüne göre FCM ile saptanan MRD düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. T-ALL tanılı hastalardan (n=23) tedavi gördüğü 15. günde alınan Kİ örneklerinde MRD oranı ve relaps riski hesaplanmış, CD45, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD99, sitoplazmik CD3, sitoplazmik TdT antijen ekspresyonu FACS Aria cihazı ve DiVa yazılımı ile değerlendirilmiştir. Çekirdekli hücre sayısı Syto41 ile belirlendikten sonra, çekirdekli CD7⁺ T hücre popülasyonu içinde saptanan lösemik hücrelerin oranı (blast - MRD %) %0.1'den küçük olanlar flow düşük (FLR), %0.1-10 arası olanlar orta (FMR) ve %10'dan büyük olanlar yüksek risk (FHR) olarak skorlanmıştır. Çalışmadaki 23 olgudan (2 kız, 21 erkek, 9.75 ± 4.67 yıl) dördü (%17.39)MRDnegatif,19olguisepozitifdir.MRDriskinegöre8olgu FLR (%34.78), 8 olgu FMR (%34.78) ve 7 olgu FHR (%30.43) olarak gruplandırılmıştır. Değerlendirmelerin hepsi AIEOP-BFM partner tarafından onaylanmıştır (%100). Yaş bakımından karşılaştırıldığında FLR (9.61 ± 5.25 yıl), FMR (8.40 ± 4.96 yıl) ve FHR (11.47 ± 3.64 yıl) grupları arasında; MRD negatif (11.87 ± 5.58 yıl) ve pozitif (9.30 ± 4.50 yıl) gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Elde edilen FCM ile MRD sonuçlarının prognoz ve relaps ile ilişkisinin, PCR sonuçları ile uyumunun araştırılması için geniş işbirliği ile daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır. Enstitümüzde Ocak 2012'den beri AIEOP-BFM partnerin denetiminde T-ALL MRD değerlendirmesi yapılmaktadır, hedefimiz yeterlilik belgesi almaktır.

Anahtar Kelimeler: FLOW SİTOMETRİ, MRD, T-ALL

MEME KANSERLİ HASTALARDA TEDAVİ ÖNCESİ FLOW SİTOMETRİNİN PROGNOSTİK ÖNEMİ**Hüseyin Engin¹, Cemil Bilir¹, İshak Öztekin²**¹Bülent Ecevit Üniversitesi, İç Hastalıkları AD, Zonguldak²Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji AD, Zonguldak

GİRİŞ: Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanserdir. Adjuvan tedavi ile de nüks riskini azaltarak birçok kadın için tam şifa şansı vardır. Kemoterapik ajanlar ise bağışıklık sisteminin tüm komponentlerini etkilemektedir ve doğal immünitenin baskılanması da ciddi bir morbidite nedenidir. Kazanılmış immünitenin kemoterapi öncesi düzeyleri ile tedavi yanıtları, kemoterapinin kazanılmış immünite üzerindeki etkileri ise daha az bilinmektedir.

METOD: Onkoloji kliniğimizde meme kanser tanısı almış 29 hasta da tedavi öncesi periferik kandan flow-sitometri analizleri yapıldı.

SONUÇ: Hastaların yaş ortalaması 54 olup 4 hasta tanı anında metastatik, 25 hasta adjuvan tedavi almıştır. Ortalama takip süresi 50 aydı. Genel sağkalım (OS) 60 ay(1-84), Progresyonsuz sağkalım 50 ay (1-80), Hastalıksız sağkalım ise 52 ay (0-78) aydı. CD3, CD4,CD8 sitotoksik, CD8 supresor, NK hücre düzeyleri bakılmış olup multiple regresyon analizinde sitotoksik T düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak PFS ve DFS ile ilişkili bulunmuştur. CD8-sitotoksik düzeyleri dışında kemoterapi almak, tümör grade ve tümör çapıda PFS ve DFS ile ilişkili bulundu.

SONUÇ:Tedavi ile kazanılmış immünitedeki değişikliklere bakmamakla birlikte tedavi öncesi kazanılmış immünitenin tedavi yanıtında önemli olduğu daha önce gösterilmişti. Tümör dokusundaki sitotoksik T lenfosit düzeylerinin yüksek olması tam cevap oranını arttırdığı gösterilmişti. Ayrıca östrojen reseptör negatif hastalarda da sitotoksik T lenfosit düzeyi yüksek olan hastalarda antrasiklin yanıtı daha iyi bulunmuştu. Bizim çalışmamızda daha kolay bakılabilen periferik kandan flow sitometri analizi ile de bakılan sitotoksik T lenfosit düzeyleri ile hastalıksız sağkalım ve progresyonsuz sağkalım arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Bizim toplumumuzda hangi meme kanserinin hangi patolojik alt tiplerin kazanılmış immünite cevaplarını ortaya koymak amaçlı daha fazla hasta sayılı çalışmalar gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, periferik flow sitometri



DİZİN

135





A

Aab	126
Abalı	124
Acar	114
Adaş	108, 123
Afşar	118
Akan	83, 114
Akar	12, 37
Akbay	116
Akbulut	13, 72, 94, 123, 125, 126
Akçakaya	103
Akdeniz	91, 110, 112, 115, 123, 124, 125, 126
Akdiş	11, 12, 13, 15, 21, 39, 126
Akış	11, 13, 59, 83, 94, 95, 126
Akkoç	3, 11, 12, 82
Akkoçlu	93
Aksoy	15, 82, 115, 117, 119
Aktaş	125, 127
Aktaş-Çetin	11, 12, 13, 57, 91, 112, 115
Aktürk	109
Albayrak	110, 123, 126
Aldırmaz	103
Aliağaoğlu	104
Alkan	12, 15, 23
Almacioğlu	122
Alpdündar	81, 91, 92
Altıntaş	12, 13, 64, 112
Altıntoprak	117
Altuner-Torun	97
Antmen	130
Araslı	98
Armağan	113
Arslan	99, 112
Artaç	105, 106, 107
Assadpour	116
Atakan	13, 46
Atalar	83, 114
Ataoğlu	116
Atasoy	117, 120
Atılğan	95
Ayaydın	124
Aydın	131, 132
Aydoğdu	126
Aygün-Ünal	100
Aysal	111
Ayyıldız	99

B

Babat	11
Badur	13, 48, 110
Bağlan	115, 129
Bağrıaçık	96
Bahadır	104
Bahar	118, 119
Bakır	109
Baran	99, 125, 127
Bariş	91
Başalp	83
Başkaya-Doğan	84
Baştürk	12, 13, 32
Bayık	24, 81, 91, 92
Bayındır	101

Baykal

Baykal	83
Bayraktar	99, 112
Bayram	112
Bayyurt	15, 24, 81, 91, 92
Bedir	120
Berat-Barlan	13, 82, 91
Berberoğlu	114
Berk	96, 97, 100
Bilgiç-Gazioğlu	83
Bilir	133
Bircan	127, 128
Birinci	96, 97
Bitoun	11
Blumer	121
Bosma	94
Boyman	12, 13, 38
Bozgeyik	112
Brand	84
Budak	11, 12, 13, 67, 98
Bulut	3, 12, 82, 100, 118
Büyüköztürk	91

C

Camcioğlu	13, 91, 103
Can	108
Cao	68
Cefle	115
Cengiz	112
Ceylan	106
Coşan	12, 13, 42, 115

Ç

Çağatay	100, 118
Çakal	110
Çakmak	112, 117, 120
Çalışkan	105, 106
Çalışkaner	105, 106, 107
Çamurdanoğlu	131
Çavdar	93
Çavuşoğlu	124
Çaynak	83
Çekiç	102
Çelebi	116
Çetin	16, 84, 127
Çetiner	130
Çetinkaya	116
Çevik	24
Çınar	108, 131, 132
Çiçek	84
Çiftci	117, 119, 120
Çoban	13, 56, 81
Çolak	114
Çöplü	100

D

Dal	99, 125, 127
Dansuk	118
Dayanç	16, 86
Demir	95, 124
Demircan	126
Demirkaya	113
Demirkol	86

Demiröz	122
Deniz	3, 11, 12, 13, 41, 83, 91, 108, 112, 115, 123, 124, 125, 126, 131, 132
Dereli	24
Deveci	125, 127
Deymeer	111, 113
Diken	12, 31
Dinççağ	120
Dinçkan	129
Direskeneli	11, 12, 111
Doğan	118, 119
Doğanay	101
Doğu	103, 104
Dölen	16, 85, 86
Dudczig	84
Duman	115, 116, 117, 119, 129
Durali	83
Durmuş	124
Duruksu	82

E

Eissner	82
Eksioglu-Demiralp	3, 11, 12
Elbey	99
Elçi	112
Ellidokuz	118
Ellmeier	132
Engin	133
Ercan	83
Erçal	96, 97, 100
Erdem	100, 104, 130
Erdoğan-Kayhan	124
Eren	110, 121, 123
Erensoy	98
Erman	12, 25, 95, 122, 125, 132
Erman-Daloğlu	118
Erol	84
Ersay	124
Erten	3, 13
Ertürk	109
Eryılmaz	125, 132
Esendağlı	12, 28, 85, 87, 111, 131
Esendemir	16, 83, 126
Etiz	130
Evrensel	100

F

Filinte	82
Filiz	102

G

Garipcan	122
Gearhart	68
Gedik	124
Gedik-Çelik	120
Gelincik	91
Genç	113, 115
Genel	106, 108, 109
Giriş	113
Gödekmerdan	13, 70, 84, 95, 96, 97, 100, 101
Göktürk	102, 105, 106, 107, 109
Gömçeli	86

Gönen	86
Göral	98
Görmez	83
Güç	3, 12, 85, 86, 111
Güçlüler	24, 81, 91, 92
Gül	101, 124
Güleç	113, 114
Gülezer	106, 108, 109
Güloğlu	104
Gültekin	98, 118
Günay	127, 128
Günaydın	16, 85, 86, 96, 97
Güner	102, 105, 106
Güngör	91, 92, 110
Güre	86
Gürhan	82
Gürol	123
Gürsel	12, 13, 16, 24, 47, 81, 91, 92, 110, 122
Güzelküçük	114

H

Hancerli-Törün	108
Harman	111, 120
Hasgür	96
Haskoloğlu	103, 104
Hatipoğlu	16, 83
Havan	116, 129
Holler	82
Horuluoğlu	24
Hwang	121

I

İlgin-Ruhi	104
Ishii	13, 66, 81
İşıksağan	109

İ

İğci	99, 112
İkinciogulları	13, 103, 104
İlhan	13, 74, 84, 94, 95, 117
İnal	98, 127, 128
İşbilen	86

J

Jäck	83
------	----

K

Kaba	128
Kahraman	24, 92
Kalkanlı	125, 127
Kalkanlı-Taş	125, 127
Kansu	82, 130
Kara	84
Karabağlı	107
Karabudak	111
Karabulut	126
Karadağ	97
Karagöz	100
Karakaş	84
Karakeçe	117, 119, 120
Karakükçü	96, 97

Karaman	96	Nalbant	12, 26, 95
Karaöz	82	Nalbantsoy	120
Karaşar	16, 87	O	
Karayılan	93, 94	Odabaşı	97
Karıncaoğlu	84	Oflazer	111
Karkiner	108	Ogan	127, 128
Karkucak	104	Oğuz-Ayarcı	98
Kartal	113, 114	Oğuzhan	97
Kaslin	84	Oral	3, 13, 98
Kaya	13, 69, 104	Osmanağaoğlu	122
Kayabaş	101, 130	Otlı	101, 128
Kayhan	101, 124, 128, 130	Ovalı	103, 104
Kayman	101	Ö	
Kehrl	121	Öğülür	15, 82
Keleş	102, 105, 106, 107, 109	Ölmez	115, 116, 117, 119, 129
Kesikli	15, 82, 86	Ömer	120
Keskin	125, 127, 132	Öncü	114
Keven	129	Öner-Torlar	98
Kılıç	12, 13, 61, 111	Öngüt	118
Kılıç-Gültekin	102	Özartam	129
Kılınç	130	Özbek	117
Kınalı-Çetin	107, 109	Özcan	91, 92, 116
Kıraç	102, 105, 106, 107, 109	Özdemir	95, 100, 106, 107, 116, 117, 119, 129
Kıran	122	Özek	103
Kırkıl	94	Özgen	114
Kıvılcım	117	Özgüçlü	116
Kızıl	16, 84	Özgül	124
Kibar	130	Özkan	95
Koca	84	Özmen	130
Kocabaş	99	Özören	12, 30, 98, 121, 122
Kocacık-Uygun	102	Özşahin	116
Koçak	129	Öztekin	133
Koçman	98	Öztoprak-Çuvalcı	98
Kolgelier	101	Öztuzcu	99, 112
Koşer	109	Öztürk	101, 108
Koşker	91	Özyerli	86
Köksoy	102	P	
Köktürk	98	Pamuk	12, 35
Köse	13, 54, 93, 101, 108	Park	121
Kracker	68	Pekcan	105
Kroehne	84	Pişkin	128, 130
Kumbak-Aygün	95	Polat	11
Kurtoğlu	101, 124, 128, 130	Poulas	113
Kuzyaka	131	Pur-Özyiğit	91
Küçükersan	103, 104	R	
Küçüksezer	112, 123, 126, 131, 132	Ramaslı	104
Küçükşahin	116	Reisli	63, 102, 105, 106, 107, 109
Kühnau	12	Rueckert	126
Kyritsis	84	Ruetsch	94
M		S	
Mansur	93	Saçkesen	13, 40
Maul	68	Sağkan-İlkkı	113
Memişoğulları	116	Sağlam	100
Merdin	129	Sahillioğlu	122
Morgan	106	Sakaguchi	132
Muşabak	12, 113, 114	Sanal	12, 13
Mutlu	118	Sapmaz	95
Mutlu-Sarıgüzel	96, 97, 100		
N			
Nacaroglu	108		

Sarıbaşak	12, 13, 68
Sarmadi	131
Saruhan-Direskeneli	12, 13, 111, 113
Satman	120, 123
Sayat	111
Sayı-Yazgan	12, 27, 93, 94
Sayitoğlu	122
Schenten	68
Serel	103
Serin-Senger	93
Seydaoğlu	130
Shamloo	95
Siğirli	98
Sin	11
Siva	110
Sofyalı	94
Soğuktaş	104
Somer	108
Sönmez-Uysal	117
Sözer	83
Süleymanlar	129
Sütçüoğlu	101, 108

Ş	
Şahin	24, 102, 128, 130
Şaşmaz	130
Şener	113, 114
Şengül	12, 33
Şenses	99
Şimşek	95

T	
Tahrallı	112, 123, 131, 132
Talim	111
Tan	114
Tanır-Başaranoğlu	102
Tanyeli	130
Taşkapan	128, 130
Tekeoğlu	120
Tekin	11, 13, 98
Telci	120
Temiz	95
Terzioğlu	110, 123, 127
Tez	86
Tinçer	15, 24, 110
Tiyekli	83
Tokgöz	106
Törüner	116
Trakas	113
Tunalı	16, 85
Tuncer-Kurue	111
Turan	104, 113
Turgay	116
Tutkak	115, 116, 117, 119, 129
Türkcan	114
Türkçapar	116
Türker	120

Tütüncü	120
Tüzün	13, 65, 113
Tzartos	113

U	
Uçgun	104, 116
Ulaşlı	99, 112
Uluata	86
Ulusoy	113
Ural	107
Uslu	116, 129
Uygunoğlu	112

Ü	
Ün	125
Ünal	96, 97, 128, 130
Üni	132
Ünver	86, 131
Üstündağ	98

V	
Van Der Burg	102, 106
Van Dongen	102
Vogt	12
Vural	121

W	
Wicovsky	11
Wittmann	83

Y	
Yağcı	24, 110, 122
Yalçın	95
Yalçinkaya	98
Yaman	130
Yang	68
Yanık	96
Yanikkaya-Demirel	11, 110, 123, 125, 126
Yasavur	103
Yavuz	96
Yaykaşlı	104, 116
Yazan	109
Yeğın	13, 16, 102
Yeşilbursa	114
Yıldırım	109
Yıldız	81, 91, 92
Yılmaz	12, 13, 98, 104, 111, 112, 113, 114, 118, 119, 123, 126, 131, 132
Yiğiter	112
Yöyen-Ermış	131
Yüce	116
Yüksekkaya	106

Z	
Zibandeh	115

BD Accuri® C6



Helping all people
live healthy lives

KiŖiye zel Flow Sitometri

- Gl
- TaŖınabilir
- EriŖilebilir
- Pratik