



Türk İmmünoloji Derneği



XXIV. ULUSAL İMMÜNOLOJİ KONGRESİ

27 - 30 NİSAN 2017

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
KONGRE VE KÜLTÜR MERKEZİ

BİLDİRİ KİTABI



www.immunoloji2017.org

SÖZLÜ BİLDİRİLER

OP-002

Anti-Tümör İmmün Yanıtta Atipik Duktal Karsinom, İnvaziv Meme Kanseri ve Normal Meme Dokusundan Elde Edilmiş Fibroblastların Etkisi

Betül Gök Yavuz¹, Gürcan Günaydın¹, Kemal Kösemehmetoğlu², Derya Karakoç³, Figen Özgür⁴, Dicle Güç¹

¹Hacettepe Üniversitesi, Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

⁴Hacettepe Üniversitesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

GİRİŞ: Atipik duktal hiperplazi (ADH) meme kanser gelişimde öncül bir lezyon olarak düşünülmektedir. Fibroblastlar stromada bulunan en önemli hücrelerden biridir ve tümör mikroçevresinde aktive olarak kanserle ilişkili fibroblastlara (KİF) dönüşürler. KİF'ler tümör başlaması ve gelişiminde aktif rol oynayan hücrelerdir. Bunun yanında, tümöre karşı immün cevapları baskılayarak veya immün baskılayıcı hücrelerin göçünü destekleyerek tümör mikroçevresini şekillendirir. Normal dokunun neoplastik dokuya ilerleme sürecine, aktive miyofibroblastların da içinde bulunduğu stromanın önemli bir katkısı vardır. **YÖNTEMLER:** Çalışmada redüksiyon mamoplasti ameliyatı ile elde edilmiş normal meme dokusundan eksplant kültür yöntemiyle normal fibroblastlar izole edilmiş ve primer kültürleri yapılmıştır. Meme kanseri tanısı alan hastalardan mastektomi ameliyatı ile elde edilmiş kanserli meme dokusundan yine eksplant kültür yöntemiyle fibroblastlar izole edilmiş ve primer kültürleri yapılmıştır. Bu fibroblastlar immünsitokimya yöntemi ile karakterize edilmiştir. Sağlıklı gönüllü bireylerden alınan kan örneklerinden CD4+ periferik T hücreler izole edilmiştir. Ardından T hücreler (negatif kontrol grubu hariç) CD3/CD28 manyetik boncuklarla aktive edilmiştir. Aktive T hücreler, KİF'lerden, ADH fibroblastlarından ve normal fibroblastlardan elde edilmiş koşullu besiyeri (KB) ile 96 saat kültür edilmiştir. Kültür sonrası T hücre proliferasyonu akım sitometri yöntemiyle belirlenmiştir.

SONUÇLAR: İmmünsitokimyasal karakterizasyon sonucunda, ADH fibroblastları, KİF'lere benzer şekilde güçlü vimentin ve α -SMA ekspresyonu göstermiştir. Normal fibroblastlar, α -SMA ekspresyonu göstermemiştir. Bütün fibroblastlar sitokeratin (bir epitel hücre belirteçi) açısından negatif görülmüştür. KİF'lerin tümöre karşı immün yanıtları baskılamak için kullandığı mekanizmalardan biri T hücre proliferasyon inhibisyonudur. Beklenildiği şekilde KİF'ler, normal fibroblastlara göre T hücre proliferasyonunu daha çok baskılamıştır. İlginç olarak, ADH fibroblastları aktive fenotipte olmalarına rağmen normal fibroblastlara benzer bir baskılama göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: meme kanseri, atipik duktal hiperplazi, fibroblast, T hücre

OP – 004

Ağır Kombine İmmün Yetmezlikli Hastalarda, Hastalığa Neden Olan Genetik Defektlerin Yeni Nesil Dizileme Yöntemiyle Araştırılması

Baran Erman^{1,4}, Ivan Bilic², Tatjana Hirschmugl², Elisabeth Salzer², Heidrun Boztug³, Özden Sanal¹, Deniz Çağdaş Ayvaz¹, İlhan Tezcan¹, Kaan Boztug²

¹Hacettepe Üniversitesi, Pediatrik İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara

²CeMM Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences, Viyana

³St. Anna Kinderspital, Department of Paediatrics, Medical University of Vienna, Viyana

⁴Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul

Primer immün yetmezlikler heterojen bir hastalık grubu olup, göreceli olarak daha hafif klinik seyir gösteren ya da yaşamı tehdit edecek düzeyde ağır türleri mevcuttur. Ağır kombine immün yetmezlikler ise primer immün yetmezliklerin en ağır formudur. Hastalar yaşamın ilk yılında fatal bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlarla karşılaşmaktadır. Erken tanı bu hastalar için yaşamsal önem taşımaktadır. Hastalığın tedavisinde en etkili küratif yöntem hematopoietik kök hücre naklidir ve genetik defektin bilinmesi tedavi şartlarının belirlenmesi açısından önemlidir. Çalışmada hastalığa neden olan genetik defektlerin araştırılması ve kullanılan yöntemin etkin ve hızlı bir şekilde primer immün yetmezliklerin tanısında kullanılabileceğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya ağır kombine immün yetmezlik tanısı almış fakat hastalığa neden olan genetik defektin bilinmediği 19 hasta ve aile bireyleri dahil edilmiştir. Çalışmada kullanılan yöntem yeni nesil dizileme tabanlı, primer immün yetmezliklere neden olabilecek 356 genin hedeflendiği HaloPlex zenginleştirme sistemidir.

Çalışma sonunda toplam kapsama (coverage) değerinin hedeflenmiş genler için %97.47-%99.62 aralığında olduğu belirlenmiştir. 19 hastanın 6'sında (%33) hastalığa neden olan genetik defektler saptanmıştır. Bu mutasyonlar *RAG1*, *JAK3* ve *IL2RG* genlerinde saptanmış olup, 4 tanesi daha önce literatürde gösterilmeyen, ilk defa tanımlanan mutasyonlardır.

Çalışma sonunda elde edilen değerler kullanılan yöntemin primer immün yetmezlikli hastaların tanısında etkin ve hızlı bir şekilde uygulanabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: primer immün yetmezlik, ağır kombine immün yetmezlik, yeni nesil dizileme

OP-009

Helicobacter-Aktive B Hücrelerinin CD4⁺ T Hücreleri ile Fonksiyonel Etkileşimine TGF- β 'nın Etkisi

Güliz Tuba Barut, Aslı Korkmaz, Sawsan Said, Ayça Sayı Yazgan

İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul

GİRİŞ: Çalışmamız, *Helicobacter*-aktive B hücrelerinin, CD4⁺ T hücreleri üzerine etkisini incelemeyi amaçlamaktadır. Bu doğrultuda, *Helicobacter*-aktive B hücreleri tarafından üretilen TGF- β 'nın, CD4⁺ T hücrelerinin polarizasyonundaki rolüne odaklanılmıştır. **GEREÇ-YÖNTEM:** C57BL/6 tipi farelerin dalaklarından manyetik ayırım yöntemi ile B hücrelerinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Total B hücreleri, *Helicobacter felis* (*H.felis*) sonikati ile uyarılıp, hücrelerin IL-10 üreten hücrelere farklılaşması sağlanmıştır. Hücreler, manyetik olarak IL-10⁺ B ve IL-10⁻ B hücre alt gruplarına ayrıştırılmıştır. Eş zamanlı olarak, farelerin dalağında ve mezenterik lenf düğümlerinden elde edilen hücre süspansiyonlarından manyetik ayırım yöntemiyle CD4⁺ T hücreleri ayrıştırılmıştır. Elde edilen CD4⁺ T hücreleri, *Helicobacter*-aktive IL-10⁺ B hücre grubu ve *Helicobacter*-aktive IL-10⁻ B hücre grubu ile 24 saat süresince, anti-TGF- β antikorunun varlığında ve yokluğunda ko-kültürde tutulmuştur. CD4⁺ T hücrelerinin ürettikleri IL-10 ve IL-17 seviyeleri akan hücre ölçer kullanılarak incelenmiştir. Hücrelerin IL-17A ve ROR γ T gen ifadelerinin seviyesi qPCR yöntemiyle tayin edilmiştir.

BULGULAR: Deneylerin sonuçları, T hücrelerinin Th17 hücrelerine dönüşmesinde rol oynayan TGF- β 'nın neredeyse hepsinin (~%99) ve IL-6'nın büyük bir kısmının (~%70) *Helicobacter*-aktive IL-10⁻ B hücre grubu tarafından üretildiğini göstermektedir. *Helicobacter*-aktive IL-10⁺ B ve T hücre ko-kültürüyle karşılaştırıldığında, *Helicobacter*-aktive IL-10⁻ B hücrelerle birlikte tutulan T hücrelerinin yaklaşık 5 kat daha fazla IL-17 ürettiği, fakat IL-10 seviyelerinin arasında anlamlı farklılıklar olmadığı tespit edilmiştir. 24 saatlik *Helicobacter*-aktive IL-10⁻ B ve T hücre ko-kültüründe, ortamdaki TGF- β 'nın nötralize edilmesi sonucunda, T hücrelerinde, özellikle IL-17 olmak üzere, IL-10 seviyesinde belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. **SONUÇ:** Çalışmalarımızın sonucunda, *Helicobacter*-aktive-B hücreleri tarafından üretilen TGF- β 'nın CD4⁺ T hücrelerini IL-10 ve IL-17 üreten T hücre gruplarına farklılaşmasında etkili olduğu önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: CD4⁺ T hücreleri, *Helicobacter*-aktive B hücreleri, IL-10, IL-17, TGF- β

OP-014

BATF Ekspresyonunun Kronik Lenfositik Lösemili Hastalarda Araştırılması

Metin Yusuf Gelmez¹, Suzan Çınar¹, Aynur Dağlar Aday², Gülce Özçit¹, İpek Yönel², Günnur Deniz¹, Melih Aktan²

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

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul

AMAÇ: Basic leucine zipper protein (BATF), B ve T hücrelerinin gelişim ve farklılaşmasında rol oynar. Kronik lenfositik lösemi (KLL)'de AID ekspresyonu, T foliküler ve Th17 hücre sayısı ve fonksiyon artışı gözlenmesine rağmen bu üç mekanizmayı kontrol eden BATF'nin rolü bilinmemektedir. Çalışmamızda KLL'li olgularda BATF ekspresyonu ve farklı hücre gruplarındaki değişiklikler ilk kez araştırılmıştır.

YÖNTEM: KLL tanısı almış 37 hasta ve 16 sağlıklı bireyden elde edilen heparinli kan örnekleri anti-CD5, anti-BATF, anti-CD19, anti-CXCR5, anti-CD3 ve anti-CD4 antikorları kullanılarak akan hücre ölçer yöntemi ile analiz edilmiştir. Gönüllülerden alınan periferik kan örneklerinden total RNA izolasyonu sonrası ters transkriptaz enzimi (Fermantes) ile cDNA sentez edilmiştir. Hedef (BATF) ve referans gene (HPRT1) ait primer ve proplar kullanılarak Light Cycler 480 cihazı (Roche) ile QRT-PCR yapılmıştır. Elde edilen veriler 2- $\Delta\Delta$ CT metodu ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR: Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında BATF mRNA ekspresyonu KLL'li olgularda yüksek saptanmıştır ($p= 0.05$). mRNA ekspresyonuna paralel olarak akan hücre ölçer ile yapılan analizlerde hem BATF hem de CD19+BATF+ ekspresyonu KLL'li olgularda yüksek bulunmuştur (sırasıyla, $p= 0.0013$ ve $p< 0.0001$). CD19+ B lenfositlerinde BATF ve CD19+BATF+ ekspresyon oranı KLL'li olgularda anlamlı derecede artış göstermiştir (sırasıyla, $p= 0.0001$ ve $p< 0.0001$). Ayrıca KLL olgularında CD3+ T hücrelerinde BATF ve CD4+BATF+ ekspresyonunda artış saptanmıştır (sırasıyla, $p= 0.0032$ ve $p= 0.0154$).

SONUÇ: BATF'in mRNA ve hücre içi protein düzeylerinin KLL'li olguların lenfosit alt gruplarında farklılık gösterdiği ilk defa bu çalışmada gösterilmiştir. Elde edilen bulgular B ve T lenfositleri üzerindeki mevcut etkisi göz önüne alındığında, BATF'nin KLL patogeneğinde anahtar rol oynayabileceğini ve önemli bir biyobelirteç adayı olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: KLL, BATF, T foliküler hücre

OP-019

c-Myc İnhibisyonu Hematopoetik Kök ,Hücre Çoğalmasını Tetiklemektedir

Merve Aksöz¹, Lamia Yazgı Alyazıcı¹, Esra Albayrak¹, Dolay Damla Çelik¹, Galip Servet Aslan¹, Raife Dilek Turan¹, Emre Can Tüysüz², Serli Canıkyan³, Neslihan Meriç⁴, Zafer Gülbaş⁴, Fikrettin Şahin¹, Fatih Kocabaş¹

¹Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

²Tıbbi Genetik Bölümü, Tıp Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

³Onkim Kök Hücre Teknolojileri, İstanbul Teknik Üniversitesi KOSGEB Teknoloji Geliştirme Merkezi, İstanbul

⁴Kemik İliği Nakli Birimi, Özel Anadolu Hastanesi, Kocaeli

Hematopoetik kök hücre (HKH) dormansi regülatörlerinin susturulması HKH'lerin sadece hücre döngülerine katılmalarını sağlamakla kalmaz aynı zamanda HKH'lerin çoğalmasını sağlamaktadır. İlgili çekici bir şekilde, c-myc geninin kemik iliğindeki fonksiyon kaybı beklenenin aksine hematopoetik kök hücre ve progenitorlerinin *in vivo*'da 4-kata kadar artmasına neden olmaktadır. Bu bulgular, c-myc'in geçici inhibisyonu hematopoetik kök hücre ve progenitorlerinin *ex vivo*'da çoğalabilmesine olanak sağlayabileceğini düşündürmektedir. Bu amaçla, çalışmamızda c-myc inhibitörü 10074-G5 ve daha önce HKH ekspansiyonunda etkin olduğu bilinen tauroursodeoxycholik asit (TUDCA), α -Tocopherol, L-NIL ile beraber test edilmiştir. Yedi günlük muamele sonunda 10074-G5 LSKCD34low HKH popülasyonunu yaklaşık 2 kata kadar arttırmıştır. Hücre döngüsünün G0 fazında bulunan fare hematopoetik kök hücrelerin azalması, artan proliferasyona kanıt niteliğinde olmuştur. Ayrıca, insan kordon kanı hücreleri c-myc inhibitörünün farklı dozlarıyla muamele edilmiştir. c-myc inhibisyonu CD34+ ve CD133+ hematopoetik kök hücre ve progenitorlerini kontrole göre 2 kat arttırmıştır. Bunun dışında c-myc inhibisyonu kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin proliferasyonunu baskımlarken, adipoz-kökenli mezenkimal kök hücrelerinin proliferasyon kinetiğini etkilememiştir. Çalışmalarımızın sonucu gösteriyor ki c-myc inhibitörü 10074-G5, α -Tocopherol ve L-NIL hematopoetik kök hücre ve progenitorlerinin çoğalmasına özgüdür. Bu bulgular, c-myc inhibisyonunun hematopoetik kök hücre ve progenitorlerini çoğaltmak ve transplantasyon verimini arttırmak için kullanılabilirliğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: kemik iliği yetmezliği, gen terapi sonrası kök hücre ekspansiyonu, c-myc

OP-023

S1P1 Agonisti SEW2871'in İnsan Th17 Hücreleri Gelişim ve Fonksiyonlarını Doğrudan ve Dolaylı Etkilemektedir

Ahmet Eken, Fatma Zehra Okuş, Mehmet Fatih Yetkin, Mustafa Çakır, Aykut Özdarendeli, Hamiyet Dönmez Altuntaş, Meral Mirza, Halit Canatan

Erciyes Üniversitesi, Kayseri

S1P1, lenfositler tarafından ifade edilen G-protein bağımlı bir reseptör olup lenfositlerin sekonder lenfoid organlardan çıkışını (egress) düzenlemektedir. Fingolimod, S1P1 de dahil dört farklı S1P reseptörüne bağlanan bir agonist olup Multiple skleroz tedavisinde kullanılmaktadır; ancak hem S1P1 hem de agonistlerinin egress'den bağımsız biçimde Th17 hücrelerinin gelişim ve fonksiyonlarına etkisi yeterince bilinmemektedir. Biz bu çalışmada, ex vivo ortamda naïve yada memory CD4+ T hücrelerinden antijen sunucu hücreler varlığında ve yokluğunda geliştirilen Th17 hücrelerinin fingolimoddan daha spesifik bir S1P1 agonisti olan SEW2871 muamelesine tepkisini karakterize ettik. Bu bağlamda SEW2871 ortamında gelişen ve mature edilen dendritik hücreler daha az IL-6, IL-1beta ve IL-23 ürettiler. Yaptığımız Th17 farklılaştırma deneylerinde de SEW2871, hem hücre içi sitokin boyaması hem de ELISA yöntemiyle ölçüldüğünde Th17 oluşma verimini azaltıcı bir etki gösterdi. Öte yandan SEW2871 varlığında, Kit225 hücreleri veya primer T hücrelerinde STAT3 fosforilasyonunda bir farklılık gözlenmedi. Bu çalışma daha önce IL-17 Cre S1P1flox farelerin lenfositleri de dahil birçok dokusunda gözlemlediğimiz Th17 hücrelerindeki azalmayı ve dolayısıyla S1P1 reseptörünün ve diğer agonistlerin Th17 biyolojisine etkilerinin anlaşılmasına yardımcı olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Th17, S1P1, SEW2871

OP-030

NLRP11' in Edinsel Bağışıklık Yanıtının Oluşumundaki Rolü

İrem Özel, Ilgın Akkaya, Didem İnan, Ceren Çıracı

İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

Mikrobiyal ve steril enfeksiyona karşı tam bir immün yanıt oluşabilmesi için ilk koşul, bu durumların algılanmasıdır. Motif tanıma reseptörleri (PRR) hücrede, bu moleküler motifleri tanırlar. İnsanda 22 üyesi olan Nod-benzeri reseptör (NLR) ailesi sitozolde bulunan PRR'lerdir. Bu motiflerin NLR'ler tarafından tanınmasıyla, immün yanıtı oluşturan hücre içi sinyal iletimi başlar. NLR proteinleri, ASC ve Kaspaz-1 molekülleri ile inflamazom kompleksi denilen çoklu protein platformlarını oluştururlar. Bu ailenin inflamazom kompleksi oluşturduğu bilinen üyeleri NLRP3, NLRC4, NLRP1 ve AIM-2'dir. NLR proteinlerinin aktifleşebilmeleri için 2 sinyal gerekmektedir. Bu sinyallerden 1.si hücre membranında bulunan PRR'lere bağlanırken, 2.si NLR proteinine özeldir. İkinci ligandı bilinen NLR'ler ise NLRC4 (flagellin), NLRP3 (ATP, silika), AIM-2(ds-DNA), NLRP1 (MDP) dir. Bu çalışmada, sadece insanda bulunan, NLR ailenin bir üyesi olan NLRP11'in çalışma mekanizmalarının anlaşılması hedeflenmiştir. NLRP11'in RNA ve protein ifadeleri, hangi ligandlar tarafından indüklendiği ve inflamazom kompleksi oluşturup oluşturmadığı bilinmemektedir. Bu amaç için farklı ligandlar ile stimüle edilen insan Burkitt Lymphoma hücre hattı Daudi hücreleri kullanılmıştır. Buna istinaden, Daudi hücreleri LPS (lipopolisakkarit), komponent 1, PMA/Ionomycin, CD40L ile uyarılmış ve NLRP11'in RNA ve protein seviyeleri tespit edilmiştir. Daudi hücrelerini stimulasyonda kullanılan uyarıcılar ile inflamazom üzerinden aktive edilen IL-1 β ve IL-18 üretimi ELISA ile ölçülmüş ve bu sitokinlerin hücre dışına salgılanmadığı tespit edilmiştir. Ancak komponent-1 ile uyarılan Daudi hücrelerinde NLRP11'in hem RNA, hem de protein seviyesinde tutarlı bir artış gösterdiği gözlenmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda NLRP11'in DNA seviyesindeki varyasyonları rapor edilmiş olup, protein seviyesindeki regülasyonunda bilgi boşlukları bulunmaktadır. Bu projede, NLRP11'in RNA ve protein seviyesinde komponent-1 ile arttığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: doğal bağışıklık, edinsel bağışıklık, NLRP ailesi, NLRP11, inflamazom kompleksi, Daudi

OP – 037

Genom Mühendisliği ile Interlökin 7 Reseptör Genini Kontrol Eden Transkripsiyon Faktörü Bağlanma Bölgelerinin Mutasyonu

Ronay Çetin¹, Canan Sayitoğlu¹, Batu Erman^{1,2}

¹Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji, Genetik ve Biyomühendislik Programı, İstanbul

²Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (SUNUM), Sabancı Üniversitesi, İstanbul

Il7r geninin kodladığı reseptör (IL7R alması) proteini, bağışıklık sistemi hücrelerinde ifade edilerek bu hücrelerin hayatta kalması için gerekli olan IL7 sitokini tarafından sinyallenmelerine neden olur. IL7R sinyal yolağındaki mutasyonlar primer imün yetmezliklere neden olmaktadır. Bu proteini kodlayan gendeki polimorfizmler, multipl skleroz (MS) ve T-lösemi (T-ALL) gibi hastalıklar ile yakından bağlantılıdır. Bu bulgular IL7R sinyalinin sağlık için önemini vurgular. IL7R geninin T lenfositlerdeki transkripsiyon mekanizmasını araştırdık. Amacımız, IL7R geninin transkripsiyon kontrol bölgelerine bağlanan transkripsiyon faktörlerini detaylı çalışmaktır. CRISPR/Cas9 genom mühendisliği tekniğı ile IL7R gen kontrol bölgesindeki NF-κB, Gfi1 ve RORγT transkripsiyon faktörü bağlanma bölgelerini hedefleyerek mutasyonlar yarattık. Bu mutasyonların IL7R gen ifadesi üzerindeki etkilerini belirledik. IL7R kontrol bölgelerine bağlanan transkripsiyon faktörlerinin *in vivo* DNA bağlanma özelliklerini kromatin immün çökeltme (ChIP) tekniğı ile belirlemekteyiz. Bu çalışmalar ile lenfosit hücrelerinin hayatta kalımlarını etkileyen önemli transkripsiyon faktörlerinin belirlenmesini amaçlıyoruz.

Bu proje 113S811 numaralı TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: interlökin-7 reseptörü, genom mühendisliği, T-lenfosit, CRISPR/Cas9

OP-053

NLRP13 Proteininin Doğal Bağışıklık Aktivasyonundaki Etkilerinin Karakterizasyonu

Açelya Yılmaz, Mustafa Yalçınkaya, Nesrin Özören

Boğaziçi Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

Patojenler biyolojik bariyerleri aşmış insan vücuduna girmeyi başardığında, ilk olarak doğuştan gelen bağışıklık sistemine ait hücreler tarafından tespit edilirler. Bu hücreler kalıp tanıma reseptörleri (PRR) aracılığıyla patojen ve tehlike ilişkili moleküler kalıpları (PAMP ve DAMP) tanıyarak patojenleri algırlar. NOD benzeri alıcılar (NLR) yangı ve apoptozu düzenleyen sitoplazmik PRR ailesinin üyeleridir. NLR proteinleri, amino uçtaki protein etkileşim bölgesi, orta kısımda yer alan oligomerizasyon bölgesi ve karboksil uçtaki lösince zengin tekrarlı bölge ile karakterize edilirler.

NLRP13, PYRIN bölgesi içeren bir NLR ailesi üyesidir ve enflamasyon veya apoptozdaki görevleri bilinmemektedir. Bu çalışmada, NLRP13'ün enflamasyon aktivitesi ve bağışıklık düzenleyici mekanizmalarındaki görevlerini anlamak için, ilk olarak NLRP13 protein seviyelerinin hangi DAMP ve PAMP ile bağlantılı olduğunu ve hangi enflamasyon yapıcı sitokin salınım seviyelerini arttırdığının bulunması hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda yapılan deneylerde, NLRP13 ifadesinin LPS ile uyarılması sonucu düştüğü ve ATP'nin NLRP13 enflamasyonunun potansiyel ikinci sinyali olabileceği gösterilmiştir. Sürekli olarak NLRP13 proteinini ifade eden THP-1 monositleri LPS ve ATP ile uyarıldığında TNF- α salınım seviyesinin kontrol hücrelerine göre arttığı ELISA yöntemiyle tespit edilmiştir. *P. aeruginosa* enfeksiyonu sonucunda NLRP13 proteinini sürekli olarak ifade eden THP-1 monositlerinin kontrol hücrelerine göre daha çok M-CSF salgıladığı gösterilmiştir.

Literatürde TNF- α 'nın TNF reseptörü ve LPS'in TLR-4 reseptörü aracılığıyla NF- κ B aktivasyonu sağladığı ve M-CSF'in monositlerin makrofaja dönüşmesinde önemli rol aldığı raporlanmıştır. Ayrıca NF- κ B aktivasyonunun makrofaj dönüşümü esnasında apoptotik hücre ölümünü inhibe ettiği literatürde gösterilmiştir. Bu bilgiler ışığında, NLRP13'ün LPS ve ATP ile uyarılıp TNF- α salınımını arttırması ve *P. aeruginosa* enfeksiyonu sonrası M-CSF salınımını tetiklemesi nedeniyle, NLRP13'ün NF- κ B yolağını etkileyerek makrofaj dönüşümü üzerinde etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bu hipotez doğrultusunda, NLRP13'ün NF- κ B aktivasyonu üzerindeki etkilerini ortaya çıkarmak amacıyla çalışmalarımıza devam etmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: NLRP-13, makrofaj, NF- κ B

OP-055

PD-L2 Ko-inhibitör Molekülünü İfade Eden Monositik Lösemi Hücrelerinin Yardımcı T Hücre Aktivasyonuna Etkisi

Ece Tavukçuoğlu, Güneş Esendağlı

Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

PD-1 reseptörü ve ligandları (PD-L1 ve PD-L2), T lenfosit yanıtını inhibe eder ve/veya düzenler. Miyeloid lösemi hücreleri hem ko-aktivatör hem de ko-inhibitör molekülleri eş zamanlı olarak hücre yüzeyinde ifade eder. PD-L1'in kanserde immün düzenlenme üzerine etkisi daha net olarak bilinirken, PD-L2'nin miyeloid lösemilerdeki fonksiyonu hakkındaki bilgiler sınırlıdır.

Monositik lösemi hücre hattı THP-1 kullanılarak protein kinaz C aktivatörü ve IFN- γ ajanlarının etkisi altında PD-1 ligandlarının ve diğer tüm B7 ailesi kostimülatör moleküllerinin ekspresyonu modüle edildi. Kontrol olarak, sağlıklı donörlerden izole edilmiş monositler saflaştırıldı ve IFN- γ etkisi altında farklılaşması uyarılarak kullanıldı. Bu hücreler CD4+ T lenfositler ile kokültür edildi. PD-L1 ve/veya PD-L2 molekülleri bloklanarak fonksiyonel analizler gerçekleştirildi. PD-L1, PD-L2 veya CD86 genleri farklı kombinasyonlarda aktarılan HEK293T hücreleri ile de monositler varlığında ve yokluğunda fonksiyonel analizler gerçekleştirildi. Deneylerde hücre kültürü, MACS, FACS, çok renkli akım sitometri, ELISA, immünsitokimya, transfeksiyon ve CFSE proliferasyon analizleri gerçekleştirildi.

IFN- γ uyarımı altında kalan miyeloid hücrelerde PD-L1'in yanısıra PD-L2 ekspresyonunun arttığı ve bu sayede CD4+ T hücreleri uyarıcılıklarının belirgin düzeyde azaldığı bulundu. Bu durumun sadece miyeloid lösemi hücrelerinde değil kanda bulunan monositlerde de bir frenleme mekanizması olarak işlev gördüğü saptandı. PD-1 inhibitör yolağının ancak yeterli düzeyde kostimülatör uyarı altında fonksiyon görebildiği belirlendi. Treg dönüşümü veya T hücre yorulması izlenmedi. Diğer taraftan, PD-L2'nin tek başına inhibe edilmesi de önemli ölçüde immün aktivasyon sağladı. PD-L1 ve PD-L2'nin eş zamanlı varlığı ise en yüksek düzeyde inhibisyonun elde edilmesi için elzem olduğu görüldü.

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: ko-stimülasyon, monosit, T hücre aktivasyonu

OP-060

Kalıtsal İnsan CD55 Eksikliği Hastalığı Modelinde T Hücre Eş-uyarımı ve CD55 Sinyalizasyonu

Ahmet Özen, İsmail Ögülür, Ayça Kıyıkım, Safa Barış, Elif Karakoç Aydiner

Marmara Üniversitesi, Pediatrik Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul

GİRİŞ: CD55 (Decay-accelerating-factor) esas olarak kompleman aktivasyonunu düzenlemede rol oynayan bir protein olup, aynı zamanda T hücre yüzeyinde eş-uyaran molekül olarak görev almaktadır. Yakın zamanda grubumuz çekinik kalıtım özelliği gösteren CD55 eksikliğine bağlı yeni bir hastalık tanımlamıştır (CHAPLE-CD55 deficiency with hyperactivation of complement, angiopathic thrombosis, protein losing enteropathy). Bu hastalarda barsak inflamasyonu klinik fenotipin önemli kısmını oluşturmaktadır. Çalışmamızda CHAPLE hastalarında CD55 aracılı sinyalizasyon kaybının CD4+T hücrelerin aktivasyon ve sitokin üretimini nasıl etkilediği araştırılmıştır.

METOD: Periferik kan mononükleer hücrelerden CD4+T hücreler ayrıştırılmış ve anti-CD3, anti-CD28, anti-CD55 ve rCD97(CD55'in doğal ligandı) ile farklı doz ve koşullarda uyarılmış ve aktivasyon belirteçleri, proliferasyon ve sitokin üretimi ölçülmüştür. Ayrıca küçük interferans RNA yöntemi ile sağlıklı donörlerden elde edilen CD4+T hücrelerde CD55 ifadesi susturularak aktivasyon ve sitokin yanıtları değerlendirilmiştir.

BULGULAR: Anti-CD3 antikoru ile birlikte anti-CD55, sağlıklı kontrollerin periferik kan CD4+T hücrelerinde CD69 aktivasyon belirteç ifadesini artırırken, CHAPLE hastalarının T hücreleri bu eş-uyarıma yanıt vermemiştir. Ek olarak, sağlıklı kontrol T hücrelerinin, anti-CD55 monoklonal antikoru ya da rCD97 ile eş-uyarımı sonrası anti-CD3 tek uyarımına göre proliferasyonlarının arttığı ve bu etkinin anti-CD3+CD28 ile birlikte daha da kuvvetlendiği belirlenmiştir. Ancak CHAPLE hastalarında ise anti-CD3 ya da anti-CD3+CD28 uyarımları ile birlikte anti-CD55 ya da rCD97 eş-uyarımlarına bağlı sinyalizasyonun kaybolduğu görülmüştür. Sitokin yanıt profili incelendiğinde, sağlıklı CD4+T hücrelerinin anti-CD55 ile eş-uyarımına bağlı olarak IL-10 sitokin üretiminin arttığı görülmesine rağmen, hastalarda IL-10 üretiminin bozuk olduğu saptanmıştır. CD55 gen susturma deneyleri ile hastalardakine benzer sonuç elde edilmiştir.

SONUÇ: Bulgularımız CHAPLE hastalarında gözlenen barsak inflamasyonunun CD55 eş-uyarımı kaybına bağlı IL-10'un yetersiz üretimiyle ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: CD55, CHAPLE hastalığı, eş-uyarım, IL-10

coBTK Lentiviral Vektörü Uygulanan XLA Hasta Kök Hücreleri ile NOD/SCID Farelerde B-hücre Gelişiminin Düzeltilmesi Ön Sonuçları

Yuk Yin Ng¹, Özden Hatırnaz Ng², Sinem Fırtına², Suzan Adın Çınar³, H. Haluk Akar⁴, Türkan Patiroğlu⁵, Yıldız Camcıoğlu⁶, Müge Sayitoğlu², Uğur Özbek⁷

¹İstanbul Bilgi Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik ve Genetik Bölümü, İstanbul

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

³İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴Türkiye Cumhuriyeti, Sağlık Bakanlığı, Batman Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi

⁵Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri

⁶İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

⁷Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

X'e bağlı agamaglobulinemi (XLA), insanda en sık gözlenen primer immün yetmezliktir ve Bruton'un tirozin kinaz (BTK) geni mutasyonları sonucu gelişmektedir. XLA, B-hücre gelişiminin pre-B evresinde durması nedeniyle ortaya çıkan immünoglobulin eksikliği ve tekrarlayan bakteri enfeksiyonları ile karakterizedir. XLA hastalığı günümüzde damar içi immünoglobulin tedavisi, enfeksiyonlara karşı antibiyotik kullanımı ile tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Ancak her iki seçenek de semptomatiktir ve tedavi sağlamaz. Bu nedenle XLA, hematopoietik kök hücre (HKH) tabanlı gen terapi çalışmaları için ideal bir adaydır. Bir önceki çalışmamızda Btk^{-/-} (knock-out) farelerde gen terapi ile düzeltilmiş HKH'lerin XLA hastalığını tedavi edebildiğini göstermiştik. Bu çalışmada ise BTK mutasyonu bilinen iki XLA hastasından elde edilmiş HKH'ler *in vitro* ortamda gen terapi uygulanarak insan hematopoezini kolaylıkla izleyebileceğimiz NOD/SCID farelere aktarılmış ve B-hücre gelişimleri incelenmiştir. Hastalardan izole edilen CD34+ hücreler kodon optimize BTK geni taşıyan viral vektörler ile muamele edilerek, NOD/SCID farelere kuyruktan enjekte edilmiştir. Otuzuncu günece periferik kan örnekleri incelendiğinde gen terapi uygulanmış hücrelerin verildiği farelerde CD19 pozitif hücreler gözlenirken kontrol faresinde gözlenmemiştir. Otuz beşinci günde fareler sakrifiye edilerek kemik iliği, periferik kan ve dalak dokuları insan CD19, CD3 ve CD14 hücre varlıkları açısından incelenmiştir. Beklenildiği üzere gen terapi farelerin periferik kanında CD19 ve CD3 pozitif insan hücreleri gözlenmiştir. Kemik iliğinde ise sadece CD19 pozitif insan hücreleri tespit edilmiş ancak T-hücreleri gözlenmemiştir. İzlem süresinin kısa olması sebebiyle myeloid hücreler gözlenmemiştir. Bu sonuçlar Türkiye'de gerçekleştirilen ilk vektör tabanlı gen terapi çalışmalarının ön sonuçlarıdır ve sekonder transplantasyonlar ile uzun süreli izlem için yeni bir çalışma planlanmaktadır. Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No:111S476)

Anahtar Kelimeler: XLA, gen Terapi, B-hücre, NOD/SCID

NK Hücrelerinde CRISPR/Cas9 Sistemi Kullanılarak Antiviral Sinyal Yolaklarının Belirlenmesi

Didem Özkazanç¹, Ece Canan Sayitoğlu², Batu Erman^{1,3}, Adil Doğanay Duru², Tolga Sütü^{1,3}

¹Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Sabancı Üniversitesi, İstanbul

²NSU Cell Therapy Institute, Nova Southeastern University, Fort Lauderdale, FL, USA

³Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul

Doğal öldürücü hücreler (NK) tümör hücrelerini ve virüsle enfekte hücreleri tarayarak yok edebilen doğal bağışıklık sistemi üyeleridir. Genetiği değiştirilmiş NK hücrelerinin kanser immünoterapisinde kullanımı ümit vadeden bir yaklaşım olmasına rağmen genetik değişiklik metodları henüz ideal koşullara ulaşmamıştır.

Genetik değişiklikler lentiviral vektörler aracılığıyla sağlanabilir ancak NK hücrelerinin lentiviral gen aktarım yöntemlerine direnç gösterdikleri bilinmektedir. Bu direnci zayıflatmak için virüs karşıtı savunma sinyallerini hedefleyen küçük molekül inhibitörleri, örneğin BX795, kullanılmaktadır. BX795'in Toll-benzeri ve RIG-I benzeri almaçların sinyal yolaklarının aşağısındaki TBK1/IKKepsilon çiftini hedef alarak lentiviral gen aktarım verimini arttırdığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmada NK hücrelerinin virüse karşı oluşturdukları direncin tetiklediği sinyal yolaklarının aydınlatılabilmesi için 20 aday gen CRISPR/Cas9 sistemi kullanılarak NK-92 hücre hattında mutasyona uğratılmıştır.

Yeni NK-92 hücre hatları elde etmek için belirlenen 20 gen (TBK1, MAVS, SYK, LCK, TAK1, IRF3, IRF7, IRF9, TLR3, TLR7, JNK, STING, p38, TRIM5a, TRIM25, TRIM28, RIG-I, MDA5, PIK3CA) hedef CRISPR dizilerini içeren lentiviral vektörler ile enfekte edildi. Mutant NK-92 hücre hatları ve vahşitip NK-92 hücreleri GFP taşıyan lentiviral vektörlerle BX795 varlığında ve yokluğunda enfekte edilerek gen aktarımı verimliliği tespit edildi.

Bulgularımız virüsün çift-sarmal RNA bazlı sinyallerinin NK-92 hücrelerinde RIG-I ve TRIM25 üzerinden algılanmasının lentiviral gen aktarımına karşı dirençte önemli roller oynadıklarını göstermektedir. Buna göre lentiviral gen aktarımının NK hücrelerinde çeşitli kalıp tanıma reseptörleri tarafından doğuştan gelen bağışıklık sistemini uyardığı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Sntiviral sinyal yolakları, CRISPR/Cas9, İmmünoterapi, lentiviral gen aktarımı, NK hücresi

OP-085

Kommensal Bakteri Kökenli Membran Veziküllerinin İmmün Düzenleyici Etkileri

Esin Alpdünder Bulut¹, Banu Bayyurt², Merve Aydın², Can Akçalı³, İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara

²Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara

³Ankara Üniversitesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara

Bu çalışmada, mikrobiyotanın immün sistem üzerindeki düzenleyici etkisini göz önünde bulundurarak kommensal kökenli bakterilerin ürettiği hücre-dışı veziküllerin immünomodülatör özelliklerini belirlemeyi amaçladık.

Çeşitli *in vivo* çalışmalar yapılarak membran keseciklerinin immün yanıt üzerindeki etkisi araştırıldı. Kommensal MV'lerin *in vivo* biyodağılımlarını belirlemek için CFSE işaretli MV'ler farelere intraperitoneal olarak enjekte edildi ve enjeksiyondan 4 ve 24 saat sonra dalak, lenf nodülü, kemik iliği ve peritoneal kavite hücrelerindeki miktarları tayin edildi. Bu sonuçların ışığında, MV'lerle etkileşen peritondaki hücrelerin çoğunluğunun Ly-6G ifade ettikleri gözlemlendi. Bu sonuç, MV'lerin myeloid kökenli baskılayıcı hücreler üzerinde etkisi olduğunu düşündürmektedir. MV'lerle etkileşen hücreleri daha ayrıntılı incelemek için kemik iliğinden elde edilen hücreler makrofaja dönüştürüldü ve sonrasında membran kesecikleri ile uyarılarak keseciklerin M1/M2 tipi makrofaj hücrelerine farklılaştırma potansiyelleri araştırıldı. Sonuçlar, MV'lerle etkileşen makrofajların M2 makrofaj işaretçisi *arg1*'i kontrol grubuna oranla daha yüksek ifade ettiklerini, M1 makrofaj işaretçisi *nos2*'yi düşük oranda ifade ettiklerini göstermiştir. Bu sonuçlar MV'lerin M2 tipi makrofajların gelişmesine yol açtığını düşündürmektedir. Kemik iliği hücrelerinin MV'lerle inkübe edildiğinde ise Ly-6G ve PD-L1 ifade eden granülositik myeloid seri baskılayıcı hücre farklılaşmasına yol açtıkları belirlendi. Elde edilen sonuçlar ışığında, insan kommensal kökenli membran keseciklerinin güçlü immün düzenleyici etkilere sahip oldukları ve yeni tip anti-enflamatuar ajanlar olarak terapiye yönelik potansiyel uygulamalarının olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: İmmün Düzenleyici, kommensal bakteri, membran veziküller

OP-095

Kanda Bulunan LL37 Peptidi Hücre Dışı Keseciklere Bağlanıp Bağışıklık Hücrelerini Etkinleştirerek Behçet Hastalığının Şiddetini Artırır

Muzaffer Yıldırım, Gözde Güçlüler, Özlem Bulut, Tamer Kahraman, İhsan Gürsel

Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, THORLAB-Terapötik Oligonükleotid Araştırma Laboratuvarı, Bilkent, 06800, Ankara

Behçet hastalığı(BD) etiyolojisi bilinmeyen kompleks ve çok organ tutulumlu kronik otoimmün /otoenflamatuvar bir durumdur. Genetik geçmiş ve çevresel faktörler hastalık patogenezi önemli katkıda bulunan etkenler olarak düşünülmektedir. BD patogenezi çok yüksek seyreden immün aktivasyonla karakterizedir. Ancak, Aktif BD durumuna yol açan hücre ve moleküler mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Bu bağlamda, plazmaferezin hızlı ve kısa süreli remisyona neden olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu plazma ile ilişkili tanımlanamayan bir faktörün alevlenmelerin tetikleyicisi olabileceğini önermektedir. Bu çalışmada, hastalık aktivitesine ve şiddetine katkıda bulunan plazma ile ilgili dolaşımdaki faktörün hücre dışı keseciklerin (EV) olabileceğini öneriyoruz.Hücre dışı veziküller hücrelerden salınan doğal nano keseciklerdir (~30nm-1um) ve hücre dışı veziküllerin hücreler arası iletişimde önemli rollerinin olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, son çalışmalar plazma EV seviyelerinin hastalık boyutu ve şiddetine bağlı değişim gösterdiğini ileri sürmektedir.

Biz bu çalışmamızda, bir cathelisin üyesi olan LL37 anti-mikrobiyal peptidinin, plazma EV'lerine bağlanarak EV'leri bağışıklık hücrelerine yönlendirdiğini, böylelikle BD patolojisini ağırlaştırarak immün aktivasyona katkı sağladığını gösteriyoruz. Özellikle, hastalık aktivitesi plazmadaki LL37 ve EV konsantrasyonlarının ve IL6 gibi patolojiye katkı sağlayan sitokin düzeyleriyle yüksek korelasyon göstermiştir ($R^2=0,945$). Aktif BD hastasından izole edilen EV'lerle sağlıklı donörlerin PBMC'lerinin uyarılması, sağlıklı ve inaktif BD EV'lerine kıyasla daha yüksek miktarda IL1 β , IFN α , IL6 ve IP10 sekresyonuna yol açmıştır.Sağlıklı plazma EV'leri LL37 ile karıştırıldığında, BD EV'lerinin patolojisine benzer özellik kazanarak güçlü bir immün aktivasyona neden olmuştur.Bu çalışmanın bulguları, Aktif BD hastalarının sağaltımına yönelik yeni klinik yaklaşımlar geliştirilmesine önayak olacak niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Hücre Dışı Kesecikler (EV), Behçet Hastalığı, otoimmünite, immün aktivasyon, LL37, sitokin

POSTER BİLDİRİLERİ

PP-001

B Lenfositleri FoxP3 Transkripsiyon Faktöründen Bağımsız Olarak CD4+ T Hücre Yanıtına Negatif Etkide Bulunmaktadır

Deniz Duralı

İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Salgıladıkları sitokinlere göre işlevsel farklı alt-gruplara (Be1, Be2 gibi) ayrılabilen B hücrelerinin immün yanıtı baskılayıcı sitokinler sentezleyip Treg-benzeri işlevler gösterebildiği tespit edilmiştir. Treg hücre farklılaşmasında ve işlevlerinde belirleyici bir faktör olan FoxP3'ün, Breg hücrelerinde rolü tam anlaşılamamıştır. Çalışmada, B hücrelerinde FoxP3'ün ekspresyonunun ve etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen ön sonuçlar sunulmaktadır.

Çalışmamızda, *in vitro* koşullarda uyarılmış insan B hücrelerinin T-hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir. PBMC'lerden cell sorting ile saflaştırılan CD19+ B hücrelerinde bazal seviyede, CD4+ T hücrelerine benzer şekilde, özellikle CD25- B hücrelerinde, FoxP3 mRNA ekspresyonu bulunmuştur. FACS analizlerinde uyarılmamış B ve T hücrelerinde kullanılan anti-FoxP3 antikör klonlarına göre farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazal seviyede hFOXY klonunda CD19+ B hücrelerinin %4'ü, CD4+ T hücrelerinin %1'i, PCH101 klonunda ise CD19+ B hücrelerinin %1'i, CD4+ T hücrelerinin %8'i FoxP3 pozitif bulunmuştur. B hücrelerinin anti-IgG+IgM uyarımı sonucunda hFOXY klonu ile gerçekleştirilen analizlerde hafif bir FoxP3 ekspresyon artışı gözlenmiştir. Ancak, FACS sonuçlarında gözlenen çelişkiler yanlış pozitiflik olabileceği şüphesini oluşturmuştur. Benzer sonuçlar fare B hücrelerinde de bulunmuştur. FoxP3'ün B hücre işlevlerine etkisini anlamak için FoxP3 mutasyonu taşıyan ve Treg cevabı olmayan Scurfy fareleri kullanıldı. Mutant farelerden elde edilen, uyarılmış B hücrelerinin T hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gözlendi.

Elde edilen ön sonuçlar, gerek insan, gerek fare B hücrelerinde bazal seviyede FoxP3 mRNA ekspresyonu bulunduğunu göstermiştir. Ancak mutant fare sonuçları B hücrelerinin FoxP3'ten bağımsız olarak T hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini düşündürmektedir. B hücrelerinde FoxP3 protein ekspresyonunun kesin olarak anlaşılması için antikordan bağımsız analiz yöntemleri kullanılacaktır. Ayrıca, hedefli FoxP3 mutasyonu ile FoxP3'ün B hücrelerindeki işlevleri daha detaylı incelenecektir.

Anahtar Kelimeler: B lenfosit, FoxP3, immünregülasyon

PP-003

Meme Kanserinde, Normal Fibroblastlar ve Kanslerle İlişkili Fibroblastların Monosit Farklılaşması ve Fenotipine Etkisi

Betül Gök Yavuz¹, Gürcan Günaydın¹, Kemal Kösemehmetoğlu², Figen Özgür³, Derya Karakoç⁴, Dicle Güç¹

¹Hacettepe Üniversitesi, Kanseri Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

⁴Hacettepe Üniversitesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

GİRİŞ: Meme kanserinde makrofajlar tümör dokusunun yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır. Kanserde tümörle ilişkili makrofaj (TİM) sayısı ile kötü prognoz arasında bir ilişki bulunmaktadır. TİM'ler M2 tip makrofaj benzeri hücrelerdir. Pro-inflamatuvar ve kansere karşı immün cevapta rol alan M1 tip makrofajların aksine M2 makrofajlar, immün baskılayıcı hücrelerdir. Tümör gelişiminde fibroblastlar aktive olarak kanserle ilişkili fibroblastlara (KİF) dönüşürler. KİF'lerin çeşitli tümörlerde, kanser ilerlemesinde aktif rol oynadığı bilinmektedir. KİF'ler, immün hücrelerin tümör alanına çağırılması ve fonksiyonları üzerindeki düzenleyici rolleri açısından da dikkat çekmektedir. Bu çalışmada, normal fibroblastların, kanserle ilişkili fibroblastların ve meme kanser hücre hattı MDA-MB-231'in monosit farklılaşması ve polarizasyonu üzerindeki etkileri araştırılmaktadır.

YÖNTEMLER: Çalışmada redüksiyon mamoplasti ameliyatı ile elde edilmiş normal meme dokusundan eksplant kültür yöntemiyle normal fibroblastlar izole edilmiş ve primer kültürleri yapılmıştır. Meme kanseri tanısı alan hastalardan mastektomi ameliyatı ile elde edilmiş kanserli meme dokusundan yine eksplant kültür yöntemiyle fibroblastlar izole edilmiş ve primer kültürleri yapılmıştır. Daha sonra bu fibroblastlar immünsitokimya yöntemi ile karakterize edilmiştir. Sağlıklı gönüllü bireylerden alınan kan örneklerinden monositler ayrıştırılmış ve bu monositlerin bir bölümü önce M-CSF varlığında makrofaja farklılaştırılmış, ardından sırayla IFN γ /LPS ve IL4 kullanılarak M1 ve M2 makrofaja polarize edilmiştir. Geri kalan monositler, normal fibroblastlardan, kanserle ilişkili fibroblastlardan ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattından elde edilmiş koşullu mediumlar ile 7 gün kültür edilmiştir. Ardından monositlerin polarizasyonları akım sitometri yöntemiyle belirlenmiştir.

SONUÇLAR: İmmünsitokimya sonucuna göre KİF'ler, normal fibroblastların aksine, aktivasyon belirteci olan alfa-düz kas aktini (α -SMA) açısından pozitif boyanmıştır. Meme kanseri stromasında elde edilen KİF'lerin; monositlerde, normal fibroblastlara göre M2 belirteçlerini (CD163, CD206) daha fazla indüklediği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: meme kanseri, kanserle ilişkili fibroblast, monosit, makrofaj

PP-005

Akut Promyelositik Lösemi (AML-M3)'de NPM1 ve FLT3 Gen Mutasyonlarının Sıklığı

Zübeyde Nur Özkurt¹, Sanem Gökçen¹, Sezgin Pepeler¹, Ayşe Kaya², Zeynep Arzu Yeğin¹, Handan Kayhan¹, Münci Yağcı¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Erişkin Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara

GİRİŞ-AMAÇ: Normal karyotipe sahip Akut Myeloblastik Lösemi (AML) hastalarında Nukleofosmin1 (NPM1) mutasyonunun iyi, FLT3 (Fms-like tyrosine kinase3) mutasyonlarının ise kötü prognoza işaret ettiği gösterilmiştir. AML alt gruplarında, özellikle de dengeli translokasyonlara sahip iyi sitogenetik risk grubunda yer alan hastalarda bu mutasyonların prognoza katkısı henüz bilinmemektedir. Akut promyelositik lösemi (AML-M3) AML'nin bir alt grubu olup diğer alt gruplardan belirgin olarak daha iyi prognozudur. t(15;17) translokasyonu, PML-RARA füzyon proteini AML-M3'e özgü bulgulardır. Bu çalışmada AML-M3 tanısı almış bireylerde NPM1 ve FLT3 gen mutasyonlarının sıklığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM-GEREÇLER: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'na başvuran AML-M3 tanısı yeni konulmuş 12'si kadın (ort. yaş: 44), 14'ü erkek (ort.yaş: 45) olmak üzere 26 hastadan alınan kemik iliği/periferik kan örneklerinden DNA ve total mRNA izolasyonu yapılmıştır. Örnekler, NPM1 genindeki mutasyonların varlığı açısından Real-Time PCR yöntemiyle araştırılmıştır. FLT3-ITD ve FLT3-D835 mutasyonlarının varlığı PCR amplifikasyonu, restriksiyon enzim kesimi ve agaroz jel elektroforeziyle analiz edilmiştir.

BULGULAR-SONUÇLAR: 24 hastadan 2'sinde (%8,3) NPM1 mutasyonu, 16 hastadan 1'inde (%6,25) FLT3-D835 nokta mutasyonu varlığı tespit edilmiştir. FLT3-ITD mutasyonu hiçbir hastada tespit edilmemiştir. Literatürde AML-M3 hastalarını içeren az sayıda çalışmada FLT3-ITD sıklığı %12-38, FLT3-D835 sıklığı %2-20 ve NPM1 sıklığı %32-45 bildirilmiştir. NPM1 ve FLT3 mutasyonlarının hasta serimizdeki düşük frekansı ve az hasta sayısı nedeniyle prognoza dayalı analizler yapılamamıştır, yine de mutasyonların sıklığı uluslararası literatüre göre belirgin olarak düşük saptanmıştır. Türk popülasyonuna ait yayımlanmış bir çalışma bulunmamaktadır. NPM1 ve FLT3 mutasyonlarının tespitinin, AML-M3 olan bireylerde prognozu belirleyebilmek açısından önemli olabileceği düşünülmektedir. Ülkemize ait verileri netleştirmek için daha geniş hasta serisi içeren çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: AML-M3, NPM1, FLT3

PP-006

Helicobacter Felis (*H.felis*) Aktive IL-10+ Regülatör B (Breg) ve IL-10- B Hücrelerinin Makrofaj Polarizasyonu Üzerine Etkisi

Aslı Korkmaz, Güeliz Tuba Barut, Ayça Sayı Yazgan

İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

AMAÇ: Çalışmamız, *H.felis* aktive B (*Hakt-B*) (IL-10+ Breg ile IL-10- B) hücrelerinin, kemik iliği kökenli (Kİ-) makrofajları üzerine potansiyel etkisini araştırmaktadır. Bu etki, M1 tipine özgün (IL-12, TNF- α ve IL-1 β) ve M2 tipine özgün (IL-10) sitokinlerin ve M1 tipine özgün NO üretimi aralarındaki farklılıklar baz alınarak açıklanacaktır.

GEREÇ-YÖNTEM: C57BL/6 tipi farelerin uzuv kemiklerinden elde edilen kemik iliği hücreleri, L929 hücrelerine üretilen M-CSF varlığında Kİ-makrofajlarına farklılaştırılmış ve anti-F4/80-APC ve anti-CD11b-FITC antikorlarıyla boyanarak akan hücre ölçer analizleri ile teyit edilmiştir. Aynı zamanda, bu farelerin dalaklarından manyetik ayırım yöntemi ile B hücrelerinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Total B hücreleri, *H. felis* sonikası ile uyarılıp, hücrelerin IL-10 üreten hücrelere farklılaşması sağlanmış; sonrasında, manyetik olarak IL-10+ B ve IL-10- B hücre alt gruplarına ayrıştırılmıştır. İzole edilen B hücrelerinin saflığı anti-CD19-FITC aracılığıyla teyit edilmiştir. Elde edilen Kİ-makrofajlar, *Hakt* IL-10+ B hücreleri ve *Hakt* IL-10- B hücreleri ile 24 saat ko- kültürde tutulmuş; sonrasında B hücreleri ortamdan uzaklaştırılmıştır. Elde edilen Kİ-makrofajları, bakteriyel lipopolisakkarit (LPS) ile 12 saat süresince muamele edilmiştir veya edilmeden bırakılmıştır. Muamele sonrasında, M1 tipine özgün (IL-12, TNF- α ve IL-1 β) ve M2 tipine özgün (IL-10) sitokinlerinin salgılanmaları spesifik ELIZA testleriyle, üretilen NO ise Griess bileşimi yöntemiyle araştırılmıştır.

SONUÇ: *Hakt-B* hücreleri ile ko-kültürde tutulan Kİ-makrofajlarıyla yapılan incelemeler göstermektedir ki; *Hakt* IL-10+ B hücreleri IL-12 ve IL-1 β sitokin ifadesi ile iNOS enzim aktivitesini baskılamakta, TNF- α düzeylerini etkilememektedir. Bu sonuçlar *Hakt* B hücrelerinin pro-enflamatuvar cevabı baskılayıcı özelliğini ilk defa göstermektedir. Aynı zamanda Kİ-makrofajların belirtilen özellikler ile IL-10 ve TNF- α salgılamalarından ötürü M2b-benzeri fenotipe polarize olabilecekleri düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Helicobakter felis, kemik iliği kökenli makrofaj polarizasyonu, IL-10+ Breg

PP-011

Akciğer Transplantasyonu Olgularında Erken İmmün İyileşme Döneminde T Hücre Kinetiğinin TCR Excision Circle (TREC) Düzeyi ile İzlenmesi

Fatma Tuba Akdeniz¹, Zeynep Akbulut¹, Mustafa Vayvada², Gökhan Terzioğlu³, Ali Yeğinsu², Merih Kalamanoğlu Balcı⁴, Cemal Asım Kutlu⁵, Gülderen Yanıkkaya Demirel¹

¹Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Kartal Koşuyolu Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Cerrahisi Birimi, İstanbul

³Yeditepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴Yeni Yüzyıl Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

⁵Yeni Yüzyıl Üniversitesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul

T Cell Receptor Excision Circle (TREC) timusta T lenfosit gelişim aşamasında, T Hücre Reseptör gen düzenlenmesi sırasında oluşan dairesel DNA'dır. Timustan naif T hücre çıkışını gösterir. Timus ergenlikten sonra küçülüp yerini yağ dokusuna bıraksa da periferdeki T lenfosit havuzunu desteklemeye devam eder. Çalışmaya 11 hastadan elde edilen 33 örnek dahil edilmiştir. Bu çalışmada amaç; akciğer nakli almış hastalarda erken dönemde timus T hücre çıkışının transplant sonrası seyire etkisinin araştırılmasıdır. Çalışmada TREC kopya sayıları GZ - PZR (Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile analiz edilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında proinflamatuvar sitokinler boncuk bazlı kitleri ile akan hücre ölçer cihazında çalışılmıştır.

Çalışmamızda transplant öncesine göre 24. saat ve 7. gün nötrofil yüzdelerinde görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır (p:0.003; p<0.05). Hasta grubundaki olguların MPO ortalamaları ile sICAM-1 ortalamaları kontrol grubundaki olguların ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p:0.003; p<0.05). Transplant sonrası 24. saat sTNF-R (p:0.008; p<0.05), MCP-1 (p:0.038; p<0.05) ve 24. saate göre 7. gün IL-6 (p:0.011; p<0.05).sonucu istatistiksel anlamlı bulunmuştur.

Transplant öncesine göre 24. saat lenfosit yüzdelerinde görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır (p:0.003; p<0.05). 24. saat ve 7. gün 1×10^6 TREC sayısı ve TREC/ml sayısı istatistiksel anlamı olmasa da, transplant öncesine göre yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlar periferde lenfosit azalmasına bağlı timustan naif T hücre çıkışının arttığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: akciğer transplantı, erken iyileşme dönemi, T Cell Receptor Excision Circle (TREC), timus.

PP-012

Akciğer Transplantasyonu Olgularında Erken İmmün İyileşme Döneminde B Hücre Kinetiğinin, KREC (Kappa Deleting Recombination Excision Circle) Düzeyi ile İzlenmesi

Zeynep Akbulut¹, Fatma Tuba Akdeniz¹, Mustafa Vayvada², Gökhan Terzioğlu³, Ali Yeğinsu², Merih Kalamanoğlu Balcı⁴, Cemal Asım Kutlu⁵, Gülderen Yanıkkaya Demirel¹

¹Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Kartal Koşuyolu Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Cerrahisi Birimi, İstanbul

³Yeditepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

⁵Yeni Yüzyıl Hastanesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul

Akciğer transplantasyonunda immün sistem cevabının takibi, uygulanan tedavilere yön vermesi, sağ kalım süresi üzerinde etkisi ve buna bağlı olarak transplant başarısında önemlidir. Biz çalışmamızda post-transplant hümmoral immün sistem gelişimini, B hücrelerin oluşumu sırasında hücrede var olan Kappa deleting Recombination Excision Circle (KREC) gen segmentinin gerçek zamanlı PZR yöntemiyle değerlendirerek, KREC kopya sayısını transplant öncesi ve sonrası zamanlarda ve diğer hasta bulguları ile incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda, sağlıklı çocuklardan elde edilen DNA örnekleri ile validasyon yapıldı. KREC kopya sayısı ile birlikte immün sistem mekanizmalarında yeri olan ve transplant olgularında etkisinin olduğu bilinen sitokinlerin akan hücre ölçer yöntemle değerlendirildiği bu çalışmada, sitokinlerin hasta ve kontrol grubu arasında ve KREC değerleri ile karşılaştırılması yapılmıştır.

KREC kopya sayısı transplant sonrasında, öncesine göre anlamlı bir fark göstermemekle beraber ($p=0,594$; $p=0,657$), median değerlerinde en fazla 7.günde artış görülmektedir (72642- 126849; 85-170). Hasta grubunda KREC ile CD40L arasında 24.saatte pozitif korelasyon ($p=0,030$) saptanmıştır. Kısıtlı sayıda hasta örneği ile gerçekleştirilen bu çalışma akciğer transplantasyonu hastalarında B lenfosit sayısında artış olduğunu göstermektedir. B hücre kinetiğinin post-transplant dönemde uzun süreli izlenmesi ile prognostik bir algoritma saptanabilmesi mümkündür

Anahtar Kelimeler: akciğer transplantasyonu, B lenfositler, kappa deleting recombination excision circle, sitokin

PP-013

Hücresel İmmüitenin Baskılanmasında Rol Alan Putatif Malarya OTU Deübikütinazlarının Modellenmesi ve İnhibitör Taranması

Pınar Siyah, Fatih Kocabaş

Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

GİRİŞ: İnsanlarda sıtma hastalığı (malarya), plazmodyum adı verilen parazitlerin dişi anofel cinsi sivrisinek ısırığı ile insana taşınması sonucu oluşmaktadır. Sıtma parazitinin yaşam döngüsü sivrisinekteki evre, karaciğerdeki evre ve kandaki evre olarak tanımlanır. Sıtma parazitlerinin kana karışması ve eritrositleri enfekte etmesi; hastada yüksek ateşli sıtma nöbetlerine, karaciğerin zarar görmesine, hemolitik anemiye, selebral sıtmaya, koma ve ölümlere yol açmaktadır. Plazmodyum intraselüler bir parazit olduğu için zorunlu intraselüler parazit olan viruslerle benzerlik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda Kırım Kongo Kanamalı ateşi virüsü, antiviral mekanizmalarının, OTU deübikütinaz üzerinden gerçekleştirildiği belirlenmiştir. Deübikütinazlar; inflamasyon, bağışıklık, invazyon, immün sinyal mekanizması, proteoliz ve kanser gibi birçok mekanizmada düzenleyici ve homeoztazı sağlayıcı olarak görev alırlar. Yaptığımız çalışmada malaryanın hücre içi invazyonunda etkili viral OTU benzeri proteinlerin bulunduğunu belirledik. Malarya OTU proteinlerinin üç boyutlu modellerini oluşturduk. Ayrıca, malarya OTU deübikütinazdaki inhibisyon bölgesini belirledik ve bu bölgeye hedeflenmiş küçük molekül taramaları gerçekleştirdik.

YÖNTEM: Homoloji modellemesi gerçekleştirildi. Prime yazılımı kullanıldı. Protein yapısı tahmini yöntemi uygulandı. Modellenmek istenen proteinler ve örnek protein blast yöntemiyle sıralandı. Prime STA ile kontrol edildi. Oluşturulan protein modellerinin uygunluğu kontrol edildi. Ligandlardaki grid kutucukları tespit edildi. Korunmuş sekanslar bulundu. "MMV Pathogen Box"taki küçük moleküller ve modellediğimiz proteinler arası ilişki, kenetleme çalışmalarıyla ortaya çıkarıldı.

SONUÇ VE ÖNEMİ: Malarya parazitlerinin (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium yoelii*) hücresel invazyon mekanizmasında görevli OTU benzeri deübikütinazlar ilk defa modellendi. Malarya OTU aktivitesini önemli ölçüde düşürebilecek, yüksek bağlanma kapasiteli küçük moleküller "MMV pathogenbox"ta yapılan tarama ile belirlenmiştir.

DESTEKLER: Medicines for Malaria Venture (MMV), The Pathogen Box.

Anahtar Kelimeler: docking, in siliko modelleme, inhibitör, OTU benzeri deübikütinazlar

PP-015

Hematopoetik Kök Hücreleri Etkin Bir Şekilde oğaltan Küçük Molekül Kokteylinin Araştırılması

Dolay Damla elik, Fikrettin Őahin, Fatih Kocabaş

Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

Hematopoetik kök hücre (HKH) nakli bir çok hematopoetik hastalık için öncül tedavi yöntemi olmakla beraber, HKH'lerin sınırlı sayıda bulunması HKH'lerde gen terapi çalışmalarında problem teşkil etmektedir. Ayrıca, *ex vivo* prosedürlerdeki HKH senesensi ve farklılaşması gen düzenleme çalışmalarının etkinliğini azaltmaktadır. Yakın zamandaki çalışmalarımızda, HKH hücrelerinden HKH durağanlaştırma regülatörlerinden Meis1 ve Hif-1α'nın genetik inaktivasyonunun yalnızca hücre döngüsü girişine değil, aynı zamanda HKH proliferasyonuna yol açtığını da gösterdik. Benzer bir Şekilde, küçük molekül inhibitörlerinin kullanılarak HKH durağanlığını hedefleyen ve HKH'lerin etkin bir Şekilde *ex vivo* oğaltılması sağlayacak küçük molekül kokteyli hazırladık. Bu amaçla, bir kısmı önceden HKH oğaltmakta etkili olduğu gösterilmiş olan 36 küçük molekül (KM) tespit ettik. Çalışmada, KM'ler farklı yolakları inhibe etme özelliğinde olduğundan bir kokteyl halinde daha verimli olabilir, inhibitör tek kullanıldığında hücrenin bunu kompanse edebildiği fakat çoklu kullanımda etkinin gözlemlenebileceği düşüncesi temel alındı. Bu amaçla fare kemik iliğinden HKH'lerle zenginleştirilmiş Lin- hücreleri izole edilerek bu hücrelere hazırlanan 36 KM kokteyli uygulandı. Diğer her bir kokteyl, 36 KM'den biri çıkarılarak Şekilde hazırlandı. Akış sitometride LSKCD34low HKH sayısına bakılarak HKH proliferasyonu gösterildi. 36 KM kokteylinde yüksek miktarda HKH ekspansiyonu için gerekli olan 12 KM belirlendi. Devam eden deneylerle 12 KM, 7KM'ye ve daha sonra 4 KM'den oluşan bir kokteyle indirildi. 4 KM'den oluşan kokteylin nekrozu engelleyen, hücre döngüsünü tetikleyen, metabolizmanın da etkilendiği çeşitli mekanizmaları uyarak HKH proliferasyonunu arttırmada etkili olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: hematopoetik kök hücre (HKH), küçük moleküller, HKH transplantasyonu

PP-016

Vitiligo Hastalığının Tedavisinde Gen Düzenleme Teknolojilerinin Geliştirilmesi

Batuhan Mert Kalkan, Etkin Parlar, Fatih Kocabaş

Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

Vitiligo hastalığının popülasyonda görülme oranı yaklaşık %1.5 iken, aile geçmişinde vitiligo hastalığı görülen bireylerde oranın %25 olması hastalığın genetik kökenli ve kalıtsal olabileceği yönünde ipucu vermektedir. Vitiligonun ortaya çıkış sebebi temel olarak derideki melanosit hücrelerinin hasara uğraması ve sayıca azalması sonucu yeterli pigmentin üretilmemesidir. Çeşitli mutasyonlar, otoimmün bozukluğu, melanositlerin kendi kendilerini yok etmesi gibi birbirinden farklı tezler ortaya konulmuştur. Vitiligo tedavisinde uygulanan klinik yöntemler melanosit hücrelerinin çalışmasını ve pigment sentezini normale döndürme amacı odaklıdır. Çeşitli ilaç, topikal krem ve cerrahi uygulamalarının yanı sıra deride pigment kaybı olan bölgelere Ultraviyole B ışıkla yapılan fototerapi uygulaması kısa vadede istenilen iyileşmeyi sağlayamamakla beraber hastadan hastaya farklı sonuçlar vermektedir. Bu sebeplerden ötürü, vitiligo hastalığı tedavisinde kişiye özel ve moleküler düzeyde yaklaşımların geliştirilmesi gerekmektedir. Yapılan genom dizileme çalışmalarında vitiligo hastalarında immün sistem ve melanosit hücrelerine özgü proteinlerin sentezinde görevli gen dizilerinin değişiklik gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu genlerden biri de melanosit hücrelerinde ekspres olan tyrosinase TYR'dir. Yapılan çalışmalarda vitiligo hastalarında TYR geninde nokta mutasyona rastlanmıştır, bu mutasyonun yol açtığı tyrosinase yapısındaki değişikliğin T hücrelerinin melanositleri yok etmesine sebep olan bir sinyal olarak algılandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada gen düzenleme tekniği CRISPR/Cas9 sistemi kullanılarak TYR geninde mutasyon barındıran lokusun hedeflenmesi ve doğru sekansı taşıyan tamir DNA dizisi ile mutasyonun düzeltilmesi amaçlanmıştır. Gen düzenleme dizaynının çalışma verimi, ilk olarak HEK273 hücre hattında denenip sonrasında primer kültür fare ve insan melanosit hücrelerinde uygulamaya konulacaktır. TYR genindeki mutasyonun düzeltilmesinin yanı sıra, küçük molekül destekli olarak gen düzenleme veriminin artırılması ve gen düzenlemesi başarılı olan melanosit hücrelerinin proliferasyonunun artırılması yönünde tarama çalışması yapılacaktır.

Anahtar Kelimeler: vitiligo, otoimmün bozukluğu, CRISPR/Cas9, küçük moleküller

PP-018

Primer İmmün Yetersizlik Hastalarında NKp30, Nkp46, NKG2D, Perforin ve Granzim mRNA Ekspresyonu

Suzan Çınar¹, Metin Yusuf Gelmez¹, Nilgün Akdeniz¹, Gülce Özçit¹, Ayça Kıyıkım², Elif Aydın Karakoç², Günnur Deniz¹

¹İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Allerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul

AMAÇ: Doğal Öldürücü (NK) hücreler aktivatör reseptörlerin uyarımı, CD8⁺ T hücreler ise antijen uyarımı sonucu perforin ve granzim salgılayarak patojen ve tümörlere karşı litik aktivite gösteren hücrelerdir. Primer immün yetmezliklerde (PİY) bağışıklık mekanizmasının etkilenmesi sonucu olarak enfeksiyona yatkınlığın artmasının yanı sıra, allerji, otoimmün hastalıklar ve kansere de duyarlılık görülür. Bu çalışmada NK reseptör, perforin ve granzim ekspresyonlarının yaygın değişken immün yetmezlik (CVID), Hiper IgM Sendromu (HlgM), Ataxia Talenjeksi (AT) ve Agammaglobulinemili (AG) hastalarda incelenmesi hedeflenmiştir.

YÖNTEM: Hasta (CVID n=7, HlgM n=2, AT n= 4, AG n= 4) ve sağlıklı kontrollerden (SK n=3) alınan periferik kan örneklerinden RNAeasy Mini Kit (Qiagen, ABD) kullanılarak total RNA izolasyonu sonrası ters transkriptaz enzimi (Fermantes) ile cDNA sentez edilmiştir. *NKp30*, *NKp46*, *NKG2D*, *perforin*, *granzim* ve referans gene (*GAPDH*) ait primer ve probalar kullanılarak Light Cycler 480 cihazı (Roche) ile QRT-PCR yapılmıştır. Elde edilen veriler 2-ΔΔCT metodu ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR: Erişkin ve çocuk olgular kendi aralarında karşılaştırıldığında *NKp30*, *perforin* ve *granzim* ekspresyonlarının erişkin olgularda azaldığı gözlenmiştir (sırasıyla p=0.041, p=0.01 ve p=0.012). Olgu grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında CVID hastalarında *NKp46*, *perforin* ve *granzim* ekspresyonlarının Ataxia hastalarına göre düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla p=0.003, p=0.003 ve p=0.003).

SONUÇ: Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda NK aktivatör reseptörleri, *perforin* ve *granzim* ekspresyonlarının CVID hastalarında ve yaş ile birlikte erişkin olgularda azalmasının bu hastalarda malignite gelişme riski ile uyumlu olduğu düşünülmektedir. Bu hastaların uzun dönem takipleri yapılarak PİY'li hastaların patogenezinde ve kanser gelişiminde NK ve CD8⁺ T hücrelerinin rollerinin aydınlatılması mümkün olabilecektir.

İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje numarası: 51374) desteklemiştir.

Anahtar Kelimeler: primer immün yetersizlik, PİY, NK, doğal öldürü hücreler

PP-020

Hematopoetik Kök Hücrelerinin Ekspansiyonunda Etkin HematoMiR Teknolojilerinin Geliştirilmesi

Merve Uslu¹, Safa Aydın¹, Jun Ke Zheng², Fatih Kocabaş¹

¹Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

²Tıp Fakültesi, Shanghai Jiao-Tong Üniversitesi, Shanghai

AMAÇ: Kemik iliği transplantasyonu, az miktarda bulunan hematopoetik kök hücrelerin (HKH) yeniden hastaya verilmesiyle kan üretici sağlıklı hücrelerin yerleşmesini ve çoğalmasını destekleyerek, çoğu hematopoetik hastalık için kullanılan başlıca tedavi yöntemidir. Ayrıca, gen düzenleme çalışmalarında gen terapi sonrası yeterli miktarda HKH çoğaltılamaması başarısızlığa neden olmaktadır. Bu nedenle, alternatif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, HKH dormansi regülatörlerin hematopoetik miRNA-siRNA(HematoMiR) teknolojisi ile engellenmesi ve gen terapi sonrası *ex vivo* HKH ekspansiyonunun araştırılması amaçlanmaktadır.

GEREÇ-YÖNTEM: HKH'lerde *in vivo* spesifik olarak nakavt edilmiş yaklaşık 200 gen analiz edilerek, HKH havuzunu ve hücre döngüsü aktivitesini en az 1.5 kat artıran 57 gen belirlendi. Biyoinformatik analizler kullanılarak, bu genlerin 3' UTR hedefleyen 8 kök sekansı 'HematoMiR' olarak belirlendi. Mürin HKH'ler, kemik iliğinden manyetik soy depleksiyon metodu ile izole edilerek, 10µM HematoMiR'ler ile elektropore edildi. 5 gün sonrasında, hücre sayımı ve HKH markör boyaması yapılarak akım sitometrisi ile analiz edildi. Hedef gen ekspresyon analizleri ise gerçek zamanlı-PZR ile yapıldı.

BULGULAR: HematoMiR #2 ve #5, mürin HKH(LSKCD34düşük) hücre popülasyonunu yaklaşık 3 kata kadar artırmıştır. Aynı zamanda, bu iki HematoMiR, HKH dormansi regülatörlerinden olan tahmini hedef gen ekspresyonunu ciddi miktarda azaltarak regüle etmektedir. Beş gün süresinde olan HKH ekspansiyonunda ise, bu HematoMiR'ler hücre döngüsü inhibitörü CDKI'lerin ekspresyonunda azaltmaktadır. Ayrıca, HematoMiR'ler birlikte kullanılarak HKH *ex vivo* ekspansiyonuna etkisi de çalışılmaktadır.

SONUÇ: HematoMiR #2 ve #5 ile muamele belirlenen hedef genleri susturarak ve tekrar hücre döngüsüne girişini sağlayarak, *ex vivo* HKH ekspansiyonu artırmaktadır. Sonuç olarak, bu HematoMiR'ler gen terapi sonrası *ex vivo* HKH çoğaltılmasının yanında transplantasyon verimliliğinin artırılmasında bir alternatif sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *ex vivo* ekspansiyon, hematoMiR, HKH, miRNA-siRNA, transplatasyon

PP-021

Kök Hücrelerde Ca²⁺ Algılama Sistemlerinin Manipülasyonu Hücre Proliferasyonunu Etkilemektedir

Merve Uslu¹, Dolay Damla Çelik¹, Esra Albayrak¹, Pınar Siyah¹, Emre Can Tüysüz², Neslihan Meriç³, Zafer Gülbaş³, Fikrettin Şahin¹, Fatih Kocabaş¹

¹Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

²Tıbbi Genetik Bölümü, Tıp Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

³Kemik İliği Nakli Birimi, Özel Anadolu Hastanesi, Kocaeli

AMAÇ: Dormansi halinde bulunan hematopoetik kök hücreler (HKH) kemik iliğinde yüksek kalsiyum içeren niş içerisinde bulunmaktadır. Bu hücrelerdeki kalsiyum algılama sistemleri, HKH'lerin ortamdaki sürerliliğini sağlamaktadır. Fakat, dormansi üzerine etkileri detaylı bilinmemektedir. Kalsiyum algılama rolü olan SOCE, intraselüler Ca²⁺ azalmasına karşın, kalsiyumun depo kontrollü kanallar aracılığı ile hücre zarından geçişini sağlamaktadır ve 'depo kontrollü Ca²⁺ girişi' olarak bilinmektedir. SOCE'nin metastaz, apoptoz, antitümör immünite ve kanser gibi birçok mekanizmada etkili olduğu da gösterilmiştir. Bu çalışmada, SOCE, STIM1 ve TRPC kanal inhibitörü SKF-96365hydrochloride, 2-Aminoethoxydiphenyl borate(2-APB) ve K+kanalı inhibitörü Tetraethylammonium chloride'in, *ex vivo* HKH ekspansiyonuna etkisi araştırılmaktadır.

GEREÇ-YÖNTEM: Mürin HKH'ler kemik iliğinden (Kİ) manyetik soy deplesyon metoduyla, mononükleer hücreler(MNH) ise insan kemik iliğinden ve kordon kanından yoğunluk aşamalı santrifüj yöntemiyle izole edildi. 30,000 hücre kültür edilerek, inhibitörlerin üç farklı dozu ile muamele edildi. 7 gün sonrasında, hücreler boyanarak akım sitometrisi ile analiz edildi. FACS ile purifiye edilen fare LSK ve insan CD34+ hücreleri ise inhibitörlerin etkin dozu kullanılarak, apoptoz ve hücre döngüsü analizleri yapıldı.

BULGULAR: SKF-96365 HCl mürin LSK ve LSKCD34 düşük hücre popülasyonunu 2 kat artırırken, 2-APB mürin LSK hücrelerini 1.5 kat artırmıştır. 2-APB, kordon kanı MNH'leri sayıca 5 kat, SKF-96365 HCl ise 4 kat artırmıştır. SKF-96365 HCl Kİ-CD34+ hücrelerini doza bağımlı artırmaktadır. SKF-96365 HCl ve 2-APB fare kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin proliferasyonunu 2 kattan fazla artırırken, insan yağ dokusu MKH'lerini artırmamaktadır.

SONUÇ: SKF-96365 HCl ve 2-APB ile STIM1, SOCE inhibisyonu; mürin HKH, insan HKH ve mürin Kİ-MKH'lerin çoğalmasını sağlamaktadır. HKH'lerde Ca²⁺ algılama sistemlerinin manipülasyonu hücre dormansisini azaltmakta ve *ex vivo* HKH proliferasyonunu tetiklemektedir.

Anahtar Kelimeler: *ex vivo* ekspansiyon, HKH, SOCE, STIM1

PP-022

Gen Düzenlemede İstenmeyen Hedef Dışı Kırımları Engelleyici Cas9 Destabilizör Moleküllerin Geliştirilmesi

Semih Arbatlı, Merve Uslu, Pınar Siyah, Fatih Kocabaş

Yeditepe Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, İstanbul

CRISPR/Cas9'un keşfi, genomun spesifik bir bölümünü düzenleme işlemine olanak sağlayan eşsiz bir teknolojik gelişmedir. CRISPR/Cas9 sistemi non-spesifik endonükleaz (Cas9) ve bu nükleazın kullanıcının belirlediği kesim bölgesine taşıyan küçük RNA (gRNA) olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Cas9, gRNA'ya komplementer genomik bölgede çift sarmal kırılmaları oluşturmada, bu kırılmalar sayesinde genom düzenleme işlemine olanak sağlamaktadır. Ancak Cas9, gRNA'ya tam olarak komplementer olmayan hedef dışı bölgeleri de kesebilmekte ve böylelikle genom düzenleme alanındaki önemli problemlerden birine yol açmaktadır. Bu çalışmada, *in silico* ve *in vitro* stratejiler kullanılarak hedef dışı Cas9 aktivitesini azaltacak destabilizör moleküllerin geliştirilmesine yönelik çalışma yapılmıştır.

Öncelikle, *Streptococcus pyrogenes* Cas9 proteininin X-ray kristalografi işlemi sonucunda elde edilmiş 3 boyutlu yapısı AutoDockTools ile incelenmiş ve DNA'ya stabil şekilde bağlanmasını sağlayan pozitif yüklü ve korunmuş aminoasitlerin yoğunlaştığı bölgeler tespit edilmiştir. Cas9'a 20 milyon küçük molekülün bağlanma enerjileri AutoDockVina programı ve PadelADV otomatikleştirme eklentisi ile hesaplanmıştır. Ayrıca PubChem veritabanında rapor edilen nükleaz inhibitörlerinin kütüphanesi oluşturulmuş ve Cas9'a bağlanma enerjileri belirlenmiştir. Yüksek afiniteli küçük moleküllerin belirlenmesi CRISPR/Cas9 sisteminin hedef dışı aktivitelerinin ortadan kaldırılabilceğini veya azaltılabileceğini göstermektedir. Bu küçük moleküllerin Cas9 destabilizör aktivitesini belirlemek için humanize Cas9 proteini üretilmiştir. Kısaca, Histaglı Cas9 geni bakteriyel pET-26b vektörüne klonlanmıştır. pET-26b/Cas9 plazmidi E.coli BL21, Origami, Rosetta ve RosettaGami suşlarına transforme edilmiş ve değişik sıcaklıklarda IPTG indüksiyonu yapılmıştır. SDS-PAGE ve Comassie blue analizi ile Cas9 proteinin indüksiyonu gözlemlenmiştir. AKTAprime cihazı ve HisTag saflaştırma kolonları kullanılarak protein saflaştırılması yapılmıştır. Cas9 destabilizör geliştirilmesi; CRISPR/Cas9'un hedef dışı aktivitesinin engellenmesini, böylece kalıtsal veya AIDS gibi sonradan kazanılmış hastalıkların tedavisinde daha güvenli terapötik stratejiler geliştirilmesini sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: AIDS, bağışıklık sistemi, CRISPR/Cas9, Cas9 destabilizer, gen düzenleme sistemleri, küçük moleküller

PP-024

Pifithrin-alpha Molekülünün Hematopoeze Etkisi

Pinar Colakoglu Erkan

Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

Hematopoitik kök hücreler (HKH'ler) çok çeşitli kan hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, sınırlı sayıda elde edilebilmeleri ve hücre döngüsündeki durağan özelliği gen terapi içeren kök hücre tedavilerinde kullanılmalarını sınırlandırmaktadır. HKH'lerin *ex vivo* çoğaltılmalarını sağlamak adına küçük moleküllerle çeşitli çalışmalar sürdürülmektedir. p53'un genetik inhibisyonunun, hematopoitik kök hücrelerin çoğalmasına yol açtığı belirlenmiştir. Pifithrin-alpha (PFT) küçük molekülü p53 sinyal yolağını engellemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, PFT'nin, p53 yolağından bağımsız bir mekanizma ile genotoksik ajanlara karşı koruduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, PFT'nin HKH'leri üzerindeki etkileri araştırıldı. Bu amaçla, fare HKH'leri, manyetik soy soyutlama yöntemi ile zenginleştirildi. Bunun yanında, insan umbilikal kordon kanı (UKK) ve kemik iliği (Kİ) mononükleer hücreler histopak yoğunluk gradient santrifüjü ile izole edildi. HKH'ler, modifiye HKH medyası ile kültür edildi ve PTF ile muamele edildi. PFT ile yedi günlük inkübasyondan sonrasında fare HKH'lerin fenotipik lin (-), sca1, c-kit (LSK), CD34 markörleri akış sitometride analiz edildi. İnsan HKH'leri için ise CD34 ve CD133 markörleri analiz edildi. PFT, fare HKH (LSK) ve insan UKK KHK hücrelerinde 3 kat artışa neden olmuştur. Benzer şekilde, insan Kİ HKH'lerinde kontrole göre 2 kat artışı neden olmuştur. FACS ile saflaştırılmış fare HKH'lerinin seçilen en uygun doz molekül ile kuluçkaya yatırılmasını takiben hücre döngüsü analizi ve apoptoz analizi yapılmıştır. Ayrıca, PFT'nin insan umbilikal ven endotel hücrelerini (HUVEC), insan dermal fibroblast (HDF) ve yağ dokusundan elde edilen mezankimal kök hücreler (MKH) üzerinde etkisi incelenmiş ve olumsuz bir etki gözlenmemiştir. Sonuç olarak, bu molekülün *ex vivo* HKH çoğaltılmasını ve HKHlerde gen terapilerinin verimliliğini artırmak için kullanılabilceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: hematopoitik kök hücreler, pifithrin-alpha, küçük moleküller

PP-025

Antipatojenik Küçük Moleküllerin Hematopoetik Kök Hücreler Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Lamia Yazgı Alyazıcı, Dolay Damla Çelik, Fatih Kocabaş

Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

Hematopoetik kök hücreler kemik iliği, kordon kanı, periferik kan gibi dokularda bulunan hücrelerdir. Lineage reseptörlerinin yokluğu (Lin-) ve CD34 gibi bazı belirteçlerle tanımlanırlar. Bu hücreler vücudun, kırmızı kan hücre, beyaz kan hücre ve trombosit kaynağıdır. Hematopoetik kök hücreler immün sistemine bağlı reseptörler içerirler. Bu reseptörlerle, duruma göre "sinyal alıcı" veya "sinyal gönderici" rollerini üstlenirler. Vücutta bir enfeksiyon sırasında hematopoetik kök hücreler ile sinyal alarak farklılaşmaya ve kendini yenileme yollarına girerler. Bunun yanında, patojenik enfeksiyonlarda çok çeşitli antipatojenik ajanlar kullanılmaktadır. Hematopoetik kök hücrelerin bunlara nasıl yanıt verdiği ve nasıl etkilendikleri bilinmemektedir. MMV Pathogen Box 400 kadar molekül içeren bir antipatojenik ilaç kütüphanesidir. Bu ilaç kütüphanesinde malarya, tüberküloz, kızıl (dengue), onkoserkiyazis (nehir körlüğü), toksoplazmoz gibi hastalıkları hedefleyen moleküller bulunmaktadır. MMV pathogenboxtaki antipatojenik ajanların hematopoetik kök hücreler üzerindeki etkisi ve nasıl cevap verdikleri çalışmamızla incelenmektedir. Bunun için kemik iliğinden izole edilen Lin- hücreler hücre kültüründe hematopoetik kök hücreler besiyeri ve antipatojenik moleküllerle 7 gün boyunca muamele edilmektedir. Sonrasında hematopoetik kök hücrelerine (murin LSKCD34low) etkisi akış sitometri analizleri ile belirlenmektedir. Ayrıca hematopoetik kök hücrelerin canlılığına etkileri apoptoz analizi ile belirlenmektedir. Yapılan ön çalışmamızda bazı moleküllerin antipatojenik olmaları yanında hematopoetik kök hücrelerin sayılarını artırdığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: antipatojenik küçük moleküller, hematopoetik kök hücreler, malarya

PP-026

Epigenetik Manipülasyonların *ex vivo* Hematopoetik Kök Hücre Çoğaltımına Etkileri

Galip Servet Aslan¹, Esra Albayrak¹, Raife Dilek Turan¹, Emre Can Tüysüz², Serli Canikyan³, Neslihan Meriç⁴, Zafer Gülbaş⁴, Fikrettin Şahin¹

¹Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

²Tıbbi Genetik Bölümü, Tıp Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

³Onkim Kök Hücre Teknolojileri, İstanbul Teknik Üniversitesi KOSGEB Teknoloji Geliştirme Merkezi, İstanbul

⁴Kemik İliği Nakli Birimi, Özel Anadolu Hastanesi, Kocaeli

Hematopoetik kök hücreler (HKH) kan ilişkili hastalıklarda hücre tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Fakat, yetersiz sayıdaki HKH'lar gen tedavileri sonrası kök hücre tedavilerini kısıtlamaktadır. Bu bağlamda, HKH ekspansiyonunda (EP) negatif etkili epigenetik mekanizmaları hedefleyen küçük moleküller belirledik. Bu küçük moleküller asetilasyon ve metilasyon seviyelerine etki eden p300/CBP VI inhibitörü (p300/CBP HAT inhibitörü), Ex 527 (Sirt1 inhibitörü) ve RG 108 (Dnm3ta inhibitörü)'dir. HKH'ler manyetik soy azaltma metodu ile toplandılar. İnsan kordan kanı HKH'ları hücreleri ve kemik iliği tek çekirdekli hücreleri histopak ve aşamalı santrifüj ile elde edildiler. Bunu takip eden, flow sitometri analizleri gerçekleştirildi. HKH'ların hücre siklus tayini ve hücre ölümleri tayinleri yapıldı. p300/CBP VI inhibasyonu fare kök hücrelerinde kontrol grubuna göre 3 kat artış sağladığını ve hücre siklus tayini ile S-G2-M fazındaki hücre sayısının önemli ölçüde arttığını gözlemledik. p300/CBP VI ve RG108 küçük molekül uygulamasının insan kordan kanı (İKK) HKH'larının oranını sırası ile 5 ve 2 kat artırdığını tespit ettik. Ayrıca, p300/CBP VI inhibasyonu insan kemik iliği (İKİ) HKH'ların doz bağımlı artırdı. Benzer şekilde, RG108 küçük molekül uygulaması, İKİ HKH'larını kontrol grubuna göre 2,5 kat artırdığını gözlemledik. Ayrıca, p300/CBP VI molekülünün *in vivo* analizleri, HKH'ların sikline bağlı kinaz inhibitör ekspresyonunu azalttığını tespit ettik. Garsinol ve Ex 527 moleküllerinin insan damar endotel ve insan dermal fibroblast hücrelerinde de önemli bir şekilde artış sağladığını tespit ettik. Buna karşın, p300/CBP VI ve RG108 molekül uygulamalarının farklı primer hücre hatlarında EP gözlemlenmedi. Bu bulgular ile, asetilasyon ve metilasyon seviyelerinin küçük molekül manipülasyonları ile gen terapi ve düzenleme çalışmaları sonrasında HKH çoğaltımı için kullanabileceğini gösterdik.

Anahtar Kelimeler: hematopoetik kök hücre, asetilasyon, metilasyon, hematopoez

PP-027

Hematopoetik Kök Hücrelerde Etkin ve Sitotoksik Olmayan PTPMT1 İnhibitörlerin Araştırılması

Galip Servet Aslan, Semih Arbatlı

Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

Bağışıklık sistemi hücrelerindeki azalma, fonksiyon bozuklukları ve kemik iliği patolojik sorunları birçok hematolojik hastalığın önemli sebepleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle, hematopoetik kök hücreleri (HKH) regüle eden faktörler ve onların bağışıklık sistemine etkisi yakından incelenmektedir. Yakın zamanlı çalışmalarda, PTPMT1'in HKH spesifik nakavtının, kök hücre popülasyonunun 40 kat atmasına neden olduğu ve diğer kan hücrelerine farklılaşmasını engellendiği belirlenmiştir. PTPMT1, nükleer DNA tarafından kodlanan, N-terminali amino asitleri 1-37 ile mitokondri iç zarına lokalize olmuş PTEN benzeri tespit edilen bir fosfatazdır. PTPMT1 nakavtının kök hücre sayısını artırıcı özelliği ile kök hücre ekspansiyonunda önemli bir hedef olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu doğrultuda, PTPMT1 inhibitörü aleksidin dihidroklorürün HKH'leri üzerindeki etkisini akış sitometrisi ve CFU deneyleri ile analiz edildi. Fakat, PTPMT1 inhibitörü olarak belirtilen moleküllerin yüksek oranlarda apoptoza neden olduğu ve beklendiği ölçüde ekspansiyonu sağlamadığı görülmektedir. Bu bulgular, daha özgül ve sitotoksik olmayan PTPMT1 inhibitörlerinin geliştirilmesi gerektiğini göstermektedir. PTPMT1 spesifik inhibitörlerin geliştirilmesi için için AutoDock Vina programı ve PaDel ADV otomatikleştirme eklentisi ile 10 milyon ilaç olabilecek molekülün PTPMT1'e bağlanma enerjileri hesaplanmıştır. Ayrıca, PubChem veri tabanında daha önce rapor edilen PTP ailesine özgül diğer inhibitör moleküllerin toplanmış ve PTP küçük molekül kütüphanesi oluşturulmuştur. PTP gen ailesindeki proteinlerinin aminoasit dizilimlerinin karşılaştırılması yapılmış ve korunan bölgelerini tespit ederek olası etkin inhibasyon bölgeleri belirlenmiştir. Afinitesi -7 kcal/mol den daha düşük olan yüzlerce hit molekül belirlenmiştir. Bu hitlerin konformasyon analizleri, sitotoksosite ve kardiyotoksosite tahminleri yapılmaktadır. Etkin PTPMT1 inhibitörlerinin belirlenmesi gen terapi sonrası HKH'ların çoğaltılmalarına ve bağışıklık yetmezliği tedavilerinde alternatif bir terapötik strateji geliştirilmesine yeni yaklaşımlar kazandıracaktır.

Anahtar Kelimeler: hematopoetik kök hücre, bağışıklık yetmezliği, PTPMT1, in siliko ilaç

PP-028

PD1+ Regülatör B Hücreleri ve CD4+ T Hücreleri Arasındaki Etkileşimler

Sawsan Sudqi Said, Güliz Tuba Barut, Ayça Sayı Yazgan

İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul

AMAÇ: IL10+ B hücreleri, *Helicobacter* stimülasyonunda TLR2-MyD88 yolu üzerinden aktive olur. Aktive IL-10+ B hücreleri, naif CD4+ T hücrelerinin T regülatör-1 (Tr-1) hücrelerine farklılaşmasına yol açar. Bu çalışmanın birincil amacı, *Helicobacter felis* (*H.felis*) aktive (Hakt) regülatör B hücrelerinin ekspresyon profiline odaklanarak, Hakt-IL-10+ Breg hücrelerinin, IL-10 üretimi ile ilgili genlerini ve transkripsiyon faktörlerini tanımlamaktır. Çalışmamız aynı zamanda, Hakt-IL-10+ Breg hücreleri ve CD4+ T hücreleri arasındaki fonksiyonel etkileşiminde PD-1/PD-L1'in rolünün değerlendirmesini amaçlamıştır

METOD: C57BL/6 farelerin dalaklarından elde edilen B hücreleri, *H.felis* sonikasyonu ile 16 saat boyunca muamele edilmiştir. Ardından, manyetik izolasyon yöntemiyle *H.felis* aktive IL-10+/IL-10- B hücrelerinin ayırımı yapılmıştır. Hakt regülatör B hücrelerinin gen ekspresyonu profili, mikroarray analiziyle çıkartılmıştır. Daha sonra, Hakt-IL-10+B hücrelerinde ifade farklılığı gösteren dört genin ekspresyon seviyeleri qPCR ile doğrulanmıştır. Buna ek olarak, Hakt-IL-10+B/IL-10-B hücrelerindeki PD-1 ve PD-L1 RNA ve protein seviyeleri, qPCR ve akan hücre ölçer ile ölçülmüştür. Ayrıca, B ve T hücrelerindeki PD-1/PD-L1 yolları, ko-kültüre alınmadan 2 saat önce, anti-PD-1 veya anti-PD-L1 antikolarıyla bloke edilmiştir. Bu ko-kültürlerdeki T hücrelerinin IL-10 ekspresyon seviyeleri incelenmiştir.

SONUÇLAR: Mikroarray verileri, IL-10-B hücreleri ile karşılaştırıldığında, IL-10+B hücrelerinde 1615 genin ifadesinin arttığını ve 794 genin ifadesinin azaldığını göstermiştir. Bu hücrelerde ifade farklılığı gösteren dört genin, CD9, PD-1, Trib1 ve NRP2, doğrulanması qPCR ile gerçekleştirilmiştir. Son yayınlarda, CD9 ve PD-1'in IL-10+B hücrelerinde oldukça yüksek ifade edildiği gösterilmiştir. Aynı şekilde, bu çalışmada, IL-10-B hücreleriyle kıyaslandığında IL-10+B hücrelerinin PD-1 ve PD-L1'i daha yüksek seviyelerde ifade ettiği tespit edilmiştir. PD-1/PD-L1 sinyal yolunun bloke edildiği deneylerin sonuçları, B hücrelerindeki PD-1'in bloke edilmesinin, Tr-1 farklılaşmasında bir azalmaya yol açtığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: helikobakter felis aktive B hücreleri, mikroarray analizi, PD-1, PD-L1, Tr1

PP-029

NLRC4 Hücre İçi Reseptörünün Özonofil Hücrelerinde Moleküler Genetik Karakterizasyonu

Ilgın Akkaya, İrem Özel, Lujain Maasfeh, Ceren Çıracı

İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

Kalıtımsal ve edinsel bağışıklık arasındaki ilişki, bağışıklık sistemi üzerine araştırmalar gerçekleştiren bilim insanları için önemli bir konum teşkil etmektedir. Kalıtımsal bağışıklığın komponentlerinden biri olan hücre içi NOD benzeri reseptörlerinin (NLR), belli moleküler paternleri tanıma yoluyla aktifleşerek inflamazom adı verilen protein komplekslerini oluşturduğu bilinmektedir. Bu aktifleşmenin sonucunda, inflamazom kompleksinin en alt bileşeni olan kaspaz-1 proteazının aktivasyonu, hücrede inaktif formlarda biriken interlökin-1 β (IL-1 β), IL-18 sitokinlerinin aktif formlarına kesilmesi ve salgılanmasına neden olmaktadır. İnflamazom kompleksi kalıtımsal bağışıklığın bir parçası sayılsa da, bu sitokinlerin bağışıklık sisteminin en önemli parçalarından biri olan Th1, Th2 ve Th17 hücre tiplerinin polarizasyonu için önem taşıdığı bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı, 22 üyeden oluşan NLR ailesinin bir üyesi olan ve CARD, NACHT ve LRR yapısal bölgelerden oluşan NLRC4 proteininin edinsel bağışıklık öğeleriyle nasıl bir ilişki içerisinde olduğunun araştırılmasına yöneliktir. Bu çalışmada, Th2 hücreleriyle etkileşimleri ve allerjik reaksiyonlardaki rolleri nedeniyle bir özonofil hücre hattı olan EoL-1 hücreleri kullanılmıştır. Bu bağlamda, EoL-1 hücreleri Th2 hücreleri tarafından salgılanan rekombinant IL-5 (rIL-5) ve(ya) IL-13 sitokinleri ve PAM (sentetik bir lipopeptit) ve(ya) NLRC4 ligandı olan flagella ile uyarılmıştır. NLRC4 ekspresyonu RNA seviyesinde QPCR ile belirlenirken, protein seviyeleri SDS-PAGE ile belirlenmiştir. İnsan rIL-5 ve rIL-13 sitokinlerinin özonofil hücrelerindeki NLRC4 proteininin ekspresyonunu kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı, bu iki sitokin, aynı anda verildiğinde ise NLRC4 ekspresyonunu daha da arttırdığı gözlemlenmiştir. EoL-1 hücrelerine PAM ve flagella verildiğinde yine benzer bir artış yaşanmıştır. Bu çalışma, özonofillerde NLRC4 ekspresyonu olduğunu ve bu ekspresyonun edinsel bağışıklık tarafından regüle edildiğini rapor etmektedir.

Anahtar Kelimeler: allerji, edinsel bağışıklık, inflamazom kompleksi, edinsel bağışıklık, NLRC4, özonofil

PP-031

Standart ATCC 27853 *Pseudomonas Aeruginosa* ile Enfekte J774A.1 Makrofaj Hücrelerinde Nanoteknolojik Gümüş Yüzey Kaplamasının Apoptoz Nekroz ve Nitrik Oksit Yanıtlarına Etkisi

Vahide Bayrakal¹, Mehmet Gencer², A. Hüseyin Baskın¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Entitüsü Translasyonel Tıp Anabilim Dalı, İzmir

²Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Makina Mühendisliği Bölümü Konstrüksiyon ve İmalat Anabilim Dalı, İzmir

İmplant uygulamalarında kaplamaların sitotoksikite, bağışık yanıtları, biyouyumluluk, enfeksiyonları engelleme nitelikleri malzemenin kullanımına karar verdirir. Apoptoz/nekroz ve nitrik oksit (NO) yanıtları, kaplamanın uygulanabilirlik başarısını gösterir. Deneilerimizde J774A.1 makrofaj hücreleri 18 saat 370C ve %5 CO₂'de enkübe edilmiştir. Gruplar: 1. ATCC 27853 *P. aeruginosa* ile hücreler (m.o.i 50:1) enfekte edilmiştir, 2. Enfekte hücrelere gentamisin (GN) Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) eklenmiştir, 3. Enfekte hücreler gümüşle kaplanmış Ti6Al7Nb numuneleriyle enkübe edilmiştir, 4. Enfekte hücrelere GN MİK uygulanıp, kaplanmış numunelerle enkübe edilmiştir. Apoptoz/nekroz, NO yanıtları ANOVA yöntemi ve Student-t testi ile analiz edilmiştir. Kontrol hücrelerinin apoptozu % 4±1, nekrozu % 0.33± 0.57 olarak saptanmıştır. Yalnızca GN MİK uygulanan hücrelerde apoptozun % 48.6±6.65' e çıktığı, nekrozun olmadığı belirlenmiştir. Enfekte hücrelerin tamamı nekrotikken, enfekte hücrelere GN MİK uygulandığında nekroz % 4.33±0.57'e düşmüş ve apoptoz % 55.33±1.52' e çıkmıştır (p<0.05). Kaplanmış numunelerde enfekte hücrelerin tamamı nekrotiktir. GN MİK uygulandığında nekroz % 4,33±0.57' e düşmüş ve apoptoz % 27.33±2.51' e çıkmıştır (p<0.05). Kontrol hücrelerinin NO yanıtları 15.8 ± 0.7 µM iken, GN MİK uygulandığında NO 13.8 ± 1.38 µM oluşu GN MİK' in anlamlı bir NO yanıtı oluşturmadığını göstermiştir. Enfekte hücrelerin yüksek bulunan NO, GN MİK uygulandığında normal değerlere düşmüştür. Kaplanmış numunelerle enkübe edilen enfekte hücrelerin NO yanıtları, enfekte hücre değerlerinin altında bulunmuştur. Kaplanmış numuneler GN MİK uygulanmış enfekte hücrelerle enkübe edildiğinde NO yanıtlarının, enfekte edilmemiş hücre değerlerine düştüğü gözlenmiştir. İmplantlarda kaplamaların başarısı, biyouyumlulukları ve olası enfeksiyonları engellemesi ile değerlendirilir. Araştırmamızda antibiyotik uygulamasıyla gümüş kaplamasının *P. aeruginosa* enfeksiyonlarını engellemede başarılı olabileceği ancak farklı antibiyotiklerin test edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: nitrik oksit, apoptoz/nekroz, J774A.1, implant

PP-032

Kistik Fibrozis Hastalarında *Pseudomonas Aeruginosa* Kolonizasyonunun Nötrofil Fonksiyonuna ve Sitokin Salınım Kapasitesine Etkisi

Umit Aslanhan¹, Leyla Pur Ozyigit², Yusuf Metin Gelmez¹, Mine Yuksel³, Erkan Cakir³, Ahmet Hakan Gedik³, Günnur Deniz¹, Esin Cetin Aktas¹

¹İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (Aziz Sancar DETAE), İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Allerji, İstanbul

³Bezmialem Vakıf Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

Kistik Fibrozis (KF) akciğerlerde klor kanallarındaki işlev bozukluğu ile, akciğerlerde başta *Pseudomonas (P.) aeruginosa* olmak üzere çeşitli patojenlerinin kolonizasyonuna zemin hazırlayan multisistemik bir genetik hastalıktır. Çalışmamızda, *P. aeruginosa* kolonizasyonu olan ve olmayan KF hastalarında nötrofil adezyon molekül ekspresyonları, fonksiyonları, apoptotik indeksleri ve hücre içi sitokin salınım düzeyleri araştırılmıştır.

Balgam kültürlerinde *P. aeruginosa* üremesi pozitif (P+) (n=8) ve negatif (P-) (n=8) KF'li hastalar ve sağlıklı çocuklar (n=8) çalışmaya dahil edilmiştir. Nötrofillerin yüzey adezyon molekül ekspresyonları (CD11a⁺CD18⁺, CD11b⁺CD18⁺, CD11c⁺CD18⁺, CXCR2⁺, CD62L⁺) apoptotik indeksleri, nötrofil fonksiyon kapasiteleri ile *P. aeruginosa* ve LPS uyarımı sonrası CD16⁺CD66b⁺/CD16⁺CD66b⁻ nötrofillerde hücre içi CAP-18, IL-8 ve TNF- α salınımları akan hücre ölçer cihazı ile değerlendirilmiştir.

Nötrofillerde CD62L⁺ ve CD62L⁺CXCR2⁺ ekspresyonları, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya yanıtta oluşan fagositik aktivite, oksidatif patlama, kemotaktik aktivite ile erken ve geç apoptotik indeks yüzdeleri her iki hasta grubunda sağlıklı gruba göre artmıştır. Uyaransız kültür şartlarında P(+) ve P(-) hasta grubunda CD66b⁺CD16⁺, CD16⁺TNF- α ⁺, CD16⁺CD66b⁺TNF- α ⁺ ve CD16⁺IL8⁺ nötrofil oranları sağlıklı gruba göre artış gösterirken, *P. aeruginosa* ve LPS uyarımı sonucu her iki hasta grubunda CAP-18⁺CD16⁺ ve CAP-18⁺CD16⁺CD66b⁺ hücre oranında düşüş gözlenmiştir.

Çalışmamızda kistik fibrozis hasta periferik kan nötrofillerinde adezyon molekülü, pro-enflamatuvar sitokin salınımları ile birlikte apoptotik indeks değerlerindeki artış dikkat çekicidir. Ayrıca hastalarda artmış oranda tespit edilen *P. aeruginosa*'ya karşı fagositik aktivite, oksidatif patlama ve kemotaktik kapasite gibi nötrofil hücrelerinin aşırı aktivasyonunun apoptotik sürece etki ederek nötrofillerin yaşam sürelerini kısaltabileceği düşünülmektedir. Lokal enflamasyonda sekonder nötrofil fonksiyon bozukluğunun mortalite için bir risk faktörü olarak kabul edildiği KF'de *P. aeruginosa* kolonizasyonundaki etki mekanizmasını aydınlatacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: kistik fibrozis, nötrofil fonksiyonları, TNF- α , IL-8, CAP-18

PP-033

Gümüş İyonu Kullanılarak Nanoteknolojik Yöntemle Oluşturulmuş Yüzey Kaplamasının J774A.1 Makrofaj Hücre Hattında Biyouyumluluk Değerlendirmesi

Mehmet Gencer¹, Vahide Bayrakal², A. Hüseyin Baskın²

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Makina Mühendisliği Bölümü Konstrüksiyon ve İmalat Anabilim Dalı, İzmir

²Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Translasyonel Tıp Anabilim Dalı, İzmir

GİRİŞ: İmplantların yüzey özellikleri, biyouyumluluklarını belirleyen önemli etkenlerdir. Biyouyumlu implant üretiminde çeşitli yüzey modifikasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında, kaplama ve malzeme arasında atomik olarak birbiriyle karışmış tabaka oluşturma özelliği, plazma daldırma iyon implantasyonu ve biriktirme (PIII&D) yönteminin ön plana çıkarmasını sağlamıştır. Kaplamalardaki malzeme oranlarının biyouyumlulukları biyolojik yöntemlerle test edilerek, uygun kaplama malzemesine karar verilmeye çalışılır.

YÖNTEM: Çalışmada implant malzemesi olarak kullanılan Ti6Al7Nb alaşımından elde edilen numunelerin yüzeylerinde PIII&D yöntemi ile nanoboyutlarda kaplama (ince film) elde edilmiştir. Numunelerin yüzeyinde elde edilen ince film, N₂ plazmasında gümüş iyonları kullanılarak üretilmiştir. Biyouyumluluk için kaplanmış ve kaplanmamış Ti6Al7Nb numuneleri ile enkübe edilen J774A.1 makrofaj hücrelerinin apoptoz-nekroz yanıtları, nitrik oksit yanıtları ANOVA yöntemiyle analiz edilmiştir. **BULGULAR:** Kaplanmamış Ti6Al7Nb numuneleri ile enkübe edilen hücrelerin numuneye yakın alanlarda nekrotik hücre yanıtlarındaki artış kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (p<0.05). Kaplanmış numunelerle enkübe edilen hücrelerin apoptoz yanıtları ise kontrol hücrelerine göre istatistiksel olarak artmış olarak bulunmuştur (p<0.05). Nitrik oksit yanıtlarının normal hücre değerlerine yakın olduğu görülmüştür.

SONUÇ: Deneylerde kullanılan hücre hattı adheran hücre hattıdır. Kaplanmış implant sınırındaki hücrelerin apoptotik oranlarının yüksek kalması ve adheran özelliklerini koruması ve nitrik oksit yanıtı oluşturmamış olması, gümüş kaplamanın üzerinde ileri çalışmalar yapmaya değer bir kaplama malzemesi olduğunu düşündürmüştür. Bundan sonraki çalışmalarda farklı yoğunluklarda gümüş kaplamalar sınanacaktır.

Anahtar Kelimeler: apoptoz, nekroz, hücre Kültürü, PIII&D yöntemi, Ti6Al7Nb

PP-035

Kronik hepatit B ve C Tanılı Hastalarda Otoantikör Sıklığı

Şükran Köse, Melda Türken, Tuba Kış, Başak Göl Serin, Bengü Gireniz Tatar

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi

AMAÇ: Kronik Hepatit B (KHB) ve Kronik Hepatit C (KHC) dünya genelinde önemli sağlık problemlerinden biridir. Daha önce yapılmış çalışmalarda kronik viral hepatitlerin seyri sırasında otoantikör ve immünkomplekslerin saptanabildiği, otoimmün hastalıkların gelişebildiği bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı KHB ve KHC hastalarında anti - nükleer antikör (ANA), anti - mitokondriyal antikör (AMA), anti - düz kas antikörü (ASMA), anti karaciğer böbrek mikrozomal antikör (anti-LKM) sıklığının saptanmasıdır.

MATERYAL-METOD: Bu çalışmaya; hastanemiz hepatit polikliniğine Ocak 2012 - Aralık 2016 tarihleri arasında başvuran 505 KHB ve 143 KHC hastası dahil edildi. Çalışmaya dahil edilme kriterleri KHB hastaları için 6 aydan uzun süredir HbsAg pozitifliğinin olması; KHC hastaları için Anti HCV ve HCVRNA pozitifliği olması olarak belirlendi. ANA, AMA, ASMA, anti-LKM indirekt immünfloresan yöntemi ile bakıldı. (Euroimmun, Germany)

SONUÇLAR: Beş yüz beş KHB ve 143 KHC hastasında sırasıyla 98 (%19.6) ve 35 (%24.4) otoantikör pozitifliği saptandı. ANA her iki grupta da en sık saptanan otoantikördü. KHB hastalarının % 61.2'sinde ANA, %25.5'inde ASMA, % 13.6'sında AMA pozitifliği saptandı. KHC hastalarının % 62.8'inde ANA, %20'sinde AMA, %11.4'ünde ASMA, % 5.7'sinde Anti-LKM pozitifliği saptandı.

TARTIŞMA: Otoantikörler, Kronik hepatit B ve C enfeksiyonu olan hastalarda yaygın olarak bulunurken, otoantikörler ile Hepatit B (HBV) ve Hepatit C virüsleri (HCV) arasındaki ilişki halen tartışmalıdır. HBV, HCV enfeksiyonu otoantikör üretimini indükleyebilir. Enfeksiyonların tedavisinde kullanılan oral antiviral ajanlar ve interferon tedavisi, otoantikör üretimini tetikleyebilir. Kronik hepatit B ve C enfeksiyonunda otoimmün mekanizmaları anlamak için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: hepatit, otoantikör, sıklık

PP-036

***Helicobacter*-aktive Regülatör B Hücreleri ile Dendritik Hücreler Arasındaki Fonksiyonel Etkileşimlerin Araştırılması**

Doğuş Altunöz, Aslı Korkmaz, Güliz Tuba Barut, Ayça Sayı Yazgan

İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul

AMAÇ: Dendritik hücreler (DC) profesyonel antijen sunan hücrelerdir ve antijen spesifik kazanılmış immün yanıtla beraber immün toleransın oluşturulmasında görevlidir. Tolerojenik DC'lerde TNF- α , IL-12 gibi pro-enflamatuvar moleküller düşük düzeyde gözlenirken IL-10 gibi anti-enflamatuvar moleküller yüksek düzeyde gözlenmektedir. Regülatör B hücreleri (Breg) anti-enflamatuvar sitokinler salgırlar ve dendritik hücrelerin efektör fonksiyonlarını baskırlar. *Helicobacter felis* (*H.felis*) B hücrelerini aktive eder ve iki ayrı B hücre alt grubunun oluşmasına aracılık eder: IL-10+Breg ve IL-10-B hücreleri. Bu çalışmamızda, *Helicobacter*-aktive B hücrelerinin salgıladıkları moleküllerin olgun olmayan fare kemik iliği kökenli DC'ler üzerine regülatör etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Olgun olmayan DC'lerin eldesi için C57BL/6 fare kemik iliklerinden hücreler izole edilmiş ve bu hücreler GM-CSF ve IL-4 varlığında 7 gün kültürde farklılaştırılmıştır. B hücre izolasyonu için C57BL/6 fare dalaklarından hücreler izole edildikten sonra B hücreleri negatif seleksiyon temelli manyetik ayırımla elde edilmiştir. B hücreleri *H.felis* sonikatu ile muamele edildikten sonra yine manyetik ayırımla IL-10+ ve IL-10- fraksiyonlarına ayrılmıştır. Bu hücre gruplarının 8 saat *H.felis* ile inkübasyonu sonunda salgıladıkları sitokinleri içeren hücre medyumunu toplanılarak dendritik hücreler üzerine uygulanmıştır. 24 saatlik inkübasyonun ardından hücreler LPS veya *H.felis* sonikatu ile 12 saat muamele edilmiştir. DC yüzey boyamaları akan hücre ölçer, DC'lerden salgılanan moleküller ise ELİZA ile analiz edilmiştir.

SONUÇ: *H.felis* sonikatu DC'lerin CD86 ekspresyonlarını, IL-10, IL-12 ve TNF- α salgılamalarını indüklemektedir. IL-10+B hücrelerinin salgıladıkları moleküllerin uygulandığı DC'lerin kontrol gruplarına göre yüksek düzeyde CD86 eksprese ettikleri ve IL-12 salgıladıkları gözlenirken, TNF- α salgılarında anlamlı bir şekilde baskılanma gözlemlenmiştir. Ayrıca, bu DC'ler IL-10 salgılamaktadırlar. Dolayısıyla, bu çalışmamız *Helicobacter*-aktive IL-10+B hücre salgılarının DC'leri tolerojenik forma dönüştürebildiğini gösteren ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter felis*-aktive B hücreleri, IL-10, kemik iliği kökenli dendritik hücreler

PP-038

Küçük Moleküllerle Mezenkimal Kök Hücre Proliferasyonunun İndüklenmesi

Lamia Yazgı Alyazıcı, Dolay Damla Çelik, Esra Albayrak, Merve Aksöz, Fatih Kocabaş

Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

Mezenkimal kök hücreler (MKH) yetişkinlerde bulunan, birçok farklı dokuya farklılaşma ve kendini yenileme kabiliyetine sahip hücrelerdir. Kemik iliğinden ve adipoz dokusundan alınan MKH'ler mezoderm ve non-mezoderm dokulara farklılaşabilirler ve homeostasis, yara iyileşmesi, yaşlanma süreçlerine katılırlar. Terapötik alanda ise doku yenilenmesinde, diyabet ve kalp hastalıkları tedavisinde kullanılması amacı ile bir çok çalışma yürütülmüştür. Ayrıca, hücre tedavileri sonrası immün modülasyon etkileri gözlemlenmiştir. MKH kültürünün erken aşamalarında hücre döngülerinin uzun olması terapötik alanda yaygın bir şekilde kullanılmasını sınırlandırmaktadır. Büyümenin indüklenmesi amacı ile, kırk farklı küçük molekül kemik iliği ve adipoz dokusundan alınan MKH'ler ile kültüre alınmış, üçüncü ve beşinci günlerde yapılan analizler (WST-1) ile bu moleküllerin etkilerine bakılmıştır. Murin kemik iliğinden alınan MKH'lerde SB203580 ve SKF96365 adlı moleküllerin büyümeyi iki kat, StemRegenin 1 molekülünün ise üç kat arttırdığı gözlemlenmiştir. SB203580 p38-MAPK yoluna özgü bir inhibitördür. SKF96365 ise SOCE inhibitörüdür, ayrıca voltaja duyarlı kalsiyum ve potasyum kanallarını kontrol etmektedir. StemRegenin 1 ise, aril hidrokarbon reseptörünün bir antagonistidir. Bu molekülle daha önce yapılan çalışmalarda CD34+ insan hematopoetik kök hücre çoğalmasını arttırdığı da görülmüştür. Adipoz dokuda ise, kontrole göre iki kat daha fazla çoğalma sağlayarak en çok göze çarpan molekül RG108 isimli bir DNA metiltransferaz inhibitörü olmuştur. Ayrıca antienflamatuar ve anti-karsinogenik olduğu bilinen histon asetiltransferaz inhibitörü Garcinal ve p53 aracılı apoptoz ve p53 bağımlı gen transkripsiyonunu inhibe ettiği bilinen Pifithrihin- α moleküllerinin de MKH'leri kontrole göre bir buçuk kat arttırdığı görülmüştür. İlerideki aşamalarda bu moleküllerden yapılan karışımların etkilerine bakılacaktır.

Anahtar Kelimeler: mezenkimal kök hücre, adipoz, küçük molekül, kemik iliği

PP-040

Kaviteli Mikroakışkan Kanallarda Uygulanan Kayma Gerilmesinin Monosit Hücrelerine Etkisi

Rana Fuçucuoğlu¹, Semra Zuhâl Birol², Sertaç Çadirci³, Levent Trabzon³, Ayça Sayı Yazgan¹

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

²İstanbul Teknik Üniversitesi, Nanobilim ve Nanoteknoloji Bölümü, İstanbul

³İstanbul Teknik Üniversitesi, Makina Mühendisliği Bölümü, İstanbul

AMAÇ: Çalışmamız, insan fizyolojisinde kan akışı ile oluşan ve vasküler hastalıkları önlemede görev üstlenen kayma gerilmesinin, ateroskleroz plaklarının oluşmasına katkıda bulunan monosit hücrelerinde oluşturduğu etkileri araştırmaktadır. Değişen kayma gerilmelerinin hücre davranışları üzerinde yaptığı etki, hücrelerin iskelet yapısında oluşabilecek potansiyel değişimler yönünden incelenecektir.

GEREÇ-YÖNTEM: Mekanik bir kuvvet olan kayma gerilmesinin hücreler üzerinde uygulanabilmesi için mikroakışkan teknolojisinden yararlanılmıştır. Aterosklerotik damar yapısını taklit eden kaviteli mikrokanal geometrisinin tasarımı bu çalışma kapsamında ilk defa yapılmıştır. Mikrokanallar, tasarıma uygun olarak biyouyumlu ve saydam bir malzeme olan polidimetilsiloksan malzemeden yumuşak litografi yöntemiyle üretilmiştir. Değişen kayma gerilmelerinin THP-1 monosit hücrelerine etkisinin incelenebilmesi için hücreler mikroşırınga pompası kullanılarak mikrokanala doğrudan enjekte edilmiştir. Şırınganın devamlı dolma-boşalma dizisi ile monosit hücrelerinin 3 saat boyunca kaviteli mikrokanal içinde, 45 Pascal büyüklüğünde kayma gerilmesine maruz bırakılarak dolaşımı sağlanmıştır. Hücrelere yapılan mekanik kuvvet uygulamaları sonucunda F-aktin miktarlarındaki değişim, Phalloidin ve DAPI boyaları kullanılarak yapılan semi-kantitatif immünfloresan analizleri ve akan hücre ölçer yöntemi ile araştırılmıştır.

SONUÇ: THP-1 hücrelerine uygulanan 45 Pascal büyüklüğünde kayma gerilmesinin hücrelerin F-aktin miktarlarında önemli ölçüde azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir. Değişen kayma gerilmesi değerlerinde bu etkinin kapsamı araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: ateroskleroz, F-aktin, kayma gerilmesi, mikroakışkan, monosit

PP-041

Düşük frekanslı manyetik alan maruziyetinin sağlıklı ve hasta B lenfositleri üzerindeki etkisi

Handan Kayhan¹, Meriç Arda Eşmekaya², Babek Erdebilli⁴, Berk Dayanır³, Erdem Kayhan⁵, Ayşe Gülnihal Canseven², Yelda Özsunar⁶

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Erişkin Hematoloji, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara

³İzmir Bahçeşehir Koleji, İzmir

⁴Atılım Üniversitesi Endüstri Mühendisliği Bölümü, Ankara

⁵Atılım Üniversitesi Üretim Mühendisliği Bölümü, Ankara

⁶Adnan Menderes Üniversitesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Aydın

GİRİŞ: Manyetoterapi, çeşitli hastalıkların ve kanserin tedavisinde kullanılan non-invaziv bir yöntemdir. Bu yöntemde aşırı düşük frekanslı (ELF) alanlar kullanılmaktadır. ELF, frekansları 300 Hz'nin altında olan elektromanyetik alanlardır (EMF). ELF-EMF'nin kanser tedavisi üzerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir ve klinik çalışmalarda sitotoksik veya olumsuz yan etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Ronchetto ve ark. 2004). Bu çalışmada sağlıklı ve hasta B lenfositlerinde ELF-EMF'nin etkisi araştırılmak istenmiştir.

YÖNTEM: Bu çalışmada 1 mT, 50 Hz frekansta ki ELF EMF'nin etkisi, insan ve fare Kronik Lenfositik Lösemi hücre dizileri (sırasıyla MEC I ve CII) üzerinde ve primer sağlıklı insan lenfositleri üzerinde araştırılmıştır. Buna göre 1 mT 50 Hz frekansta ELF-EMF, farklı maruz kalma süreleri için sağlıklı ve hasta lenfositlere uygulandıktan sonra, hücrelerin apoptoz ve nekroz düzeyleri ve proliferasyon düzeyleri araştırılmıştır. Sonuçların istatistiği bağımsız student t test ile yapılmış ve Analitik Hiyerarşi Süreci (AHP) ile en etkili ELF-EMF dozajı belirlenmiştir.

SONUÇ: ELF-EMF maruziyeti sonrasında Sağlıklı lenfositlerin, MEC ve CII hücrelerinin proliferasyonunda anlamlı bir düşüş gözlemlenirken ($p<0,05$), apoptoz ve nekrozda artış gözlemlendi ($p<0,05$). Sağlıklı lenfositlerde G1 fazında anlamlı bir artış gözlemlenirken, MEC ve CII hücrelerinde hem G1, hem de G2 fazında artış olmuş ancak sadece S fazında ki düşüşte anlam bulunmuştur ($p<0,05$). AHP analizi ile en etkili maruziyet süresinin 3 saatlik ELF-EMF maruziyeti olduğu belirlendi.

TARTIŞMA: ELF-EMF'nin biyolojik sistemlerle etkileşim mekanizmasını açıklayan hipotezlerden birisi serbest radikal oluşumudur. Serbest radikal oluşumundaki artış DNA hasarına ve apoptotik hücre ölümüne neden olabilir. Bulgularımız ELF-EMF'nin kanser hücrelerinde ölüme yol açtığını belirlemekle birlikte göstermiştir ki sağlıklı hücrelerde de ölüme yol açmaktadır.

Anahtar Kelimeler: ELF, EMF, manyetoterapi, AHP

PP-043

Kemoterapötik İlaç Olarak Yeni Moleküllerin Geliştirilmesi

Nazife Tolay¹, Hakan Taşkiran¹, Nazlı Keskin², Batu Erman¹

¹Moleküler Biyoloji, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik ve Doga Bilimleri Fakültesi, Sabancı Üniversitesi, İstanbul

²Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Okan Üniversitesi, İstanbul

Tümör baskılayıcı bir protein olan p53 hücre bölünmesinin durdurulmasında, senesensde ve apoptozda önemli rol oynamaktadır. p53 protein seviyesi çeşitli stres faktörleri tarafından arttırılmaktadır ve özellikle DNA hasarı olan hücrelerde bölünmenin durdurulmasında p53 etkin bir rol oynamaktadır. Hücrelerde stres olmayan durumlarda p53 seviyesi onkogenik bir protein olan MDM2 tarafından kontrol edilmektedir. MDM2'nun E3 ligaz aktivitesi p53 proteinin ubiquitinlenmesine ve proteazom tarafından yıkımına neden olur. Birçok kanser türünde p53 proteinin DNA bağlanma bölgesinin mutasyona uğradığı gözlemlenmiştir ve bu durum hasarlı hücrelere bölünme avantajı sağlamaktadır.

Bu çalışmadaki amacımız p53 bağımlı apoptotik yolağını yeni moleküllerle aktiveştirmektedir. Preklinik deneyler in silico ortamda tasarlanan ve organik kimya metodları ile sentezlenen yeni moleküllerle yürütülecektir. Bu moleküller p53 ve MDM2 arasındaki etkileşimi engellemek amacıyla tasarlanmıştır. Bu moleküllerin p53 akkümüülasyonu arttırma özelliği HCT 116 WT hücre hattı kullanılarak western blot tekniği ile değerlendirilecektir. Moleküllerin p53 ile MDM2 arasındaki etkileşimi engelleme kapasiteleri canlı hücre floresan mikroskopisinde "F2H assay" yöntemi kullanılarak test edilecektir. Moleküllerin etkinliği ve p53-MDM2 bağlantısına karşı özgünlüğü CRISPR/Cas9 genom mühendisliği ile yaratılmış mutant hücre hatlarında belirlenecektir.

Anahtar Kelimeler: p53, mdm2, apoptosiz, kanser, crispr/cas9

PP-044

Siyaliltransferaz Manipülasyonunun Fare Hematopoietik Kök Hücrelerin Çoğaltılmasına Etkisi

Esra Albayrak¹, Emrecan Tüysüz², Fatih Kocabaş¹

¹Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

²Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Bölümü, İstanbul

AMAÇ: Hematopoietik kök hücreler (HKH), hücre döngüsünde G0 fazına girerek dormansi durumuna girmeleriyle karakterizedirler. Önceki çalışmalarımız, HKH dormansi regülatörlerinin hedeflenmesinin, hücreleri G0 fazından çıkararak hücre döngüsüne yönlendirdiğini ve HKH çoğaltılmasını indüklediğini göstermektedir. İlginç bir şekilde, golgi tip2 transmembran glikoziltransferazlardan olan siyaliltransferazların immün sistemin regülasyonunda ve lökosit trafiğinde etkin rol oynadığı bilinmektedir. Böylece, çalışmamızda, siyaliltransferaz inhibitörü olan soyasaponin-I molekülünün fare kemik iliğinden (KI) elde edilen HKH'lerin ex vivo çoğaltılması üzerine etkisine odaklanılmaktadır.

GEREÇ-YÖNTEM: Fare KI-KH'lerinin 1% 'ni oluşturan lineage negatif hücreler manyetik ayırım yöntemiyle izole edildi. 30,000 hücre 96 kuyucuklu plakaya 200ul HKH besiyeri içerisinde olacak şekilde ekildi ve hücreler soyasaponin-I molekülünün 3 dozu (10µM, 1µM ve 0,1µM) veya DMSO ile muamele edildi. Muameleden 7 gün sonra, hücreler HKH belirteçleriyle işaretlendi ve akış sitometrisinde analiz edildi. Ardından, ayrıştırılan LSK (Lin-Sca1+c-kit+) kök hücreleriyle hücre döngüsü analizi gerçekleştirildi. Ayrıca, muamele sonrası, sikline bağımlı kinaz inhibitörlerinin (SBKİ) ekspresyon değişimi gerçek zamanlı PZR ile analiz edildi. Bunun yanında, meydana gelen koloni çeşidine dayalı hücrelerin tiplendirilmesi analizi gerçekleştirildi.

BULGULAR-SONUÇ: Soyasaponin-I ile muamele sonrası kontrole kıyasla fare HKH içeriği 3 kat artmaktadır ve fare HKH'leri yeniden hücre döngüsüne girmektedir. Ek olarak, molekül CFU-GEMM adlı koloni sayısını 2,5 kat arttırmıştır. Bu sonuçlara göre, siyaliltransferaz inhibisyonu fare HKH'lerinin çoğaltılmasını ve aynı zamanda hücrelerin yeniden hücre döngüsüne girmesini indüklemektedir. Hücrelerin hücre döngüsüne yeniden girdiklerinin bir kanıtı olarak SBKİ'lerinin ekspresyon seviyesinin molekülle muamele sonrası önemli oranda düştüğü belirlenmiştir. Böylece, soyasaponin-I molekülünden gen terapi sonrası ex vivo HKH çoğaltılması ve buna bağlı olarak transplantasyon veriminin artırılması hususunda faydalanılabilir.

Anahtar Kelimeler: dormansi, HKH, siyaliltransferaz

PP-045

Kronik Lenfositik Lösemili Hastalarda Hücre İçi IL-10 Düzeyleri

Özden Özcan¹, Metin Yusuf Gelmez¹, Suzan Çınar¹, Günnur Deniz¹, Melih Aktan²

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

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul

Giriş-AMAÇ: CD5+CD19+ regülatör B (Breg) hücreleri IL-10 salgılayarak immün sistemi baskırlar. Kronik lenfositik lösemi (KLL); kemik iliği ve periferik kanda CD5+CD19+ monoklonal B hücrelerinin (KLL hücreleri) birikimiyle karakterizedir ve klinik seyri çok değişkendir. KLL hastalarının bir kısmında yüksek lenfosit sayılarına rağmen uzun süre tedavi almadan takip edilmesi ve Breg hücreler ile benzer immünfenotipik özellik göstermesi nedeni ile bu çalışmada IL-10 sentezleyen KLL hücre düzeyinin akan hücre ölçer ile saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: KLL tanısı almış 24 hasta ve 14 sağlıklı bireyden elde edilen heparinize kan örneklerinde ficoll gradient yöntemi ile periferik kan mononükleer hücreler (PKMH) elde edilmiştir. PKMH'ler CpG (1 ug/ml) ile 37°C, %5 CO2 etüvde 48 saat kültüre edilmiş uyarımın 44. saatinde Brefeldin A, PMA (20 ng/ml) ve Ionomisin (1 ug/ml) eklenmiştir. Uyarım sonrası hücreler anti-CD5, anti-CD19 ve anti-CD38 monoklonal antikorları ile yüzey belirteçleri, anti-IL-10 ile hücre için sitokin seviyesi akan hücre ölçer ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler Mann Whitney-U ve Wilcoxon testleri ile yapılmıştır.

BULGULAR: Uyarımsız koşulda KLL'li ve sağlıklı bireylerin hücre içi IL-10 içeriklerinde bir değişiklik gözlenmemesine karşılık, uyarım sonrası KLL'li hastaların lenfosit ve CD19+ kapısında, CD19+-IL-10+ hücre oranlarının sağlıklı bireylerden yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla, p<0.0001 ve p<0.0001). CD5+CD19+ lenfosit kapısında uyarımsız şartlarda KLL'li hastaların IL-10 düzeyleri sağlıklı kontrollere göre yüksek saptanırken (p<0,-0001), uyarım sonrası anlamlı fark bulunmamıştır.

SONUÇ: Bulgularımız, KLL hücrelerinde saptanan yüksek hücre içi IL-10 içeriğinin, hastalığın klinik seyrinde rolü olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızın, KLL hücrelerin Breg hücreleri ile olan benzerliğini araştıran çalışmalara katkı sağlayacaktır.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:55010.

Anahtar Kelimeler: kronik lenfositik lösemi, KLL, IL-10, Breg

PP-047

Antijen Taşıyıcısı Olarak ASC Zerrecikleri

Seda Yasa, Alican Sahillioğlu, Mesut Berber, Nesrin Özören

Boğaziçi Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

Sitoplazmada bulunan patojenler inflamazom bileşenleri aracılığıyla algılanır. Çok moleküllu küresel ASC zerreciklerinin oluşması, NLRP3 ve AIM2 gibi sitoplazmik NOD-benzeri reseptörlerin uyarılmasıyla tetiklenir. Piroptotik hücre ölümünden sonra ASC zerrecikleri hücre dışına salınır ve interlökin 1 beta'nın olgunlaşmasını artırır. Çalışmalarımızda model antijen ovalbumini de içeren bir kısım sitoplazmik proteinlerin, hücre içinde ASC zerrecikleriyle birlikte kümeleşme eğilimi içinde olduğunu gözlemledik. mCherry-ASC zerreciklerinin farelere intraperitoneal ve damar içi enjeksiyonundan 3 hafta sonra zerreciklerin dalakta birikimi gözlemlendi. Ayrıca, ovalbumin ve kuş gribi virüsünün kabuk proteini olan H5 yüklü ASC zerrecikleri, fareleri aşılama için kullanıldı. Zerrecik kullanılan örneklerin kontrol gruplarına göre antijen spesifik IgG seviyelerinde anlamlı artışlara sebep olduğu bulunmuştur. Patentlenmiş ASC zerrecikleriyle aşı taşıma teknolojimizin, yeni dönem aşuların geliştirilmesinde ve üretiminde kullanılabileceğini öne sürüyoruz.

Anahtar Kelimeler: ASC, zerrecik, aşı, teknoloji

PP-048

Yeni Tanı Almış Genç Diyabet/Prediyabette Adacık ve Tiroid Otoimmünitesi İlişkisi

Yıldız Tütüncü¹, Nuray Gürel Polat², Beyhan Ömer³, M. Faruk Alagöl¹, İlhan Satman¹, Turdep II Çalışma Grubu¹

¹İstanbul Üniversitesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Klinik Biyokimya Bilim Dalı, İstanbul

AMAÇ: Bu çalışmada yeni tanı almış genç DM'li ve preDM'li popülasyonunda erişkinlerde yavaş seyirli bir otoimmün diyabet (LADA; Autoimmune Diabetes in Adults) sıklığını belirlemeyi ve otoimmün tiroidit ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

MATERYAL-METOD: Çalışmamıza 'Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması (TURDEP-II)'na katılmış, 20-44 yaş aralığındaki 1855 bireyin verileri dahil edildi. Çalışma popülasyonunun alt gruplarını; %19.1 (n=354) yeni diyabet tanılı (YeniDM), %11.9 (n=221) izole bozulmuş glukoz toleransı (BGT), %15.8 (n=293) izole bozulmuş açlık glukozu (BAG), %8.3 (n=154) kombine bozulmuş glukoz toleransı (KBGT) ve %44.9 (n=833) OGTT'si normal bulunan sağlıklı bireyler (NGT) oluşturdu. Tüm serum örneklerinde adacık ve tiroid otoantikörlerine bakıldı. Çinko transporter 8 antikoru (anti-ZnT8) ELISA, adacık hücreleri sitoplazmik antikoru (ICA) indirekt IF, glutamik asit dekarboksilaz ve protein tirozin fosfataz antikörleri (anti-GAD ve IA2) RIA ile; tiroid peroksidaz ve tiroglobulin antikörleri (anti-TPO ve anti-Tg) ise otoanalizörde ölçüldü.

BULGULAR: Tüm grup birlikte değerlendirildiğinde, tiroid otoantikörleri kendi aralarında birbirleriyle ilişkili olduğu görüldü ($r=0.0276$, $p=0.002$). anti-TPO (+)'liği ile anti-GAD ve anti-IA2 (+)'likleri arasında anlamlı korelasyon mevcuttu (sırasıyla; $r=0.097$, $p<0.001$; $r=0.085$, $p=0.001$ ve $r=0.360$, $p<0.001$). Anti-GAD (+)'liği ile anti-IA2 (+)'liği korele olduğu görüldü ($r=0.602$, $p<0.001$). Yeni DM grubunda anti-GAD, diğer adacık otoantikörlerinin sıklığı ile anlamlı derecede ilişkili bulundu.

YORUM: Sonuç olarak geniş tabanlı ve toplum-temelli olarak tasarlanan TURDEP-II popülasyonunda yer alan 20-44 yaş aralığında yeni tanı almış diyabet vakaları içinde anti-GAD pozitifliğine göre LADA sıklığının %13.2 olduğu varsayılabilir. Ayrıca, genel olarak adacık otoimmünitesi ile tiroid otoimmünitesinin birbiriyle ilişkili olduğunu doğruladık.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası 22247 ve 32641

Anahtar Kelimeler: otoimmün diyabet, LADA, anti-GAD, otoimmün tiroid

PP-049

Primer Antikor Yetersizliği Olan Hastalarda Saptanan Bruton Tirozin Kinaz (BTK) Gen Varyasyonları

Sinem Firtına¹, Yuk Yin Ng², Ozden Hatırnaz Ng¹, Şule Haskolođlu³, Ayça Kıykım⁴, Elif Aydiner⁴, Selda Hançerli Torun⁵, Manolya Kara⁵, Ayper Somer⁵, Uğur Özbek⁶, Müge Sayitođlu¹

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

²İstanbul Bilgi Üniversitesi, Doğa Bilimleri ve Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

³Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve Alerji Bilim Dalı, Ankara

⁴Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Bölümü, İstanbul

⁵İstanbul Üniversitesi, Çapa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bilim Dalı, Klinik İmmünoloji Birimi, İstanbul

⁶Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

Primer antikor yetersizlikleri (PAY), primer immün yetmezliklerin içerisinde en sık gözlenen hastalık grubudur. PAY, B hücrelerinin gelişimi veya fonksiyon bozuklukları sonucu immünoglobulinlerin yokluğu ya da azlığı ile karakterizedir. PAY'larda en sık görülen X'e bağlı kalıtılan agammaglobulinemi (XLA), Bruton tirozin kinaz (BTK) genindeki mutasyonlar sonucu oluşur ve agammaglobulinemisi olan hastaların %85'inde BTK geni anlatımı yoktur. Bu çalışmada PAY ile ilişkili olduğu bilinen 22 geni kapsayan bir hedefe yönelik yeni nesil dizileme genetik tanı paneli tasarlanmış (Smartchip-TE) ve PAY tanısı almış 32 hasta Illumina MiSeq sistemi ile dizilenmiştir. Çalışma grubunda yer alan erkek, akraba evliliği olmayan ve B hücre sayıları az/yok olduğu için XLA düşünölen 8 hastanın 3 tanesinde (Q412*, S578P, E240*) önceden tanımlanmış BTK gen mutasyonları saptanmıştır. Ayrıca 1 hastada BTK genine ait daha önce literatürde tanımlanmamış yeni bir mutasyon (G414W) tespit edilmiştir. Kliniğe tekrarlayan pnömoni, zona ve bronşektazi şikayeti ile başvurmuş 16 yaşındaki hastada tespit edilen yeni mutasyonun klasik dizileme ile ailevi segregasyonu incelendiğinde annenin heterozigot (taşıyıcı) olduğu, hastanın ise varyasyonu homozigot halde taşıdığı belirlenmiştir. Akım sitometrisi ve western blot analizlerinde hastada BTK protein anlatımı tespit edilmemiştir. XLA ön tanılı hastaların sadece yarısında BTK geni mutasyonu saptanması hastalığın klinik heterojeniteye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Primer immün yetmezlikler gibi klinik heterojeniteye sahip hastalıklarda yeni nesil dizileme yöntemi ile oluşturulmuş tanı panelleri, hastalarda aynı anda çok sayıda aday geni tarayabilmekte, kesin ve doğru tanı için hızlı, ekonomik ve güncel bir yaklaşım sağlamaktadır. Bu çalışma İ.Ü. BAP birimi tarafından 52575 ve 54891 numaralı projelerle desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: yeni nesil dizileme, XLA, genetik tanı, BTK

PP-050

Bazal-benzeri Meme Kanseri Hücreleri Tarafından Uyarılan Miyeloid Hücrelerde STAT3 Aktivasyonunun IL-1 β Üretimi Üzerine Etkisi

Gürçan Tunalı, Güneş Esendağı

Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

Tümör mikroçevresindeki miyeloid hücrelerin immün düzenleyici karakter kazanmasında STAT3 transkripsiyon faktörünün aktivasyonu önemlidir. STAT3 aktivitesi yüksek miyeloid hücrelerden üretilen IL-1 β gibi pro-inflamatuvar sitokinler kanserde inflamatuvar mikroçevrenin oluşmasını sağlar. Bu çalışmada, bazal-benzeri meme kanseri hücrelerinin salgıladığı faktörler tarafından uyarılan miyeloid hücrelerde STAT3 aktivasyonunun IL-1 β üretimine etkisi incelenmiştir.

THP-1 ve U937 miyeloid hücrelerinin bazal-benzeri (MDA-MB-468, MDA-MB-231, HCC38) ve lüminal (MCF-7, BT-474) meme kanseri hücre süpernatantlarıyla kültürü yapıldı. STAT3 inhibitörü (Stattic) içeren/içermeyen koşullarda miyeloid hücrelerde STAT3 protein düzeyi Western-Blot yöntemiyle değerlendirildi. Bazal-benzeri meme kanseri hücre süpernatantlarıyla 1.5, 6 ve 24 saat uyarılan miyeloid hücrelerde, Stattic varlığında/yokluğunda, STAT3 ve IL-1 β gen ekspresyonu gerçek-zamanlı RT-PCR yöntemiyle incelendi.

Bazal-benzeri meme kanseri hücre süpernatantlarıyla uyarılan THP-1 ve U937 hücrelerinde STAT3 aktivasyonu artarken bu durum lüminal meme kanseri hücrelerine ait faktörlerle uyarılan miyeloid hücrelerde izlenmedi. Stattic inhibitörünün bu hücrelerde STAT3 aktivasyonunu (fosfo-STAT3) baskıladığı gözlemlendi. Belirli zaman aralıklarında bazal-benzeri meme kanseri hücre süpernatantlarıyla uyarılan miyeloid hücrelerde STAT3 gen ekspresyonunda belirgin değişim saptanmazken Stattic içeren koşullarda, özellikle HCC38 süpernatantı varlığında, arttığı belirlendi. THP-1 hücrelerinde IL-1 β gen ekspresyonunun 6. saate kadar özellikle MDA-MB-231 ve HCC38 süpernatantları varlığında arttığı gözlemlendi. U937 hücrelerinde bazal-benzeri meme kanseri hücre süpernatantlarının IL-1 β gen ekspresyonunu azalttığı saptandı. Stattic varlığında miyeloid hücrelerdeki IL-1 β gen ekspresyonunun zamana bağlı olarak daha fazla arttığı belirlendi. Bu artış en belirgin HCC38 süpernatantı varlığında görüldü.

Bazal-benzeri meme kanseri hücreleri miyeloid hücrelerde STAT3 yolağını etkin şekilde uyarmaktadır. STAT3 inhibisyonuyla IL-1 β gen ekspresyonunun artışı ve STAT3 protein aktivasyonunun azalması bazal-benzeri meme kanseri mikroçevresindeki miyeloid hücrelerde tümörü destekleyici fenotipin baskılanmasına ve kronik inflamasyonun düzenlenmesine yol açabilir.

Anahtar Kelimeler: bazal-benzeri meme kanseri, miyeloid hücre, STAT3, IL-1 β

Kutanöz Leishmaniasisli Hastalarda MFG-E8, OPG ve SOCS-3 Düzeyleri

Nebiye Yentür Doni¹, Fadile Yıldız Zeyrek², Fulya İlhan³, Zeynep Şimşek⁴, Gülcan Gürses¹, Seher Topluoğlu⁵, Ebru Aydın⁵

¹Harran Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuvar Bölümü Şanlıurfa

²Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa

³Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı, Elazığ

⁴Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Şanlıurfa

⁵Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara

Milk fat globule epidermal growth factor-factor 8 (MFG-E8) periferik bir glikoproteindir ve dokudan apoptotik hücrelerin temizlenmesinde rol oynar. Makrofajların skavenger fonksiyonunu destekler. Osteoprotegerin (OPG) inflamatuvar yolakta ve tümör gelişiminde etkindir. Receptor superfamily of proteins. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3) ise inflamasyonu önleyen inhibitör sinyal molekülüdür. Bu çalışmada kronik bir inflamasyon yaratan özellikle Güney Doğu Anadolu'da halen sağlık sorunu olmaya devam eden kutanöz leishmaniasisli hastalarda bu immün parametrelerin nasıl değişiklik gösterdiği araştırıldı.

Materyal/METOD: KL'li 46 hasta ve 44 sağlıklı kontrol çalışmaya alındı. Şanlıurfa Şark Çıbanı Tanı ve Tedavi Merkezi'ne kayıtlı hastaların deri lezyonlarından hazırlanan preparatlarda Leishmania amastigotları Giemsa ile boyanarak mikroskopik olarak incelendi. Serumlar ayrılarak MFG-E8, OPG and SOCS-3 düzeyleri ise ELİSA yöntemiyle çalışıldı.

SONUÇ: MFG-E8 ($p<0,001$), OPG($p<0,05$) ve SOCS-3($p<0,001$) serum düzeyleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında belirgin fark saptandı. Her üç parametrenin kontrol grubunda yüksek olması dikkat çekiciydi. Hasta grubunda MFG-E8 düzeylerinin kontrole kıyasla düşük olması KL'de makrofajların skavenger fonksiyonlarını yerine getirmekte yetersiz kaldıklarını işaret edebilir ve lezyonun uzun sürmesine veya inflamasyonun devam etmesine katkısı olabilir. Aynı şekilde inhibitör yolakta önemli rolü olan SOCS-3 düzeylerinin de bu hastalarda düşük düzeyde bulunması inflamasyonun durdurulmasında dokunun iyileşmeye geçişinde bir yavaşlama olduğunu işaret edebilir. Düzensiz inflamasyon her zaman vücudun zararındır ve normalde inflamasyon çok ince bir kontrol mekanizmasıyla örülüdür. OPG de önemli bir inflamasyon mediatörüdür ve IL-1 β ile düzenlenir hasta grubumuzda kontrolden daha düşük düzeylerde saptanmış olsa da belki lezyon mikroçevresinde durum farklıdır ve periferik yansıması izlenememiştir. Çalışmamız KL'de söz konusu parametreler açısından ilk çalışmadır ve daha ileri çalışmalarla desteklenebilir.

Anahtar Kelimeler: kutanöz leishmaniasis, SOCS-3, MFG-E8, OPG

PP-056

İndirekt İmmünfloresan Antinükleer Antikor Tarama Test Sonuçlarının İmmunoblotlama Yönteminde Özgül Antijen ile İlişkisinin Değerlendirilmesi

Ali Alvandian, Nazlı Arslan, Yavuz Doğan, Cem Mahmut Ergon, Özlem Yılmaz, Meral Karaman

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

İndirekt immünfloresan (IIF) yöntemi, antinükleer antikorların (ANA) saptanmasında altın standart yöntemdir. IIF ile saptanan pozitif ANA, patern ve titre (ışıma yoğunluğu) ile birlikte raporlanmalıdır. Anti-ekstrakte edilebilir nükleer antijen (ENA) immünoblotlama (IB) paterne özgül antikorların saptanmasında kullanılan testler arasındadır. Bu çalışmada Dokuz Eylül Hastanesi Merkez Laboratuvarı, immünoloji biriminde Haziran 2014-2016 tarihleri arasında rutin olarak çalışılmış ANA IIF ve ENA IB test sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: ANA IIF; HEp 20-10/Liver monkey (EUROIMMUN, Almanya), ENA IB ANA profile 3 EUROLINE (EUROIMMUN, Almanya) ile çalışılmıştır. ENA IB stripleri EUROLINE SCAN programında kantitatif (sınırdaki, +, ++, +++) olarak değerlendirilmiştir. Tüm testler üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulanmıştır.

BULGULAR: ANA IIF çalışılan 10954 hastadan 8002'si (%73) ANA negatif, 2952 si (%27) ANA pozitif bulunmuştur. ANA pozitif, ENA IB çalışılmayan hasta sayısı 2522, çalışılan 430'dur. Bunların 300'ü (%70) ENA negatif, 130'u (%30) pozitif saptanmıştır. Spesifik antijenlere bakıldığında 130 hastada 191 bant görülmüştür. Tek bant pozitifliği nükleer zarf ve nükleolar patern saptanan iki hastada görülmüş, diğer hastalarda iki ve daha fazla bant paterni belirlenmiştir. ANA IIF pozitif, anti-ENA antikorları negatif hastaların (n=30) serumlarında kullandığımız ticari kit ile saptanamayan antijenlere karşı antikorlar olabilir. IIF ile homojen patern saptanan 34 hastanın dokuzunda anti- nükleozom, üçünde anti-histon antikorları pozitif saptanmıştır. Kalan 22 hastada anti-SS-A ve/veya anti-SS-B pozitifliği görülmüştür. Yüksek titrelerde homojen patern özellikle ince benekli paterni maskeleyebilmektedir. Benekli patern saptanan hastaların serum örneklerinde anti-nRNP/Sm, anti-Sm, anti-SS-A ve anti-SS-B pozitifliği görülmüştür. Benekli paternin varlığı belirtilen bu antikorlar ile birliktelik gösterdiğinden spesifik antijen testi çalışamayan laboratuvarlarda yol gösterici olabilir.

Anahtar Kelimeler: antinükleer antikor, indirekt immünfloresan, anti-ekstrakte edilebilir nükleer antijen, immünoblotlama

PP-057

İmmünolojik Riskli Hastalarda Renal Transplantasyon: 1 Yıllık Takip Sonuçlarımız

Ali Şengül, Mehtap Ülker

Medical Park Antalya Hastane Kompleksi, Muratpaşa, Antalya

GİRİŞ-AMAÇ: Komplemanı bağlamayan antikorların transplantasyon için taşıdıkları risk durumu tartışmalıdır. Biz son 5 yılda, komplemanı bağlamayan donör spesifik antikora sahip hastalarımıza canlı vericilerinden yaptığımız böbrek nakillerinde bu antikorların böbrek fonksiyonlarını nasıl etkilediğini belirlemek amacıyla serum kreatinin düzeylerini inceledik.

GEREÇ-YÖNTEM: Böbrek transplantasyonu için 2012-2016 yıllarında canlı vericileri ile merkezimize müracaat eden hastalardan, komplemana bağlı sitotoksikite yöntemi ile yapılan lenfosit çapraz karşılaştırma testi negatif bulunan, flow-sitometrik lenfosit çapraz karşılaştırma testlerinde pozitiflik ve/veya solid faz testlerle donör spesifik antikor saptanan ve desensitizasyon yapılarak transplantasyonları gerçekleştirilen hastalar retrospektif olarak incelendi. Hastaların nakilden 1, 3, 6 ve 12 ay sonraki serum kreatinin düzeyleri incelenerek donörlerine karşı anti-HLA antikor saptanmayan hastalarla karşılaştırıldı.

BULGULAR: Toplamda 79 immünolojik riskli hastanın transplantasyondan sırasıyla 1, 3, 6 ve 12 ay sonraki serum kreatinin düzeylerinin ortalamaları $1,33 \pm 0,78$ mg/dl, $1,40 \pm 1,06$ mg/dl, $1,32 \pm 0,76$ mg/dl ve $1,36 \pm 1,13$ mg/dl iken 39 kontrol grubu hastasının kreatinin düzeyleri ortalaması yine sırasıyla $1,43 \pm 0,98$ mg/dl, $1,52 \pm 1,16$ mg/dl, $1,38 \pm 0,33$ mg/dl ve $1,38 \pm 1,02$ mg/dl olarak saptandı. Bu sonuçlarla, iki hasta grubunun istatistiksel olarak farklılık göstermediği belirlendi.

SONUÇ: Transplantasyon sonrası graft fonksiyonlarının takibinde serum kreatinin düzeyleri sınırlı bir göstergedir. Ancak, basit ve ucuz bir test olduğundan yaygın olarak kullanılmaktadır. Duyarlılaşmış hastalarda graft fonksiyonlarının bozulmasına ve graft kaybına yol açan anti-HLA antikorları, transplantasyon ekiplerinin en çok korktuğu sorunlardan biri olmaya devam etmektedir. Son yıllarda komplemanı aktive etmeyen antikorların kontrendikasyon oluşturmamakla birlikte graft hasarına yol açma riski vurgulanmaya devam etmektedir. Bizim sonuçlarımız bu hastaların ilk yıl içinde antikor taşımayan hastalara benzer şekilde graft fonksiyonu gösterdiklerini desteklemektedir. Ancak daha uzun süreli takiplere ihtiyaç olduğunu da düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: anti-HLA antikorları, kompleman aktivasyonu, transplantasyon

PP-058

Akciğer Kanseri ve Mezotelyomalı Hastalarda İmmün Hücre Tiplerinin Karakterizasyonu

Gönül Seyhan¹, Akif Turna², Ayça Sayı Yazgan¹

¹İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Bölümü, İstanbul

AMAÇ: Akciğer kanserinin ölüm oranı yüksektir. Interlökin-10 (IL-10) kanser mikroçevresinde immün yanıtın baskılanmasına katkı sağlar. Bu çalışma, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) ve mezotelyomalı (MT) hastaların kanlarında ve tümöre infiltre lökositlerde (TIL) bulunan regülatör ve efektör hücreleri, ifade ettikleri yüzey belirteçlerine ve salgıladıkları sitokinlere göre incelemeyi amaçlamaktadır. Özellikle çalışmamız daha önce akciğer kanserinde tanımlanmamış regülatör B hücrelerinin (Breg) detaylı olarak tanımlanmasını odaklanmıştır. Bu amaçla, T hücre (CD4, CD8) ve Breg (CD19, CD24, CD38) yüzey belirteçleri ve programlı hücre ölümü-1(PD-1) ile anti-enflamatuvar (IL10) ve pro-enflamatuvar (IFN γ) sitokin profilleri incelenmiştir.

GEREÇ-YÖNTEM: İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi bölümüne başvuran KHDAK ve mezotelyomalı hastaların elde edilen periferik kan örneklerinden mononükleer kan hücreleri (PBMC) ve cerrahi operasyon sonrasında alınan tümör dokusundan TIL elde edilmiştir. IL10 ve Breg yüzey boyamaları öncesi PBMC ve TIL CpG ODNK3 (0.7 μ g/ml) ile 24 saat uyarılmıştır. Hücre tipleri ve sitokin profilleri anti-CD4, anti-CD8, anti-CD19, anti-CD24, anti-CD38, anti-PD1, anti-IL10 ve anti-IFN γ antikolarıyla boyanarak akan hücre ölçerinde analiz edilmiştir.

SONUÇ: 6 sağlıklı kontrol, 11 KHDAK ve 4 mezotelyomalı hastada analiz yapılmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında KHDAK'lı hastaların, kanlarındaki CD4+ ve CD19+ (0.82-24.1%; 0.85-17.3%) hücreler ile TIL'lerindeki aynı hücrelerde (0-23.7%; 0-20%) IL10 ekspresyonunda artma eğilimi; MT'li hastaların kanlarındaki CD4+ (0-35.7%) ile TIL'lerindeki CD19+ hücrelerinde (1-10%) ise anlamlı artış görülmüştür. KHDAK'lı hastaların kanlarındaki CD19+CD24+CD38+ hücrelerde IL10 seviyesi önemli oranda artmıştır (0-75%). KHDAK hastalarının kanlarındaki CD19+ hücrelerinin PD-1 ekspresyonu (1.77-33%) ve PD-1+IL10+ oranları (0.98-4.62%) kontrole göre artma eğilimindedir. Ayrıca bu hastaların kanlarındaki IFN γ üreten B hücrelerinde artış ve CD4+ T hücrelerinde azalış görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: akciğer kanseri, Breg, IL10, mezotelyoma, PBMC, tümör infiltre lenfosit (TIL)

PP-059

RAW 264.7 Hücrelerinin Yüzeyinde, Hücre İçi CTLA4 Ekspresyonu ile CD80/86 İfadesinin Baskılanması

İzel Yılmaz¹, Mehmet Karacay², Elif Uz³, Ferah Budak⁴, Figen Ersoy³, Haluk Barbaros Oral⁴

¹Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp-İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa

²Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Bursa

³Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Bursa

⁴Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa

T hücre aktivasyonu, antijen sunan hücrelerdeki MHC-peptid kompleksinin ve bu hücrelerin sağladığı eş uyaran sinyallerin tanınmasını gerektirir. Antijen sunan hücre (ASH)'nin gen bazlı modifikasyonu, immün toleransı indüklemek için potansiyel bir stratejidir. Bu çalışmada, RAW264.7 hücrelerindeki B7 moleküllerinin (CD80 / 86) ekspresyonunu inhibe veya yok etmek amacıyla hücrelerin endoplazmik retikulum (ER) içerisinde modifiye sitotoksik T lenfosit antijen 4 (CTLA4) molekülünün (CTLA4-KDEL) ekspresyonunu sağlayan bir yapı ile transfekte edilmesi, böylece CD80/86 molekülünün ER'de tutulup parçalanarak hücre yüzeyinde ifade edilmesinin engellenmesi amaçlanmıştır.

Fare CTLA-4 cDNA memeli ekspresyon plazmiti olarak Sino Biologicals'dan (Çin) ticari olarak temin edilen pCMV/mCTLA-4 plazmiti kullanılmıştır. mCTLA4 geni uygun restriksiyon bölgeleri içeren primerler tasarlanarak çoğaltılmış ve pCMV/myc/ER (Invitrogen, Life Technologies, USA) plazmite klonlanmıştır. RAW 264.7 hücreleri CTLA4-KDEL genini eksprese eden plazmit ile transfekte edilip sonraki gün IFN- ile 24 saat inkübe edilmiştir. CD80 ve CD86 (Tonbo Biosciences, Birleşik Krallık)'ya karşı fare monoklonal antikoları ve uygun izotip kontrolleri kullanılarak akım sitometri analizi gerçekleştirilmiştir.

Akım sitometri sonuçlarına göre uygulanan strateji ile RAW 264.7 hücrelerinin yüzeyinde de novo CD80/86 ekspresyonunun anlamlı olarak baskılandığı gözlemlenmiştir. Bu stratejinin işlevlerini araştırmak için yapılan daha ileri çalışmalar test edilmektedir. Yüzey reseptörlerinin ekspresyonunu azaltan veya yok eden bu gen tabanlı stratejinin, otoimmün hastalıkların tedavisinde ASH'lerin kullanılmasına yönelik potansiyel bir alternatif olduğunu düşünmekteyiz.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından (Proje No: 114S354; Cost Action BM1404) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: CD80, CD86, CTLA-4, RAW 264.7, KDEL

PP-061

Doğal Öldürücü Hücrelerden Saflaştırılan Eksozomların Anti-tümör Etkisi

Lolai Ikromzoda¹, Pegah Zahedimaram¹, Evren Alıcı², Adil Doğanay Duru³, Tolga Sütü^{1,4}

¹Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Sabancı Üniversitesi, İstanbul

²Center for Hematology and Regenerative Medicine, Karolinska University Hospital Huddinge, Karolinska Institutet, Stockholm

³NSU Cell Therapy Institute, Nova Southeastern University, Fort Lauderdale, FL

⁴Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul

Doğal öldürücü (NK) hücreler, doğal bağışıklık sisteminin üyeleri olup kan dolaşımındaki lenfositlerin %10-15'lik kısmını oluşturmakta ve önceden uyarılma veya bağışıklama gerektirmeden virüsle enfekte olmuş hücreleri ve tümör hücrelerini öldürebilmektedirler.

Eksozomlar, endozomların olgunlaşmaları sırasında endozom zarının kendi içine doğru kıvrılarak nanokesecikler oluşturmasıyla meydana gelirler ve bu çok-kesecikli endozomun içerisindeki kargoyu dış ortama salması ile birlikte vücut sıvılarına yayılırlar. Eksozomlar taşıdıkları kargo içeriğine göre hedef hücreler üzerinde apoptoz ve hücre döngüsü kontrolünden bağışıklık fonksiyonlarının yönetilmesine, hücre başkalaşımından organ rejenerasyonuna kadar birçok fizyolojik etki gösterebilmektedir.

NK hücrelerinin yüksek miktarda eksozom ürettiği ve bu eksozomların farklı tümör hücresi hatlarına karşı sitotoksik etki gösterdiği yakın zamandaki çalışmalarda tespit edilmiştir. Bu çalışmada, bir NK hücresi hattı olan NK-92 kullanılarak en verimli şekilde eksozom üretiminin hangi kültür şartları altında gerçekleştirilebileceği incelenmekte, elde edilen eksozomların fonksiyonel ve fenotipik analizleri gerçekleştirilmektedir. Eksozomların saflaştırılması FPLC kullanılarak boyut dışlama kromatografisi ile yapılmaktadır. Tüm deneylerde elde edilen eksozomların boyut dağılımı ve konsantrasyonu ise rutin olarak nanopartikül takip analizi (NTA) cihazı ile gerçekleştirilmektedir. Saflaştırılan eksozomların karakterizasyonu ise fonksiyonel olarak bir lösemi hücre hattı olan K562 üzerinde sitotoksik test ve yapısal olarak elektron mikroskopu ile yapılmıştır. Farklı tümör hücresi hatlarında öldürme verimliliği ve bu verimliliğin genetik modifikasyonlar yoluyla hem artırılması hem de yönlendirilmesi üzerine çalışılmaktadır.

Bahsi geçen çalışmalar sayesinde NK hücrelerinden eksozom üretilip saflaştırılması ve bu ürünün bir nanotıp uygulaması olarak kullanılmasının önünü açacak sonuçlar elde etmeyi, uzun vadede kanser immünoterapisinde kullanılabilecek yeni bir yaklaşım olarak eksozom tabanlı tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi hedeflenmektedir.

*Bu proje TÜBİTAK 3501 Programı tarafından desteklenmektedir (Proje kodu: 114Z343)

Anahtar Kelimeler: doğal öldürücü hücreler, eksozomlar, tümör, FPLC

PP-062

Kanser İmmünoterapisinde Özgün Bir Yaklaşım: T Hücre Reseptörü Sentezleyen Doğal Öldürücü Hücreler

Ayhan Parlar¹, Cevriye Pamukçu¹, Didem Özkazanç², Carin Dahlberg², Michael Chrobok², Pegah Zahedimaram¹, Lolai Ikromzoda¹, Mertkaya Aras¹, Canan Sayitoğlu³, Evren Alıcı², Batu Erman^{1,2}, Adil Doğanay Duru³, Tolga Sütü^{1,4}

¹Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, İstanbul

²Center for Hematology and Regenerative Medicine, Karolinska University Hospital Huddinge, Karolinska Institutet, Stockholm

³NSU Cell Therapy Institute, Nova Southeastern University, Fort Lauderdale, FL

⁴Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul

Doğal Öldürücü (NK) hücreler, adoptif kanser immünoterapisinde umut verici ajanlar olarak ön plana çıkmaktadır ve son yıllarda birçok NK bazlı anti-kanser ürünleri klinik çalışmalarda umut vadeden sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Daha da etkili NK hücresi tedavileri geliştirebilmek için, hazırlanan hücrelerin güvenlik, etkinlik ve belirli bir antijene karşı özgüllük gibi özelliklerini artıran yeni yaklaşımlar geliştirmek gereklidir. Bu amaçla şimdiye kadar yapılan çalışmalarda yaygın olarak kullanılan yöntem kimerik antijen reseptörleri (CAR) vasıtasıyla NK hücrelerini spesifik bir antijene karşı hedeflemek olmuştur.

Kanser immünoterapisinde yoğun bir şekilde kullanılan T hücre reseptörü (TCR) gen terapisi, T hücrelerinin sitotoksik aktivitesini belirli bir tümör antijeni epitopuna karşı yönlendirebilmek için geliştirilmiş bir yöntemdir. TCR molekülünün heterodimerik yapısı sebebiyle, dışarıdan verilen alfa ve beta zincirlerinin hücrenin içerisinde sentezlenen alfa ya da beta zincirleriyle eşleşme riski vardır. Bu olgu yanlış eşleşme problemi olarak adlandırılmakta ve özgüllüğü bilinmeyen ve potansiyel olarak hayati yan etkileri olabilecek otoimmün T hücre reseptörleri oluşturma riski taşımaktadır.

Bu çalışmada, TCR gen terapisi için NK hücrelerinin kullanılarak yeni bir NK bazlı ürün geliştirilmesi önerilmektedir. TCR genlerini NK hücrelerine transfer ederek spesifik tümör antijenlerini seçici olarak tanıması için tekrar programlanmayı amaçlanmaktadır. Sonuçlarımız, lentiviral gen transferi aracılığıyla TCR kompleksini NK hücrelerinde ifade etmenin antijen-spesifik sitotoksikite aktivitesinin çarpıcı bir şekilde artırdığını göstermiştir.

Şu ana kadar yapılan çalışmalarda NK hücresine TCR gen transferi yaklaşımı hiç denenmemiştir. Bulduğumuz bu yöntem kanser immünoterapisi alanında yeni bir yaklaşım olmakla kalmayıp aynı zamanda TCR gen terapisinde görülen yanlış eşleşme sorununun nihai ve kesin çözümüdür.

Anahtar Kelimeler: doğal öldürücü (NK) hücre, TCR gen terapisi, kanser immünoterapisi

PP-063

Çocuk Hastalarda Anti-nükleer Antikor Pozitifliklerinin Değerlendirilmesi; Sakarya

Engin Karakeçe¹, Özlem Aydemir¹, Hüseyin Agah Terzi¹, Mehmet Köroğlu², Mustafa Altındış²

¹Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya

²Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

Otoimmün hastalıklar, çocuklarda ciddi komplikasyonlara ve büyüme-gelişme geriliğine neden olabilen önemli bir hastalık grubudur. Yetişkenlerde olduğu gibi çocuk hastalarda da otoimmün hastalıkların tanısı, prognozu, aktivitesi ve tedavinin takibinde otoantikorların saptanması önemli yol gösterici olabilir. Bu çalışmada çocuk hastalarda otoantikor araştırılması için gönderilen serum örneklerinde alınan sonuçların retrospektif değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Hastanemizde, 01 Ocak 2015-31 Aralık 2016 tarihleri arasındaki 2 yıllık sürede, otoimmün hastalık şüphesiyle otoantikor aranması istenen 276 çocuk hasta değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmada maymun Hep 20-10 (Euroimmün, Almanya) hücreleri ile hazırlanan preparatlar üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlanarak Eurostar III (Euroimmün, Almanya) floresan mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Değerlendirilen 276 hasta örneğinde değişik titre ve motiflerde %25.3'ünde (n=70) ANA pozitifliği saptanmıştır. Pozitif olarak bildirilen hastaların; %75.7'sinde (n=41) nükleer granüler motif, %8.5'inde (n=6) nükleoler motif pozitifliği bildirilmiştir. Nükleer granüler motif tesbit edilen hastaların %34.1'i (n=14) trombositopeni, %26.8'i (n=11) eklem ağrısı şikayeti ile başvurmuşlardır. Trombositopeni ile başvuran hastaların %57.1'sine (n=8) İdiopatik Trombositopenik Purpura tanısı konmuştur.

Çocuk hastalarda ayrıntılı anamnez ve iyi bir fizik muayenenin yanında iyi seçilmiş laboratuvar testleri hastalık tanısı konmasında çok yol göstericidir. Bu çalışma ile Sakarya ve çevresinde çocuk hastalarda ANA pozitifliği ile ilgili ilk veriler değerlendirilmiştir. Bu sonuçlar, yöremizdeki çocuk hastalarda otoimmün hastalık tanısı konmasında yol gösterici olacak ve ülkemiz verilerine katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: anti-nükleer antikor, çocuk romatolojisi, otoimmünite

PP-064

Anti Endomisyum Antikor Yöntemi ile Gluten Enteropatisi Sıklığının Değerlendirilmesi; Sakarya

Engin Karakeçe¹, Hüseyin Agah Terzi¹, Özlem Aydemir¹, Mehmet Köroğlu², Mustafa Altındış²

¹Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya

²Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

Çölyak Hastalığı; gluten intoleransı sonucu ortaya çıkan, sıklıkla çocukluk çağı hastalığı olarak kabul edilse de herhangi bir yaşta başlayabilen ve yaşam boyu süren otoimmün bir enteropatidir. Genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin etkisi ile ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalıktır. Çalışmamızın amacı bölgemizdeki Çölyak Hastalığı sıklığını tespit etmektir.

01 Ocak 2014-31 Aralık 2016 tarihleri arasındaki hastanemizin çeşitli kliniklerine başvuran ve Çölyak Hastalığı şüphesi ile Anti Endomisyum Antikor (EMA) aranması istenen 2778 serum örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada maymun karaciğer (Euroimmun, Almanya) hücreleri ile hazırlanan preparatlar üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlanarak, Eurostar III (Euroimmun, Almanya) floresan mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Örneklerin; 1078'i (%38.8) Çocuk Hastalıkları, 852'si (%30.6) Gastroenteroloji, 469'u (%16.9) Dahiliye, 216'sı (%7.7) Endokrin, 71'i(%2.5) Hematoloji ve 92'si (%3.3) diğer kliniklerden gönderilmiştir. İncelenen 2778 hasta örneğinin 40'ında (%1.4) EMA pozitif bulundu. Pozitif hasta sonuçlarınının 10'i (%25) Çocuk Hastalıkları, 25'u (%62.5) Gastroenteroloji, 5'i (%12.5) Dahiliye kliniğinden gelen hastalarda saptanmıştır. EMA antikor pozitif hastaların 8'i (%20) erkek, 32'si (%80) kadın olarak saptanmıştır. Pozitif bulunan hastaların başvuru şikâyetleri; dispepsi, karın ağrısı, puberte bozukluğu, hiperglisemi, boy kısalığı, tedaviye dirençli anemi idi.

Hastalık tanısında altın standart biyopsi ve özgül serolojik testlerin birlikte kullanılmasıdır. İnce bağırsak biyopsisinin patolojik görüntüsü tipiktir ancak patognomonik değildir. Tanıda kullandığımız indirekt immünfloresan ile EMA aranması yönteminin duyarlılığı; %94, özgüllüğü; %100'dür. Testlerdeki gelişmeler ile şüpheli hastalarda daha sık tanı konulmaya başlanmıştır. Bizim hastanemizde de tanı koyma oranları 2014 yılında %0.78, 2015 yılında %0.36, 2016 da ise %1.9 dur. Bu çalışma bölgemizde yapılan ilk çalışmadır ve bu sonuçlar ülkemizde yapılacak diğer araştırmalara yol göstermesi açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: anti endomisyum, çölyak hastalığı, gluten enteropatisi, indirekt immünfloresan

Kasa Özgü Kinaza Karşı Otoantikorlarla Gelişen Myasthenia Gravis (MuSK-MG) ile İlişkili HLA Tiplerinin Antikor İzotiplerine ve Sitokin Üretimine Etkisi

Merve Çebi¹, Hacer Durmuş Tekçe², Sibel P. Yentür¹, Yeşim Parman², Piraye Oflazer², Feza Deymeer², Güher Saruhan Direskeneli¹

¹İstanbul Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul

Myasthenia gravis (MG)'in küçük bir alt grubu kasa özgü kinaz (MuSK) proteinine karşı otoantikorlar ile gelişmektedir. Anti-MuSK otoantikorlar yüksek oranda IgG4 izotipindedir. MuSK-MG grubunda genetik yatkınlık HLA-DQB1*05, -DRB1*16 veya HLA-DRB1*14 ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışma MuSK-MG'de IgG izotiplerinin ve antikor ile ilişkili sitokin üretiminin genetik yatkınlık sağlayan HLA tipleri ile ilişkisini araştırmaktadır.

Anti-MuSK IgG1, G2, G3 ve G4 antikorların titresi ELISA yöntemi ile 30 MuSK-MG hastasının serumunda ölçülmüştür. Ayrıca ölçülen titrelerin ortalamasının %40'ı sınır alınarak "antikor pozitifliği" değerlendirilmiştir. Serum IL-6, IL-10 ve IL-17A düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. Hastalar DQB1*05 (+/-), DRB1*14 (+/-) ya da DRB1*16 (+/-) gruplara ayrılmıştır. Anti-MuSK IgG izotip titreleri ve sitokin düzeyleri parametrik olmayan Mann-Whitney testi ile, antikor pozitifliği ise i-kare (Fisher test) ile gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

Tüm hastalarda anti-MuSK antikorların izotipleri karşılaştırıldığında, IgG4 düzeyi IgG1, IgG2 ve IgG3'e göre yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,010$). IgG1 ve IgG3 düzeylerinin de IgG2'ye göre yüksek ($p = 0,004$, $p = 0,011$) olduğu görülmüştür. Hastalar DQB1*05, DRB1*14 ya da DRB1*16 varlığına göre gruplandırıldığında ise gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Tanımlanan antikor pozitifliğine göre karşılaştırmada ise DRB1*16 (+) grupta IgG1 DRB1*16 (-) gruba göre düşük bulunmuştur ($p = 0,01$).

Serum IL-17A düzeyleri ise DRB1*16 (+) grupta yüksek ($p = 0,048$), DRB1*14 (+) grupta ise düşük ölçülmüştür ($p = 0,023$).

DRB1*16 (+) grupta anti-MuSK IgG1 pozitifliğinin düşük çıkması bu grupta HLA'nın IgG1 dönüşümünde etkisi olabileceğini düşündürmektedir. IL-17A düzeyinin DRB1*16 ve DRB1*14 hasta gruplarında anlamlı fark göstermesi, DR molekülünün DQ molekülüne göre MuSK-MG'de immün yanıtta daha etkin rolü olabileceği tezini güçlendirmektedir.

Anahtar Kelimeler: HLA, anti-MuSK, IgG, ELISA, myasthenia gravis

Behçet Hastalarında Aktive Edici Doğal Öldürücü Reseptörler

Nilgün Sallakcı¹, Umut Can Küçüksezer², İlhan Tahralı², Esin Aktaş², Ahmet Gül³, Günnur Deniz²

¹Genetik Hastalıklar Tanı merkezi, Antalya

²İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

Behçet Hastalığı (BH) etyolojisi bilinmeyen sistemik enflamatuvar bir hastalıktır. BH'nın patogeneğinde genetik yatkınlığın yanında Doğal Öldürücü - Natural Killer (NK) hücrelerin immün disregülasyonu bildirilmiştir. NK hücreleri yüzeyinde bulunan aktive edici reseptörler aracılığıyla immün yanıtları düzenleyebilmekle birlikte NK hücre ve reseptörlerinin BH ile ilişkisini gösteren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda aktivasyon ve remisyon dönemi Behçet hastaları ve sağlıklı bireylerin periferik kan NK hücrelerinde NKp30, NKp46 ve NKG2D reseptör ekspresyon oranları ve proliferatif yanıtları araştırılmıştır.

Behçet (n=8, yaş=42) ve sağlıklı kontrol (n=4, yaş=35) örneklerinden elde edilen periferik kan mononükleer hücreler (PKMH) IL-12, IL-15, IL-18 ve IL-23 kombinasyonları ile 40 saat inkübe edilmiş, inkübasyon sonrası hücreler farklı florokrom işaretli antikolarla sekiz-renkli boyanarak akan hücre ölçer cihazında değerlendirilmiştir. Proliferatif aktivite ise CFSE metodu ile değerlendirilmiştir.

CD3-CD16+NKG2D+, CD3-CD16+NKp30+ ve CD3-CD16+NKp46+ hücre oranları uyarımsız koşulda remisyon grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre düşük saptanmıştır (p=0.029, p=0.043 ve p=0.029, sırasıyla). Benzer şekilde CD3-CD16+NKp30+ ve CD3-CD16+NKp46+ hücre oranları IL-23 + IL-15 ile uyarım sonrası remisyon grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre azalmıştır (p=0.036). PKMH'lerin IL-12+IL-15, IL-18+IL-15 ve IL-23+IL-15 sitokin kombinasyonları ile uyarımı sonrasında Behçet hasta CD3-56+ NK hücrelerinin proliferasyon kapasiteleri sağlıklı kontrol grubuna göre artış göstermiştir (p=0.001).

Bulgularımız, Behçet hastalarında NK hücre aktive edici reseptör ekspresyon düşüklüğünün hastalık etiopatogeneğinde rol oynayabileceği ve NK hücre proliferatif yanıtında IL-15 sitokininin sorumlu olabileceği yönündedir

Anahtar Kelimeler: Behçet hastalığı, NKp30, NKp46, NK hücreleri

PP-070

Paraneoplastik Sendrom Olgularında Anti-nöronal Antikor ve Kanser Varlığının Prognoza Olan Etkisi

Erdem Tüzün¹, Çağla Aydın¹, Canan Ulusoy¹, Şenay Yıldız Çelik², Sema İçöz², Murat Kürtüncü²

¹İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar DETAE, Sinirbilim Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul

Anti-nöronal antikorlar (ANA), paraneoplastik sendrom (PNS) olgularında bir kanser eşliğinde veya kanser olmaksızın ortaya çıkabilirler. Çalışmamızda ANA pozitifliği ile ilişkili prognostik faktörlerin saptanması amaçlanmıştır.

İstanbul Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'nda PNS tanısı ile izlenen ve ANA pozitifliği saptanan 40 olgu çalışmaya dahil edildi. Olguların antikorları immünfloresan boyama, immünoblot (Hu, CV2, Ri, Yo, Ma2, amfifizin, titin, Sox1, Zic4, GAD65, Tr/DNER, rekoverin) ve hücre temelli test (NMDAR, LGI1, CASPR2, AMPAR, GABABR transfekte insan embriyonal böbrek hücreleri) yöntemleri ile saptandı. Hastaların demografik özellikleri, Rankin skorları ve nörolojik sendromları kaydedildi.

Hastaların nörolojik bulgularının ortalama başlangıç yaşı 47.9 ± 12.3 idi. Saptanan antikorlar 13 olguda anti-Hu, 8 olguda anti-NMDAR, 7 olguda anti-Ma2, 4 olguda anti-Yo, 3 olguda anti-GAD ve 1'er olguda anti-Ri, anti-amfifizin, anti-CV2, anti-GABABR ve anti-Zic4 idi. GABABR antikoru pozitif hastada aynı zamanda Sox1 antikoru da saptandı. Eşlik eden nörolojik sendromlar 14 olguda limbik ensefalit, 11 olguda serebellar dejenerasyon, 7 olguda beyin sapı ensefaliti, 5 olguda subakut duysal nöronopati, 2 olguda stiff-person sendromu ve 1 olguda opsoklonus-miyoklonus idi. Olguların 16'sında kanser (akciğer, meme, over kanseri ve over teratomu) saptandı. Ortalama 3.5 ± 2.1 yıllık takiple hastaların 12'sinin kaybedildiği gözlemlendi. Cox regresyon analizi sonucunda kanser varlığının sağkalıma etkisi olmadığı saptandı.

Çalışmamız PNS olgularında esas etkili prognostik faktörün kanserden çok nörolojik tutulum olduğunu düşündürmüştür. Erken PNS tanısı ve tedavi başlangıcının PNS olgularında en önemli destekleyici özellik olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: paraneoplastik, antikor, sağkalım

PP-071

Farklı Kefir Kùltürleri Kullanılarak Üretilen Kefirlerin *in vivo* İmmunolojik Karşılaştırılması

Funda Davras, Tuğba Kùk Taş

Sùleyman Demirel Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

İmmün sisteme stres, sağlıksız beslenme ve obezitenin etkisi çalışma makalelerinde belirtilmiştir. Tüketilen gıdaların %90'ı ince bağırsaklarda emilmekte; ayrıca probiyotik bakterilerin canlılıkları kalın barsağa ulaşıncaya kadar devam etmektedir. Gastrointestinal sistemde mikrobiyal yük ve çeşitlilik yaş, probiyotik veya prebiyotik alımı, antimikrobiyal bileşenler gibi faktörler ile değişmektedir.

Probiyotikler canlı mikrobiyal besin destekleridir. Probiyotik özelliği ile ön plana çıkan kefir fermente içeğeğinin antikanserojenik etkisi, antidiyabetik etkisi, kolesterolü düşürücü etkisi, sindirim sistemine etkisi, bağışıklık sistemine etkisi, laktoz intoleransa etkisi, antialerjik özelliği, antimikrobiyal özelliği ve etkileri birçoğ araştırma makalelerinde belirtilmiştir.

Probiyotikler IgA üretimini arttırmakta, antijene özgü olan immün yanıtına yardımcı olarak immün sistemi de düzenlemektedir. Probiyotikler IL-10 ve TGF-beta gibi intestinal antiinflamatuvar sitokin üretimini artırırken, TNF- α , IFN- γ , IL-8 gibi proenflamatuvar sitokin üretimini düşürdükleri araştırmalarda belirtilmektedir.

Çalışmanın amacı; doğal kefir danesinde bulunan probiyotik özellikli mikroorganizmaların immün sistemine etkisini bazı parametrelerle belirlemek ve starter kùltür kefiri ile karşılaştırmaktır.

Yapılan çalışmada 6-8 haftalık Balb/c farelerine farklı kefir kùltürlerinden üretilen kefir örnekleri iki hafta boyunca günde bir kez 0,3 mg/g miktarda gavaj yoluyla verilmiştir. Kontrol grubu farelere ise fosfat buffer verilmiştir. 15.günde sakrafiye edilen farelerin intesinal sıvı örneklerinde; İmmünoglobülin(Ig)A, IgG, İnterlökin (IL)-4, IL-10, IL-12 ve TLR-4 düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir.

Çalışma bulgularına göre IgA, IgG, IL4, IL10, IL12, TLR4 düzeyleri doğal kefir danesi ile beslenen fare intestinal dokularında diğer fare gruplarına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada doğal kefir danesi kefirinin mikroflora zenginliği ve probiyotik özellikleri, starter kùltür kullanılarak üretilen kefire göre üstünlükleri belirlenmiştir. Araştırma bulguları literatüre katkı sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: immün sistem, *in vivo*, kefir danesi, probiyotik, starter kefir kùltürü

Morbid Obezite Cerrahisi Sonrası Adipokin (Resistin, IL-6, TNF- α) Düzeyleri

Fusun Özmen¹, Tefik Tolga Şahin², Anıl Dolgun³, Mehmet Mahir Özmen⁴

¹Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Adana

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Ankara

⁴Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul

GİRİŞ-AMAÇ: Obezite hipertrofiye adipozitlerin ve adipoz dokuya yerleşen immün hücrelerin neden olduğu pro-inflamatuvar bir durumdur. Obez hastalarda resistin, TNF- α ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar adipokinler artmaktadır. Bu çalışmanın amacı morbid obez hastalarda bariatrik cerrahinin resistin, TNF- α ve IL-6 düzeylerine olan etkisini araştırmaktır.

YÖNTEM: Çalışmaya 80 (13E) hasta dahil edildi ve bunların yarısına tek anastomozlu gastrik bypass (OAGB), diğer yarısına ise laparoskopik sleeve gastrektomi (LSG) uygulandı. Bu hastalardan preoperatif ve postoperatif 1. hafta, 1 ay. ve 3. aylarda kan örnekleri alınarak serumda resistin, TNF- α ve IL-6 düzeylerine bakıldı.

BULGULAR: LSG grubunda ortalama yaş 35(19-60), ortalama BKİ 43.3(40-53.2)kg/m² olarak bulundu. Resistin düzeyleri preoperatif dönemde ve postoperatif 1.hafta, 1. ve 3. aylarda sırasıyla 2608(862-5389) ng/ml, 3585(1069-8079)ng/ml, 2604(713-5699)ng/ml, 2636(990-5402)ng/ml olarak bulundu. OAGB grubunda ortalama yaş 38(22-65), ortalama BKİ 49(40.6-66.9)kg/m² idi. Resistin düzeyleri preoperatif dönemde ve postoperatif 1.hafta, 1. ve 3. aylarda sırasıyla 2473(892-6426)ng/ml, 3098(1016-6028)ng/ml, 2541(1015-5720)ng/ml, 2844(790-8482)ng/ml olarak bulundu. OAGB ve LSG grubu karşılaştırıldığında resistin düzeylerinde postoperatif belirtilen zamanlar arasında anlamlı bir fark saptandı (p<0.001). TNF- α ve IL-6 düzeylerinde çalışma grupları ve her grubun kendi içinde belirtilen zaman dilimleri arasında anlamlı fark saptanmadı(p>0.05).

SONUÇ: OAGB LSG'den daha etkin bir zayıflama sağladığından iki grup arasında resistin düzeyleri anlamlı olarak farklıdır. Resistin düzeylerinde ameliyat sonrası birinci haftada geçici bir yükselme görülmesine karşın, üçüncü ayda adipokin düzeylerinde belirgin değişim olmaması, takip süresinin kısalığı ve bu süredeki kilo kaybının düzeyi ile açıklanabilir. Öte yandan immünolojik parametreler diyabet varlığı ve obezite derecesinden direk etkilendiğinden, değişimler ancak alt-grup analizleri sonucunda daha net anlaşılacaktır.

Bu çalışma, 115S981 proje no ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: morbid obezite, resistin, TNF- α , IL-6, bariatrik cerrahi

PP-076

Yaygın Değişken İmmünyetmezlikle İzlenen Hastada Hedeflenmiş Yeni Nesil Dizileme Primer İmmünyetmezlik Paneli ile CD27 Defekti Saptanması

Çağman Tan, Begüm Özbek, Pınar Gür, Betül Karaatmaca, Deniz Çağdaş Ayvaz, İlhan Tezcan

Hacettepe Üniversitesi Pediatrik İmmünoloji, Ankara

Yaygın değişken immünyetmezlik (YDİY) hipogamaglobulinemi, antikor üretiminde eksiklik, tekrarlayan enfeksiyonlar ile karakterize olan bir primer hümorale immünyetmezliktir. Klinik bulgular en sık 2-5 yaş ve 16-20 yaşlar arasında ortaya çıkmaktadır. Tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar ile birlikte izlemde otoimmün, gastrointestinal bulgular ortaya çıkabilmektedir. Bu hastalarda en sık non-hodgkin lenfoma ve gastrointestinal malignite ortaya çıkabilmektedir. YDİY'lerin yaklaşık %10'unda moleküler genetik tanı konulabilmektedir. İlk kez 2 yaşında iken sık enfeksiyon geçirme şikayeti ile Hacettepe Üniversitesi İmmünoloji bölümünde değerlendirilen hastanın tekrarlayan pnömoni, otit ve orbital selülit hikayesi mevcuttu. Anne ve baba arasında 1. derece akrabalık olan hastanın kardeş ölüm hikayesi bulunmaktaydı. Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonu, hipogamaglobulinemisi yaygın değişken immün yetmezlik (YDİY) ile uyumlu olan hastanın; 3 yaşında IVIG tedavisi başladıktan sonra enfeksiyon sıklığının azaldığı, takiplerinde 13 yaşında Non-Hodgkin Lenfoma (NHL) tanısı aldığı, YDİY tanısı ile izlemi sırasında splenomegali ve sitopenisi devam eden hastanın bakılan EBV DNA kopya sayısı 3858 tespit edildi. Hedeflenmiş yeni nesil immünyetmezlik paneline alınan hasta ion reporter 5.2 software de MAF <0.02, YDYİ genlerinden oluşturulan filtre ile değerlendirilmesi sonucunda CD27 geninde defekt saptanmıştır. 12. kromozomda yer alan CD27 geninin intronik ve CD27 antisense RNA 1 geninin ise splicesite bölgesinde 6559338 pozisyonunda homozigot G/T değişimi tespit edildi. Mutation taster veri bankası kullanılarak bu değişimin hastalığa neden olduğu doğrulandı. CD27 gen defekti tespit edilen hastanın akım sitometrik olarak CD27 ekspresyonunun olmadığı gösterilerek CD27 defekti doğrulandı.

Anahtar Kelimeler: hedeflenmiş yeni nesil dizileme, yaygın değişken immünyetmezlik, CD27

PP-077

Kistik Ekinokokkozis'li Olgularda Bazı Sitokin (IL-4, IL-5, IL-8, IL-12p70, IL-33) Düzeylerinin Araştırılması

Oktay Alver¹, Erol Ayaz², Hayrettin Akdeniz³, Şeyda Özsoy Karabörk⁴

¹Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa

²Abant İzzet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Bolu

³Abant İzzet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Bolu

⁴Abant İzzet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bolu

AMAÇ: Kistik ekinokokkozis (KE) *Echinococcus granulosus*'un neden olduğu paraziter bir hastalıktır. Sitokinler, hücreler arasındaki iletişimi sağlayan çeşitli biyolojik fonksiyonları düzenleyen protein yapısındaki maddelerdir. Bu çalışmada kliniklere ilk başvuruda Kistik Ekinokokkozis öntanısı konulan ve Hydatidosis indirekt hemaglutinasyon (IHA) testi pozitif çıkan olgularda IL-4, IL-5, IL-8, IL-12p70 ve IL-33 sitokinlerin serum düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Bu çalışmaya Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesinin farklı kliniklerine ilk başvuruda KE öntanısı konulan ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Hydatidosis IHA (Hydatidose, Fumouze Laboratoires, France) testi pozitif çıkan olgular (10 erkek, 16 kadın) dahil edilmiştir. Üretici firma önerilerine göre $\geq 1/160$ serum dilüsyon titreleri pozitif olarak kabul edilmiştir. Kontrol grubu (7 erkek, 19 kadın) olarak Hydatidosis IHA testi negatif çıkanlar çalışmaya dahil edilmiştir. IL-4, IL-5, IL-8 ve IL-12p70 sitokinlerin serum düzeyleri (pg/ml) mikro ELISA kiti [Milliplex MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel, Millipore Corp. (Cat. No. HCYTOMAG-60K Billerica, MA)], IL-33 sitokin serum düzeyi ise tekli mikro ELISA kiti [Immuno-Biological Laboratories, Inc. (IBL-America)] ile üretici firma önerileri dikkate alınarak saptanmıştır. Verilerin istatistiksel analizi SPSS23.0 istatistik paket programında yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi $\alpha=0.05$ olarak belirlenmiştir.

BULGULAR: Çalışmada hasta grubunda hem Th1 (IL-12p70) ve Th2 (IL-4, IL-5, IL-33) hücrelerden salgılanan sitokinlerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da artışın olması kayda değer bulunmuştur. KE hastaları ile kontrol grubu arasında IL-8 serum sitokin düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,002$).

SONUÇ: Çalışmamızda hasta grubunda anlamlı olarak yüksek saptanan ve proenflamatuar bir sitokin olan IL-8'nin *E. granulosus*'un etkilediği organlara efektör hücrelerin muhtemel kemotaksisini sağlayabildiği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokkozis, sitokinler, IL-33, indirekt hemaglutinasyon testi

PP-080

Timektomi Sonrası Zona Zoster Enfeksiyonu Geçiren Miyastenia Gravis hastası

Şule Aydın Türkoğlu¹, Muhammed Nur Ögün¹, Şeyda Karabörk², Betül Şereflican³, Burak Töngü⁴, Nebil Yıldız¹

¹AİBÜ Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, Bolu

²AİBÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bolu

³AİBÜ Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı, Bolu

⁴AİBÜ Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Bolu

GİRİŞ, AMAÇ: Otoimmün bir hastalık olan Myasthenia Gravis (MG)'te, Asetilkolin reseptörüne (AChR) karşı oluşan antikolar postsinaptik membranı tahrip ederek nöromüsküler kavşaklarda AChR sayısının azalması ile gerçekleşmektedir. Hastaların pek çoğunda timoma tespit edilmekte ve timektomi ile hastalığın tedaviye yanıtında artma gözlenmektedir. Biz burada MG nedeniyle timektomi uygulandıktan 24 gün sonra Zona Zoster enfeksiyonu gelişen bir kadın hastadan bahsedeceğiz.

OLGU: 24 yaşında kadın hasta yaklaşık 6 ay önce gün içinde akşama doğru artan her iki göz kapağında düşme ve yorgunlukta artma şikayeti ile başvuruyor. Başlanan pridostigmin 180 mg/gün tedavisine kısmen yanıt alınarak prednisolon 10 mg/gün başlanıyor. Anti-asetilkolin reseptör antikoru normal sınırlarda (0.01 nmol.L) tespit ediliyor. EMG de ardısıra uyarım yanıtları ve tek lif EMG jitter yanıtları normal sınırlarda tespit ediliyor. Yapılan Toraks BT de üst mediastende prevasküler alanda 17x10 mm boyutlu yumuşak doku dansitesinde kitle lezyonu tespit edilerek Toraks MR da bu kitlenin timoma ile uyumlu olduğu bulunuyor. Hastaya yapılan robotik timektomi sonrası 24. gününde döküntülü, yan ağrıları başlıyor. Sağ torakal alandan göğüs ön yüze kadar uzanan alanda eritemli zeminde grube veziküller Zona Zoster enfeksiyonu ile uyumlu bulunup antiviral (Brivudin 125 mg/gün) tedavi sonrasında şikayetlerinde kısmi düzelmeye gözleniyor.

TARTIŞMA: Timoma ile fırsatçı enfeksiyonlar arasındaki ilişki bilinmektedir. Aynı zamanda timektomi sonrasında fırsatçı enfeksiyonların geliştiğine dair yayınlar da bulunmaktadır. Bu enfeksiyonların oluşumunda otoimmünite ve immünyetmezlik suçlanmaktadır. Bizim olgumuzda ki gibi MG nedeniyle timektomi uygulandıktan sonra Zona Zoster enfeksiyonu gelişen olgu literatürde çok nadir tanımlandığı için bu olguyu sunmayı uygun gördük.

Anahtar Kelimeler: miyastenia gravis, zona zoster, timoma, timektomi

PP-086

RRMS Hastalarının Periferal Kan Mononükleer İmmün Hücrelerinin Profillenmesi

Ceyda Çalışkan¹, Bengisu Gelmez¹, Gülşah Yaran¹, Serkan Özakbaş², Ayten Nalbant¹

¹Moleküler İmmünoloji Laboratuvarı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir

²Nöroloji Anabilim Dalı, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir

Multipl Skleroz (MS), sinir hücrelerini saran myelin kılıfın dejenerasyonu ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. MS üç gruba ayrılmaktadır. Bunlardan birisi de Relapsing-Remitting MS'dir (RRMS), ancak bu hastaların periferal kan mononükleer hücrelerinin (PBMC) karakterizasyonu literatürde ayrıntılı olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı yeni tanı konmuş, tedavisi başlanmamış RRMS'ler immün sistem hücrelerinin profillerinin çıkarılmasıdır. Bunun için; RRMS hastalarının periferal kanı alındı. PBMC, kandan ficol yoğunluk gradiyent santrifigasyonu ile elde edildi ve hücrelerin fenotipik karakterizasyonu CD3, CD4, CD8, CD14, CD19, CD45RA, CD45RO, CD69 ve CD25 gibi yüzey moleküllerinin ölçümüyle gerçekleştirildi. Ayrıca CD4+ T lenfositlerinin apoptoza duyarlılığı FAS, Anneksin V ve 7AAD ile ölçüldü. Çalışmada etik kurul izinleri alınan 11 RRMS, 5 sağlıklı donör kullanıldı. Örnekler Guava Akım sitometrisinde okutuldu. Verilerin istatistiksel analizinde Mann Whitney U testi ile GraphPad Prism (Ver5.00) kullanıldı. Elde ettiğimiz verilere göre sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında RRMS hastalarının totalde CD4+T hücrelerinin ($p=0,030$) ve CD14+ monositlerinin ($p=0,039$) yüzdesinin anlamlı olarak düşük olduğu belirlendi. CD3+ T lenfositlerin, CD19+ B hücrelerin, CD8+ Sitotoksik T hücrelerin, CD3+CD45RA+, CD3+CD45RO+, CD4+CD25+, CD4+CD69+ hücrelerin oranında ise anlamlı bir değişim saptanmadı. Ayrıca RRMS hastalarında CD4+ T hücrelerin sağlıklı kontrollere göre FAS proteinin ifadesinin ($p=0,023$) ve CD4+Fas+ hücrelerinin apoptotik (Annexin V+7AAD+) duyarlılığının düşük olduğu belirlendi ($p=0.0092$). Sonuç olarak, RRMS hastalarında monositlerin, CD4+ T hücrelerin sayıca az olduğu, naif, hafıza, ve aktif T hücrelerinin, B hücrelerin ve CD8+ hücrelerin sayısının değişmediği tespit edildi. Düşük seviyede Fas ifade eden RRMS'lerin CD4+ T hücrelerinin aynı zamanda apoptoza dirençli olduğu belirlendi. Elde edilen veriler, RRMS hastalarının patogenezinde etkili olabilecek hücre populasyonlarının belirlenmesi açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: RRMS, mononükleer immün hücreler, T hücreleri, akım sitometrisi

PP-087

Meme Kanseri Hücrelerinde Glukokortikoid ile İndüklenen Tümör Nekroz Faktör Reseptör (GITR)- GITR Ligand (GITRL) Etkileşiminin Düşük Doz İyonlaştırıcı Radyasyon Varlığında İncelenmesi

Bengisu Uluata Dayanç¹, Güneş Esendağlı¹, Emre Dayanç²

¹Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

²İzmir Ekonomi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, İzmir

GİRİŞ ve AMAÇLAR: Bazal benzeri meme kanserleri (BBMK) kötü prognoz ve yüksek mortalite gösterir ve tedavi seçenekleri sınırlıdır. Nüks ve tedavi direncinin sebepleri arasında tedavi ajanlarının yarattığı strese adaptasyon gösteren kanser kök hücrelerini yüksek oranda içermesi gösterilmektedir. İyonlaştırıcı radyasyon aracılı oluşturulan çift zincir kırıkları kanser başlatıcı hücrelerde DNA hasarının onarılması adına hücresel döngünün durdurulması ile sonuçlanır. Bu kırıkların varlığı DNA hasar onarım yolağında Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) proteini tarafından algılanır, böylelikle hücreler DNA hasarına rağmen hayatta kalmayı başarırlar ve hastalarda rekürans ile sonuçlanmaktadır. GITR ligandının T hücresi aracılı anti-tümör immünitinin sağlanmasında yardımcı olduğu bilinmektedir. Fakat GITR- GITR ligandı etkileşiminin immün hücresi dışındaki hücrelerde fonksiyonel etkileri bilinmemektedir. Çalışmamız, BBMK'de bu etkileşimin doğrudan tümör hücrelerinin çoğalması ve canlılığına olan etkisini araştırmaktadır.

METODLAR: BBMK hücre hatlarında (MDA-MB-468, MDA-MB-231, HCC-38) 5Gy ve 10Gy iyonlaştırıcı radyasyona bağlı ATM S1981 fosforlanma dinamiği araştırılmıştır. GITR, GITRL ekspresyon seviyelerindeki radyasyon bağımlı değişim belirlenmiştir. HCC38, rekombinant GITRL proteini ile farklı serum içeren ortamlarda muamele edilmiştir ve hücre canlılık testleri ile kanser hücrelerinin GITR-GITRL etkileşimine bağlı fonksiyonlarındaki değişim incelenmiştir.

SONUÇLAR: Radyasyon sonrası GITRL ifadesi düşük, GITR yüksek ekspresyonuna sahip hücre hattı HCC38 olarak belirlenmiştir. BBMK hücre hatlarında ATM ekspresyonu ve fosforlanma dinamiği 5Gy ve 10Gy iyonlaştırıcı radyasyon ile değişmiştir. HCC38 hücre hattı 5-20-80 ng/ml rekombinant GITRL ile %1 ve %10 FBS içeren besiyerlerde radyasyon varlığında/yokluğunda muamele edilmiş, serum starvasyon durumunda hücrelerin apoptoza daha dirençli olduğu gözlemlenmiştir. Amplifiye edilen ATM geni promotor bölgesi pGL3 Lusiferaz raporlayıcı vektöre klonlanmıştır, seçilen meme kanseri hücre hattına transfeksiyonu sonrası radyasyon verilerek Lusiferaz assay aracılığıyla radyasyon bağımlı ekspresyon değişimine bakılacaktır

Anahtar Kelimeler: ATM, BBMK, GITR, GITRL, iyonlaştırıcı radyasyon

PP-088

KontROLSÜZ ENFLAMAZOM AKTİVASYONUNDAN KAYNAKLI HASTALIKLARDA İMMÜN BASKILAYICI SENTETİK OLIGODEOKSİNÜKLEOTİD A151'İN TERAPÖTİK AJAN OLARAK ETKİLERİ

Naz Sürücü¹, Esin Alpdünder Bulut¹, İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹

¹ODTÜ, Biyolojik Bilimler, Ankara

²Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Departmanı, Ankara

Enflamazomlar, doğal immün sistem tarafından patojenik tehlike oluşturabilecek moleküllere karşı enflamatuar reaksiyonun tetiklenmesi ve sürdürülmesi için hücre içi sinyal yollarına platform görevi yapan multi-proteinlerdir. NOD-benzeri reseptör, ASC proteini ve pro-kaspaz 1'in bir araya gelmesiyle oluşan enflamazomlar, kaspaz-1 aktivasyonuna, piroptoz aracılı hücre ölümüne ve IL-1/IL-18 sitokinlerinin olgunlaşım enflamatuar yanıtın başlatılmasına sebep olurlar. Düzensiz enflamazom aktivasyonunun multiple skleroz, tip-2 diabet, gut, Alzheimer, ve ateroskleroz gibi metabolik ve nörodejeneratif hastalıklarla bağdaştırılmasıyla terapötik açıdan baskılanmalarının önemi artmıştır. TTAGGG motifleri içeren baskılayıcı sentetik oligodeoksinükleotid(ODN) A151'in dsDNA gibi immün uyarıcı moleküllerle rekabet ederek sitozolik algılama yollarının aktivasyonunu önlediği bilinmektedir. Bu çalışmada, immün baskılayıcı A151 ODN'in THP1 monositik hücre hattında NLRC4, AIM2, NLRP3 enflamazomları ve kaspaz11/4-5 bağımlı dolaylı enflamazom aktivasyonuna etkisi değerlendirilmiştir. Bu amaçla, enflamazom aktivasyonu belirteci olarak IL-1 β ile ASC zerrecik oluşumu ve salımı ile hücre ölüm yüzdesi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre A151 ODN, AIM2, NLRC4, ve dolaylı aktivasyonu görülen enflamazom yollarını belirli ölçüde baskılayabilirken NLRP3 enflamazomunun aktivasyonunda değişime sebep olmamıştır. Bu verilere göre, A151 ODN'in AIM2, NLRC4, ve dolaylı enflamazomların kontrolsüz aktivasyonu sebebiyle meydana gelen patolojik durumlarda terapötik ajan olarak kullanım potansiyeli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: A151 ODN, enflamazom, kaspaz-1, piroptoz

PP-089

İnsan Eftör Th17 Hücrelerinde RORC2 Transkripsiyon Faktörünün Ortakları

Ayten Nalbant, Günel Alizada

Moleküler İmmünoloji Laboratuvarı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir

Yakın zaman önce İnterlökin (IL)-17 sitokini üreten yeni bir yardımcı T hücre alt grubu bulundu ve bu hücelere yardımcı T 17 (Th17) hüceleri denildi. Bu hücelerin otoimmün hastalıklar, kanser gibi çeşitli hastalıklarla rol oynadıkları belirlendi. Th17 hücelerinin IL-17 yanında RORC2 transkripsiyon faktörünü, IL-17F, IL-22, IL-21 ve CCR6 gibi sitokin ve kemokinleri ifade ettikleri gösterildi. Ancak insan Th17 hücelerinin farklılaşmasında rol oynayan RORC2'nin hangi faktör ve/veya faktörlerle ve nasıl etkileştiği henüz tam olarak bilinmemektedir. Dolayısıyla, bu çalışmada RORC2 transkripsiyon faktörünün partnerlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için etik kurul izni alınan sağlıklı ve gönüllü donörlerin kanları alındı ve periferal kan mononükleer hüceleri (PBMC) ayrıştırıldı. Bu hücelerden naif CD4+ T hüceleri magnetik ayırma ile izole edildi ve CD45RA (%98) ifadesi ayrıştırma saflığı ve naiflik için ölçüldü. Naif CD4+ T hüceleri Th17 farklılaşmasını sağlayacak koşullarda 3, 5, ve 7 günlük költürlere tabi tutuldu ve besiyeri negatif kontrol olarak kullanıldı. Hücelerin Th17 olmaları IL-17, IL-21, CCR6 ve RORC gibi Th17 fenotipine ait moleküllerin ifadelerine bakılarak takip edildi. Th17 olan hücelerden lizat oluşturuldu ve RORC2 ile immünopresipitasyon (IP) yapıldı. Örnekler SDS-PAGE üzerinde ayrıştırıldı, ilgili bantlar kesildi ve bantların içerdiği proteinler nanoHPLC-ESI-MS/MS ile analiz edildi. Mascot sonuçları RORC2 ile etkileşen proteinlerin, clathrin ağır zincir 1, tubulin beta zincir izoform b, aktin sitoplazmik 1, Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz izoform 1 (GAPDH) olduğunu gösterdi. RORC2 ile çöken proteinlerin bazıları western blot ile de gösterildi. RORC transkripsiyon faktörünün Th17 hücelerinin farklılaşmasındaki rolünün moleküler mekanizmalarının açığa çıkarılması, bu hücelerin patolojideki rollerinin anlaşılmasına ve tedavi hedeflerinin belirlenmesine vesile olacaktır (113Z362 nolu proje TÜBİTAK tarafından destekledi).

Anahtar Kelimeler: T hüceleri, insan Th17 farklılaşması, RORC2, transkripsiyon faktörleri

PP-090

Miyeloid-kökenli Baskılayıcı Hücre (MKBH) Yüzey Moleküllerinin Ait Transkript Varyantlarının Özgül ve Yeni Biyobelirteçler Olarak Değerlendirilmesi

Diğdem Yöyen Ermiş¹, Utku Horzum¹, Erhan Hamaloğlu², Derya Karakoç², Kerim Bora Yılmaz³, Güneş Esendağlı¹

¹Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

³Dışkapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

GİRİŞ-AMAÇ: Kanserdeki kronik inflmasyon sürecinde, kemik iliği normalin üzerinde çalışır ve olgunlaşmasını tamamlayamamış miyeloid hücreler dolaşıma geçer. Miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler (MKBH) olarak tanımlanmış bu hücreler, hem dolaşımda, hem de tümör dokusuna infiltre olarak immün baskılamaya sebep olurlar. Bu hücreler, olgun miyeloid hücrelerle çoğu yüzey belirteci açısından benzerlik gösterir ve literatürde bu hücreleri tespit edebilmek adına önerilen bir belirteç bulunmamaktadır.

MATERYAL VE METOD: Çalışmamızda kolorektal ve meme kanseri hastalarının periferik kan örnekleri toplanarak 1.077g/ml ve 1.119 g/ml olmak üzere iki farklı Ficoll gradiyent santrifüjleme yöntemi ile hücreleri izole edilmiştir. Hücrelerden RNA izolasyonu gerçekleştirilerek cDNA elde edilmiştir. Ayrıca, bu hücrelerin fonksiyonel özelliklerini belirlemek için DCFDA ve DAF-2 DA ajanları kullanılarak sırasıyla ROS ve NO üretme kapasiteleri belirlenmiştir. CFSE-proliferasyon analizi ile T-hücre baskılama deneyleri gerçekleştirilmiştir

SONUÇLAR VE TARTIŞMA: Sağlıklı kontrol ve kanser hastalarından toplanan hücreler ifade ettikleri miyeloid hücre yüzey belirteçlerine ait transkript varyantlarına (tv) göre incelenmiştir. CD40 tv1,tv2,tv3; CD44 tv1,tv2,tv3,tv4,tv5,tv6,tv7,tv8; CD274 tv1; ADGRE1 tv2,tv5; CD1D tv1,tv2; IL1R1 tv1,tv2,tv6,tv7,tv8,v9; IL4R tv1,tv4,tv5; TFRC tv2; CEACAM1 tv1,tv2,tv4,tv6; CEACAM21 tv1,tv2,tv4; FLT1 tv2,tv4; IL6ST tv1,tv2,tv3; ITGAL tv1, CD16 tv1,tv2; CD33 tv2,tv3 artış veya azalış yönünde kanser hastaları ve sağlıklı kontroller açısından fark bulunmuştur. Kanser hastalarından elde edilen her iki fazdaki granülositik hücrelerin sağlıklı kontrolden elde edilen hücrelere göre kıyaslandığında T hücre yanıtlarını baskılamıştır. Bu hücrelerin normal miyeloid hücre belirteçlerinin farklı varyantlarını eksprese edebilme kapasitesine sahip olduğu için kanser tedavilerinde hedeflenebileceği düşünülmektedir.

* Bu çalışma TUBITAK(Proje no:115S636) Avrupa Birliği Projesi olarak desteklenmektedir.

* Çalışmamız European Cooperation in Science and Technology(COSTEU) Action BM1404(Mye-EUNITER) desteği ile yürütülmektedir.

Anahtar Kelimeler: miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler, transkript varyantları, immünoterapi hedefleme, immün baskılama, tümör immünolojisi

PP-091

İnfanfil Atopik Hastalarda Artmış Serum Periostin Düzeyleri

Asuman Gürkan¹, Cemile Sönmez², Ayşegül Atak Yücel³, İlknur Bostancı⁴

¹Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Dermatoloji Bölümü, Ankara

²Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Ankara

⁴Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Allerji-İmmünoloji Bölümü, Ankara

AMAÇ: Atopik dermatit, çocukluk çağında yaygın olarak görülen kronik, enflamatuvar ve kaşıntılı bir deri hastalığıdır. Hastalığın immünopatogenezinde Th2 sitokinler önemlidir. Bir ekstrasellüler matriks proteini olan ve Th2 sitokinleri ile indüklenen periostinin erişkin atopik hastalarda hastalık şiddeti ile ilişkili olarak arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada amacımız atopik dermatiti olan infantlarda serum periostin düzeyleri ve hastalık şiddeti ile olan ilişkisini değerlendirmektir.

MATERYAL-METOD: Serum periostin ve TARC (timus ve aktivasyonla düzenlenen kemokin) düzeyleri, 40 atopik infant ve 36 sağlıklı kontrolde ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Total IgE, eozinofil sayısı ve objektif SCORAD yöntemi ile hesaplanan hastalık şiddetinin serum periostin düzeyleri ile olan ilişkisi değerlendirildi.

SONUÇ: Serum periostin ve TARC düzeyleri atopik infantlarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı oranda yüksek bulundu (sırasıyla $p=0.001$ ve $p= 0.016$). Hastalık şiddeti ortancası 34,5 (14-62) olarak ölçüldü. Hastalık şiddeti, total IgE düzeyleri ve eozinofil sayısı ile serum periostin düzeyleri arasında ilişki saptanmadı.

YORUM: Serum periostin düzeyleri atopik infantlarda hastalık belirteci olarak kullanılması önerilen serum TARC düzeylerinden daha anlamlı olarak artış göstermektedir fakat bu artış hastalık şiddetinden bağımsızdır.

Anahtar Kelimeler: periostin, TARC, atopik dermatit

PP-092

Erken Evre Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Olgularında İmmünskorumanın Yeri: Baskılayıcı ve Sitotoksik Hücre Alt Gruplarının Belirlenmesi

Esin Çetin Aktaş¹, Akif Turna², Ayse Engin¹, Duygu İlke Çıkman³, Gizem Ayan⁴, Günnur Deniz¹

¹İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Medikal Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul

⁴İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

Dünyada kansere bağlı ölümlerin başında gelen akciğer kanserinde immünolojik mekanizmalar gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Küçük hücre dışı akciğer kanserinde (KHDAK) dolaşımdaki immün hücrelerin tümör-spesifik değişimlerinin incelenmesi nüksün ve sağkalımın takibinde önemlidir. Çalışmamızda KHDAK'de dolaşımdaki doğal öldürücü (NK), regülatör (Treg) ve sitotoksik T hücre (Tc) oranları ile NK ve CD8 T hücrelerinin sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır.

Çalışmada yeni tanı T1-3N0M0 evresinde, preoperatif kemoterapi/radyoterapi almamış KHDAK olguları (n=16) ile sağlıklı bireyler (n=44) irdelenmiştir. Lenfosit alt grupları, CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ ve CD8⁺CD28⁻T hücre oranları ile NK ve Tc hücre sitotoksitesisi akan hücre ölçerle analiz edilmiştir. Student t testi hasta ve kontrol grupları ve ayrıca olguların tümör çapına göre karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

KHDAK olgularında sağlıklı gruba göre total NK, CD8 ve CD8dim hücre alt gruplarında, ayrıca CD3⁺CD16⁺56⁺ NKT ve aktive CD3⁺HLADR⁺ hücrelerde artış, CD8⁺CD28⁺ Tc hücrelerinde ise azalma saptanmıştır. Baskılayıcı CD8⁺CD28⁻Tc hücreler KHDAK'de artış göstermesine karşılık, CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regülatör hücre oranlarında fark gözlenmemiştir. NK ve Tc hücre sitotoksitesisi KHDAK grubunda tümör boyutu >3cm olan olgularda yüksek bulunmasına rağmen anlamlılık saptanmamıştır

Periferik kanda antitümöral immüniteden sorumlu NK, NKT ve Tc hücre yüzdeleri hastalarda sağlıklı bireylere göre artmıştır. NK ve Tc hücre sitotoksitesisinin hem sağlıklı hem de tümör çapı >3 cm olan olgularda yükselmesi anti-tümör etkinliğin tümör antijeni miktarı arttıkça belirginleştiğini düşündürmektedir. Bulgularımız KHDAK'de antitümöral yanıtları baskılayan CD8⁺CD28⁻T hücre artışının Tc hücre fonksiyon yetmezliğinin bir göstergesi olarak immünoterapi tedavilerinin değerlendirilmesinde bir marker olabileceği, Treg hücre oranlarının ise kandan ziyade tümör dokusu ve lenf nodlarında artmış olabileceğini düşündürmektedir. İmmünskorumama parametrelerinin gelecekte yeni teşhis KHDAK hastaları için önemli bir prognostik faktör olabileceği öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Treg, KHDAK, NK hücreleri, sitotoksik T lenfositleri

PP-093

Leishmania Nükleik Asitlerinin Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi

İhsan Cihan Ayanoglu¹, Göksu Gökberk Kaya¹, Helin Tercan¹, Sanem Sarıyar¹, İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara

²Bilkent Üniversitesi, Ankara

Leishmaniasis ihmal edilen tropik hastalıklardan biridir. Hastalık, memelilere Leishmania taşıyan kum sineği aracılığıyla bulaşır ve litik döngüsünü genellikle makrofajlarda devam ettirir. Leishmania paraziti doğadaki en alışılmamış DNA yapılarından biri olan kinetoplast DNA'sını (kDNA) içermektedir. kDNA birbiri içine geçmiş mini ve maxi halkalardan oluşan devasa bir ağ yapısı şeklindedir. Bu yapının minihalka kısmının gen dizilimi leishmania türleri arasında büyük farklılıklar göstermektedir ve bu DNA tipinin parazitin enfeksiyonu sırasındaki rolü tam olarak bilinmemektedir.

Bu çalışma başta kDNA olmak üzere leishmania nükleik asitlerinin bağışıklık sistemi üzerine olan etkisini anlamayı hedeflemektedir. Leishmania nükleik asitlerinin leishmaniasis sürecindeki rolünün belirlenmesi, hastalığa karşı kullanılacak terapötik ajanların geliştirilmesine katkıda bulunacağından çalışmanın hastalığın tedavisi ve önlenmesine katkıda bulunacağını öngermekteyiz.

Leishmania nükleik asitlerinin doğal bağışıklık sistemi reseptörleri ile nasıl etkileşime geçtiğini anlamak amacıyla değişik Leishmania türlerinden hem kDNA hem de genomik DNA izole edilmiştir. Phorbol12-myristate13-acetate (PMA) ile farklılaştırılmış insan monosit hücreleri (THP-1 hücre hattı) metasiklik fazdaki parazitler ile enfekte edilmiştir. Bu enfeksiyon sırasında hücreler değişik leishmania DNA tipleri ve tip-1 interferon uyarıcıları ile de uyarılmış ve bu ajanların parazitin enfeksiyonu üzerine etkisi değerlendirilmiştir. *In vitro* ile aynı düzlemde bu ajanların sistemik olarak *in vivo* etkilerini gözlemlemek amacıyla kütanöz leishmaniasis hayvan modelleri geliştirilmiş ve hayvanlardaki parazit yükü zamana bağlı olarak takip edilmiştir.

kDNA ile birlikte *in vitro* ortamda parazit enfekte edilen hücrelerde ve kDNA ile birlikte oluşturulan *in vivo* enfeksiyon modellerinde parazit yükünün arttığı gözlemlenmiştir. kDNA'nın parazit enfeksiyonunu kötüleştirmesinin altında yatan mekanizma ve tip-1 interferon yanıtı mekanizması ile olan bağlantısının netleştirilmesi kDNA'nın hastalığa karşı kullanılacak umut verici bir ajan olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Leishmaniasis, kinetoplast DNA, nükleik asit, tip-1 interferon

Kemik İliği Nakli Geçirmiş Pediyatrik Talasemi Major Hastalarında Mitojen Uyarımlı Lenfosit Proliferasyon Yanıtlarının Akan Hücre Ölçer ile Değerlendirilmesi

Umut Can Küçüksezer¹, İlhan Tahralı¹, Serdar Nepesov², Akif Yeşilipek³, Günnur Deniz¹, Yıldız Camcıoğlu²

¹İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

³Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

AMAÇ: Talasemi Major (TM), hemoglobin molekülü globin zincirlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar sonucu gelişen genetik temelli bir hastalıktır. TM hastalarında hemolitik anemi ve bundan etkilenmiş organlar gözlenmekte, bozulmuş savunma fonksiyonlarına bağlı olarak enfeksiyonlara yatkınlık artmaktadır. Kemik iliği nakli, TM'ün kalıcı tedavisi için temel yol olup nakil sonrası aşılama zamanlarının belirlenmesi için hücresel yanıtların değerlendirilmesi düşünülmelidir. Karboksi floresein süksinimidil diester (CFSE) dilüsyonu, proliferatif kapasitenin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir akan hücre ölçer yöntemidir. Bu çalışma, kemik iliği nakli geçirmiş pediyatrik TM hastalarında mitojenlerle uyarılmış proliferatif yanıtları incelemeyi amaçlamaktadır.

MATERYAL-METOD: Kemik iliği naklinin ardından 1. yılını doldurmuş pediyatrik TM hastaları (n=25) ve sağlıklı kontrollerden (n=14) alınan heparinize venöz kan örneklerinden periferik kan mononükleer hücreleri, fikol gradyan santrifüj yöntemiyle saflaştırılmıştır. CFSE ile işaretlemenin ardından hücreler, poliklonal aktivatörler olan fitohemaglutinin (PHA) ve anti-CD2, -CD3 ve -CD28 kokteyli (CD-Mix) ile 5 gün boyunca kültür ortamında uyarılmışlardır. Süre sonunda lenfosit proliferasyon düzeyleri akan hücre ölçer ile incelenmiştir.

BULGULAR: Sağlıklı kontrollerden elde edilmiş eşik değerler, kemik iliği nakli sonrası TM hasta yanıtlarının karşılaştırmalı değerlendirmesi için kullanılmıştır. 20 hastanın proliferasyon değerleri sağlıklı kontrollerle benzer olarak gözlenmiş, toplam 5 hastanın mitojenlere çeşitli düzeylerde yanıtsızlığı saptanmıştır. Bu hastalardan 2 tanesi PHA'e, 3 tanesi de her iki mitojene yanıtsızdır.

TARTIŞMA: Sonuçlarımız kemik iliği naklinden 1 yıl sonra TM hastalarında proliferatif yanıtların mevcudiyetini ve aşılama zamanlarının belirlenmesi için bu yöntemin kullanılabilirliğini göstermiştir. Akan hücre ölçer kullanımıyla CFSE dilüsyonu, kemik iliği naklindeki başarının immünolojik açıdan değerlendirilmesi için uygun bir yöntem olma potansiyeli taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: talasemi major, akan hücre ölçer, mitojen, proliferasyon, lenfosit

PP-096

PH'a Duyarlı Katyonik Lipozomlara Yüklendiği CDN ve TLR Ligantlarının İmmün Tetikleyici Özellikleri

Banu Bayyurt, Gözde Güçlüler, İhsan Gürsel

Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Thorlab, Ankara

Döngüsel dinükleotidler (Cyclic dinucleotides-CDN) sitozolik nükleik asit sensörlerinden ER'ye bağlı STING tarafından tanınmakta olup IRF3 ve NF-κB yolaklarını etkinleştirmektedir. Adjuvant veya immünettetikleyici ajan olarak kullanım potansiyelleri yüksektir. Bu nükleik asit temelli ligandların döngüsel haldeki yapıları nedeniyle hücre içine alınmaları kısıtlıdır. Bu nedenle sitozolde bulunan ve CDN'i tanımakta özgülleşmiş olan STING sensörleriyle etkileşime girmeleri de güçtür. Daha önceki çalışmamızda CDN'le, TLR9 ligandlarının (CpG ODN) sinerjistik bir şekilde bağışıklık sistemini arttırdıklarını göstermiştik. Bu çalışmada, lipozom içerisine STING ve TLR9 ligandları birlikte yüklendiğinde, doğal bağışıklık hücrelerini etkinleştirici özelliklerinin arttığını ortaya koyduk. Düşük dozda serbest hallerinde herhangi bir etkisi bulunmayan CDN+CpG ODN'lerin, lipozoma yüklendiğinde sinerji oluşturarak immün hücrelerden yüksek miktarda tip-I ve tip-II interferon salımını sağladığı, M0'dan M1 tip makrofaj oluşturduğu ve Th1'e özgü sitokin salımını arttırdığı *in vitro* çalışmalarda gösterildi. Lipozom formülasyonlarının *in vivo* etkisini test etmek için B16-OVA hücreleri C57BL/6 farelerin sırtına yerleştirildi. Bir hafta sonra, önceden belirlenmiş zamanlarda sistemik olarak enjekte edilen serbest veya lipozoma yüklü ikili agonistlerle (1.7 µg CDN ve 5 µg CpG-ODN/her enjeksiyonda) tedavi edildi. İlk enjeksiyondan on gün sonra, lipozomal formülasyonlarla tedavi görmüş fare grubunun tümör boyutunda gerileme, OVA antijenine özgü IgG2c/IgG1 oranında ve IFNγ üreten CD8+ T hücre miktarında artış ve tümör içerisindeki M2-tip makrofaj miktarında anlamlı düşüş saptandı. Sonuç olarak, CDN ve CpG ODN birlikte yüklü lipozomların oluşturmuş olduğu Th1'e özgü bağışıklık, tümör mikroçevresini yeniden şekillendirerek melanoma tümör oluşumunu geriletmiştir.

Anahtar Kelimeler: CDN, CpG ODN, lipozom, adjuvan, immünoterapi, kanser

PP-097

Allerjen Spesifik İmmünoterapinin Eksozomlar Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Havva Ö. Kılıgöz¹, Özlem Bulut¹, Muzaffer Yıldırım¹, Gözde Güçlüler¹, Tamer Kahraman¹, Dilek Azkur², Emine Vezir², Ersoy Civelek², Can N. Kocabaş³, İhsan Gürsel¹

¹Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, THORLAB-Terapötik Oligonükleotid Araştırma Laboratuvarı, Ankara

²Dışkapı Eğitim Araştırma Hastahanesi, Pediatrik Allerji Anabilim Dalı, Ankara

³Sıtkı Kutman Üniversitesi, Pedatrik Allerji Anabilim Dalı, Muğla

AMAÇ: Allerjen spesifik immünoterapi allerjik hastalıklarda uzun süreli remisyon ve kür sağlayabilen en etkin tedavi yöntemlerinden olmasına rağmen immünoterapinin etki mekanizmaları tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Eksozomlar çeşitli hücrelerden köken alan 40-150 nm boyutlarında nanokesecekleridir. Eksozomların farklı durumlarda immün sistemi etkinleştirdiği veya baskılayabildiği bilinmektedir. Eksozomların allerjik hastalıklardaki rolleri ise yeni araştırılmaya başlanmıştır ve henüz tam olarak bilinmemektedir. Allerjen spesifik immünoterapi sonrasında eksozomların hastalığın seyrine ve sağaltımına olan katkılarına ait çalışmalar bulunmamaktadır. Bu çalışmada polene ve arı venomuna duyarlı hastalar 3 yıl boyunca takip edilerek terapi sürecinin eksozomlarda yol açtığı değişikliklerin ve bu eksozomların immün hücrelere etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM-GEREÇLER: Polene duyarlı allerjik rinit (\pm astım) olan 21 hastaya ve arı venomu ile anafilaksi geçiren 7 hastaya allerjen immünoterapi başlandı. Hastaların terapiden önce ve terapinin 1., 2. ve 3. yıllarında plazma eksozomları ultrasantrifügasyon ile izole edildi ve eksozomların köken aldıkları hücreler akış sitometrisi ile belirlendi. Terapi öncesi ve sonrası izole edilen eksozomların farklı biyolojik etkinlikleri sağlıklı PBMCLerin eksozomlarla uyarılmasıyla kültür ortamına salınan sitokinlerin tipi ve düzeyleri ELISA ile belirlendi.

BULGULAR: İmmünoterapi görmüş hastaların eksozomlarının PBMCLer tarafından alındığında IP10, IFN γ , IL10 ve IL17A üretimini yıllara göre pozitif yönde artırdıkları belirlenmiştir. Özellikle polen allerjisi bulunan hastaların eksozomları terapiden 1 ve 2 yıl sonra IFN γ , IL10 ve IL17A sitokin üretimini anlamlı bir şekilde arttırmıştır. Bu açıdan terapi görmüş hasta eksozomlarının tedavi görmemiş eksozomlara göre farklı biyolojik işlevler gösterdiği ortaya koyulmuştur.

SONUÇ: Bu çalışmanın sonuçları eksozomların immünoterapi sürecine olan olumlu katkılarını gösteren ilk kanıtları oluşturmaktadır.

Anahtar Kelimeler: allerji, eksozom, immünoterapi, sitokin

PP-098

İmmünbaskılayıcı A151 ODN Yüklü Lipozomların Skleroderma Modelinde Tedavi Edici Etkilerinin Araştırılması

Gizem Kılıç, Muzaffer Yıldırım, Özlem Bulut, Havva Özgen Kılıgöz, Banu Bayyurt Kocabaş, Tamer Kahraman, Gözde Güçlüler, İhsan Gürsel

Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara

Sistemik skleroz veya skleroderma (SSk), kadınlarda sıklıkla görülen, çeşitli organ ve dokularda komplikasyonlara neden olan kompleks bir hastalıktır. Hastalığın patogenezinde enflamasyon ve otoimmün temelli etkileşimler, vasküler fonksiyon bozuklukları, kolajen birikimine bağlı fibrozis oluşması önemli rol oynamaktadır. Amacımız başarılı bir tedavi stratejisi bulunamamış bu hastalık için bleomisin kullanarak hastalığın fare modelini oluşturmak ve liyofilizasyon yöntemiyle eksozom ve lipozomlara yüklenmiş baskılayıcı DNA motifi olan ve telomerik sekansı mimik eden A151'i kullanarak hastalığı geriletmeştir. Öncelikli olarak, *in vitro* koşullarda bu formülasyonların fare fibroblast hücrelerine etkisi incelendi. Bu amaç doğrultusunda fare fibroblast hücreleri çeşitli TLR ligantlarıyla stimüle edildi. TGF- β varlığında ve yokluğunda, bu ligantların fibrotik genlere etkisi ve hücrelerden salgılandıkları kemokin seviyeleri incelendi. Farklı formülasyonlarla yapılmış lipozomlara yüklenen A151'in fare dalak hücreleri üzerindeki immün baskılayıcı etkisi çalışıldı ve üretilen sitokin seviyeleri ELISA ve akım sitometri yöntemleriyle belirlendi. Balb/c farelerde SSk modeli oluşturmak için 0.5 mg/ml ve 1.0 mg/ml olmak üzere iki doz bleomisin 100 μ l/fare olacak şekilde uygulandı ve hastalık patogenezinde önemli rol oynayan sitokinlerle fibrotik genlerdeki değişimler belirlendi. Yapılan çalışmalar sonucunda zymosan, PGN, D-tipi ODN ve LPS'in fibrotik temelli *col1A1*, *col1A2* ve α -SMA gen ifadelerini arttıran TLR ligantları olduğu gösterildi. IL-6, IL-4, IL-12, IL-17 ve IL-1 β , hastalığın gelişmesinde rol oynayan sitokinler olarak belirlendi. 1 mg/ml bleomisin SSk modelini oluşturmada uygun doz olduğu gözlemlendi ve *col1A1*, *col1A2* ve α -SMA gen ifadelerini akciğerde belirgin olarak artırdığı bulundu. Lipozomal A151'in değişik TLR ligantlarının oluşturduğu immün etkinleştirmeyi baskıladığı gözlemlendi. Tüm bu veriler doğrultusunda sklerodermanın moleküler ve immünolojik mekanizması analiz edilmiş ve lipozoma yüklenen A151'in immün aktiviteyi bastırdığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: skleroderma, A151, lipozom, eksozom, sistemik skleroz, CpG ODN

PP-099

STING Proteininin *in vitro* Enflamatuar Hastalık Modelinde ve Tümör gelişimindeki Rolünün Belirlenmesi

Hatice Asena Şanlı¹, Banu Bayyurt², İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹

¹Biyolojik Bilimler Bölümü, ODTÜ, Ankara

²Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilkent Üniversitesi, Ankara

Doğal bağışıklık sisteminin patojen tanıma reseptörlerinin büyük bir çoğunluğu nükleik asit tanımaktadırlar. Bu reseptörlerden biri olan cGAS, sitozolde bulunan DNA veya RNA/DNA heterodimerlerine bağlanarak 2'3'-cGAMP ikincil mesajcı üretimine yol açmakta, sentezlenen cGAMP da STING adaptör proteinini etkinleştirerek, TBK-1 ve IRF-3 aracılı tip I interferon üretimine yol açmaktadır. Bu yolak anti-viral yanıtın oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır. STING proteinini kodlayan TMEM173 geninde oluşan fonksiyon kazanım mutasyonları, cGAMP olmadan da bu yolağın kronik aktivasyonuna ve kontrolsüz tip I interferon üretimine sebep olarak SAVI olarak bilinen bir interferonopatiye yol açmaktadır.

Bu araştırmanın odağı olarak, interferon yoluyla indüklenen hastalıklarda, hücre içi yolların ara basamaklarının belirlenmesi ve olası terapötik ajanların geliştirilebilmesi için fonksiyon kazanım mutasyonlu STING proteinini ifade eden stabil hücre hatları oluşturulmaya çalışılmıştır. SAVI hastalığının nedeni olan mutant STING proteini kodlayan plasmidler memeli hücre hatlarına lipofeksiyon ya da elektroporasyon aracılığıyla aktarılmış, stabil transfekte hücre hattı modeli oluşturulmuştur. Söz konusu mutant proteinin varlığı çeşitli metodlarla gösterilmiştir. Protein seviyesinde ifadesi bulunan mutant STING reseptörü taşıyan hücre hatlarının SAVI patolojisini gösterip göstermediğine yönelik fonksiyonel analizler yapılmaya başlanmıştır. Ayrıca, bu yolağa dair interferon patolojisini baskılayacağı düşünülen inhibitörler denenmektedir. İkinci basamak olarak, bu proteinin tümör gelişimindeki rolü, STING yoksunu, WT STING ya da mutant STING ifade eden B16 melanoma hücre hatları ile farelerde test edilmiştir. Elde edilen sonuçların STING-interferon yolağı-kanser ilişkisine dair bilinmeyenlere cevap vereceği öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: cGAS, STING, TMEM173

Allerjen Spesifik İmmünoterapinin Sitokin Profili ve T-lenfositler Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Ozlem Bulut¹, Muzaffer Yıldırım¹, Gözde Güçlüler¹, Tamer Kahraman¹, Dilek Azkur², Emine Vezir², Ersoy Civelek², Can Naci Kocabaş³, İhsan Gürsel¹

¹Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, THORLAB-Terapötik Oligonükleotid Araştırma Laboratuvarı, Bilkent, Ankara

²Dışkapı Eğitim Araştırma Hastahanesi Pediatrik Allerji Anabilim Dalı, Ankara

³Sıtkı Kutman Üniversitesi, Pediatrik Allerji Anabilim Dalı, Muğla

Allerjik rinit, nazal mukozanın alerjenle teması sonucu IgE aracılığıyla gelişen kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Arı sokmaları, duyarlı bireylerde ciddi anafilaktik reaksiyonlara yol açabilmektedir. Astım ve allerjik rinitte ilaç tedavisi ile şikâyetler kontrol altına alınabilse de hastalığın seyri ancak immünoterapi ile değiştirilebilmekte, uzun süreli remisyon ve kür sağlanabilmektedir. Fakat immünoterapi ile meydana gelen immünolojik değişiklikler ve etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada immünoterapinin 3 yıllık sürede T-lenfosit alt grupları üzerindeki etkilerinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

Polene duyarlı allerjik rinit (\pm astım) olan 21 hastaya ve arı venomu ile anafilaksi geçiren 7 hastaya immünoterapi başlandı. Hastaların terapiden önce ve terapinin 1., 2., 3. yıllarında serumları ve periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) izole edilerek immünoterapinin çeşitli T-hücre alt tiplerine etkisi qRT-PCR ve akış sitometrisi ile saptandı. Serumda ve uyarılmış PBMC kültürlerindeki sitokin düzeyleri ELISA ile belirlendi. Oluşan immünolojik değişikliklerin, semptom ve medikasyon skorları ile ilişkisi araştırıldı.

Araştırma sonucunda, terapi öncesinde düşük olan Th1, Th2, Th17 ve Treg tepkilerinin terapi sonrası daha üst düzeylere çıkabildiği görülmüştür. Th2 ve serum IgE yanıtlarında ciddi bir düşüş gözlenmiştir. Hastaların şikayet skorlarında da hücresel bulgulara paralel azalma belirlenmiştir. Terapi sürecinde IFN γ , TGF β ve IL10 üretiminde ilerleme görülmüştür. Hastaların periferik kanlarındaki CD8+, Th17 ve Treg hücre sayıları terapinin 1. yılından itibaren artmaya başlamıştır. Th2/Th1 oranı incelendiğinde terapi sonrasında Th2'den Th1 yanıtına doğru yönelme görülmektedir. Terapi gören bireylerin PBMClerinin 6 gün allerjene maruz kalmaları sonucunda IL17 ve IL10 seviyeleri terapi öncesine oranla çok daha fazla üretilmiştir. Elde edilen sonuçlar immünoterapinin T hücreleri üzerindeki etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına katkı sağlar niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: allerji, allerjik rinit, immünoterapi, T lenfositler

PP-101

Anti - Aquaporin - 4 Otoantikörleri ile Organ Spesifik Olmayan Otoantikörlerin Birlikte Değerlendirilmesi

Nuray Gürel Polat, Nurhas Safran, Ali Ağaçfidan, Derya Aydın

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Viroloji ve Temel İmmünoloji BD, Çapa- İstanbul

İnsan organizması değişik organ ve sistemlerin birbiri ile koordineli olarak çalıştığı network ağına sahiptir. Bu sistemlerin içinde en önemli parçalardan biri sinir sistemi diğeri de bağışıklık sistemimizdir. Son yıllarda bu iki sistemimiz arasındaki bağlantıları inceleyen nöroimmünolojik mekanizmalar ve bu mekanizmalar sonucunda oluşan hastalıkları anlamaya yönelik çalışmalar artmıştır. Devic hastalığına neden olduğu düşünülen astrosit ayak çıkıntılarında yoğun olarak bulunan su kanalı proteini aquaporin-4'e karşı oluşan nöromiyelitis optika (NMO) IgG (AQP-4 antikoru) antikoru belirlenmiştir. Otoimmün hastalıklar, organa özgü ve sistemik otoimmün hastalıklar olarak ayrılır. İlk grup dokuda bulunan antijenlerle reaksiyona giren otoantikörler doku hasarına neden olurken, diğesinde ise çeşitli hedef antijenlere yönelik cevaplar oluşarak sayısız organ ve doku hasarına neden olurlar.

Bu amaçla, laboratuvarımıza başvuran nörolojik olarak ön tanısını almış 1120 (Nisan 2015 - Nisan 2017) hastanın serumlarından IgG-AQP-4 antikoru(NMO) (Euroimmün, Lübeck, Almanya) indirek immün flüoresans(IIF) yöntemi ile çalıştık. Aynı serumlardan ANA, ASMA, AMA ve GPCA otoantikörleri (Euroimmün, Lübeck, Almanya) da IIF ile incelenmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, NMO otoantikörleri 38 (%3,3 oranında) hasta da pozitif bulunmuştur. Diğero otoantikörlerin pozitiflik değeri ise %6.4(72 hasta)dür. Bu hastaların %2'sinde(23 hastada) ANA pozitif, %2,1 'inde (24 hastada) ASMA pozitif ve %2,2'sinde (25 hastada) ise GPCA otoantikörleri pozitifdir. AMA antikoru tüm hastalarda negatif saptanmıştır. 7 hastada ise hem IgG-AQP-4 antikoru (NMO) hem de organ spesifik olmayan otoantikörlerden biri ile çift pozitiflik gözlenmiştir.

Hücrel antijenlere karşı oluşan otoantikörler ve otoimmün hastalıkların sıklığının varlığı, NMO hastalarında büyük seriler halinde çalışmaların yapılması gerekliliğini ve NMO patogenezinin aydınlatılmasına yardımcı olacağını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: otoimmün hastalıklar, otoantikörler, astrosit



D Event Turizm Organizasyon Hiz. Ltd. Őti.

Küçükbakkalköy Mahallesi Albay Sokak No:24 34750 Ataşehir / İstanbul

Tel: +90 216 573 18 36 • Faks: +90 216 573 83 18

E-mail: info@immunoloji2017.org • Web: www.immunoloji2017.org

