

26-30
NİSAN 2015

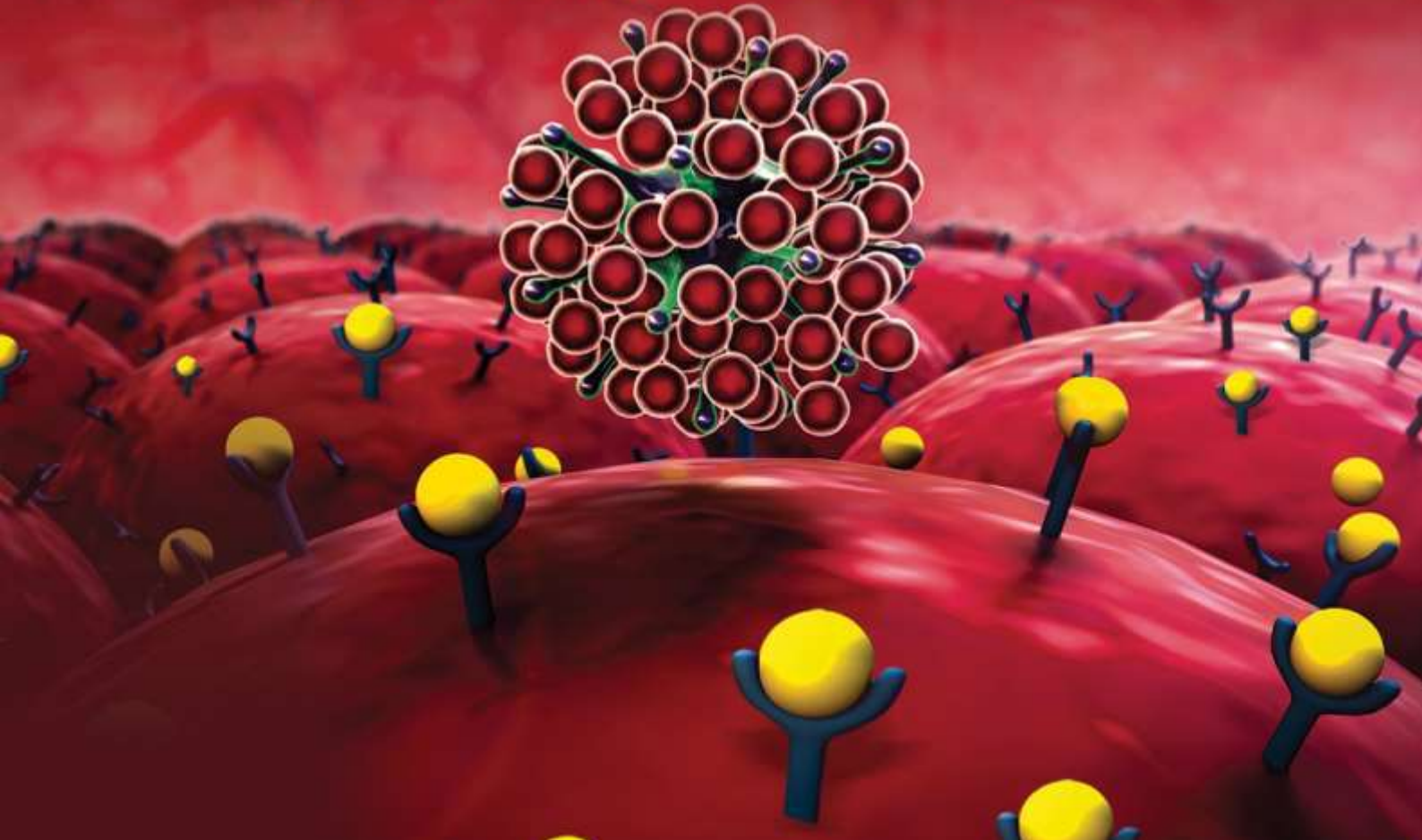
TITANIC
LARA OTEL
ANTALYA

www.immunoloji2015.org



23. ULUSAL İMMÜNOLOJİ KONGRESİ

KONGRE KİTABI



İÇİNDEKİLER

➤ KURULLAR & KOMİTELER.....	3
➤ KURS PROGRAMI.....	4
➤ BİLİMSEL PROGRAM.....	5-8
➤ SÖZEL BİLDİRİLER.....	9-28
➤ POSTER BİLDİRİLER.....	29-106
• Alerji ve İnflamasyon.....	29-32
• Doğal immünite.....	33-40
• Edinsel immünite.....	41-43
• Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama.....	44-58
• İmmün düzenlenme.....	59-69
• İmmün yetmezlikler.....	70-78
• Kanser immünolojisi.....	79-91
• Otoimmünite ve tolerans.....	92-105
• Transplantasyon immünolojisi.....	106

KURULLAR & KOMİTELER

DÜZENLEME KURULU

Kongre Başkanı	: Prof. Dr. Vedat BULUT
Dernek Başkanı	: Prof. Dr. Günnur DENİZ
Dernek Genel Sekreteri	: Doç. Dr. Ayça SAYI YAZGAN
Dernek Saymanı	: Prof. Dr. Tunç AKKOÇ
Kongre Bilimsel Sekreteri	: Doç. Dr. Güneş ESENDAĞLI

BİLİMSEL KURUL

- ❖ Doç. Dr. Neşe AKIŞ
- ❖ Prof. Dr. Tunç AKKOÇ
- ❖ Doç. Dr. Esin AKTAŞ ÇETİN
- ❖ Prof. Dr. Selim BADUR
- ❖ Prof. Dr. Vedat BULUT
- ❖ Prof. Dr. Yıldız CAMCIOĞLU
- ❖ Prof. Dr. Günnur DENİZ
- ❖ Doç. Dr. Güneş ESENDAĞLI
- ❖ Prof. Dr. Dicle GÜÇ
- ❖ Prof. Dr. İhsan GÜRSEL
- ❖ Prof. Dr. H. Barbaros ORAL
- ❖ Prof. Dr. Güher SARUHAN DİRESKENELİ
- ❖ Doç. Dr. Ayça SAYI YAZGAN
- ❖ Doç. Dr. Gülderen YANIKKAYA DEMİREL

AKAN HÜCRE ÖLÇER KURSU

26 Nisan 2015, Pazar**Kursu Düzenleyen: Akan Hücre Ölçer Alt Komitesi***Gülderen Yanıkkaya Demirel, Emel Demiralp, Günnur Deniz**(Grup çalışmalarında tüm eğiticiler hazır bulunacaktır)*

- 10:00 - 10:10 **Açılış ve Genel Bilgilendirme**
Gülderen Yanıkkaya Demirel
- 10:10 - 10:40 **Akan Hücre Ölçer Çalışma Prensipleri ve Kullanım Alanları**
Günnur Deniz
- 10:40 - 11:10 **İmmünofenotipleme nedir, nasıl yapılmalıdır?**
Esin Aktaş Çetin
- 11:10 - 11:30 **İmmünofenotipleme uygulama**
(Grup Çalışması)
- 11:30 - 11:45 Kahve Arası
- 11:45 - 12:15 **Monoklonal antikor seçimi**
Emel Ekşioğlu Demiralp
- 12:15 - 12:35 **Monoklonal antikor seçimi uygulama**
(Grup Çalışması)
- 12:35 - 13:05 **Monoklonal antikor titrasyonu**
Gülderen Yanıkkaya Demirel
- 13:05 - 13:25 **Monoklonal antikor titrasyonu uygulama**
(Grup Çalışması)
- 13:25 - 14:30 Öğle Yemeği
- 14:30 - 15:00 **Sistem kalibrasyonu ve optimizasyonu**
Gülderen Yanıkkaya Demirel
- 15:00 - 15:20 **Sistem kalibrasyonu ve optimizasyonu uygulama**
(Grup çalışması)
- 15:20 - 15:50 **Protokol ve panellerin oluşturulması**
Ali Şengül
- 15:50 - 16:10 **Protokol ve panellerin oluşturulması uygulama**
(Grup çalışması)
- 16:10 - 16:30 Kahve Arası
- 16:30 - 17:00 **Analiz aşaması**
Günnur Deniz
- 17:00 - 17:20 **Analiz uygulama**
(Grup çalışması)
- 17:20 - 17:50 **Rapor oluşturma**
Gülderen Yanıkkaya Demirel
- 17:50 - 18:10 **Örnek raporlar oluşturulması**
(Grup çalışması)
- 18:10 - 18:30 **Program Bitimi ve Sertifikaların Dağıtılması**

BİLİMSEL PROGRAM

27 Nisan 2015, Pazartesi

09:00-13:00	Kongre kayıt
12:30-14:00	<i>Öğle Yemeği</i>
14:00-14:30	Açılış
14:30-15:00	Tıp ve sanat Cemal CİNGİ
15:00-16:00	Konferans Oturum Başkanları: Şefik ALKAN, Yıldız CAMCIOĞLU Human tumor virus infection and immune control in vivo Christian MÜNZ
16:00-16:30	<i>Kahve Arası</i>
16:30-18:00	Doğal immün yanıt Oturum Başkanları: Günnur DENİZ, Güneş ESENDAĞLI
16:30-17:00	Minicanlılarla ortak yaşamda doğal bağışıklık arayüzeyi Şefik ALKAN
17:00-17:30	Hücrelerarası adenozin ve kanser Çağlar ÇEKİÇ
17:30-18:00	T L R v e nükleik asit sensörlerinin doğal bağışıklıktaki antagonistik ve sinerjistik işbirlikleri İhsan GÜRSEL
18:00-19:15	<i>Akşam Yemeği</i>
19:15-21:20	Emeklilik Sunumları Oturum Başkanları: Günnur DENİZ, Vedat BULUT
19:15-19:35	Emeklilik sunumu 1 Olca YEGİN
19:35-19:55	Emeklilik sunumu 2 Ayfer TUNCER
19:55-20:15	Emeklilik sunumu 3 Necla AKÇAKAYA
20:15-20:35	Emeklilik sunumu 4 Emin KANSU
20:35-20:50	Plaketlerin takdimi
20:50-21:20	Prof. Dr. Işıl BARLAN'ı Anma

28 Nisan 2015, Salı

08:30-09:30	Konferans Oturum Başkanları: Yıldız CAMCIOĞLU Doku hücreleri yanıtının immün tolerans ve kronisitede rolü Cezmi AKDIŞ
09:30-10:00	<i>Kahve Arası</i>
10:00-12:00	Edinsel immün yanıt Oturum Başkanları: Handan AKBULUT, Batu ERMAN
10:00-10:30	Timik epitelyal hücreler ve yaşlanma Gülderen Yanıkkaya DEMİREL
10:30-10:45	Yüksek glukozaya maruz kalan SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinde C1q uyarısı Ayşe Başak ENGİN
10:45-11:00	Akut myeloid lösemi (AML) hücreleri üzerinde bulunan ko-stimülatör moleküllerin yardımcı T hücre yorulmasına katkısı Didem ÖZKAZANÇ
11:00-11:15	Kansere karşı, SA-4-1BBL ve MPL adjuvan sisteminin toksik ve otoimmün olmayan güçlü tedavi edici etkisi Güneş DİNÇ
11:15-11:30	Prostat kanserinde PSA-spesifik immün cevap: Poliklonal ve PSA-spesifik T hücrelerinin karakterizasyonu M. Alper KURŞUNEL
11:30-12:30	Uydu Sempozyum –MSD / HPV Aşılı Güncel Gelişmeler M. Faruk Köse
12:30-14:00	<i>Öğle Yemeği</i>
14:00-16:00	Tolerans ve otoimmünite Oturum Başkanları: Barbaros ORAL, Esin AKTAŞ ÇETİN
14:00-14:30	Güncel kök hücre uygulamaları Tunç AKKOÇ
14:30-15:00	İmmün/inflamatuvar hastalıklarda DNA metilasyonu Haner DİRESKENELİ
15:00-15:30	Otoimmünite laboratuvarında gözden kaçanlar ve örnek algoritmalar İshak Özel TEKİN
15:30-15:45	İndirekt immünfloresans yöntemiyle saptanan anti-nükleer antikor dense fine speckled patterni klinik olarak önemli mi? Rahime AKSOY
15:45-16:00	Laboratuvardan yargıya Volkan IŞIKSAÇAN
16:00-16:30	<i>Kahve Arası</i>
16:30-18 :30	Tümörimmünolojisi Oturum Başkanları: İhsan GÜRSEL, Dicle GÜÇ
16:30-17:00	Meme kanser immünoterapisinde yeni hedefler Nurittin ARDIÇ
17:00-17:30	Kanserin bağışıklıkla tedavisinde doğal öldürücü hücreler Tolga SÜTLÜ
17:30-18:00	TALEN ve CRISPR Genom mühendisliği ile P53 tümör baskılayıcı proteininin hedeflenmesi Batu ERMAN
18:00-18:30	MNU ile başlatılmış deneysel meme kanseri modelinde immün mikroçevre Dicle GÜÇ
18:30-20:00	<i>Akşam Yemeği</i>
20:00-23:00	Poster sunumları ve resepsiyon

29 Nisan 2015, Çarşamba

- 08:30-09:30 İmmünoloji günü konferansı
Oturum Başkanları: Vedat BULUT, Günnur DENİZ
The role of cytokines in infection and inflammation
Foo Yo LIEW
- 09:30-09:45 **Akut miyeloid lösemi (AML) hücrelerinde IFN-G, STAT3 ve PD-1 ligand ekseninin immün kaçış mekanizması olarak değerlendirilmesi**
Diğdem Yöyen ERMIŞ
- 09:45-10:00 **İmmün proteinlerin prognostik kanser biyobelirteçleri olarak kullanılması**
Emre DAYANÇ
- 10:00-10:30 *Kahve Arası*
- 10:30-12:30 **Alerji ve inflamasyon**
Oturum Başkanları: Güneş ESENDAĞLI, Gaye ERTEN
- 10:30-11:00 **Allergen-spesifik immün yanıtta efektör ve regülatuar B hücrelerinin rolü**
Mübeccel AKDİŞ
- 11:00-11:30 **Bronşiyal hiperreaktivite deneysel fare modelinde inflamazom komplekslerinin antijen ve antikor kompleksleri ile regüle edilmesi**
Ceren ÇIRACI
- 11:30-12:00 **Mukozal immünoterapide tolerans mekanizmaları**
Nerin BAHÇECİLER
- 12:00-12:15 **H S V - 1 Enfeksiyonunda ZnO nanopartiküllerin sitokin yanıtına in vitro etkisi**
Sibel AK
- 12:15-12:30 **Siprofloksasine bağlı geç tip hipersensitivite reaksiyonlarında CD4+ T hücre yanıtları**
Belkıs ERTEK
- 12:30-14:00 *Öğle Yemeği*
- 14:00-16:00 **Nöroimmünoloji**
Oturum Başkanları: Güher Saruhan DİRESKENELİ, Fulya İLHAN
- 14:00-14:30 **Targeting plasma cells with proteasome inhibitors: Possible roles in treating myasthenia gravis?**
Mario LOSEN
- 14:30-15:00 **İnflamatuvar demiyelinizan santral sinir sistemi hastalıklarında biyobelirteçler**
Ayşe ALTINTAŞ
- 15:00-15:30 **Nöro-behçet hastalığında yeni antikorlar: antikorların olası patojenik etkileri**
Erdem TÜZÜN
- 15:30-15:45 **L L - 3 7 içeren hücre dışı nano-keseciklerin behçet patogeneziindeki rolleri**
Tamer KAHRAMAN
- 15:45-16:00 **I F N - γ , dental folikül kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin (DFSC) CD4+Foxp3T hücrelerini indükler**
Noushin ZİBANDEH
- 16:00-16:30 *Kahve Arası*
- 16:30-18:15 **İmmünyetmezlik**
Oturum Başkanları: Bilkay BAŞTÜRK, İlhan TEZCAN
- 16:30-17:00 **Sık değişken immün yetmezlik: Erişkinde kliniği**
Uğur MUŞABAK
- 17:00-17:30 **WAS: Klinik prezantasyon, izlem ve prognoz (Hacettepe Deneyimi)**
İlhan TEZCAN

- 17:30-17:45 **Fagositlerde dihidrorhodamin ile oksidatif patlama; sağlıklı bireylerde normatif veriler**
Dilek ÇİÇEKKÖKÜ
- 17:45-18:00 **Artemis gen mutasyonlu vakalarımızın klinik seyirleri**
Esra Hazar SAYAR
- 18:00-18:15 **J-Project eğitim toplantıları**
İsmail REİSLİ
- 20:30-00:00 **Gala yemeği - dia gösterisi - Ferah BUDAK**

30 Nisan 2015, Perşembe

- 08:00-09:00 **Akılcı ilaç kullanımı**
H. Barbaros ORAL
- 09:00-10:30 **Transplantasyon immünolojisi**
Oturma Başkanları: Hüseyin TUTKAK, Akif TURNA
- 09:00-09:30 **Transplantasyonda HLA antikorlar**
Hüseyin TUTKAK
- 09:30-10:00 **İmmünolojik riskli hastalarda transplantasyon**
Ali ŞENGÜL
- 10:00-10:30 **Transplantasyon toleransı amaçlı regülatuar T hücre tedavisi**
Sadi KÖKSOY
- 10:30-10:45 **Eritrosit süspansiyonlarında depolanma sürecinin T hücre alt grupları üzerine etkisi**
Salih Haldun BAL
- 10:45-11:00 **Sarkoidozlu hastalarda HLA DRB1*02, DRB1*06, DRB1*13 ve DQB1*13 alellerinin hastalığının yaygınlığı ve seyri ile ilişkisi**
Dorina ESENDAĞLI
- 11:00-11:30 *Kahve Arası*
- 11:30-12:45 **Enfeksiyon ve bağışıklama**
Oturma Başkanları: Ferah BUDAK, Şükran KÖSE
- 11:00-11:30 **MyD88 eksikliğinde sitozolik patojen tanıma reseptörlerinin rolü**
Mayda GÜRSEL
- 11:30-12:00 **Etken açısından mikroorganizma-konak ilişkisi**
Hakan ABACIOĞLU
- 12:00-12:30 **Konak açısından mikroorganizma-konak ilişkisi**
Selim BADUR
- 12:30-12:45 **Monosit Alt Grupları, sitokin salınımları ve aktivasyon belirteçlerinin çocukluk çağı tüberkülozunda araştırılması**
Esin Çetin AKTAŞ
- 12:45-13:30 **Genel değerlendirme ve kapanış**
- 13:30-14:30 *Öğle Yemeği*

SÖZEL BİLDİRİLER

[SS-001][Doğal immünite]**Yüksek glukoz maruz kalan SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinde C1q uyarısı**Ayşe Başak Engin¹, Resul Karakuş²¹Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Toksikoloji A.B.D., Ankara²Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji A.B.D., Ankara

Amaç: Diyabette meydana gelen kontrolsüz hipergliseminin komplikasyonları önemli bir sorundur. Çok sayıda epidemiyolojik çalışma, kronik hiperglisemi ile karakterize diyabetli hastada nörodejeneratif hastalıklar özellikle de Alzheimer hastalığının gelişme riski ve hızının yüksek olduğunu göstermektedir. Demans grubundaki hastalıklarda nöronal hücre dejenerasyonu ve sonuçta hücre ölümüne sebep olan faktörler arasında oksidatif stres, inflamasyon ve hücrel proteinlerin glikasyonunda artma gibi muhtelif mekanistik benzerliklerin olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmanın amacı, yüksek konsantrasyonda glukoz bulunan ortamda meydana gelen oksidatif stresin ve kompleman kaynaklı "membrane attack complex (MAC)" in oluşumu için gerekli olan klasik kompleman kaskadının majör bileşeni C1q'nun SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinin canlılığı üzerine etkisini değerlendirmektir.

Yöntem-Gereçler: SH-SY5Y hücreleri Uluslararası Diyabet Federasyonu tarafından kabul edilen hiperglisemi sınırları içerisinde glukoz dozları ile 40 uU/ml insülin varlığında ya da yokluğunda kısa ve uzun süreli inkübe edildi. Hücrelerin total mitokondrial metabolik aktivitesi [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür, tetrazolyum tuzu] (MTT) testi, oksidatif stresin şiddeti $Q = \frac{[\text{nitrit} + \text{nitrat}]/\text{Cc}}{[\text{MTT}]/\text{Cc}}$ ile tayin edildi. NO₃+NO₂ (NO_x) düzeyleri spektrofotometrik olarak, hücre lizatlarındaki C1q düzeyleri ELISA kiti ile ölçüldü.

Bulgular: Farklı konsantrasyonlarda glukoz ve 10-40-60 uU/ml dozda insüline maruz bırakılan hücrelerin metabolik aktiviteleri 6-24-48-72 saat inkübasyon sonucunda MTT ile tayin edildi. NO_x ve C1q ölçümlerinin ilk ve ikinci 24 saatlerde yapılmasına karar verildi. Yüksek glukoz maruz kalan SH-SY5Y hücrelerinin metabolik aktivitesinin ilk ve ikinci 24 saatlerde inkübasyon sonucunda istatistiksel olarak anlamlı olarak düştüğü (p<0.05) ve bu azalmayı insülinin desteklediği tespit edildi. Tüm glukoz konsantrasyonlarında ortamda hücre başına üretilen NO kaynaklı oksidatif stresin şiddetinin, mitokondrial antioksidan [(NADPH+-NADP+)-(GSSG-GSH)] sistem rejenerasyonunda meydana getirdiği azalmanın hücre canlılığı ile istatistiksel bakımdan anlamlı negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. SH-SY5Y hücrelerinin NO_x üretimlerinin C1q düzeylerindeki değişikliklerle birlikte aynı oranda değişim göstermesi; NO_x düzeylerinin C1q ile doğrudan ilişkili olduğunu ve NO_x konsantrasyonundaki değişiklikleri kompleman sistemine yansıdığını ortaya koymaktadır.

Sonuçlar: Nöronlara glukoz transportu ve total mitokondrial metabolik aktivitenin insülin bağımsız olduğu düşünülmektedir. Diğer taraftan yüksek glukoz maruz kalan her hücrenin glikolitik yolaktaki metabolik aktivitesi kadar serbest radikal meydana getirdiği ve bununla orantılı antioksidan kapasite kaybında ortaya çıkan oksidatif streste C1q'nun bir sensör olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dopaminerjik nöron, C1q, mitokondrial oksidatif stres

[SS-002][Edinsel immünite]**Akut myeloid lösemi (AML) hücreleri üzerinde bulunan ko-stimülatör moleküllerin yardımcı T hücre yorulmasına katkısı**

Didem Özkazanç, Güneş Esendağlı

Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

Amaç: Kanser gibi kronik hastalıklarda sürekli olarak antijen ve çeşitli uyarımlar alan T lenfositler etkinliklerini yitirirler. Efektör fonksiyonlarını kaybetmiş, çoğalma kapasiteleri azalmış bu hücreler aynı zamanda tekrar aktivasyona da dirençlidirler. Özellikle düşük IL-2 ifadesi ve PD-1, LAG3, Tim-3 gibi çeşitli yüzey belirteçleri ile karakterize bu hücre grubu "yorulmuş/tükenmiş (exhausted)" olarak nitelendirilmektedir. AML hücrelerinin yardımcı T lenfosit (Th) yanıtlarını uyarabildiği bilinmesine rağmen bu uyarım sonucunda Th yanıtlarının anti-lösemik etkisi sınırlıdır. AML hücrelerinin Th yorulmasına olan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Periferik kandan FACS ile saflaştırılan CD4+ T lenfositlerin anti-CD3 (aCD3) uyarıcı antikor varlığında farklı matürasyon basamaklarındaki AML hücre hatları (HL60, THP1) ve/veya monositler ile ko-kültürleri yapıldı. Bu ko-kültürler, farklı hücre oranları (0.25:1, 2:1, 4:1) ve değişik düzeylerdeki aCD3 uyarımı (6.125, 12.5, 25, 50, 100 ng/ml) ile tekrarlandı. T hücre yorulmasının sağlanması amacıyla 24 saatlik periyotlarda aCD3 ve kültür ortamı devamlı olarak tazelendi. T hücrelerin kazandığı immün fenotip, çeşitli aktivasyon, farklılaşma ve yorulma belirteçlerinin [CD154, CD69, CD25, CD38, CD80, ICOS, CTLA-4, PD-1, PD-L1, LAG3, Tim-3, CD127, CCR7] düzeyi 6, 12, 24 ve 96 saatlerdeki akım sitometri ile ölçüldü. CFSE analizi ile çoğalma düzeyleri belirlendi. Ayrıca, optimum aCD3 uyarımı ve ko-kültür oranı belirlenerek çeşitli ko-stimülatör moleküllerin blokajı rekombinant PD1-Fc, CTLA-4-Fc, ICOS-Fc proteinleri ile yapıldı. Bu koşullar altında T hücre yanıtları ve yorulmadaki değişim incelendi. Ko-kültürlerde bulunan sitokin (IFN-g, TGF-b, IL-10, IL-4, TNF-a, IL-2) düzeyleri ELISA ile saptandı. Ek olarak, *in vitro* yorulma modelinde yorulduğu belirlenen ve yorulmamış Th lenfositler Tim-3 ekspresyon düzeyine göre FACS ile iki grup halinde izole edildi. Bu hücrelerin çeşitli uyarımlar varlığında (aCD3, aCD28, rIL-2, PBMC ko-kültür) yeniden çoğalma kapasitesi kazanıp kazanmadığı araştırıldı.

Bulgular: AML hücrelerinin Th aktivasyonunu ve çoğalmasını uyarabildiği doğrulandı. *In vitro* yorulma modeli ile 96 saatlik inkübasyonlar sonrasında aktivasyon belirteçleri yüksek düzeyde seyrederken yorulma fenotipi ile ilgili LAG3, Tim-3, PD-1, CTLA-4 gibi moleküllerin seviyelerinde ve ko-ekspresyonunda belirgin artış saptandı. Monositler varlığında yapılan ko-kültürlerde ise Th aktivasyonu ve proliferasyonu AML hücreleri ile elde edilen sonuçlara benzer idi; ancak, yorulma belirteçlerinin düzeyi anlamlı olarak düşük kaldı. Yorulma düzeyi ne kadar yüksek ise o kadar düşük miktarda sitokin üretildiği görüldü. Hem hızlı hem de daha yavaş çoğalan Th hücrelerin benzer düzeyde yorulduğuna dair gözlem yapıldı. Ayrıca, yorulma fenotipinin farklı aCD3 konsantrasyonları ve/veya ko-kültür oranları ile de geliştiği görüldü. Ko-stimülatör moleküllerin bloklanması ile özellikle ICOS-L ve CD80/CD86 blokajlarında yorulma düzeyinin (LAG3+ ve Tim-3+ hücre oranının) azaldığı belirlendi. Th'ler geri-saflaştırılıp tekrar stimüle edildiklerinde ise yorulma fenotipine sahip olanlar düşük proliferasyon kapasitesi gösterdi, diğer taraftan IL-2 eklenmesi ile bu kapasitenin artırılabilirdiği görüldü.

Sonuç: Bu çalışmada, AML hücrelerinin Th yorulmasına etkisi ilk defa *in vitro* olarak modellenmiş ve bu hücrelerin yüzeyinde bulunan ko-stimülatör moleküllerin bu fenotipe olan katkısı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: AML, ko-stimülasyon, yardımcı T hücre yorulması

[SS-003][Kanser immünolojisi]**Kansere karşı, SA-4-1BBL ve MPL adjuvan sisteminin toksik ve otoimmün olmayan güçlü tedavi edici etkisi**

Güneş Dinc, Abhishek Kumar Srivastava, Rajesh Sharma, Esmâ Yolcu, Hong Zhao, Haval Shirwan
Institute for Cellular Therapeutics; Microbiology/ Immunology Department, University of Louisville,
Louisville, KY, USA

Amaç: Tümöre ait antijenlerden oluşan alt-birim aşılarda tedavi yöntemi olarak çekici olmasına rağmen zayıf immünojen olmaları ve tümör immün kaçış mekanizmalarından dolayı tedavi edici etkileri sınırlıdır. Bu sınırlılıkların üstesinden yüksek immün stimüle edici aktiviteleri olan adjuvanlar tümöre ait antijenlerden oluşan alt-birim aşılarda kullanılarak gelinir. Ancak bunu yaparken aşının güçlü bir tedavi edici potansiyeli yanında ev sahibi için herhangi bir toksik veya otoimmün etkisinin olmaması gerekli koşullardandır.

Gereç-Yöntem: Buradaki murin servik kanseri modelinde, yeni bir adjuvan sistemi olarak farklı etki mekanizmaları ile yardımcı-uyaran molekül SA-4-1BBL ve TLR 4 agonisti monophosphoryl lipid A (MPL) kombinasyonu, tümöre ait antijen olarak da HPV E7 proteini kullanıldı. C57BL/6 farelerine deri altı enjeksiyon ile 100.000 TC-1 hücreleri enjekte edildi ve 6 gün sonra aynı rota ile aşılama yapıldı. CD8 ve CD4 T hücreleri sistemden aşılama 1 gün önce tek dozda özgül antikorlar enjekte edilerek tüketildi. IFN- γ ise tümör hücreleri aşılama 6 saat önce ve toplam 4 doz olmak üzere her 3 günde bir tekrar edilen antikor enjeksiyonu ile sistemde bloke edildi. Hücre içi boyama ile IFN- γ , IL-2, TNF-a sitokinleri miktarları belirlendi. ssDNA ya karşı otoantikor gelişimi ELISA ile analiz edildi. Karaciğer ve böbreklerin fonksiyonlarının kontrolü için AST, ALT, BUN, ve CREA enzim seviyelerine bakıldı. H&E boyama ile karaciğer dokusundaki immün hücre sayılarına bakıldı.

Bulgular: Tek bir aşılama E7 proteini taşıyan oluşmuş TC-1 tümörlerinin % 100 ünü yoketti. Bu kombine adjuvan tedavisi etki için CD8+ T hücreleri ve IFN- γ yanıtlarına ihtiyaç duyar. En önemlisi aşının tedavi edici etkisi, karaciğer enzimlerine, kan üre nitrojenine, T, B, NK, NKT, makrofaj, ve dendritik hücreleri sayısındaki değişime, başlıca doku histolojilerine, organ toksisitesinin anatomik kanıtına, ve otoimmünite için ssDNA'ya karşı antikorlara bakıldığında, hiç bir toksisite ve otoimmünite gözlemlenmeden başarılmıştır.

Sonuç: Bu çalışma tümöre ait antijenlerden oluşan ancak toksik ve otoimmün etkisi olmayan tedavi edici alt-birim aşılarda geliştirilmesinde SA-4-1BBL ve MPL den yeni bir adjuvan sistemi olarak faydalanılmasını sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: kanser aşılı, MPL, SA-4-1BBL

[SS-004][Kanser immünolojisi]**Prostat kanserinde PSA-spesifik immün cevap: poliklonal ve PSA-spesifik T hücrelerinin karakterizasyonu**

Alper Muammer Kurşunel, Alberto Sada Japp, Sarah Meier, Andreas Thiel, Marco Frentsch
Research Group of Regenerative Immunology and Aging, Berlin-Brandenburg Center for
Regenerative Therapies (BCRT), Charité - Universitätsmedizin Berlin

Amaç: Prostat kanseri erkek hastalarda görülen kanser vakaları içinde en sık görülen kanser türlerinden olup, birincil tedavi olan cerrahi müdahaleye rağmen prostat kanserinin yüksek relaps ve metastaz oranına sahip olması prostat kanseri hastalarına ek tedavi stratejileri uygulanmasını gerektirmektedir. Prostat kanserinde PSA (prostat-spesifik antijen) gibi tümör-ilişkili antijenlerin sentezlenmesi, bu tümör modeli için immünoterapi geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Her ne kadar bu konuda bazı immünoterapötik stretejiler denenmiş/ denenmekte olsa da, tümörün heterojenitesi ve tedavi öncesi immünolojik koşullara bağlı olarak hastalarda immünoterapi sonrası immün cevap değişkenlik göstermektedir. Bu da hem immünoterapi için uygun hasta grubunun belirlenebilmesi, hem de prostat kanserinde PSA-spesifik immün cevap mekanizmasının anlaşılabilmesi için hasta ve sağlıklı bireylerdeki PSA-immün cevap düzeyi ve bu immün cevaba bağlı olarak poliklonal ve PSA-spesifik T hücrelerinin fenotipik ve fonksiyonel durumlarının anlaşılmasını gerektirmektedir.

Gereç-Yöntem: PSA-spesifik T hücre cevabının ölçülebilmesi için; prostat kanseri hastalarından ve yaş-uyumlu sağlıklı donörlerden alınan kandan PBMC (periferik kan mononükleer hücreler) izole edildi, elde edilen PBMC, PSA-peptid havuzuyla stimüle edildi ve stimülasyon sonrası soy markerleri (CD3, CD4, CD8), aktivasyon markerleri (4-1BB, MIP1- β , CD40L) ve sitokin (CD107a, IFN γ , IL2) sentezine göre oluşan PSA-spesifik T hücre immün cevap ölçüldü. Ölçülen cevaba göre immün cevap verebilen ve immün cevap veremeyen gruplar belirlendi ve bu gruplarda poliklonal CD8+ T ve PSA-tetrameri kullanılarak elde edilen PSA-spesifik CD8+ T hücrelerinin fenotipik ve fonksiyonel durumları markerler (CCR7, CD45RA, CCR4, CCR5, CD38, TIM-3) ile belirlendi.

Bulgular: Bir çok sağlıklı donörün aksine bir çok prostat kanseri hastasında fonksiyonel PSA-spesifik immün cevabın oluşmadığı görülmektedir. Hastalar ve sağlıklı donörler arasında oluşan PSA-spesifik immün cevap farklılığının sahip olunan PSA-spesifik CD8+ T immün hücre sayısı ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir. PSA-spesifik immün cevap gösterebilen ve gösteremeyen grupta yapılan PSA-spesifik CD8+ T hücre analizlerinde, PSA-spesifik immün cevap gösteremeyen grupta daha fazla PSA-spesifik CD8+ T hücresinin CD38 aktivasyon markeri ve TIM-3 yorgunluk markeri sentezlediği görülmüştür.

Sonuç: PSA-spesifik immün cevap veremeyen hastalarda bulunan PSA-spesifik CD8+ T hücrelerinin disfonksiyonel olduğunu ve ex vivo peptid stimülasyonuna karşın sitokin sentezleyemediği gösterilmiştir. Bu bilginin değerlendirilmesi hem uygulanan PSA-ilişkili immünoterapilerde neden istenilen başarının sağlanamadığını anlamamızda hem de PSA-ilişkili immünoterapiler için uygun hasta gruplarının belirlenmesinde önemli bir referans olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Exhaustion, Prostat, T-hücre

[SS-005][Otoimmünite ve tolerans]**İndirekt İmmünfloresans Yöntemiyle Saptanan Anti Nükleer Antikor Dense Fine Speckled Patterni Klinik Olarak Önemli mi?**

Selcan Özgüçlü, Rahime Aksoy, Türker Duman, Hüseyin Tutkak
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları BD

Otoimmün hastalıkların tanısında ve takibinde kullanılan anti nükleer antikor (ANA), hücre içi antijenlere karşı oluşabilen antikorlardır. Bu antikorlar indirekt immünfloresans (IFA), EIA, immünblot, westernblot ve boncuk temelli immünassay yöntemleriyle tayin edilebilirler. ANA (IFA) yönteminde primat doku kesitlerinin yanı sıra Hep-2 hücreleri kullanılmaktadır. Hücrelerdeki farklı boyanma modelleri birçok otoantikorun tanımlanabilmesine imkan sağlar. Son yıllarda tanımlanan lens epitelyum kaynaklı büyüme faktörüne (LEDGF) karşı antikorlar ilk olarak DFS-70 antikorları olarak tanımlanmışlardır.

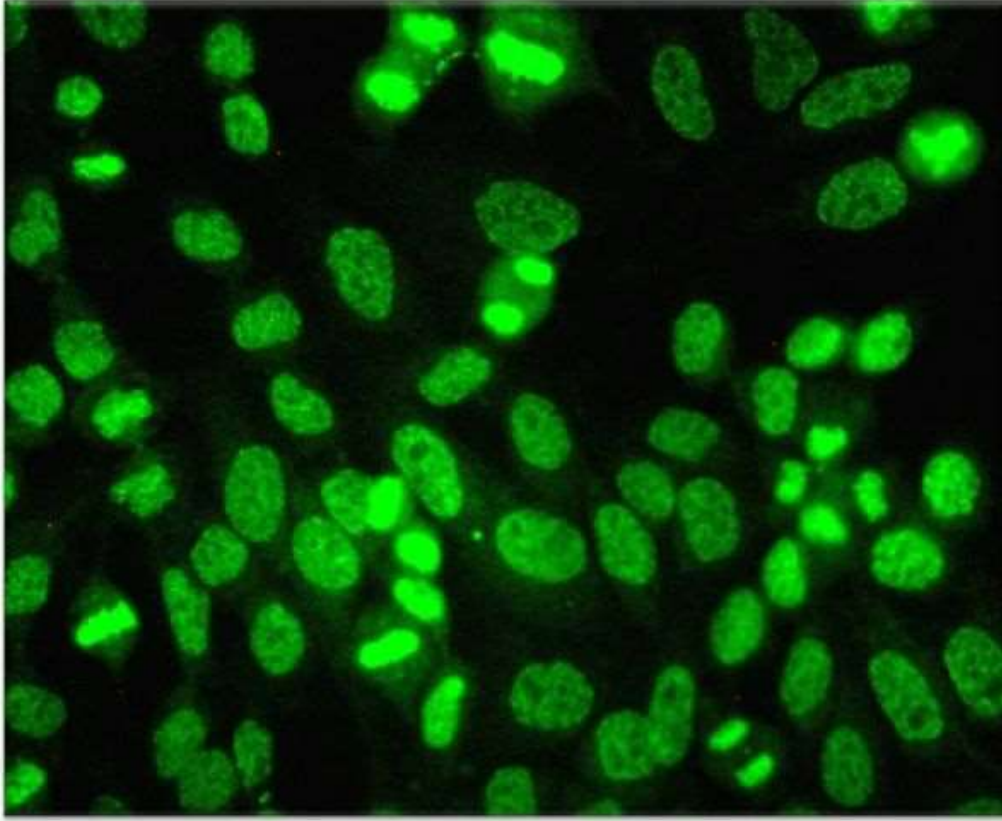
Amaç: Bu çalışmada Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuvarında 2012-2014 yılları arasında ANA (IFA) testinde DFS-70 otoantikor pozitif bulunan 366 olgunun retrospektif olarak klinik tanıları irdelenerek sağlıklı bireyler ve bağ dokusu hastalıklarındaki dağılımının incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: ANA testi, IFA yöntemiyle Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuvarında çalışılmış ve DFS-70 antikor pozitif patterni saptanan olguların klinik ön tanıları "Avicenna HBS" kayıtları taranarak çıkarılmıştır. ANA IFA floresans mikroskopik değerlendirilmeleri önce deneyimli laboratuvar elemanı, sonra laboratuvar sorumlusu tarafından yapılarak kayıt altına alınmıştır.

Bulgular: DFS-70 antikor pozitif olguların; %39'da bağ dokusu hastalığı (BDH) (%11 undiferansiye, %6 RA, %4 SLE, %4 Sjögren, %4 spondiloartropati, %2 FMF, %1 skleroderma), %30'nun sağlıklı, %12'sinin allerjik hastalık, %5'nin otoimmün hastalık, %3'nün D vitamini eksikliği, %2'sinin malignite ve %9'nun diğer hastalıklar ön tanısı aldığı görülmüştür.

Sonuç: DFS-70 antikor pozitifliğinin sağlıklı bireylerdeki oranı %5,4-12 olarak bildirilmiş, Ülkemizdeki oranları ise ilk olarak bizim grubumuz tarafından %5,8 (2nd Mediterranean Clinical Immunology Meeting,2008), 526 kişilik kontrol grubunda (%1,9) (Kayasu, D, "Sistemik Otoimmün Romatolojik Hastalıklarda ve Sağlıklı Bireylerde Anti-DFS-70 Otoantikorları, Diyagnostik İmmünoloji Yüksek Lisans Tezi" Danışman Tutkak H, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2010), 11003 ANA (IFA) test sonucunun retrospektif değerlendirmesinde %2,1 (2013, 22. İmmünoloji Kongresi) olarak bildirilmişti. Bizim çalışmalarımızla da desteklenen sağlıklı bireylerde daha sık bulunan bu otoantikor pozitifliğinin, BDH şüphesinden uzaklaşılması gerektiği ileri sürülmekle birlikte DFS-70 pozitifliklerinde BDH tanısının da kolayca gözardı edilemeyeceğini göstermektedir. RA, SLE, Sjögren Sendrom ve Otoimmün hastalık ön tanılı olgularda saptanan %6-4 DFS-70 pozitiflik oranları, bu olguların izlenmesi gerektiğini göstermektedir. Allerjik hastalıklarda %12 olarak olarak gözlenen bu antikor pozitifliği daha önce başka araştırmacılar tarafından bildirilen sonuçlarla uyumlu bulunmuştur. ANA IFA floresans mikroskopik değerlendirmeleri deneyim gerektirmektedir. Mikroskopik değerlendirmelerin farklı 2 laboratuvar elemanı tarafından yapılması daha güvenilir laboratuvar neticeleri için tavsiye edilebilir. Antikor pozitiflikleri laboratuvar ve klinisyenlerin işbirliğini ve olguların izlenmesiyle daha sağlıklı değerlendirmeler yapılabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Anti nükleer antikorlar, DFS-70, Bağ dokusu hastalıkları

ANA IFA DFS-70 boyanma patterni**ANA IFA DFS-70 patterni pozitif 366 olgunun ön tanıları**

ÖN TANI	Olgu Sayısı (N:366)	%
Bağ Dokusu Hastalıkları (Toplam)	144	39,3
Undiferansiye BDH	41	11,2
RA	21	5,7
SLE	14	3,8
Sjögren Sendromu	16	4,4
Spondiloartropati	16	4,4
FMF	9	2,5
Skleroderma	3	0,8
Sağlıklı bireyler	109	29,8
Allerjik Hastalıklar	43	11,7
Otoimmün Hastalıklar	17	4,6
D vitamin eksikliği	12	3,3
Malignite	8	2,2
Diğer	33	9,8

[SS-006][Kanser immünolojisi]**Akut Miyeloid Lösemi (AML) Hücrelerinde IFN-G, STAT3 VE PD-1 Ligand Ekseninin İmmün Kaçış Mekanizması Olarak Değerlendirilmesi**

Diğdem Yöyen Ermiş, Gürcan Tunalı, Güneş Esendağlı
Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

Amaç: Miyeloid lösemi hücrelerinin immün yanıtları düzenleyerek anti-tümör reaksiyonlara karşı adaptif direnç kazandığı bilinmektedir. İmmün yanıtlar ile karşılaşan AML hücreleri en başta PD-1 inhibitör reseptörüne ait ligandlar PD-L1 (B7-H1) ve PD-L2 (B7-DC) olmak üzere çeşitli ko-inhibitör moleküllerin ekspresyonunu artırır ve adaptif immün sistem yanıtlarını bloke ederler. Bu çalışmada farklı olgunlaşma basamaklarında bulunan miyeloid lösemi hücrelerinin immün yanıtları PD-1 yolağı ile baskılama kapasitesinin de farklılık gösterebileceği ve AML hücrelerinin öncül ve proliferatif aktivitelerini sürdürmesini sağlayan STAT3 yolağı ile ilişkisi olduğu hipotezleri test edilmiştir.

Gereç-Yöntem: KG-1, Kasumi-1, THP-1, U937, HL-60 miyeloid lösemi hücreleri ve bu hücrelerin farklı sürelerde all-trans retinoik asit (ATRA) ve 1 α ,25-dihidroksivitamin D3 (D3) ile uyarılarak farklı olgunlaşma basamaklarına ilerletilen türevleri üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Anti-tümör yanıtların en önemli araçları arasında yar alan IFN-g'ya yanıt olarak (15, 30 dk.; 24, 48 saatlik inkübasyonlar) bu hücre türevlerindeki değişim incelenmiştir. Hücre çoğalması (CFSE deneyi), PD-L1 ve PD-L2'nin miyeloid hücre matürasyon düzeyi (CD11b, CD11c, CD14 pozitifliği) ile ilişkisi (akım sitometri) değerlendirilmiştir. B7 ailesi ko-stimülasyon molekülleri CD80, CD86, PD-L1, PD-L2, B7-H2 hem akım sitometri hem de RT-PCR ile analiz edilerek hücre matürasyonu ile olan ilişkileri desteklenmiştir. Total ve fosfo-STAT3 yolağındaki farklılıklar Western-Blot analizleri ile gösterildi. Bu yolağın STAT3 inhibitörü (Stat3 inhibitor-V, stattic) ile susturulması sonucunda inhibitör ligand ekspresyonunda görülen değişimler araştırılmıştır.

Bulgular: Miyeloid lösemi hücre olgunlaşmasının özellikle CD11b belirteci ile pozitif korelasyon gösterdiği belirlendi. AML hücrelerinin yüzeyinde IFN-g varlığında özellikle PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonunun tetiklendiği ve bu inhibitör moleküllerin CD11b-pozitif hücrelerin yüzeyinde anlamlı derecede daha yüksek düzeyde olduğu görüldü. ATRA veya D3 ile olgunlaşma basamaklarında ilerletilen hücrelerde total STAT3 proteini belirgin artış gösterdi. IFN-g ile 48 saat boyunca uzun süreli inkübasyon da bu hücrelerde STAT3 düzeyini artırdı. STAT3 yolağı inhibe edilen AML hücrelerinde ise, özellikle IFN-g ile uyarılan PD-L1 ekspresyonunun azaldığı tespit edildi.

Sonuç: Tüm bu veriler doğrultusunda IFN-g'ya yanıt olarak AML hücrelerinin kazandığı PD-L1 aracılı adaptif direnç mekanizmasının STAT3 üzerinden kontrol edilebileceği ve bunun hücre matürasyonu ile pozitif korelasyon gösterebildiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: miyeloid lösemi, PD-1 Ligandları, STAT3 yolağı

[SS-007][Kanser immünolojisi]**İmmün Proteinlerin Prognostik Kanser Biyobelirteçleri Olarak Kullanılması**

Emre Dayanç¹, Seçil Demirkol², Bengisu Uluata², İsmail Gömçeli³, Mesut Tez⁴, Mithat Gönen⁵, Ali Osmay Güre²

¹Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye

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

³Gastroenteroloji Cerrahisi Anabilim Dalı, Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, Türkiye

⁴Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, Türkiye

⁵Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 75 York Avenue Box 44, New York. NY 10021 USA

Kolorektal kanser için uygulanan testlere geçtiğimiz yıl bir yenisi eklenmiştir. Bu yeni test dışkıdan izole edilecek DNA'da metillenmiş BMP3 ve NDRG4 promotör bölgelerini, mutant KRAS ile referans β-aktin genini belirleyerek, bunu insan hemoglobin immünokimyasal testi (dışkıda gizli kan testi-FOBT) ile birleştirme prensibine dayanmaktadır. Henüz kolorektal kanserler için bir rutin prognoz testi kullanılmamaktadır, bu amaçla yapılan çalışmalar sürmektedir. Biyoenformatik çalışmalarımızla daha önce kolorektal kanser için kanda belirlenebilecek bir prognostik immün proteini tanımlamıştık. Bu çalışmalarda mikrodizin sonuçlarından elde edilen gen ifadelerini, kanser spesifik hasta yaşam bilgisi ile ilişkilendirerek belirlediğimiz NK hücre reseptörlerinden NKG2D'nin bir ligandı olan "UL-16'ya bağlanan protein 2" (ULBP2)'yi sunmuştuk. ULBP2 ve diğer NKG2D ligandları hücre-içi enfeksiyon, DNA hasarı, transformasyon gibi hücrel stres durumlarında ifade edilirken, stres altında olmayan hücrelerde ifadeleri çok düşüktür. Hücre yüzeyine bir glikozil-fosfotidil-inositol (GPI) bağı ile bağlı olan ULBP2, bu bağlantı tümör hücre matriks metalloproteinazları tarafından parçalandığında, çözünür ULBP2 (sULBP2) halinde seruma geçer (Waldhauser and Steinle et al. Cancer Res. 66:2520 2006). Yapılan çalışmalar tümör hücre kökenli NKG2D ligandlarının (örneğin MICA veya ULBP2), hücre yüzeylerinden salgılanarak, anti-tümör NK ve CD8+ T hücre yanıtını engelleyebileceklerini göstermiştir (Groh et al. Nature 419:734 2002). ULBP2'nin ifadesinin kontrolünde p53 tümör baskılayıcı genin rol oynadığını, ve ifadenin artışının NK hedef hücre tanınmasını arttırdığı (Textor and Cerwenka et al. Cancer Res. 71:5998 2011) ve bu sebeple sULBP2 moleküllerinin lösemiler (Nüchel et al. Leukemia 24:1152 2010), akciğer kanseri (Yamaguchi et al. Cancer Sci. 103:1405 2012) ve hatta HIV enfeksiyonunda (Matusali et al FASEB J. 27:2440 2013) arttığı öne sürülmüştür. Çalışmamızda belirlediğimiz bu kolorektal prognostik aday genin doğrulama çalışmalarının devamını sunuyoruz. ULBP2'nin gen ifadesinin 45 kolon ve 42 rektum kanseri hastasından oluşan bir Türk kolorektal hasta kohortu'nun yaşam sürelerine bağlantısını daha önce tanımlamış ve ULBP2 gen ifadesi düşük kolorektal kanser hasta grubunun, daha yüksek kanser-spesifik yaşam süresi oranına sahip olduğu önerisini bu çalışma sonucunda sunmuştuk. Tümör dokularındaki ULBP2 proteinin ifadesinin meta analizi, ULBP2'nin doku mikrodizin ifade data analizi ve immünohistokimyasal analizleri sonuçlarını sunuyoruz. Yeni tedarik ettiğimiz 36 kolorektal hasta kohortu serumlarında çözünür ULBP2 protein seviyeleri varlığını araştırmaya devam ediyoruz.

Anahtar Kelimeler: kolorektal kanser, biyobelirteç, ULBP2

[SS-008][Alerji ve İnflamasyon]

Sarkoidozlu Hastalarda HLA-DRB1*02, HLA-DRB1*06, HLA-DRB1*13 ve HLA-DQB1*13 Alellerinin Hastalığın Yaygınlığı ve Seyri ile İlişkisi

Dorina Esendağlı¹, Füsün Özmen², Sevgen Önder³, Elif Tuğçe Korkmaz¹, Deniz Köksal¹, Salih Emri¹

¹Hacettepe Üniversitesi, Göğüs Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi, Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi, Patoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

Giriş-Amaç: Sarkoidoz etiyojisi bilinmeyen, akciğer ve mediastinal lenf nodları başta olmak üzere birçok organı tutabilen, heterojen inflamatuvar bir hastalıktır. Her cinsten ve yaşta görülsün de, genellikle genç ve orta yaşın hastalığıdır. Sarkoidoz tanısı, hastalığın tuttuğu organlarda non-kazeifiye granülomların gösterilmesi ile konur. Bu granülomların oluşumunda T lenfositlerin yol açtığı aşırı hücresel bağışıklık yanıtının önemli rolü vardır. Sarkoidozlu hastaların klinik prezentasyonu organların tutulum derecesi ve yaygınlığına göre değişkenlik gösterir. Bazı hastalar asemptomatik iken, bazı hastalarda akut hastalık bulguları olur. Bu hastalar ya kendiliğinden ya da verilen tedavi ile tamamen düzelebilir. Bazı hastalarda ise hastalık daha sinsi bir seyir gösterir ve tedaviye rağmen kronik hastalık bulguları ve fibrozis gelişebilir. Sarkoidozlu hastalardaki bu farklı klinik tabloların varlığı ve tedaviye yanıt açısından gözlenen farklılıklar, sarkoidozlu hastalarda genetik yatkınlığın önemli rolü olduğunu düşündürmektedir. Genetik çalışmalarda, sarkoidozun çeşitli genlerle ilişkili olduğu, en güçlü bağlantının da HLA bölgesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı HLA Sınıf II molekülleri ile Sarkoidoz hastalığı veya hastalığın seyri ve yaygınlığı arasındaki ilişkiyi analiz etmektir.

Materyal-Metod: Bu çalışmaya Ekim 2013 - Mart 2015 tarihleri arasında merkezimize başvuran 50 sarkoidoz tanılı hasta dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak ise, doku tiplene laboratuvarına kayıtlı, akraba olmayan 100 sağlıklı donör kullanılmıştır. Hastaların HLA-DRB1* ve HLA-DQB1* tiplendirimi Polimeraz Zincir Reaksiyonu -Sekans Spesifik Primer (PCR-SSP) yöntemi kullanılarak düşük çözünürlükte yapılmıştır. İstatistiksel analizler için Ki-kare ve Fisher testleri kullanılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya alınan 50 sarkoidozlu hastanın %74'ü kadındı. Yaş ortalaması 46,9 yıl iken tanı anındaki yaş ortalaması 43,4 yıldır. Hastaların %66'sında tek organ (en çok akciğer), %34'ünde birden çok organ tutulumu saptandı. Akciğer tutulumuna göre radyolojik evreleme yapıldığında, hastaların %69'u evre 2 idi. Hastalar aldıkları tedaviler açısından değerlendirildiğinde, 17 hasta inhaler steroid, 27 hasta sistemik steroid, 10 hasta diğer immünsupresif ajanları kullanmakta, 15 kişi ise tedavisiz takip edilmekteydi. Hastalık seyri açısından yapılan takipte, 19 hastada regresyon, 14 hastada progresyon ve 17 hastada stabil hastalık bulguları izlendi. Yapılan HLA-DR* ve -DQ* analizinde hasta ve kontrol grubunda toplam 27 alel tanımlanmıştır. Hasta grubunda kontrol grubuna göre DRB1*02 (%5, p=0.004), DRB1*06 (%3, p=0.036), DRB1*13 (%22, p= 0.016) ve DQB1*13 (%5, p=0.04) alel frekansları daha yüksek bulundu ve bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıydı (p < 0,05). Bu alellerden DRB1*02 ve DRB1*13 özellikle tek organ tutulumunda daha yüksek frekans gösterdiği saptandı (p=0.003 ve p=0.007). Kötü prognoz ve progresyon gösteren hasta grubunda ise HLA-DRB1*06 alel frekansının, stabil ve regrese olan hasta grubuna göre arttığı tespit edildi (p < 0,05).

Sonuç: Bu sonuçlar HLA-DRB1*02, -DRB1*06, -DRB1*13 ve HLA-DQB1*13 alellerinin sarkoidoz hastalığı ile ilişkili olabileceğini, Türk hastalarda prognoz ve tedavinin belirlenmesinde kullanılabileceğini düşündürmektedir. Hasta sayısı artırılarak çalışmaya devam edilmesi planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: sarkoidoz, HLA

[SS-009][Alerji ve İnflamasyon]

Siprofloksasine Bağlı Geç Tip Hipersensitivite Reaksiyonlarında CD4⁺ T Hücre Yanıtları

Belkıs Ertek¹, Umur Can Küçüksezer¹, Semra Demir², Aslı Gelincik², Leyla Pur Özyiğit³, Suna Büyüköztürk², Günnur Deniz¹, Esin Çetin Aktaş¹

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

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Allerji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Allerji ve İmmünoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

Amaç: Siprofloksasin (SPFX), en yaygın olarak kullanılan kinolon grubu antibiyotik olup, kullanan hastaların yaklaşık %1-2'sinde kutanöz advers ilaç reaksiyonları oluşturmaktadır. İlacın kullanım nedeni olan enfeksiyonun klinik belirtileri ile ilacın oluşturabildiği istenmeyen cilt etkilerinin benzerliği ve aynı anda birden fazla ilaç kullanımı ilaç allerjilerinin tanısını zorlaştırmaktadır. Lenfosit transformasyon testi (LTT), T hücre aracı geç tip ilaç hipersensitivite reaksiyonlarında kullanılan *in vitro* tanı testidir. Çalışmamızda SPFX'e bağlı geç tip hipersensitivite reaksiyonu geçiren hastalarda SPFX spesifik CD4⁺ T hücre aktivasyon molekülleri, hücre içi, plazma ve kültür sonrası sitokin düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya SPFX ile geç tip hipersensitivite reaksiyonu (3 makülopapüler ekzantem, 4 geç tip ürtiker, 1 fiks ilaç erüpsiyonu) geçiren hastalar (n=8, 45±12) ve SPFX'i tolere eden sağlıklı kontroller (n=10, 47±13) dahil edilmiş, intradermal testler ve yama testleri uygulanmıştır. Periferik kan CD4⁺ T hücre CD25, CD28, CD69 ve HLA-DR aktivasyon molekül ekspresyonları, stimülasyonsuz (US), 5 µg/ml ve 10 µg/ml SPFX ve PHA ile uyarılan CD4⁺ T hücrelerinde kültür sonrası hücre içi IL-4, IL-10, IL-2 ve IFN-γ sitokin düzeyleri akan hücre ölçer ile ölçülmüştür. LTT ile SPFX-spesifik CD4⁺ T hücre oranı ve kültür üst sıvıları ve ayrıca plazma örneklerinde IL-4, IL-10, IL-2 ve IFN-γ düzeyleri ELISA yöntemi analiz edilmiştir.

Bulgular: Allerji tanısı için intradermal test uygulanan hastaların sadece birinde pozitif yanıt saptanmış, yama testlerinde pozitif sonuç elde edilmemiştir. CD25 ve HLA-DR eksprese eden CD4⁺ T hücre oranı hasta grubunda artmıştır (p=0.001, p=0.022, sırasıyla). Hasta grubunda, kontrol grubuna kıyasla, 5 µg/ml SPFX uyarımı, CD4⁺ T hücre proliferasyonunu US şartla karşılaştırıldığında arttırmıştır. İki grup kıyaslandığında, LTT kültür üst sıvılarında IFN-γ ve IL-2 düzeylerinde farklılık saptanmamasına karşılık, IL-10 düzeyinde azalma, IL-4 düzeyinde ise artış tespit edilmiştir (p=0.014, p=0.013 ve p=0.004, sırasıyla). Ayrıca; US, 5 µg/ml ve 10 µg/ml SPFX uyarımı CD4⁺IL-2⁺ ve CD4⁺IL-4⁺ T hücre oranını arttırmış, CD4⁺IL-10⁺ T hücre oranlarında ise azalmaya yol açmıştır. Hasta grubunda IFN-γ salgılayan CD4⁺ T hücreler US şartta kontrol grubuna göre düşük, SPFX stimülasyonu US şarta göre CD4⁺IFN-γ⁺ hücre oranını arttırmıştır (p=0.001, p=0.011 ve p=0.012, sırasıyla). Ayrıca hasta grubunda plazma IL-2 düzeyleri kontrol grubuna oranla yüksek, IL-10 ve IFN-γ düzeyleri düşük saptanmıştır (p=0.009, p=0.001 ve p=0.0001, sırasıyla).

Sonuç: Beklenmeyen geç tip ilaç reaksiyonlarının *in vivo* tanısı çoğu zaman hastanın ilaçla yeniden karşılaşmak istememesi ya da yanlış negatif sonuçlar alınabilmesi nedeniyle kısıtlanmaktadır. SPFX allerjisi olan grupta hafıza T lenfositlerinde SPFX uyarımı ile hem proliferatif yanıt hem de CD4⁺ T hücre IL-2 ve IFN-γ salınımlarında artış saptanmış, LTT kültür üst sıvısı ve CD4⁺ T hücre IL-10 oranında azalma, IL-4 ve IL-2 düzeyinde artış görülmüştür. Mevcut sonuçlar; cilt testlerinin yetersiz kalabildiği bu hasta grubunda *in vitro* testlerin önemli bir yardımcı olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: CD4⁺ T hücre, siprofloksasin, LTT

[SS-010][Otoimmünite ve tolerans]

LL-37 İçeren Hücre Dışı Nano-Keseciklerin Behçet Patogenezindeki Rollerini

Tamer Kahraman¹, Defne Bayık¹, Fuat Cem Yağcı¹, Mayda Gürsel², İsmail Şimşek³, Ayhan Dinç³, İhsan Gürsel¹

¹Thorlab, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilkent Üniversitesi

²Biyolojik Bilimler Bölümü, ODTÜ

³GATA, Römatojoloji ABD, Ankara, Türkiye

Amaç: Çalışmamızın amacı, hücrelerden salınan ve hücreler arası iletişimde ve immün düzenlemede kritik rolleri bilinen hücre dışı keseciklerin (EV) Behçet Sendromlu (BS) hasta plazmalarındaki miktarlarını belirlemek, köken aldıkları hücreleri ve taşıdıkları kargoyu inceleyerek, immün hücrelerdeki etkilerini ortaya çıkarıp, hastalığın şiddetine ve seyrine olan katkısını araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Farklı aşamalarda 72 BS hastası (35 inaktif ve 37 aktif) ve 22 sağlıklı birey plazmasından diferansiyel santrifüj ve ultrasantrifüj sonrası saflaştırılan EV'ler, CD3, CD14, CD31, CD42a, CD69 ve CD105 hücre belirteç antikolarıyla ve Annexin-V ile boyanarak mL plazmadaki miktarları ve köken aldıkları hücreler akış sitometrisiyle belirlenmiştir. Floresan işaretli EV'lerin bağışıklık hücrelerince alım kinetiği FACS ile ölçülmüştür. Pro-enflamatuvar sitokin ELISA'sı ile sağlıklı ve BS'li EV'lerin PBMC'ler üzerindeki immün düzenleyici etkileri araştırılmıştır. Sağlıklı ve hasta EV'ler arasındaki kargo farkı incelenmiş ve hastalığın şiddetine ve düzeyine olan etkileri araştırılmıştır.

Bulgular: Akış sitometri sonuçlarına göre hastalık şiddetine bağlı olarak mL plazmadaki total EV miktarı sağlıklı bireylere inaktif BS'li hastalarda 3 kat artarken, aktif BS'li hastalarda 7 kat artmıştır. Plateletler plazmadaki EV'lerin ana kaynağını oluşturmaktadır, ancak EV'lerin hücre kökeni sağlıklı ve hasta bireylerde farklılık göstermektedir. Hastalık şiddeti arttıkça immün hücre kökenli EV yüzdesi artarken epitel ve endotel hücre kökenli EV miktarları azalmaktadır. EV'lerin Behçet patogenezindeki rollerini anlamak için, PBMC'lerle, BS'li EV'ler muamele edince aktif BS'li EV'lerin çok daha fazla IL1 β , IL-6 ve IFN α ürettiği belirlenmiştir. Ayrıca aktif BS'li EV'ler antijen sunum hücrelerinin MHC-II ve CD80 düzeylerini 3 kat arttırmıştır. Sağlıklı ve Behçetli EV'lerin kargoları incelendiğinde, anti mikrobial peptid olan LL-37'nin Aktif BS'li hastaların hem plazmasında, hem de EV'lerinde anlamlı olarak yüksek düzeyde olduğu anlaşılmıştır. Plazmadaki LL-37 miktarı hastalık şiddetine paralel artmakla birlikte BS'li plazmalardaki LL-37'nin %70'i EV'lere asosiyel olduğu belirlenmiştir. PBMC'lerle EV'ler 8 saat inkübe edildiğinde, LL-37(+) EV'lerin, LL-37(-) EV'lere göre 4 kat daha fazla hücre içine akümüle olduğu saptanmıştır. Sağlıklılardan izole edilen EV'lere, LL-37 yüklenince, immünstimulan olmayan bu EV'lerin, Behçetlilerden izole edilen EV'ler gibi davranarak, PBMC'lerden pro-enflamatuvar sitokin salımına neden olduğu bulunmuştur. Hastalık şiddeti, plazmadaki EV miktarı, LL-37 seviyesi ve IL6 salımı arasındaki korelasyon %88,5 olarak belirlenmiştir. Kolşisin ile muamele edilmiş hücrelerin EV salım düzeylerinin %50den fazla azaldığı belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışma, "Aktif Behçetli" bireylerin EV'lerinin, "Sağlıklı" bireylerin EV'lerine göre, i) plazmadaki miktarı, ii) LL-37 taşıması iii) LL-37(+) EV'lerin immün hücrelerce etkin internalizasyonu ve iv) immün stimulan karakterli oluşu nedeniyle, BS patogenezini yönlendirdiğini ileri sürmektedir. Bu bulgular ışığında, LL-37 düzeyini ve EV biyogenezini etkileyecek ilaçların belirlenerek BS patogenezini kontrol etmekte önemli rol üstleneceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hücre Dışı Kesecik (EV), Behçet Sendromu, LL-37

[SS-011][İmmün düzenlenme]**IFN- γ , Dental Folikül Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin (DFSC) CD4+Foxp3T Hücrelerini İndükler**

Selin Yıldırım¹, Noushin Zibandeh¹, Deniz Genç¹, Işıl Berat Barlan¹, Elif Merve Özcan², Mehmet Kamil Göker², Tunç Akkoç¹

¹Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Allerjisi ve İmmünoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç:

Bu çalışmada DFSCs'in regülatör T hücre indüklenmesi üzerine etkisini araştırmayı amaçladık. Ayrıca IFN- γ 'nın mezenkimal kök hücre ile ko-kültürlerinde lenfositlerin proliferasyonu ve regülatör hücre indüklenmesini incelemeyi hedefledik.

Gereç-Yöntem:

Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim başvuran 20-25 yaş bireylerin diş folikülünden mezenkimal kök hücre (MKH) izolasyonları, karakterizasyonları ve farklılaştırılması yapıldı. Sağlıklı bireylerin venöz kanlarından periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) izole edildi. Lenfositlerin MKH'lerle birlikte IFN- γ uyarımlı ve uyarımsız koşullarda anti-CD2, anti-CD3 anti-CD28 uyarımı ile 3 gün kültürleri yapıldı. Kültür sonrasında lenfosit proliferasyonu, CD4+FoxP3+ T regülatör hücre, Fas/FasLigand, kültür süpernatantlarında IL-4, IL-10 ve IFN- γ düzeylerine bakıldı.

Bulgular:

DFSC hücreleri lenfositlerin proliferasyonunu baskıladığı görünmüştür. IFN- γ varlığında DFSC proliferasyonu daha anlamlı baskıladığı görüldü (DFSC varlığında= $20,5 \pm 2,3$, DFSC+ IFN- γ = $13,73 \pm 1,5$ p<0,05). DFSC hücreleri IFN- γ varlığında ve yokluğunda regülatör hücre oluşumunu anlamlı olarak artırdığı görüldü (DFSC varlığında= $12,5 \pm 1,6$, DFSC+ IFN- γ = $14,5 \pm 2,2$ p<0,05). DFSC hücreleri IFN- γ varlığında lenfosit hücrelerindeki Fas gösterimini anlamlı derecede baskıladı (DFSC varlığında= $5,7 \pm 2,2$, DFSC+ IFN- γ = $3,6 \pm 1,3$ p<0,05). DFSC hücreleri IFN- γ varlığında lenfosit hücrelerindeki Fas-L gösterimini daha anlamlı baskıladı (DFSC varlığında= $8,6 \pm 4,3$, DFSC+ IFN- γ = $6,8 \pm 3,1$, p<0,05). Kültür süpernatantlarında IFN- γ uyarımlı ve uyarımsız kültürlerde IL-10 düzeyinin arttığı görüldü.

Sonuç:

Bu sonuçlar doğrultusunda IFN- γ uyarımlı DFSC'lerin immün sistemin, otoimmün, inflamatuvar ve allerjik hastalıkların tedavi yaklaşımlarında immünomodülatör fonksiyonlarındaki hücreler olarak kullanılmasının uygun olabileceği düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: DFSC, İmmünmodülasyon

[SS-012][İmmün yetmezlikler]**Fagositlerde dihidrorhodamin ile oksidatif patlama; sağlıklı bireylerde normatif veriler**

Dilek Çiçekkökü, İsmail Ögülür, Elif Karakoç Aydın, Safa Barış, Ahmet Özen, Işıl Barlan
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Alleji-İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul

Amaç: Kronik granülomatöz hastalık (KGH) oksidatif patlamanın gerçekleşmemesi nedeniyle bakteri ve mantarların fagositler tarafından yok edilemediği bir immün yetmezliktir. Dihidrorhodamin (DHR) 123 testinde akım sitometri kullanılarak fagositlerde oksidatif patlama kantitatif olarak ölçülebilmektedir. Bu çalışmada DHR testinde stimülasyon indeksi (SI) ve varyasyon katsayısı (VK) verilerinin sağlıklı bireylerdeki referans değerleri sunulmaktadır.

Gereç-Yöntem: Sağlıklı kontrollerden 2 ml'lik periferik kan örnekleri alındı ve akan hücre ölçer tüpü içerisinde eritrositlerin lizisi sağlandı. HBSS tamponu ile iki kez yıkanan hücreler, 50 ng/ml PMA ile 37°C'de 14 dak inkübe edildi. Hücreler bekletilmeden, BD FACSCalibur akan hücre ölçer cihazında granülositlerden kapı alınarak değerlendirme yapıldı. PMA uyaranlı nötrofillerden elde edilen floresan yoğunluğun geometrik ortalamasına oranı, uyarsız verilere oranlanarak SI hesaplandı. Akan hücre ölçer cihazında, PMA uyaranlı hücrelerin histogramda x eksenindeki florasan yoğunluğunun VK değerleri elde edildi.

Bulgular: Çalışmaya primer immün yetmezlik uyarıcı bulgusu ve kronik hastalığı olmayan 210 sağlıklı kontrol alındı. Elde edilen sonuçlardan SI<20 ve VK>25 olanlar değerlendirme dışında bırakıldı. Yaşları 0.3 – 59.2 yıl arasında değişen (Ortalama±SD: 9.0±9.6) toplam 184 bireyde (%36.4 kız ve %63.6 erkek) değerlendirme yapıldı. Sağlıklı bireylerde, SI değerinin 20.1-125.2 (Ortalama±SD: 36.75±18.3) aralığında değiştiği gözlemlendi. Aynı seride, VK değeri 9.9-25.2 arasında (Ortalama±SD: 18.2±3.7) bulundu.

Sonuç: DHR testi KGH için tanısal kullanılmasının yanında, X'e bağlı kalıtım tipinin belirlenmesinde de yardımcı olmaktadır. Öte yandan, SI'nın çok düşük olmadığı bazı otozomal resesif kalıtılan alt tiplerde VK'da artışın uyarıcı olduğu unutulmamalıdır. Özellikle bu vakaların değerlendirilmesinde burada sunulan referans verilerin yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dihidrorhodamin, Kronik Granülomatöz Hastalık

[SS-013][İmmün yetmezlikler]**Artemis gen mutasyonlu vakalarımızın klinik seyirleri**

Esra Hazar Sayar¹, Şükrü Nail Güner¹, Timo Volk², Sevgi Keleş³, Bodo Grimbacher², İsmail Reisli¹

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Çocuk Alerji İmmünoloji BD, Konya

²Centre of Chronic Immunodeficiency, Freiburg, Germany

³NEU Meram Tıp Fak Çocuk Alerji İmmünoloji BD, Konya; Division of Immunology, Children's Hospital, Boston, USA

Giriş: DCLRE1C (DNA cross-link repair 1C) geni V(D)J rekombinasyonu ve DNA onarımında rolü olan bir nükleer protein olan Artemisi kodlar. DCLRE1C mutasyonu olan hastalarda radyosensitif T-B- ağır kombine immün yetmezlik veya radyosensitif Omenn sendromu gelişir.

Gereç-Yöntem: Değişik klinik bulgularla başvurup genetik analizlerinde Artemis mutasyonu saptanan 6 aileden yaşları 4 ile 21 arasında değişen toplam 12 vaka sunuldu.

Bulgular: Vakalarımızın çoğunluğunun semptomlarının başlangıç yaşı 2 yaş ve yukarı ve en sık semptomları tekrarlayan alt ve üst solunum yolu enfeksiyonlarıydı. 3 olguda ciltte granülomlar saptandı, bir tanesi lupus vulgaris tanısı aldı. İki olguda vitiligo mevcuttu. 7 olguda başvuru sırasında bronşiektazi saptandı. 6 olgu başvuru sırasında lenfopenikti. 6 olguda IgG düzeyleri normal aralıktaydı, 7 olguda selektif IgA, 5 olguda parsiyel IgA eksikliği saptandı. 9 vakada AntiHBs negatifti, 3 vakada bakılmamıştı. Olguların hepsinde mutlak B lenfosit sayıları düşük saptanırken, 7 olguda mutlak T lenfosit sayıları da düşük saptandı.

Sonuç: Kombine immün yetmezliklerde ve B hücre düşüklüğü ile giden tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları olan hastalarda ülkemiz için Artemis gen defektinin akılda tutulması gerektiğini vurgulamak istedik.

Anahtar Kelimeler: Artemis, İmmün yetmezlik

[SS-014][Edinsel immünite]**Eritrosit Süspansiyonlarında Depolanma Sürecinin T Hücre Alt Grupları Üzerine Etkisi**

Salih Haldun Bal¹, Haluk Barbaros Oral², Yasemin Heper¹, Levent Tufan Kumaş¹, Ferah Budak², Güher Göral²

¹Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dr. Raşit DURUSOY Kan Merkezi, Bursa

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa

Amaç: Allojeneik kan transfüzyonunun alıcı immün sisteminde oluşturduğu bir takım değişikliklere ve bu değişikliklerin alıcıda oluşturduğu etkilere Transfüzyonla İlişkili İmmünmodülasyon (TRIM) adı verilmektedir. Kesin mekanizması tam olarak bilinmese de allojeneik lökositlerin asıl etken olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma ile TRIM mekanizmalarına yönelik yeni ve açıklayıcı bilgilere ulaşmak amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: 10 bağışçıdan sağlanan 10 ünite tam kan çalışmamıza kaynak oluşturdu. Tam kanlar CPD/SAG-M Dörtlü Pediatrik Komponent torbalarına alındı. Her bağışçıdan alınan tam kanlar eritrosit süspansiyonuna (ES) dönüştürüldükten sonra iki eşit parçaya ayrıldı. Parçalardan biri lökosit filtresi ile filtre edildi. Lökosit azaltılmış ve normal ES'ler (LA-ES ve N-ES) üç eşit parçaya ayrılarak 0, 21, ve 42 depo günleri için örnekler oluşturuldu (Şekil). 0, 21 ve 42 gün N-ES ve LA-ES süpernatantlarında, ELISA yöntemi ile IL-4, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-13, IL-17, IL-22, TNF- α , TGF- β ve IFN- γ düzeyleri ölçüldü. N-ES'lerde akım-sitometre yöntemiyle hücre içi ve yüzeyi ekspresyonlarına göre Th1, Th2, Th9, Th17, Th22 ve Treg hücreleri araştırıldı. Yine N-ES'lerde Th hücre alt gruplarına ait transkripsiyon faktörleri TBX21, GATA3, PU.1, RORC2, AHR ve FOXP3 Real-Time PCR yöntemiyle araştırıldı.

Bulgular:

Akım-sitometrik ölçümlerin sonuçlarına göre;

- 21. günde; CD3+CD4+TNF- α +, CD3+CD4+IL-4+, CD3+CD4+IL-5+ ve CD4+CD25+highCD127- düzeyleri artarken ($p<0,05$); CD3+CD4+IFN- γ +, CD3+CD4+IL-22+ ve CD4+CD25+highFoxP3+ düzeyleri azalmıştır ($p<0,05$).
- 42. günde; CD3+CD4+TNF- α +, CD3+CD4+IL-4+, CD3+CD4+IL-5+, CD3+CD4+IL-17A+ ve CD4+CD25+highCD127- düzeyleri artarken ($p<0,05$); CD3+CD4+IFN- γ + düzeyleri azalmıştır ($p<0,05$).

RT-PCR ölçümlerinin sonuçlarına göre;

- 21 ve 42. günlerde TBX21, GATA3 ve SPI.1 düzeyleri azalırken ($p<0,05$);
- 42. günde AHR, FOXP3 ve RORC2 düzeyleri artmıştır ($p<0,05$).

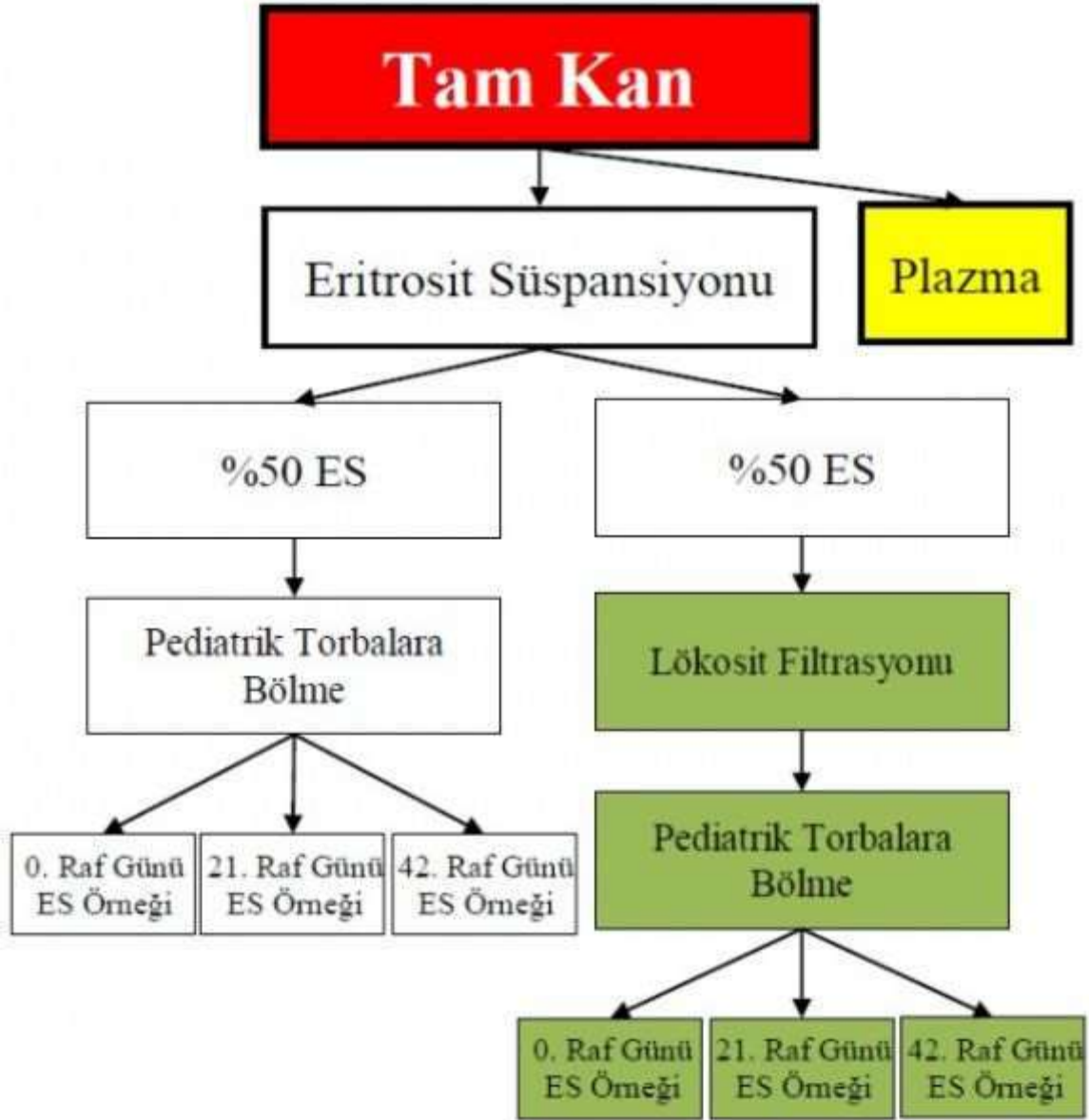
ELISA ölçümlerinin sonuçlarına göre;

- Gruplar arası değerlendirmede; LA-ES örneklerin 42. gününde görülen IL-17A düzeyindeki artış, N-ES'lerde görülene göre sınırdan anlamlı saptandı ($p=0,052$).
- LA-ES'lerin grup içi istatistiksel değerlendirmesinde, sadece 42. günde görülen IL-17A düzeylerinde artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).
- N-ES'lerin grup içi istatistiksel değerlendirmesinde, 21. günde görülen IL-22 düzeyindeki azalma ve TGF- β düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), 42. günde görülen TGF- β düzeylerinde artış istatistiksel olarak sınırdan anlamlı bulunmuştur ($p=0,051$).

Sonuç: Akım-sitometrik ölçüm sonuçlarına bakıldığında depolanma sürecinde ürün içerisindeki Th hücre aktivitelerinde değişiklikler olduğu görülmektedir. Depolanma sürecinde N-ES'ler içinde Th2 (21. ve 42. günler), Th17 ve Treg (42. günler) hücreler aktivitelerini artırmış, Th1'ler kaybetmiştir. Bu tablo TRIM'in olası mekanizmalarından Th1/Th2 dönüşümünü desteklemektedir. Transkripsiyon faktörleri GATA3 hariç Th sonuçlarını desteklemektedir. GATA3 ekspresyon düzeyinin azaldığı dönemde Th2 aktivitesinin artışı, GATA3'ün aktivitesi gösterip düşüşe geçtiği dönemde testlerin çalışmış olma ihtimaline bağlanabilir. N-ES süpernatantında artış gösteren TGF- β transfüzyonun immünsupresif etkisinin nedenlerinden birisi olabilir. Bu sitokinin LA-ES süpernatantlarında saptanmaması lökoredüksiyonun TRIM'i engellemedeki etkinliğinin göstergesi olabilir.

Anahtar Kelimeler: İmmünmodülasyon, Lökoredüksiyon, Transfüzyon

Şekil: N-ES ve LA-ES örneklerinin oluşturulma algoritması



[SS-015][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**HSV-1 Enfeksiyonunda ZnO Nanopartiküllerin Sitokin Yanıtına in vitro Etkisi**Sibel Ak¹, Deepak Shukla²¹Zirve Üniversitesi, EBN Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Gaziantep²University of Illinois at Chicago, College of Medicine, Department of Microbiology & Immunology, Chicago, IL 60612, USA**Amaç:**

Herpes Simpleks Virüs tip 1 (HSV-1), başta gelişmekte olan ülkeler olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak görülen viral bir patojendir. Bu virüsler gingivostomatit ve farenjit gibi hafif seyirli enfeksiyonlardan ensefalit ve menenjit gibi ölümcül seyredabilen klinik tablolara kadar geniş yelpazede hastalığa yol açabilirler. HSV-1 virüsünün hedef hücreye girişi, yüzeyindeki pozitif yüklü viral zarf glikoproteinleri ile konak hücre yüzeyindeki negatif yüklü heparan sülfat arasındaki iyonik etkileşim sonucu gerçekleşmektedir. HSV-1 virüsünün hücreye girişini engelleyen moleküller, yeni tedavi seçenekleri oluşturmaları açısından son zamanlarda üzerinde çalışılan konulardan biri haline gelmiştir. HSV-1 virüsünün hücreye girişini engelleyen moleküllerden biri de Zinc oxide (ZnO)'tir. ZnO nanopartikülü, konak hücre yüzeyindeki filopodium yapılarını taklit ederek HSV-1 virüsü glikoproteinlerine tutunur ve virüsün hedef hücreye girişine engel olur.

Bu çalışmada amacımız; HSV-1 enfeksiyonunda proflaktik etkinliği in vitro olarak gösterilmiş olan ZnO nanopartiküllerinin inflamasyonla ilişkili sitokin yanıtına etkisini incelemektir.

Gereç-Yöntem:

Çalışmamızda, insan korneal epitel (HCE) hücreleri, HSV-1 KOS suşu ile enfekte edilmiştir. ZnO nanopartikülünün HSV-1 enfeksiyonu sırasında ortaya çıkan sitokin yanıtına etkisi real-time kantitatif PCR yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. TNF, IL-6, IL-8, IFN- α , IFN- β sitokinlerine ait gen ekspresyonları beş farklı koşulda incelenmiştir. İlk olarak, HCE hücreleri sadece HSV-1 ile enfekte edildiği, ikinci olarak ZnO ve HSV-1 virüsünün birlikte olduğu, üçüncü olarak ultraviyole ışığa maruz bırakılmış ZnO ve HSV-1 birlikte olduğu, dördüncü olarak ZnO tek başına ve son olarak UV-ZnO tek başına olduğu durumlarda sitokin gen ekspresyonları araştırılmıştır. Enfeksiyon sonrası 2. 6. ve 24. saatler olmak üzere üç farklı saatte çalışma tekrarlanmıştır. Sitokin yanıtında etkili sinyal yolak moleküllerinden NF-kB'nin sitoplazmadan çekirdeğe translokasyonu konfokal mikroskopi yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. NF-kB aktivitesi ayrıca, enfeksiyon sonrası 2. 6. ve 24. saatlerde lusiferaz reporter deneyi ile değerlendirilmiştir. Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 16.0 programı kullanılmıştır.

Bulgular:

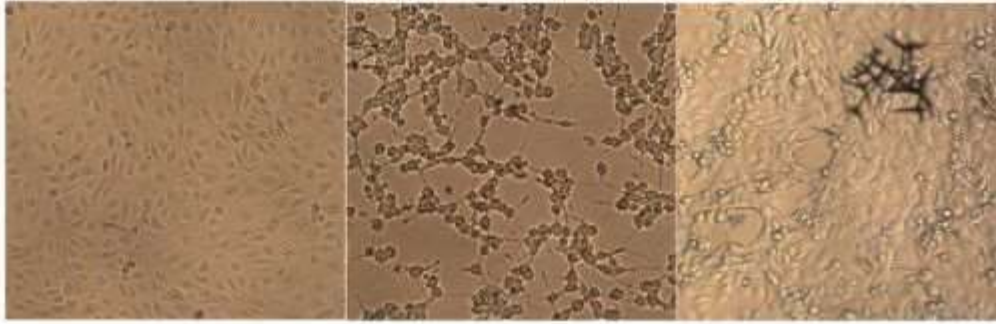
ZnO, çalışılan her üç farklı saatte HSV-1 ile enfekte HCE hücrelerinde IL-6 ve TNF düzeyini düşürürken, IFN- β düzeylerini 6. saatten itibaren düşürmeye başlamıştır. ZnO'nin IFN- α üzerine olan inhibitör etkisi ise 24. saatten itibaren ortaya çıkmıştır. Enfeksiyon sonrası 2. saatte ZnO'nin, IL-8 seviyesini arttırdığı belirlenmiştir. Lusiferaz analizinde ZnO'nin NF-kB aktivitesi üzerine olan etkisinin 6. ve 24. saatlerde azalttığı saptanmıştır. Konfokal mikroskopi analizinde ise ZnO nanopartiküllerinin NF-kB'nin hücre sitoplazmasından çekirdeğe translokasyonunu önleyici etkisi gözlenmiştir.

Sonuç:

ZnO nanopartikülü, HSV-1'e bağlı enfeksiyonların patogenezinde önemli rol oynayan inflamasyon ile ilişkili sitokin ekspresyonunun önlenmesinde in vitro olarak etkin partiküllerdir. Ancak ZnO'nin yeni bir tedavi yaklaşımı olarak kullanılabilmesi için in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Herpes Simpleks Virüs 1, ZnO nanopartikül, sitokin

ZnO nanopartikülünün HSV-1 ile enfekte HCE hücrelerine etkisi

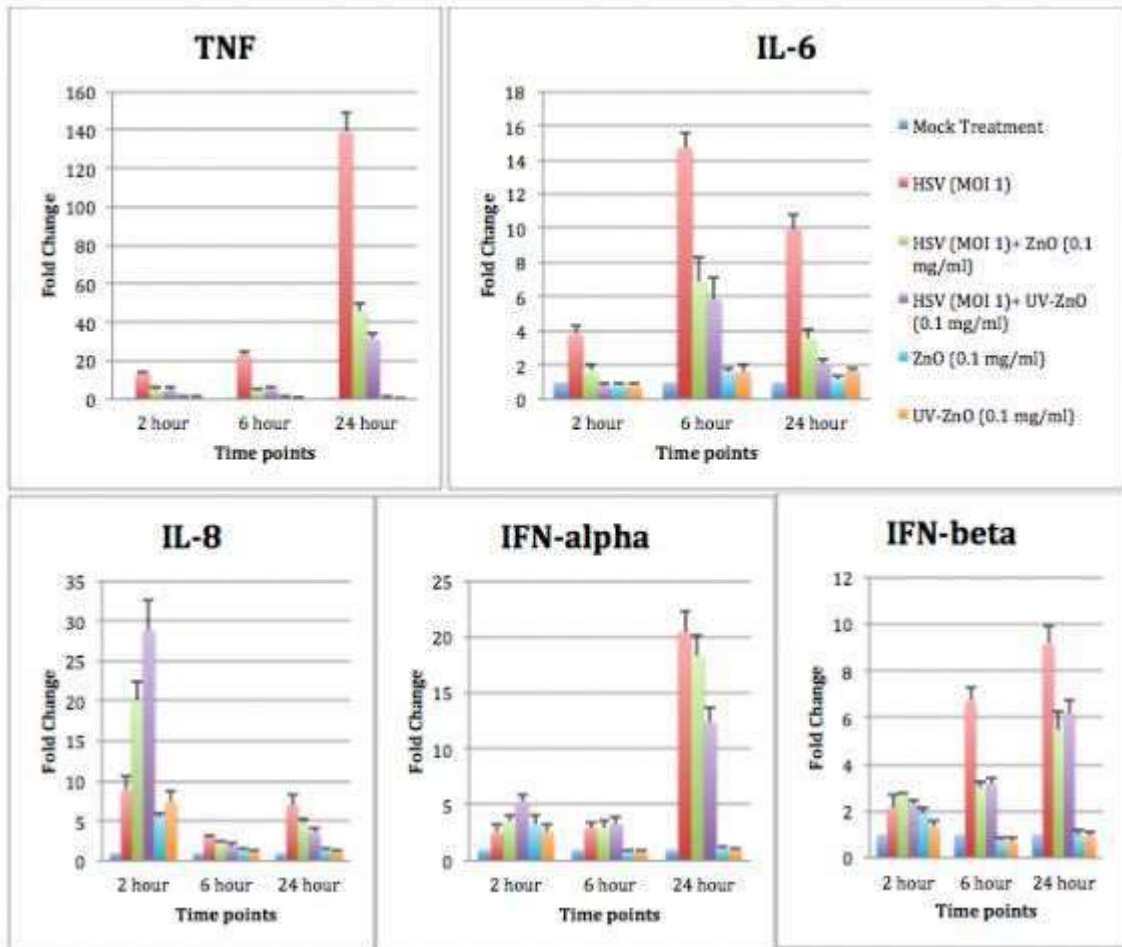


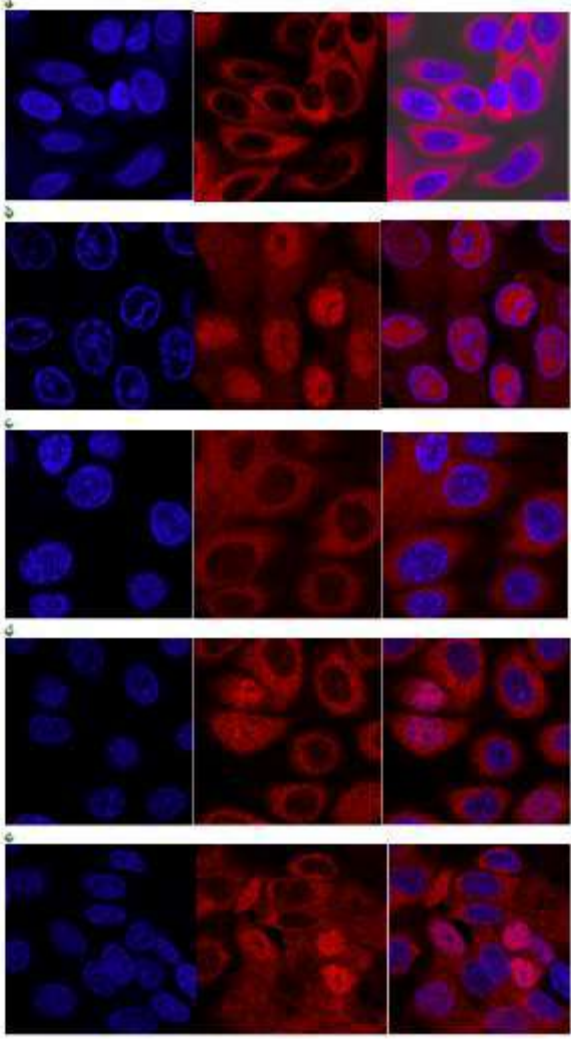
a. Kontrol HCE hücreleri

b. HSV-1 (MOI 1).

c. HSV (MOI 1)+UV-ZnO (0.1mg/ml)

ZnO nanopartikülünün HSV-1 ile enfekte hücrelerde sitokin gen ekspresyonuna etkisi



ZnO nanopartikülünün NF-kB translokasyonunu inhibisyonu

a. Kontrol HCE hücreleri b. HSV-1 ile enfeksiyon c. ZnO uygulaması d. ZnO + HSV-1 uygulaması e. UV ZnO + HSV-1 uygulaması

[SS-016][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**Monosit Alt Grupları, Sitokin Salınımları ve Aktivasyon Belirteçlerinin Çocukluk Çağı Tüberkülozunda Araştırılması**

Esin Cetin Aktas¹, Erkan Cakır², Yusuf Metin Gelmez¹, Ahmet Hakan Gedik², Leyla Pur Ozyigit³, Gunnur Deniz¹

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

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Allerji ve İmmünoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

Amaç: Tüberküloza neden olan Mycobacterium tuberculosis (Mtb) mononükleer fagositlerin hücre içi patojenidir. Çocukluk çağı tüberküloz (TB) enfeksiyonu özellikle dünyada TB yükünün önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Monositler (Mo) ve makrofajlar (MΦ) mikroplara karşı oluşan doğal immün yanıtta önemli rol oynayarak doğal ve edinsel immünite arasında bağlantı oluşturmakta ve böylece enfeksiyonun erken fazda progresyonunu belirlemektedirler. Çalışmamızda primer akciğer tüberkülozu olan çocuklarda Mo alt grupları, M1 & M2 tip sitokin salınımları araştırılmıştır.

Yöntem: Çalışmamıza ailelerinden gerekli onam alınmış, primer ve sekonder immünyetmezliği olmayan yeni teşhis primer akciğer tüberkülozu (pTB) (n=13, yaş ortalaması=8 ± 5) ve sağlıklı çocuklar (n=14, yaş ortalaması=9 ± 5) dâhil edilmiştir. Mo yüzeyinde eksprese edilen CD16, CD14, CD163, CCR2 ve CD62L oranları akan hücre ölçer ile değerlendirilmiştir. CD14⁺ Mo'lerde hücre içi TNF-α, IL-10, IL-12, IL-4 ve IL-23 sitokin salınımları tam kan kültürlerinde ESAT-6 & CFP-10 antijen (Ag) ve LPS stimülasyonu sonrası akan hücre ölçer cihazında analiz edilmiştir.

Stimülasyonsuz, ESAT-6 & CFP-10 ve LPS ile 18 saatlik uyarım sonrası tam kültür plazma örneklerinde MΦ1 & MΦ2 tip sitokin profilleri Luminex sistemi, çözünür CD163 (sCD163) düzeyleri ise ELISA yöntemi ile tayin edilmiştir.

Bulgular: Tüberküloz grubunda klasik olmayan CD14⁺CD16⁺⁺, CD14⁺⁺CD16⁺ Mo alt grupları ile CCR2, CD62L CD163 eksprese eden Mo'ler sağlıklı kontrolle karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur (p=0.005, p=0.0001, p=0.011, p=0.003 ve p=0.002, sırasıyla). pTB hastalarında Mtb spesifik ESAT-6 & CFP-10 stimülasyonu sağlıklılarla kıyaslandığında Mo'lerde hücre içi TNF-α⁺ ve IL-10⁺ salgılanmasını arttırmıştır (p=0.04 ve p=0.03, sırasıyla). pTB grubunda Mtb spesifik Ag uyarımı IL-10, LPS ise TNF-α ve IL-10 plazma düzeylerinde azalma (p=0.04, p=0.003, p=0.000, sırasıyla), tüm şartlarda sCD163 düzeylerinde artışla sonuçlanmıştır (p=0.000).

Sonuç: Mtb ile indüklenen doğal immün yanıtta, Mo'lerde fenotipik değişiklikler ve efektör sitokin yapımında artış gözlenmektedir. Klasik olmayan Mo oranlarıyla birlikte CCR2 ve CD62L ekspresyonlarındaki artış, Mo'lerin pTB grubunda Mtb enflamasyonlu doku ve sekonder lenfoid organlara göçlerinin artmış olduğunu desteklemektedir. Aktivasyon belirteci olan CD163'ün Mo yüzey ekspresyonları ve plazmadaki çözünür düzeyleri primer akciğer tüberkülozunun sağlıklıdan ayırımında bir gösterge olarak değerlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: sCD163, primer akciğer tüberkülozu, monosit alt grupları

[PS-001][Alerji ve İnflamasyon]**Allerjide Nötrofil Lenfosit Oranının Tanısal Değeri**Bilal Elbey¹, Ümit Can Yazgan², Yılmaz Zengin³¹Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloj Anabilim Dalı, DİYARBAKIR²Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, DİYARBAKIR³Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

Amaç: Acil servise müracaat edip allerji tanısı alan hastaların nötrofil/lenfosit oranı (NLO) ile klinik özelliklerinin değerlendirilmesi.

Gereç-Yöntem: Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil polikliniğinde allerji tanısı konan hastalara ait tıbbi dosya kayıtları retrospektif olarak incelendi. Tüm hastaların demografik verilerinden olan yaş, cinsiyet ve laboratuvar verilerinden NLO, lenfosit, eozinofil, MPV, glikoz ve platelet değerleri kaydedildi. Çalışmaya toplam 100 hasta ve 100 kontrol olgusu alındı. Grupların demografik ve klinik özellikleri karşılaştırıldı.

Bulgular: Allerji grubu ile kontrol grubu yaş, cinsiyet ve laboratuvar verilerinden lenfosit, eozinofil, platelet parametreleri açısından benzer bulundu (tümünde $p > 0,05$). Allerji grubunda ortalama NLO 4,36 iken kontrol grubunda 2,12 olarak saptandı ($p = 0,008$). Glikoz seviyesi allerji grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p < 0,001$).

Sonuç: Allerji olgularında NLO oranının anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. NLO oranı allerji durumlarında tanısal bir parametre olarak yardımcı olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Nötrofil/lenfosit oranı, allerji, inflamasyon

Tablo 1. Grupların demografik ve laboratuvar özelliklerinin karşılaştırılması

	Allerji (n=100)	Kontrol (n=100)	P
Yaş (Yıl ± SD)	41,2±16,9	38,4±14,5	0,23
Erkek/Kadın (n)	40/60	47/53	0,28
Nötrofil (K/uL)	6,66±3,80	4,65±2,03	<0,001
Lenfosit (K/ul)	2,41±1,22	2,48±1,43	0,73
NLO	4,36±8,24	2,12±1,07	0,008
Eozinofil (K/ul)	0,22±0,33	0,28±0,75	0,44
Glikoz (mg/dL)	119,2±50	99,1±28	<0,001
MPV (fL)	8,72±1,89	8,80±1,59	0,74
Platelet (1000K/uL)	272,7±77,0	293,78±94,6	0,85

NLO: Nötrofil lenfosit oranı, MPV: ortalama platelet hacmi

[PS-002][Alerji ve İnflamasyon]**Astımda T Lenfosit Kemokin Reseptörleri ile Hücre içi Sitokin İlişkisi**

Laçın Cevhertas¹, Abdullah Yılmaz¹, İlhan Tahrallı¹, Umut Can Küçüksezer¹, Bilun Gemicioğlu², Günnur Deniz¹, Gaye Erten¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İstanbul,

Amaç: Astım, kronik havayolu enflamasyonu ve aşırı duyarlılığı ile karakterize, tekrarlayan hırıltı/hışıltı, öksürük ve nefes darlığı gibi semptomların gözlemlendiği heterojen bir hastalıktır. Allerjik havayolu enflamasyonunun bir özelliği olan değişmiş kemokin profili, enflamatuvar hücrelerin akciğere göçünden ve birikim göstermelerinden sorumludur. Th1 ve efektör CD8+T hücreleri Th1 ilişkili kemokin reseptörleri (CCR5, CXCR3 ve CXCR6) aracılığı ile, Th2 ve hücreler ise Th2 ilişkili kemokin reseptörleri (CCR3, CCR4 ve CCR8) vasıtasıyla kemokinler tarafından sürece dahil olmaktadır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda 18-65 yaş aralığındaki GINA 2013 Rehberi ve TTD Astım Tanı ve Tedavi Rehberine uygun olarak en az bir yıl önce astım tanısı almış, orta-yüksek doz inhale steroid ve uzun etkili beta agonist tedavisine rağmen kontrolü sağlanamayan (Astım kontrol testi <20) allerjik (n=4) ve non-allerjik olgularda (n=5), T hücrelerin sitokin sekresyonu ve kemokin reseptör ekspresyonları araştırılmıştır. Periferik kan mononükleer hücrelerin (PKMH) hücre yüzey belirteçleri (CD4, CD8, CCR3, CCR4, CXCR3) ve intrasitoplazmik sitokin (IFN- γ , IL-4 ve IL-10) seviyeleri uyarım altında (PMA/iyonomisin) ve uyarımsız olarak akan hücre ölçer ile değerlendirilmiştir. **Bulgular:** Uyarım yokluğunda allerjik astım olgularında CCR4+IFN- γ +CD4+ hücreler; non-allerjik astım olgularında ise CCR4+IL-10+CD4+ hücreler yüksek saptanmıştır (p=0.05, p=0.027, sırasıyla). Uyarım sonrası non-allerjik astmatiklerde CCR3+CD4+ T hücrelerin IL-10 yapımı ve CD4+ T hücrelerin CCR4 ekspresyonunda allerjik astmaya göre anlamlı bir artış gözlenmiştir. (p=0.047, p=0.05, sırasıyla). Non-allerjik olgularda uyarımsız CD8+T hücrelerin CCR4 ekspresyonu allerjik olgulara göre daha yüksek bulunmuş (p=0.014), aynı hücrelerde uyarım sonrası ise CCR4 reseptör ekspresyonuna ilaveten IL-4 sitokin seviyesinde artış saptanmıştır (p=0.05 ve p=0.05, sırasıyla). Allerjik astımlı olguların CD4+CCR3+ ve CD8+CCR3+ hücrelerinde PMA ile uyarım sonrası IL-4 ve IFN- γ seviyelerinde artış gözlenmiştir. Buna karşılık, non-allerjik olgularda sadece CD4+CCR3+ T hücre popülasyonunda IL-10 içeriğinde artış görülmüştür.

Sonuç: CCR3 ve CCR4 kemokin reseptörlerinin düzenleyici T (T-reg) hücrelerin havayollarına göçünde ve allerjik eozinofilik enflamasyonda görev aldığı bilinmektedir. Elde ettiğimiz veriler, CD4+ ve CD8+ T lenfositlerindeki CCR3 ve CCR4 ekspresyon değişimlerinin allerjik astıma ek olarak non-allerjik astımda da sitokinler yoluyla hücre göçünde ve düzenleyici işlevlerde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Astım, Kemokin, Sitokin

[PS-003][Alerji ve İnflamasyon]**Doğu Akdeniz Bölgesinde Solunum ve Gıda Alerji Prevalansının Belirlenmesi**

Bilkay Baştürk¹, Miray Kavuslu², Bircan Kantaroğlu², Dilek Doğruel³, Mete Baba⁴, Çağla Sarıtürk⁵

¹Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, Ankara

²Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Lab., Adana

³Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları AD, Adana

⁴Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD, Adana

⁵Başkent Üniversitesi Adana Hastanesi İstatistik Birimi, Adana

Amaç: Allerjik hastalıklar, hem çocukluk çağıda hem erişkin dönemde görülebilen ve çoğunlukla farklı hastalıklarla ortak bulguları paylaştıkları için tanı konulana kadar hayatı olumsuz etkileyen semptomlara sahiptir. Hastalıkların tanısında alerjene karşı oluşmuş spesifik IgE yapısındaki antikorların gösterilmesi önemlidir. Çalışmanın amacı belirli alerjenlere karşı oluşan spesifik IgE prevalansının belirlenmesidir.

Gereç-Yöntem: Merkezimize şikayetleri nedeniyle başvuran hastaların gıda ve solunum alerjenlerine yönelik spesifik IgE antikorları blot yöntemiyle belirlenmiştir.

Bulgular: Gıda alerji şüphesiyle çalışılan 894 örneğin % 27.1 (260) erişkin, % 72.9 (634) u pediatrik yaş grubunda olup, % 54.1 (532) erkek, % 45.9 (451) kadındır. Taranan örneklerin, %51.8 (509)'ün de spesifik IgE pozitif bulunmuştur. Gıda alerjenleri içinde deniz kabukluları %20.63 çocuk yaş grubunda, %14.66 erişkin yaş grubunda olmak üzere ilk sırada yer almaktadır.

Çocuklarda çilek, yumurta akı ve yumurta sarısı ilk dört sırada iken, erişkinde çilek buğday unu ve muz ilk dört sırada bulunmaktadır. 894 örneğin Gıda alerjisi için prevalansı % 56.9 olarak belirlenmiştir. Solunum alerji şüphesiyle çalışılan 472 örneğin %40.34 (211)'i erişkin, %59.66 (312)'si pediatrik yaş grubunda olup, % 51.6 (270)'ü erkek, 48.4 (253) ü kadındır. Tarama sonucunda % 58.5 (306) spesifik IgE pozitif bulunmuştur. 472 örneğin solunum alerjisi için prevalansı %65.8, toplam 1366 örnekte genel alerji prevalansı %59.7, gıda alerjisi prevalansı %32.7, solunum alerjisi prevalansı %22.4 olarak belirlenmiştir.

Çocukluk çağı sonuçlarıyla erişkin dönem sonuçları karşılaştırıldığında gıda için test edilen 46 parametreden sadece ilk ikisinin her iki grupta da ilk iki sırada yer aldığı diğerlerinin iki grup arasında hem alerjenlerin hem de IgE oranlarının farklılık gösterdiği, oysa solunum alerjenlerinin ilk 5 sırada ve oluşan antikor oranlarının erişkin ve çocukluk çağında benzer olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Çocukluk çağı ve erişkin dönem alerji profili farklılık göstermektedir. Çocukluk çağında özellikle gıda panelinde saptanan alerjenler erişkin dönemde saptanamamakta ya da oranları azalmaktadır. Takip edilen hastaların yaşları ilerlediğinde alerji testleri tekrarlanarak değişiklikler belirlenmelidir.

Anahtar Kelimeler: prevalans, alerjen, IgE

[PS-004][Alerji ve İnflamasyon]

Pediatric Yaş Grubunun Gıda Alerjenleri Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi

Seyda Özsoy Karabörk, Esra Koçoğlu

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

Amaç: Alerjik hastalıklar Dünya’da en çok araştırılan hastalık gruplarından biridir. Besin alerjisi sıklığı ve yaygınlığı ise gün geçtikçe artmakta, anafilaksi olarak bilinen ve hayati risk taşıyan bir reaksiyon gelişmesine neden olabilmektedir. Bu yüzden gıda alerjisinde erken tanı koyarak diyet ve uygun bir tedavi ile klinik belirtileri önlemek hayat kurtarıcı olabilir. Bu çalışmada Pediatric allerji polikliniğine başvuran alerjik hastalarda gıda alerjisi test sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Çocuk Alerjisi polikliniğine Mayıs 2014-Mart 2015 tarihleri arasında kızarıklık, kaşıntı, öksürük gibi şikayetlerle başvuran olgulardan alınan serum örnekleri Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı İmmünoloji laboratuvarında çeşitli gıda alerjenlerini araştırmak üzere florenzim immünoassay yöntemi (Unicap 100 Phadia, İsveç) ile çalışıldı. Sonuçlar retrospektif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 143 hastanın 81’i (%56.6) erkek, 62’si (%43.4) kızdı. Çocukların yaşları 0-3 ve 4-16 yaş olarak gruplandırıldı. Demografik bulgular ve alerjenlere olan duyarlılıkları Tablo 1’de verildi. Cinsiyete göre değerlendirildiğinde inek sütü duyarlılığı erkek çocuklarda kız çocuklara göre daha fazla tespit edilirken, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Yumurta alerjisine ve karma teste bakıldığında ise kız ve erkek çocuklar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Yumurta, karma test ve inek sütü duyarlılık sonuçları sırasıyla %33.9 (n=56), %25 (n=92) ve %24.5 (n=61) olarak bulundu.

Sonuç: Gıda alerjisi önlenilebilir ve tedavi edilen bir durumdur. Bulgularımıza göre 0-3 yaş arasında gıda alerjenlerine duyarlılık daha yüksek oranda bulunmaktadır. Çocukluk çağında gıda alerjenlerine karşı duyarlılığın yüksek olması nedeniyle bu yaş grubunda alerjik hastalıklar arasında gıda alerjisinin de azımsanmayacak kadar önemli olduğu vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Pediatric hastalar, Allerji, Gıda alerjisi

Tablo 1 Hastaların demografik özellikleri ve alerjen duyarlılıkları*Tablo 1 Hastaların demografik özellikleri ve alerjen duyarlılıkları*

			Gıda alerjenleri					
	0-3 yaş	4 ve üzeri	İnek Sütü		Yumurta		Karma test*	
			(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
Erkek	56	25	10	24	9	20	12	41
Kız	35	27	5	22	10	17	11	28
Toplam	91	52	15	46	19	37	23	69

*Karma test: (f4:buğday unu; f3:marina balığı; f2:süt; f14:soya fasulyesi; f13:yer fıstığı; f1:yumurta beyazı)

[PS-005][Doğal immünite]

Bazı Yılan Ham Zehirlerinin LPS ile İndüklenen RAW 264.7 Makrofaj Hücrelerinde iNOS İnhibisyonu ve Enflamatuvar Hastalıklarda Kullanım Potansiyeli Üzerine Etkilerinin AraştırılmasıAyşe Nalbantsoy¹, Mert Karış², Bayram Göçmen²¹Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü 35100, Bornova İzmir.²Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji ABD, 35100, Bornova İzmir, Türkiye.

Amaç: Yılan zehri yüz yıllardır halk arasında birçok patofizyolojik rahatsızlığın tedavisinde kullanılan, içerdiği çeşitli aktif protein ve/veya peptid bileşiklerle potansiyel terapötik değere sahip doğal bir biyolojik kaynak niteliğindedir. Toksik olmayan yılan zehri dozlarının indüklenabilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) inhibisyonu, anjiyogenezisi durduru ve solid tümörlerin küçülmesinde etkili olduğu bilinmektedir. Bu etkileri zehir içerisinde bulunan biyoaktif peptit/proteinlerin özelliklerine bağlı olarak farklı mekanizmalar üzerinden göstermektedir. Nitrik oksidin (NO) enflamasyon mekanizmalarındaki anahtar sinyal molekülü olduğu ve iNOS inhibisyonunun NO oluşumunu engellediği ve hücreyi oksidatif stresten koruduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Günümüzde yeni biyoaktif bileşiklerin keşfi üzerine yürütülen çalışmaların önemli bir kısmı hayvansal zehirlerden yeni bileşiklerin bulunması üzerinedir. Bu nedenle özellikle ülkemizde yayılış gösteren hayvansal zehir kaynaklarının değerlendirilebilmesine yönelik etkin stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Türkiye’de dağılışı gösteren zehirli yılan türleri Colubridae, Viperidae ve Elapidae olmak üzere üç farklı familyada toplanmaktadır. Özellikle Viperidae familyasına ait engerek türleri ülkenin genelinde yaygındır ve bazı türleri de Türkiye’ye endemiktir. Bu çalışmada bazı engerek türleri (*Vipera kaznakovi* (Kafkas Engereği), *Montivipera raddei* (Radde Dağ Engereği), *Montivipera wagneri* (Wagner Engereği), *Montivipera albizona* (Beyaz Bantlı Dağ Engereği), *Vipera barani* (Baran Engereği), *Vipera darevskii* (Darevski Engereği), *Vipera ammodytes* (Burunlu Engerek), *Vipera anatolica* vb.) ve ülkemizde tek kobra türü olan *Walterinnesia morgani* (Çöl Kobrası) yılanına ait önceki çalışmalardan elde edilmiş ham zehirlerin iNOS inhibisyonuna etkisi RAW 264.7 makrofaj hücrelerinde LPS ile indüklenerek araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: RAW264.7 makrofaj hücreleri RPMI 1640 (%10 FBS, %1 L-glutamin, %1 gentamisin, ve 1 mM HEPES) besi ortamı içerisinde 96 gözlü hücre kültürü pleytlerine 100’er µL ekilerek (1x10⁵ hücre/göz) 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra LPS (1 µg) ve farklı dozlarda ham yılan zehiri ile muamele edilerek 24 saat 37°C’ye ayarlanmış CO₂’li etüvde inkübe edildikten sonra ortamdaki nitrit miktarı süpernatllara Griess reajanı eklenerek belirlenmiştir. Absorbans değeri 540 nm’de ölçüldükten sonra nitrit üretiminin yüzde inhibisyonu kontrolle karşılaştırılarak doz eğrisinden IC₅₀ değeri hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yılan zehiri, iNOS inhibisyonu, enflamatuvar hastalık

[PS-007][Doğal immünite]

İn vitro Diyabet Modellerinde Endotel Hücreye Yapışan Mononükleer Lökositlerin Profillenmesi

Dilek Tiyekli, Neşe Akış

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Edirne

Amaç: Endotel hücrelerin işlevlerini sürdürebilmesi için bağışıklık sistemi ile dengeli bir ilişki içinde olması gerekmektedir. İn vitro tip I diyabet, tip II diyabet ve IGT (glukoz intoleransı) hasta serumlarında benzer şekilde bulunan yüksek glikoz ve/veya insulin stresine karşı endotel hücreler aktivasyon yanıtı geliştirmektedir. Aktivasyon durumunda bağışıklık sistemi stres yanıtını algılamakta ve endotel hücrelerle sürdürülen dengeli ilişki bozulmaktadır. Hastalarda kronik aktivasyon immunovasküler lezyon oluşumuna sebep olmaktadır. Farklı diyabet streslerine karşı inflamasyon yanıtında endotel hücrelere bağlanan lökositlerin özgül kombinasyonları bilinmemektedir.

Gereç-Yöntem: Fare glomelüler endotel hücreler (GENC) in vitro 5,5 mM D-glukoz, 33mM D-glukoz ve/veya 125 uIU insülin/ml konsantrasyona maruz bırakılmıştır. İnflamasyon yanıtı, aktiflenmiş endotel hücrelere adhere olan monosit (RAW 264.7) hücrelerin sayılmasıyla saptanmıştır.

Bulgular: Tip I diyabet modeline uygun olarak yüksek glukoz konsantrasyonuna (33mM glikoz) maruz bırakılan aktiflenmiş endotel hücreler normal glukoz konsantrasyonuna (5,5 mM glukoz) maruz bırakılmış endotel hücrelere göre 1,4 kat daha fazla monosit hücre bağlamaktadır.

Sonuç: Tip II ve IGT diyabet tiplerine karşı farklanmış endotel hücre lökosit bağlama profilleri çalışmaları halen devam etmektedir. Sonuçlar endotel hücrelerin farklı diyabet tiplerine karşı farklı yanıt profilleri olup olmadığını açığa çıkaracak ve farklı diyabetik tiplerine karşı özgül farmasötik yaklaşımların gelişmesine ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: Endotel hücre, diyabet, inflamasyon

[PS-008][Doğal immünite]**Monosit Alt Gruplarının Fagositoz Potansiyelinde Farklılıklar**

Zeynep Akbulut, Fatma Tuba Akdeniz, Özgür Albayrak, Gökhan Terzioğlu, Başak Aru, Gülderen Yanıkkaya Demirel
Yeditepe Üniveristesi Tıp Fakültesi İmmunoloji Anabilim Dalı

Monosit/makrofajlar hem immünite hem de homeostasis için kritik role sahiptirler. Monosit fagositozu Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu ve Sepsis olguları gibi farklı infeksiyon hastalıklarında prediktif bir ölçüt olarak kullanılabilir fonksiyonel bir testtir. Yüzeilerindeki CD14 ve CD16 ekspresyonuna göre, monositler farklı alt tiplere ayrılmaktadır (klasik, klasik olmayan ve ara durumda monositler).

Amaç: Mitokondri aktivasyonunu göstermekte kullanılan Rhodamine123 boyasını kullanarak farklı monosit alt gruplarının fagositik potansiyellerindeki değişimi sağlıklı ve sepsis tanısı almış hastalarda incelemeyi amaçladık.

Yöntem: On (10) sağlıklı kontrol ve on bir (11) sepsis tanılı hastadan alınan tam kan örnekleri, *St. aureus* ile uyarılarak, 0. ve 20. dakikalarda DHR123 floresans değişiklikleri aracılığı ile farklı monosit alt gruplarının fagositik kapasitesi akan hücre ölçer sistemi kullanılarak ölçülmüştür.

Sonuçlar: Çalışmamızda, sağlıklılarda en yüksek fagositik kapasitenin sırası ile CD14parlakCD16+ (ara durumda) ($p=0,006$), CD14++CD16- (klasik) ($p=0,009$), CD14+CD16++ (klasik olmayan) ($p=0,015$) monositlerde arttığı gözlenmiştir. Sepsis hastalarında fagositik aktivitenin daha düşük oranda gerçekleştiği saptanmıştır. En düşük fagositik aktivite septik şok tanısı alan dört hastada izlenmektedir.

Yorum: Bu yöntem monosit fagositozu ölçümü hakkında daha doğru bilgilere ulaşılmasını sağlamaktadır. Sepsis ve ilgili sendromlarda önceden belirleyici (prediktif) bir yöntem olarak kullanılabilmesi için daha çok sayıda hasta örneği ile uzun dönemli izlem çalışmaları yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: monosit alt grupları, fagositoz, akan hücre ölçer

[PS-009][Doğal immünite]**SIÇAN SUBKRONİK STRES MODELİNDE, BEYİNDE HİPOKAMPAL ve PREFRONTAL KORTEKS BÖLGELERİNDE, STRES ETKİSİ İLE İNFLAMAZOM İLİŞKİLİ GENLERİN EKSPRESYONUNDA DEĞİŞİKLİKLER**

Gökhan Terzioğlu¹, Ceren Şahin⁴, Gökhan Ünal⁴, Fatma Tuba Akdeniz², Zeynep Akbulut², Başak Aru², Gülderen Yanıkkaya Demirel³, Feyza Arıcıoğlu⁴

¹Yeditepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Doktora Programı, İstanbul

²Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Doktora Programı, İstanbul

³Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁴Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Psikofarmakoloji Araştırma Birimi, İstanbul

Genel Bilgi: Psikolojik stresin dolaşımında bulunan tümör nekroz faktörü α (TNF- α) ve interlökin 1 β (IL-1 β) gibi proinflamatuvar sitokinlerin miktarında artışa sebep olduğu bilinmektedir. NLRP3 aktivasyon ve polimerizasyonu ile başlayan inflamazom kompleksinin oluşumu IL-1 β ve IL-18 aracılı inflamatuvar cevabın başlatılmasından sorumludur. Hayvan modelleri ve bazı klinik çalışmalar NLRP3 inflamazomunun depresyonda aktive olduğuna yönelik kanıtlar sunmaktadır.

Amaç: Sıçan subkronik stres modeli kullanılarak stres ile NLRP3 inflamazom kompleksi ilişkili genlerin hipokampus ve prefrontal korteks bölgelerinde ekspresyon düzeyi değişikliklerinin belirlenmesidir.

Yöntem: Çalışmadaki sıçan stres gruplarına immobilite kafesleri kullanılarak günde 4 saat olmak şartı ile 7 gün süreyle kısıtlama stresi uygulanmıştır. Kontrol grubuna ise el ile tutma stresörü uygulanmıştır. Tüm deney grupları 6. gün davranış deneylerine alınmış, 7. gün dekapitasyon uygulanarak doku ve serum örnekleri toplanmıştır. Çalışmada kullanılan Kontrol (6 adet) ve Stres (6 adet) grubu sıçanların bakımı ve ötenazi uygulaması Marmara Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada ilgili deney gruplarının hipokampus ve prefrontal korteks bölgelerinden elde edilen RNA'dan sentezlenmiş olan komplementer DNA (cDNA) kullanılmıştır. cDNA örnekleri kullanılarak TaqMan prob temelli gerçek zamanlı kantitatif PCR yöntemi ile inflamazom ilişkili genler olan (Kaspaz-1 (CASP1), İnterlökin-1 β (IL-1 β), İnterlökin-6 (IL-6), İnterlökin-18 (IL-18), Nükleer Faktör $\kappa\beta$ (NF $\kappa\beta$), NLRP3, PYCARD, TNF- α) ekspresyon düzeylerindeki değişiklik analiz edilmiştir, bu amaçla $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılmıştır. Referans gen olarak GAPDH ve YWHAZ genleri seçilmiştir.

Sonuç: NLRP3 inflamazomu ilişkili genlerin ekspresyon düzeylerinin stres grubunda hipokampus ve prefrontal korteks bölgelerinde arttığı görülmektedir. Prefrontal korteks bölgesinde tüm inflamazom ilişkili genlerin ekspresyonunda artış gözlenirken, en yüksek artışın sırası ile NLRP3, NF $\kappa\beta$ ve TNF- α ekspresyonlarında olduğu; buna karşın hipokampal bölgede ise CASP1, IL-1 β ve IL-6 düzeylerindeki artışın diğer inflamazom ilişkili genlerin ekspresyonuna göre daha yüksek oranda olduğu, NLRP3 ve NF $\kappa\beta$ gen ekspresyon düzeylerinin ise orta düzeyde arttığı saptanmıştır.

Yorum: Elde edilen bulgular strese inflamazom aktivitesinin arttığını, bu artışı önleyici ilaçların stres yönetiminde kullanılabilmesi ile yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilebileceğini göstermektedir. Non-invaziv insan çalışmaları ile insanda inflamazom aktivitesinin değerlendirilmesi ve hayvan çalışmalarından elde edilen bilgilerin doğrulanması, çalışmamızın gelecek aşamasını oluşturmaktadır.

*Bu çalışma SAG-E-120613-0233 nolu Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: NLRP3, inflamazom, Sıçan Subkronik Stres Modeli

[PS-010][Doğal immünite]**Down sendromlu çocuklarda NK hücrelerinin yaşla değişimi**

Hülya Özdemir, Ayça Ceylan, Hasibe Artaç
Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji ve Allerji BD, Konya

Amaç: Down sendromu (DS) (trizomi 21) en yaygın görülen genetik hastalıktır. Doğumdan itibaren solunum yolu enfeksiyonları önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Bu çalışmanın amacı, DS'lu çocuklarda NK ve NKT hücrelerinin yaşla değişimini değerlendirmektir.

Gereç-Yöntem: Down sendromu tanısı ile izlenen 3 ay ile 18 yaş arasında 40 olgu ve 35 kontrol çalışmaya dahil edildi. Hasta ve kontroller yaşlarına göre 0-6 yaş (grup 1; 25 hasta, 24 kontrol) ve 6-18 yaş (grup 2; 15 hasta, 11 kontrol) olmak üzere 2 gruba ayrıldı. T, B ve NK hücreleri akım sitometri cihazı ile analiz edildi. NK ve NKT hücreleri, CD3, CD16 ve CD56 monoklonal antikorları kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: Down sendromlu olguların 20'si kız, 20'si erkek olup ortalama yaşı 68.6 ± 60.9 aydı. Hasta ve kontrol grubu yaşlara göre karşılaştırıldığında Down sendromlularda 0-6 yaş grubunda NK (CD3-CD56+) ve NKT (CD3+CD56+) hücrelerinde anlamlı yükseklik saptanırken (hasta grubu, 14.9 ± 10.2 ve 4.4 ± 2.95 ; kontrol grubu, 6.3 ± 4.05 ve 0.8 ± 0.6) ($p < 0.05$), 6-18 yaş grubunda sadece NKT hücrelerinde anlamlı yükseklik olduğu görüldü ($p < 0.05$) (12.8 ± 6.7 , 4.9 ± 4.4). Tüm yaş gruplarında Down sendromlu hastalarda CD19+ B hücrelerinde düşüklük ve CD3+CD8+ T hücrelerinde artış mevcuttu. Yaşla birlikte Down sendromunda NK hücrelerinde azalma ve NKT hücrelerinde artış olduğu görüldü.

Sonuç: Bu çalışma ile Down sendromlu çocuklarda, NK ve NKT hücrelerinde artma olduğu ve yaşla birlikte NKT hücrelerindeki yüksekliğin devam ettiği gösterildi. NKT hücrelerinin immün yanıt, otoimmün hastalıkların kontrolü, immün denetim ve tümör rejeksiyonunda önemli olduğu bilinmektedir. Bu sonuç, NKT hücrelerindeki artışın defektif immün cevabın kompanzasyonu ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Down sendromu, NK hücreleri

[PS-011][Doğal immünite]**Toll-benzeri algaça bağlı bağışıklık cevabının kitosan polisakkariti tarafından bastırılması**

Gizem Tincer Köniç, Banu Bayyurt, İhsan Gürsel
Thorlab, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilkent Üniversitesi, Ankara

Kitosan yaygın bir şekilde aşı ve anti-kanser adjuvanı taşıyıcı depolama sistemi olarak kullanılmakta olan bir polisakkarit türüdür. Son zamanlar bu doğal polisakkaritlerin Toll benzeri algaç (TLR) agonistlerin immünstimulan etkilerini güçlendirmek için etkin taşıyıcı sistemler olarak kullanıldığı gösterilmiştir. Oldukça önemli bir biyomateryal olmasına rağmen, kitosanın tek başına hangi algaçlar ve yolaklar üzerinden immün sistemi etkilediği bilinmemektedir. Biz bu çalışmada kitosan/pIC nanoparçacıklarının bağışıklık düzenleyici etkileri araştırdık ve kitosanın proliferatif ve sitotoksik özelliklerini fare makrofaj hücreleri üzerinde denemiş bulunmaktayız. Bu deneylerden elde ettiğimiz sonuçlar, kitosanın hücreler üzerinde toksik bir etkisinin olmadığını, ancak makrofajların proliferasyonlarını olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir. Bunun yanısıra kitosan ile muamele edilmiş olan PEC hücrelerinden doza bağlı olarak NLRP3 ile alakalı IL-1 β ürettiğini bulgulamış bulunmaktayız. Kitosanı TLR3 agonisti, pIC ile kompleksleştirdiğimiz zaman ise bu nanokomplekslerin RAW fare makrofaj hücreleri üzerinde, pIC molekülünün bağışıklık uyarıcı özelliklerini arttırmadığını, değişmeyen TNF- α ve NO düzeyleriyle göstermiş bulunmaktayız. Kitosan/pIC nanoparçacık formülasyonlarıyla uyarılmış olan fare dalak hücrelerindeki, TLR, CXCL-16 ve IFN- α gen ifadesi seviyelerinde de düşüş gözlenmiştir. Çalışmalarımızın ışığında, kitosanın bağışıklık hücreleri üzerinde, anti-proliferatif ve enflamasyonu tetikleyen bir makromolekül olduğunu göstermiş bulunmaktayız. Kitosanın immünoterapötik uygulamalarda, taşıyıcı sistem olarak kullanımı önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Toll-benzeri algaç, kitosan, doğal bağışıklık

[PS-012][Doğal immünite]**pH'a Duyarlı Katyonik Lipozomlara Yüklenmiş CDN ve TLR Ligantlarının İmmün Tetikleyici Özellikleri**

Banu Bayyurt, İhsan Gürsel

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

Amaç: Döngüsel dinükleikler (Cyclic dinucleotides-CDN) sitozolik nükleik asit sensörlerinden STING tarafından tanınmakta olup IRF3 ve NFKB yolaklarını etkinleştirmektedir. Adjuvant veya immünettetikleyici ajan olarak kullanım potansiyelleri yüksektir. Bu nükleik asit temelli ligandların döngüsel haldeki yapıları nedeniyle hücre içerisine girmeleri kısıtlıdır sitozolde ER'a bağlı bulunan STING ile etkileşime girmeleri de güçtür. Son çalışmamızda CDN'le, TLR9 ligantlarının (CpG ODN) sinerjistik bir şekilde bağışıklık sistemini arttırdıklarını göstermiştik. Bu çalışmada, hem STING, hem de TLR9 ligandları serbest veya lipozom içerisinde ayrı ayrı veya ko-enkasüle halde kullanarak doğal bağışıklığı etkinleştirici özellikleri araştırılmıştır. STING sitozolde ve TLR9 endozom içerisinde bulunduğundan, pH'a duyarlı bir lipozom tipi hazırlanarak ligantlar yüklenmiştir. Lipozomun endozom içerisinde hücrelere alınmasıyla endozom içerisindeki pH değişimiyle/düşüşüyle hem nanokesecek yapısını, hem de endozomun yapısını bozmasına bağlı olarak CDN'lerin sitozole geçerek STING 'e daha etkin bağlanması amaçlanmaktadır. Ayrıca lipozomdaki CpG ODN ise TLR9'u etkinleştirip endozomdan sinyal yolağını tetiklemesi beklenmektedir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışma için öncelikle Katyonik Stealth Lipozom (SSCL) farklı pH'a duyarlı lipid miktarlarında hazırlandı ve kalsein solüsyonuyla dehidre edilerek boyandı. SSCL farklı pH'larda PBS'lerin içerisine konularak 37oC'de 1 saat bekletildi. 1 saat sonunda solüsyonun içerisinde ne kadar kalsein olduğu spektrofotometrede analiz edildi. Lipozomların içerisine TLR9 ligandı K3 tipi ODN, STING ligandları c-di-GMP veya 2'3' cGAMP ile birlikte veya tek başlarına yüklenip fare dalak hücreleri kültürde stimüle edildi. Sitokin miktarları ELISA yöntemiyle ve IFN α / β reporter hücre hattı olan B16 hücreleri kullanılarak tayin edildi.

Bulgular: pH'a duyarlı lipid miktarı en fazla olan lipozomun pH düşükken daha fazla kalsein salımına neden olduğu belirlendi. Serbest ve lipozoma yüklü CDN'ler arasında sitokin miktarlarına göre bir fark görülmedi. Serbest CDN'ler K3 ile birlikte verildiklerinde IL6, IL12 ve IFN α / β miktarlarında artışa neden oldu. Serbest halde sinerjiye neden olmayan veya daha az etkileyen miktarda CDN ile K3 birlikte lipozoma yüklenerek hücrelere verildiğinde, serbest halde etkisiz olan ligandların lipozoma birlikte yüklendiğinde IL6,IL12, IFN γ ve IFN α / β miktarlarında önemli derecede artışa neden olduğu saptandı.

Sonuç: Düşük dozda serbest halleri herhangi bir etkiye neden olmayan CDN+CpG ODN'lerin lipozoma yüklendiğinde sinerji oluşturup immün hücrelerinden yüksek miktarda tip 1 ve tip 2 interferon salımı sağlayan formülasyonların antikanser veya antiviral ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Lipozom, Döngüsel dinükleikler, CpG ODN

[PS-013][Doğal immünite]

FOSFODIESTER OMURGALI CpG MOTİFİ İÇEREN VE İÇERMEYEN LİPOZOMAL ODN'LERİN İMMÜN DÜZENLEYİCİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Hakan Köksal, Banu Bayyurt, İhsan Gürsel
Thorlab, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilkent Üniversitesi, Ankara

CpG ODN'ler kısa tek zincirli sentetik DNA molekülleridir. Bu sentetik moleküller metillenmemiş CpG motifleri içerirler. İnsanda etkin olan K ve D tipi olarak ikiye ayrılan CpG motifleri, hücre içi sensörlerden TLR9 tarafından tanınırlar. Bu immünstimulan sekansların immünterapide çok yaygın uygulamaları bulunmaktadır. Oluşturdukları immün aktivasyon sonucu K tipi TNF α , D tipi ise IFN α salgılanmasına sebep olur. Daha önce gösterildiği ve bu çalışmada tekrar edildiği üzere K tipi ODN katyonik lipozom içerisine yüklendiğinde IFN α salgılayan D-tipi özelliği göstermiştir. Bu K-tipi ODN'in omurgası ise fosfodiester yerine nükleazlara daha dirençli olduğu bilinen fosforotiyoat bağlardan oluşmaktadır. Bu çalışmada fosfodiester bağlı K tipi ODN olan 1466-Acore-PO ve onun CpG motifi içermeyen kontrol sekansı 1471-Acore-PO oligonükleotidleri laboratuvarımızda tasarlanan beş değişik lipozoma yüklenerek immün etkinleştirici özelliği belirlenmiştir. Fare ex-vivo deneyinde, serbest sekansların aksine sadece PO-omurgalı lipozomal sekanslardan IFN α salgısının CpG motifine bağlı olduğu gösterilmiştir. Fakat bu lipozomal sekansların immün düzenleyici etkileri insan periferik kan hücrelerinde tekrarlandığında beklenmedik bir şekilde hem 1466-Acore-PO, hem de 1471-Acore-PO sekanslarının doza bağlı ve benzer düzeylerde IFN α ve IP-10 salgılattığı belirlenmiştir. Etkinin CpG'den bağımsız olma ihtimalini göz önünde bulundurarak öncelikli amacımız bu etkinliğin TLR9'a bağımlı mı yoksa bağımsız mı olduğunu belirlemektir. Eğer bağımsız ise bu immün etkinliğin omurga tipi ve sekansa ait olup olmadığına bakılacaktır. Son olarak olası hücre içi sensörler tarafından etkinliğin düzenlendiği olasılığı da araştırılacaktır. Daha sonra ki amacımız ise bu etkinliğe ve IFN α üretimine hangi hücreler yol açmaktadır araştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: CpG ODN, lipozom, TLR9

[PS-014][Edinsel immünite]**Laboratuvarımızda Lenfosit Profil Değerlendirmesi Yapılan 0-18 yaş Grubunda Son 2 Yıllık Retrospektif Analiz**

Pınar Soğuksu, Sevim Meşe, Selim Badur

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul

Amaç:

Lenfositler ve ürünleri bağışıklık sisteminin hücresel ve humoral komponentlerinin en önemli kısmını oluşturur. Lenfositler başlıca T hücreleri, B hücreleri, NK (Natural killer) ve NKT (Natural killer T cell) ana gruplarına ayrılır. Normal immün cevabın oluşturulması ve sürdürülebilmesi için düzenleyici ve efektör fonksiyonlara sahip lenfosit alt grupları arasında bir dengenin bulunması gerekir.

Çocuklarda immün yetmezlik sendromları, malign hematolojik hastalıklar, enfeksiyon hastalıkları ve transplantasyon sonrası komplikasyonların tanısı ve izlenmesinde lenfosit alt gruplarının immünfenotipleme oldukça yararlı bir testtir.

Laboratuvarımızdaçalışılan lenfosit alt grup immünfenotiplemesinin 0-18 yaş grubu çocuklar için son 2 yıllık retrospektif analizini yapmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem:

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğinin çeşitli poliklinik ve servislerinden gelen 0-18 yaş grubuna ait 869 lenfosit alt grup

immünfenotipleme analiz edilmiştir. Lenfosit alt grup immünfenotipleme CD3FITC/CD16PE+CD56PE/CD45PerCP-Cy5.5/CD4PE-Cy7/CD19APC/CD8APC-Cy7 (BD Multitest 6-Color TBNK) monoklonal antikorlar kullanılarak flowsitometri (FACS Canto, Becton Dickinson, San Jose, CA) cihazında yapılmıştır.

Bulgular:

869 hasta örneğinin 536'sı erkek (%61,6), 333'ü kadın (%38,3) hastalara ait olduğu gözlenmiştir. Yaş aralığı 0-18 arasında ve ortalama yaşları 3,9'dur. Çocuk kliniğinden başvuran hastaların 504'ü (%57,9) enfeksiyon polikliniğinden, 75'i (%8,6) genel poliklinikten, 68'i (%7,8) acil poliklinikten, 46'sı (%5,3) immünoloji-alerji polikliniğinden, 54'ü (%6,2) Hematoloji polikliniğinden, 23'ü (%2,6) yeni doğan yoğun bakımdan, 14'ü (%1,6) nefroloji polikliniğinden, 12'si (%1,3) genel pediatri servisinde, 5'i (%0,5) onkoloj servisinde, 4'ü (%0,4) gastroenteroloji polikliniğinden, 9'u (%1) kardiyoloji polikliniğinden, 1'i beslenme, 3'ü neonatoloji, 2'si nöroloji, 1'i nöroşirurji, 4'ü yenidoğan servisinde, 3'ü çocuk cerrahisinden, 1'ikalp damar cerrahisinden, 1'i çocuk ürolojisinden, 1'i dermatoloji polikliniğinden, 1'i transplantasyon ünitesinden ve 26'sı (%2,9) diğer hastanelerden gelmiştir. Bu hastaların lenfosit alt grupları değerlendirildiğinde CD3; 163 hastada yüksek, 54 hastada düşük, 652 hastada normal, CD4; 64 hastada yüksek, 70 hastada düşük, 735 hastada normal, CD8; 89 hastada yüksek, 75 hastada düşük, 705 hastada normal, CD19;203 hastada yüksek, 116 hastada düşük, 550 hastada normal, CD56; 77 hastada yüksek, 558 hastada düşük, 234 hastada normal, NKT; 14 hastada yüksek 160 hastada düşük, 695 hastada normal seviyelerde bulunmuştur.

Sonuç:

İmmün durumun değerlendirilmesinde, insanlardaki lenfoid sistemin göstergesi olarak kandaki lenfosit ve lenfosit alt gruplarının belirlenmesi önemli bilgi sağlar. Günümüzde pek çok immünolojik hastalığın tanısı ve izlenmesinde immün fenotiplendirme etkin şekilde kullanılmaktadır. Özellikle bu yöntem ile hücresel immünite sayısal olarak değerlendirilebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: İmmünfenotipleme, Lenfosit alt grupları

[PS-015][Edinsel immünite]**Kortikal ve Medullar Timik Epitelyal Hücrelerin Akan Hücre Ölçerde Tanımlanması için Yeni Bir Panel Oluşturulması**

Gökhan Terzioğlu¹, Fatma Tuba Akdeniz², Zeynep Akbulut², Başak Aru², Gülderen Yanıkkaya Demirel³

¹Yeditepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Ana Bilim Dalı, İstanbul

³Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

Genel Bilgiler: Timus, T hücre seçiliminin gerçekleştiği primer bir lenfod organdır ve merkezinde yer alan medulla ve onu çevreleyen korteks dokusundan meydana gelir. Timus başlıca epitelyal hücreler ve gelişmekte olan timositlerden oluşmaktadır., timik epitelyal hücrelerin timositlerle etkileşimi T hücre gelişimi için gereklidir. Epitelyal hücreler ise timustaki konumlarına göre kortikal ve medullar olmak üzere ikiye ayrılır ve antijen sunarak T hücre gelişiminde görev alırlar. Gelişmekte olan T hücrelerin pozitif seçilimi kortikal timik epitelyal hücreler aracılı olarak gerçekleşirken, negatif seçim medullar timik epitelyal hücreler aracılı olarak gerçekleşir. T hücrelerin adaptif, kazanılmış bağışıklıktaki önemi düşünüldüğünde, bu hücrelerin seçiminde, gelişiminde rol alan timik epitelyal hücrelerin tanımlanmasının önemi daha iyi anlaşılabilir. Özellikle fare temelli deney hayvanları üzerine çalışmalar olmakla birlikte, insan timik epitelyal hücrelerini ve bu hücreleri kortikal ve medullar olarak tanımlamak üzere standartlaştırılmış herhangi bir antikor paneli mevcut değildir. Hücre yüzeyinde yer alan CD326 ya da EpCam ve sitokeratin literatürde en iyi bilinen epitelyal hücre belirteçleridir, buna ek olarak kortikal ve medullar epitelyal hücreler belirlenmek istendiğinde hücre içi, intraselüler olarak medullar timik epitelyal hücreler için sitokeratin 5 (CK5) ve kortikal timik epitelyal hücreler için sitokeratin 8 (CK8) boyaması da standart bir uygulamadır.

Amaç: Bu çalışmanın amacı, hücre içi ve yüzeyindeki belirteçlere yönelik antikorları bir arada kullanarak, spesifitesi yüksek ve mavi renkli lazere sahip akan hücre ölçerde çalışılabilecek timik epitelyal hücreleri tanımlama amaçlı dört renkli yeni bir antikor panelinin oluşturulmasıdır.

Gereç-Yöntem: Mekanik parçalama ile homojenize edilmiş timus örneği 40 mikron çapındaki filtreden geçirildikten sonra 100 mikrolitresi immünofenotipleme için kullanılmıştır. Her hücre tipi için ayrı tüp çalışılmıştır, CD326, CD40, CD45, CD80 gibi yüzey belirteçleri için boyama yapıldıktan sonra hücre içi boyama için hücrelerin permeabilize hale getirilmesi amacıyla Beckman Coulter Intraprep kullanılmış ve ardından hücre içi boyama yapılmış ve okuma sırasında 1000000 hücre saydırılmıştır.

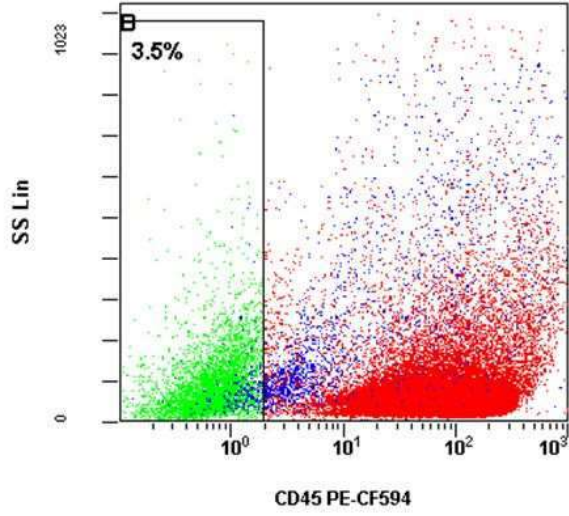
Bulgular: Homojenize edilen dokunun filtreden geçirilmesi sırasında hücrelerin bir kısmı kaybedilmektedir. 1000000 hücre saydırıldığında yaklaşık 500-600 kadar CD45- negatif hücre belirlenmektedir, bu hücrelerin yaklaşık 150-200 kadarı timik epitelyal hücrelerdir.

Sonuç: Dizayn edilen dört renkli antikor paneli kullanılarak CD326+ Pan CK+ CD40+ CD45- Total timik epitelyal hücreler, CD326+ CK8+ CDR2+ CD45- Kortikal timik epitelyal hücreler, A2B5+ CK5+ CD80+ CD45- Medullar timik epitelyal hücrelerin analizi başarı ile gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Timus, timik epitelyal hücreler, akan hücre ölçer

Side Scatter-CD45

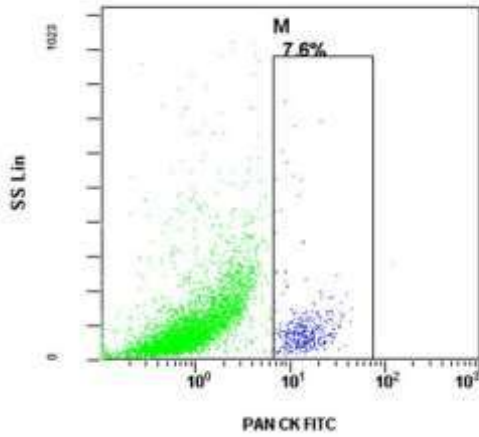
(F1)[A] tyhmus 10 04.02.2015 002.LMD : FL3 Log/SS Lin - ADC



CD45(-) hücreler B kapısında yer almaktadır.

Side Scatter-Pan CK

(F1)[B] tyhmus 10 04.02.2015 002.LMD : FL1 Log/SS Lin - ADC



Pan CK (+) Timik Epitelyal Hücreler M kapısında yer almaktadır.

[PS-016][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]***Helicobacter*-Aktive B(H_{AKT}-B) Hücrelerinin CD4⁺ T Hücreleri İle Fonksiyonel Etkileşimleri**

Güliz Tuba Barut, Aslı Korkmaz, Zeynep Esencan, Ayça Sayı Yazgan
İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

Amaç: Çalışmamız, *Helicobacter*-aktive B hücrelerinin, naif CD4⁺ T hücreleri üzerine etkisini incelemeyi amaçlamaktadır. Bu doğrultuda, *Helicobacter*-aktive IL-10⁺ B ve *Helicobacter*-aktive IL-10⁻ B hücre alt gruplarının, naif CD4⁺ T hücrelerini İnterlökin-10 (IL-10) üreten regülatör T (Tr1) hücrelerine dönüştürmedeki rolüne odaklanılmıştır.

Gereç-Yöntem: Boğaziçi Üniversitesi Yaşam Bilimleri Merkezi'nden temin edilen C57BL/6 tipi farelerin dalaklarından manyetik ayırım yöntemi ile B ve T hücrelerinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Total B hücreleri, *ex vivo* ortamda *Helicobacter felis* (*H.felis*) sonikası ile uyarılıp hücrelerin IL-10 üreten hücrelere farklılaşması sağlanmıştır. Hücreler, regülatör B hücre izolasyon kiti ile manyetik olarak IL-10⁺ B ve IL-10⁻ B hücre alt gruplarına ayrıştırılmıştır. Eş zamanlı olarak, C57BL/6 tipi farenin dalağından elde edilen hücre süspansiyonlarından manyetik ayırım yöntemiyle CD4⁺ T hücreleri ayrıştırılmıştır. İzole edilen B ve T hücrelerinin saflığı, kullanılan spesifik antikorlar (sırasıyla anti-CD19-FITC ve anti-CD4-APC) aracılığıyla tasdik edilmiştir. Elde edilen CD4⁺ T hücreleri, total B hücreleri kontrol grubu, *Helicobacter*-aktive total B hücre grubu, *Helicobacter*-aktive IL-10⁺ B hücre grubu ve *Helicobacter*-aktive IL-10⁻ B hücre grubu ile 24 saat süresince ko-kültürde tutulmuştur. CD4⁺ T hücrelerinin ürettikleri IL-10 seviyesi anti-IL-10 PE antikoruna ile hücre-içi boyaması yapılarak ve akan hücre ölçer kullanılarak incelenmiştir (BD ACCURI C6 cihazı, FlowJo yazılımı). Hücreler tarafından üretilen IL-10 seviyesinin incelenmesi ELIZA testi ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: *Ex vivo* ortamda yüksek saflıkla elde edilen T hücreleri (>%90) ve B hücreleri (%90) ile gerçekleştirilen deneylerin sonuçları, IL-10⁻ B hücrelerinin, naif CD4⁺ T hücrelerinin yaklaşık %20'sini IL-10 üreten Tr1'e dönüştürdüğünü gösterirken; IL-10⁺ B hücrelerinin, T hücrelerinin yaklaşık %15'ini Tr1 hücrelerine dönüştürdüğünü göstermiştir. IL-10 ELIZA testi sonuçlarına göre, IL-10⁺ B ve CD4⁺ T hücre ko-kültürü ile IL-10⁻ B ve CD4⁺T hücre ko-kültüründe, yalnız T hücrelerinin bulunduğu duruma göre 2 kat fazla IL-10 salgılandığı görülmektedir. IL-10⁺ B+ T hücre ko-kültüründe salgılanan IL-10'un bir kısmının IL-10⁺ B hücrelerinden üretildiği, bir kısmının ise CD4⁺ T hücrelerinde üretildiği akan hücre ölçer verileriyle ortaya konmaktadır. Bunun yanı sıra, IL-10⁻ B ve T hücre ko-kültüründen salgılanan IL-10, T hücrelerince üretilmektedir.

Sonuç: Çalışmalarımızın sonucunda, *Helicobacter*-aktive-B hücrelerinin, *Helicobacter*-aktive IL-10⁺ B ve *Helicobacter*-aktive IL-10⁻ B hücre alt gruplarının her ikisinin de CD4⁺ T hücrelerinin IL-10 üreten T hücrelerine farklılaşmasında etkili olduğu önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: CD4⁺T Hücreleri, *Helicobacter felis*, İnterlökin-10 (IL-10)

[PS-017][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]***Helicobacter Felis*'in Kemik İliği Kökenli Makrofaj Polarizasyonu Üzerine Etkisinin İncelenmesi**

Aslı Korkmaz, Güliz Tuba Barut, Zeynep Esencan, Ayça Sayı Yazgan

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

Amaç: Çalışmamız, *Helicobacter felis*'in kemik iliği kökenli makrofajlarda (Kİ-makrofajlar) M1 tipine ve/veya M2 tipine polarizasyonu üzerindeki etkisini incelemeyi amaçlamaktadır. Bu etki, M1 ve M2 tipi makrofajlara özgü yüzey belirteçlerinin (sırası ile CD11c ve CD206), M1 tipine özgü olduğu bilinen (IL-12, TNF- α ve IL-1 β) ve M2 tipine özgü olduğu bilinen (IL-10) sitokinlerin aralarındaki farklılıklar baz alınarak açıklanacaktır.

Gereç-Yöntem: C57BL/6 tipi fareler, Boğaziçi Üniversitesi Yaşam Bilimleri ve Teknolojileri Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilmiştir. C57BL/6 tipi farelerin uzuv kemiklerinden elde edilen kemik iliği hücreleri, L929 hücrelerine üretilen M-CSF varlığında *ex vivo* ortamda Kİ-makrofajlarına çevrilmiştir. Kİ-makrofajlarına farklılaşmanın teyidi için, elde edilen hücreler makrofaj spesifik anti-F4/80-APC ve anti-CD11b-FITC antikorlarıyla boyanmış ve akan hücre ölçerdeki analiz edilmiştir (BD Accuri C6 cihazı ve FlowJo yazılımı). Ardından, elde edilen Kİ-makrofajları, bakteriyel lipopolisakkarit (LPS) (Sigma-Aldrich, 100 ng/ml) ve *Helicobacter felis* sonikası (10 μ g/ml) ile, 24 saat süresince muamele edilmiştir. Muamele sonrasında, M1 tipi makrofajlara özgü yüzey belirteci CD11c, anti-CD11c-FITC antikoruna ile, M2 tipi makrofajlara özgü yüzey belirteci CD206, anti-CD206-APC antikoruna ile boyanmış ve akan hücre ölçerde analiz edilmiş ve yüzdeleri tespit edilmiştir (BD Accuri C6 cihazı ve FlowJo yazılımı). Ayrıca M1 tipine özgün sitokinlerin (IL-12, TNF- α ve IL-1 β) ve M2 tipine özgün sitokinin (IL-10) salgılanmaları, protein düzeyinde, hücrelerin süpernatantlarından yapılan, IL-12, TNF- α , IL-1 β ve IL-10 spesifik ELIZA testleri yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Gerçekleştirilen deneylerin sonucunda, kemik iliği hücrelerinin *ex vivo* ortamda, %90'ın üzerinde saflıkla Kİ-makrofajlarına dönüştüğü, makrofaj spesifik F4/80 ve CD11b yüzey belirteçleri ile teyit edilmiştir. *Helicobacter felis* sonikası ile muamele edilen Kİ-makrofajlarının yüksek düzeyde CD206 yüzey belirteci içermesi ve IL-10 sitokini üretmelerinden dolayı, M2 tipine benzer fenotip sergilediği gösterilmiştir. Aynı zamanda, *Helicobacter felis* sonikası ile muamele edilen Kİ-makrofajlarının, muamele edilmeyen gruba göre, yüksek oranda IL-12 ve TNF- α sitokinlerini salgıladıkları gözlemlenirken, IL-1 β sitokini seviyesinde farklılık gözlemlenmemiştir.

Sonuç: LPS ile muamele edilen Kİ-makrofajları, *ex vivo* ortamda, yüzeylerinde bulundurdıkları CD11c belirteci ve salgıladıkları IL-12, TNF- α ve IL-1 β sitokinleri dolayısıyla tarafımızdan M1 tipi makrofaj olarak sınıflandırılmıştır. Öte yandan, *Helicobacter felis* sonikası ile muamele edilmiş Kİ-makrofajlarının, M2 tipi makrofajlara özgü CD206 yüzey belirteci bulundurmaları ve IL10 sitokini salgılamaları dolayısıyla, M2 tipine benzer bir fenotip sergilediği önerilmektedir. Bu makrofajların aynı zamanda M1 tipi makrofajlara özgü IL-12, TNF- α ve IL-1 β sitokinlerini de ürettikleri gözlemlenmiştir. Çalışmalarımızın sonucunda, *Helicobacter felis* sonikası ile muamele edilmiş Kİ-makrofajlarının, M1 ve M2 tipine benzeyen hücrelere farklılaştıkları önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter felis*, Kemik iliği kökenli Makrofaj Polarizasyonu

[PS-018][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**Vernal Keratokonjonktivitli Olgularda Ortalama Trombosit Hacmi ve Nötrofil/Lenfosit Oranı**Bilal Elbey¹, Ümit Can Yazgan², Adnan Yıldırım³, Ümit Karaalp³, Alparslan Şahin³¹Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır²Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, DİYARBAKIR³Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Diyarbakır**Amaç:**

Bu çalışmada vernal keratokonjonktiviti (VKK) olan hastaların nötrofil, eozinofil, lenfosit, platelet sayısı, nötrofil/lenfosit oranı (NLO), ortalama platelet hacmi (MPV) değerlendirilmesi amaçlanmıştır

Gereç-Yöntem:

Bu çalışmada göz hastalıkları polikliniğine başvurmuş ve VKK tanısı almış olguların dosya kayıtları retrospektif olarak incelendi. Şaşılık dışında herhangi bir sistemik ve oküler hastalığı bulunmayan yaş ve cinsiyet uyumlu olgular kontrol grubuna dahil edildi. Tüm katılımcıların yaş ve cinsiyet verileri kaydedildi. Hemogram değerlerinden; MPV nötrofil, eozinofil, lenfosit, platelet sayımı, NLO otomatik analizörlerle ölçüldü. Elde edilen veriler iki grup arasında karşılaştırıldı

Bulgular: Çalışma kapsamında 30 VKK ve 30 kontrol olgusu değerlendirildi. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı farklılık saptanmadı. MPV ve NLO, VKK grubunda kontrol grubuna oranla daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla p=0,19 ve p=0,16).

Sonuç: Bu çalışmanın sonucunda MPV ve NLO değerlerinin VKK hastalığıyla ilişkili olmadığını gösterilmiştir. MPV ve NLO değerlerinin VKK'da istatistiksel olarak anlamlı olmamalarına rağmen daha yüksek olması VKK için yardımcı parametre olarak kullanılabilir

Anahtar Kelimeler: Nötrofil lenfosit oranı, ortalama platelet hacmi, vernal keratokonjonktivit

Vernal keratokonjonktivit ve kontrol gruplarının demografik özelliklerinin ve hemogram parametrelerinin karşılaştırılması

	VKK (n=30)	Kontrol (n=30)	P
Yaş (Yıl± SD)	12,63±5,29	12,73±5,42	0,94
Erkek/Kadın (n)	22/8	22/8	1
Nötrofil (K/uL)	4,93±2,22	4,26±1,35	0,16
Lenfosit (K/ul)	2,63±1,05	2,92±1,18	0,31
NLO	2,14±1,60	1,67±0,81	0,16
Eozinofil (K/ul)	0,43±0,59	0,54±2,60	0,16
MPV (fL)	7,6±1,4	7,1±0,94	0,19
Platelet (1000.K/uL)	307,7±114,8	307,7±94,9	0,41

VKK: Vernal keratokonjonktivit, NLO: Nötrofil lenfosit oranı, MPV: ortalama trombosit hacmi

[PS-019][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**Yılan sokması nedeni ile hastaneye başvuran olgularda nötrofil/lenfosit oranının prognostik değeri**Bilal Elbey¹, Burhan Baykal², Yılmaz Zengin³, Ümit Can Yazgan⁴¹Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloj Anabilim Dalı, Diyarbakır²Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır³Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, Diyarbakır⁴Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır

Amaç: Çalışmamızda yılan ısırması vakalarında nötrofil/lenfosit oranı(NLO) artışı ile hastanede kalış ve komplikasyon gelişimi arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: 2011 ile 2014 tarihleri arasında üniversitemiz hastanesine yılan sokması şikayeti ile başvuran hastalar geriye dönük olarak taranmıştır. Hastaların klinik, laboratuvar sonuçları, ısırılma yerleri, hastaların yaşadığı yerler ve hastane içi dönemde gelişen komplikasyonlar incelenmiştir. Hastaların başvuru anı, üçüncü gün ve taburculuk öncesi nötrofil, lenfosit, trombosit, üre, kreatinin, albümin, aspartat transaminaz (AST), NLO1, NLO2 ve NLO3 değerleri kaydedilmiştir.

Bulgular: Hastaların %3,73'de kompartman sendromu gelişti. Yılan ısırma olgularında hastaların %4,67'sine parmak amputasyonu yapıldı. Kompartman sendromu gelişen olgulardan bir tanesinde (Her iki eli ısırılan olgu) amputasyon yapıldı. Olgularımızın hiçbirinde mortalite görülmedi. Komplikasyon gelişen 8 hasta yılan ısırması olan diğer hastalarla karşılaştırıldığında başlangıç NLO açısından istatistiksel olarak anlamlı ve daha yüksek olarak bulundu (p=0,042). Ancak takip sırasında ve taburculuk öncesi bakılan NLO'ları anlamlı olarak bulunmadı. Yatış süresi ile NLO arasında yapılan istatistiksel analizde NLO düzeyi yüksek hastalarda yatış süresinin daha uzun olduğu görülmüştür (p=0,012).

Sonuç: Yılan sokmaları halen bölgemizde sık görülen zehirlenmelerdir. Bu olgulardan sadece bazılarında komplikasyon gelişmektedir. Komplikasyon gelişen hastaların önceden belirlenmesi açısından NLO kullanışlı bir parametre olabilir. Bunun için NLO'nun yılan sokmalarında komplikasyon gelişimini tahmin etmedeki rolü prospektif randomize çalışmalarda araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Yılan sokması, nötrofil/lenfosit oranı, inflamasyon

Hasta ve kontrol grubunun demografik ve laboratuvar verilerinin karşılaştırılması

	Hastalar (n=107)	Kontrol grubu (n=107)	P değeri
Yaş	40,0±18,1	39,9±17,9	0,979
Yatış (gün)	9±8	-	
AST (U/L)	29±19	19±6	<0,001
Albümin (g/dL)	3,6±0,5	4,1±0,3	<0,001
Üre (mg/dL)	35±12	27±8	<0,001
Kreatinin (mg/dL)	0,77±0,19	0,78±0,16	0,621
Trombosit (K/uL)	203±83	265±67	<0,001
Nötrofil (/uL) (3. Gün)	12,02±5,90	4,69±1,35	<0,001
Lenfosit (/uL) (3. Gün)	1,43±0,78	2,53±0,64	<0,001

AST: Aspartat transaminaz

Farklı zamanlarda ölçülen nötrofil lenfosit oranlarının karşılaştırılması

	Ortalama \pm standart sapma	%95 güven aralığındaki alt limitler	%95 güven aralığındaki üst limitler	P değeri
NLO1-NLO2	9,1 \pm 1,0	7,03	11,18	<0.001
NLO1-NLO3	10,8 \pm 1,1	8,58	12,99	<0.001
NLO2-NLO3	1,3 \pm 0,3	0,64	2,00	<0.001

NLO 1: İlk geliş nötrofil lenfosit oranı NLO 2: 3. gün nötrofil lenfosit oranı NLO 3: Taburcu olduğu gündeki nötrofil lenfosit oranı

[PS-020][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**Laboratuvarımızda CD4/CD8 Oranları İzlenen Hastaların Viral Yüklerinin Değerlendirilmesi**

Sevim Meşe, Pınar Soğuksu, Hayati Beka, Muammer Osman Köksal, Ali Ağaçfidan, Selim Badur İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Viroloji ve Temel İmmünoloji BD, İstanbul

Amaç:

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2013 verilerine göre; tüm Dünya'da 35 milyon kişi HIV ile enfekte durumundadır. DSÖ 2013 yılı için yeni vaka sayısını 2,1 milyon ve AIDS nedeniyle ölenlerin sayısı ise 1,5 milyon kişi olarak bildirmiştir.

HIV enfeksiyonunun ana özelliği; T yardımcı lenfositlerde HIV replikasyonu ve enfekte olmamış T lenfositlerinin dolaylı yollarla ölmesi sonucu bu hücre popülasyonunun tükenmesine yol açmasıdır. T yardımcı hücrelerinin yüzeylerinde sundukları CD4 göstergeleri, HIV'in başlıca reseptörü olan moleküllerdir. HIV enfeksiyonları periferik kanda CD4 sayısının azalmasıyla birlikte lenfoid dokularda kuvvetli CD8 T hücre yanıtına neden olur. Böylece CD4/CD8 oranı HIV enfeksiyonlarının izlenmesinde önemli bir belirleyici faktördür. Plazma HIV RNA seviyelerinin klinik açıdan prognostik değeri anlamlıdır.

Viral yük arttıkça enfekte T yardımcı hücrelerde replikasyon ve hücre ölümü döngüleri artar. Bu durum zaman içerisinde CD4 sayısında ve oranlarında azalmaya neden olur. HIV enfeksiyonlarında progresyon riski HIV RNA seviyeleri ve CD4/CD8 oranlarının ölçülmesi ile izlenmektedir.

Bu amaçla Laboratuvarımızda takibi yapılan HIV pozitif hastaların CD4/CD8 oranları ile HIV RNA düzeyleri arasındaki ilişki incelenmiştir.

Gereç-Yöntem:

Laboratuvarımızda 6 ay ara ile 3 kez CD4/CD8 oranları ve HIV RNA düzeyleri ölçülen 93 hastanın sonuçları değerlendirmeye alınmıştır. CD4/CD8 oranları CD3FITC/CD8PE/CD45PerCP/CD4APC monoklonal antikoları kullanılarak Flow sitometrik (FACS Canto, BectonDickinsen, San Jose, CA) yöntem ile ölçülmüştür.

HIV RNA düzeyleri COBAS AmpliPrep/COBAS Taqman HIV-1 Test, V2.0 (Roche Molecular Systems, Inc. USA) kiti kullanılarak COBAS AmpliPrep/COBAS Taqman cihazında belirlenmiştir.

Bulgular:

Çalışmamızda incelenen 93 hastanın 65 (% 69.89)'inin erkek, 28 (% 30.10)'inin kadın olduğu belirlenmiştir. Bu hastaların yaş ortalaması 40.88 (1-76) olarak hesaplanmıştır. Hastaların 1,6 ve 12. ay CD4/CD8 ölçümlerinin ortalamaları sırası ile 0,60749836, 0,740266473, 0,713559695 dir. Aynı zaman dilimlerinde Log HIV RNA düzeylerinin ortalamaları ise sırası ile 2,684413071, 2,210208998, 2,022203697 olarak bulunmuştur.

Sonuç:

Hastaların 6 ay ara ile 3 kez yapılan ölçümlerinin değerlendirilmesi sonucunda HIV RNA düzeyleri yükselirken CD4/CD8 oranlarının düştüğü gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: CD4/CD8, HIV RNA

[PS-021][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**Kırım Kongo kanamalı ateşli erişkin ve çocuk hastalarda kemokin değeri farklılıkları**

Mehmet Araslı¹, Yasemin Özsüreççi², Nazif Elaldi³, Alexander J. Mcauley⁴, Eda Karadağ Öncel², İshak Özel Tekin¹, Mustafa Gökhan Gözel³, Ali Kaya⁵, Füsün Dilara İçağasioğlu⁵, Dilek Yağcı Çağlayık⁶, Gülay Korukluoğlu⁶, Füzünan Köktürk⁷, Mehmet Bakır³, Dennis A. Bente⁴, Mehmet Ceyhan²

¹Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Zonguldak

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

³Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas

⁴Department of Microbiology & Immunology and Galveston National Laboratory, University of Texas Medical Branch, Galveston, Tx, USA

⁵Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas

⁶Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı, Ankara

⁷Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Zonguldak

Amaç:

Kırım Kongo Kanamalı Ateşi, hyalomma cinsi kenelerin ısırmasıyla bulaşan zoonotik bir hastalıktır. Etken Bunyaviridae ailesinin Nairovirüs grubuna bağlı bir RNA virüsüdür. Hastalık son yıllarda Türkiye’de ilkbahar-sonbahar mevsimleri arasında görülmekte ve yaz aylarında sıklık bakımından tepe noktasına ulaşmaktadır. Hastalıkta ölüm oranı %5-30 arasında değişmektedir. Türkiye’de bildirilen vakalarda, hastalığın erişkin bireylerde daha ağır seyrettiği ve mortalite oranlarının daha fazla olduğu, çocuklarda ise hastalığın klinik olarak, erişkinlere oranla daha hafif seyrettiği bildirilmiştir. Biz çalışmamızda, immün sistemin önemli aracı moleküllerinden olan Kemokinlerden; Chemokine (C-C motif) Ligand 2 (CCL2) [Monosit Kemotaktik Protein 1 (MCP-1)], CCL3 [(Makrofaj İnflamatuar Protein 1α) (MIP-1α)], CCL4 [(Makrofaj İnflamatuar Protein 1β)(MIP-1β)], Chemokine (C-X-C motif) Ligand 8 (CXCL8)(IL-8), CXCL9 [(Monokine induced by gamma interferon) (MIG)]’un ve ayrıca Granülosit-Koloni Stimülan Faktör (G-CSF)’ün serum düzeylerini, Kırım Kongo Kanamalı Ateşli Erişkin ve Çocuk hasta gruplarında ve yaş uyumlu sağlıklı kontrol gruplarında değerlendirdik.

Gereç-Yöntem:

Serum örnekleri, ortalama yaşı 41.7 ± (SD) 16.53 (dağılım: 19-71) olan, 29 (16 Erkek, 13 Kadın) erişkin hastadan ve ortalama yaşı 11.9 ± (SD) 4.75 (dağılım: 0.5-18) olan 32 (20 Erkek, 12 Kadın) çocuk hastadan elde edildi. Kontrol serumları ortalama yaşı 42 ± (SD) 10.82 (dağılım: 24-80) olan, sağlıklı kan bankası vericisi 40 (28 Erkek, 12 Kadın) erişkin bireyden ve ortalama yaşı 13.03 ± 3.21 (dağılım: 7-18) olan 35 sağlıklı çocuktan (18 Erkek, 17 Kadın) elde edildi.

Hastalığın akut döneminde alınan ve -80°C’de saklanan hasta serum örnekleri ile sağlıklı kontrol grubu serum örnekleri üzerinde, Akım Sitometrik Floresan Boncuk İmmün Analiz yöntemi ile Human Chemokine 6-plex FlowCytomix Multiplex kiti (e-Bioscience, Vienna, Austria) kullanılarak CCL2, CCL3, CCL4, CXCL8, CXCL9 ve G-CSF düzeyleri FC500 Akım Sitometri cihazı (Beckman Coulter Inc., Miami, FL, USA) kullanılarak belirlendi. İstatistiksel analiz Statistical Package for Social Sciences (SPSS), versiyon 18.0 yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak yapıldı. Data dağılımı Shapiro-Wilks normalite testi ile belirlenerek, değerler median (min.-max.) olarak belirtildi ve istatistiksel analiz Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı.

Bulgular:

Erişkin KKKA’li hastalar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; CCL2, CCL3, CCL4, CXCL8 ve CXCL9 düzeylerinin ileri derecede anlamlı olarak arttığı görüldü. (Tablo 1.) Çocuk hastalarda ise kontrol grubuna göre sadece CCL4 (p<0.0001) ve GCSF (p=0.049) düzeyleri anlamlı olarak artmıştı. (Tablo 2.)

Sonuç:

Çalışmamızın sonucu Erişkin KKKA’li hastalarda, çocuk hastalara kıyasla belirgin bir kemokin artışı olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kırım Kongo kanamalı ateşi, Kemokin

Tablo 1.

Kemokin Düzeyleri (pg/dl)	Erişkin Hastalar (n=29)	Erişkin Kontrol Grubu (n=40)	p Değeri
CCL2 (MCP-1)	2364.7 (436.8 – 28181.7)	761.0 (199.5 – 3913.5)	<0.0001
CCL3 (MIP-1 α)	714.1 (0.1 – 14524.2)	75.2 (0.1 – 1410.0)	<0.0001
CCL4 (MIP-1 β)	88.6 (6.7 – 1704.8)	25.5 (3.2 – 89.4)	<0.0001
CXCL8 (IL-8)	217.9 (0.1 – 8917.0)	18.3 (0.1 – 165.9)	<0.0001
CXCL9 (MIG)	875.0 (469.7 – 9511.3)	352.2 (62.8 – 3038.1)	<0.0001
G-CSF	0.1 (0.1 – 258.5)	0.1 (0.1 – 280.7)	0.166

Erişkin KKKK'A'li hastaların ve erişkin sağlıklı kontrol grubu serum kemokin düzeylerinin karşılaştırılması. Değerler Median (Min.-Max.) olarak verilmiştir.

Tablo 2.

Kemokin Düzeyleri (pg/dl)	Çocuk Hastalar (n=32)	Çocuk Kontrol Grubu (n=35)	p Değeri
CCL2 (MCP-1)	576.2 (132.5 – 10963.4)	511.9 (120.8 – 10472.9)	0.273
CCL3 (MIP-1 α)	142.9 (0.1 – 9519.6)	221.9 (0.1 – 4053.6)	0.179
CCL4 (MIP-1 β)	40.3 (0.1 – 2693.6)	7.1 (0.1 – 122.1)	<0.0001
CXCL8 (IL-8)	47.2 (0.1 – 9769.8)	25.9 (8.61 – 2219.5)	0.739
CXCL9 (MIG)	381.2 (49.9 – 2646.9)	356.7 (111.1 – 2318.5)	0.825
G-CSF	0.1 (0.0 – 944.5)	0.1 (0.1 – 257.3)	0.0488

Çocuk KKKK'A'li hastaların ve çocuk sağlıklı kontrol grubu serum kemokin düzeylerinin karşılaştırılması. Değerler Median (Min.-Max.) olarak verilmiştir.

[PS-022][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**Anti-HCV antikor pozitif hastalarda anti nükleer antikor sıklığının değerlendirilmesi**Pınar Etiz¹, Salih Çetiner², Filiz Kibar², Akgün Yaman³¹Çukurova Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Adana²Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana³Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, Adana

Amaç: HCV enfeksiyonu sırasında otoantikor, kriyoglobülin, romatoid faktör üretimi gibi çeşitli immünolojik değişiklikler görülmektedir. HCV ile enfekte hastalarda çeşitli otoantikorlar tespit edildiği için, HCV'nin oldukça otoimmünojenik bir virüs olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda anti-HCV pozitif hastalarda anti nükleer antikor (ANA) sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Ocak 2012-Ocak 2014 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı İmmünoloji birimine Anti HCV antikor araştırılması amacıyla serum örnekleri gönderilen hastalardan anti-HCV pozitif bulunan ve ANA testi çalışılan 76 hasta çalışma kapsamına alınmıştır. Anti-HCV antikorları elektrokemilüminesans (ECLIA) yöntemi ile (Cobas e 601, ROCHE) araştırılmıştır. ANA tayini de mikro ELISA yöntemiyle (Human-IMTEC, Almanya)incelenmiş olup, bütün örnekler 1:100 serum dilisyonlarında üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 76 Anti-HCV pozitif hastanın 2 (% 2,6)'si ANA pozitif, 74 (%97,3)'ü ANA negatif olarak bulunmuştur. Anti-HCV pozitif bulunan ve ANA testi çalışılan 76 hastanın 34'ü erkek, 42'si kadındır. ANA pozitif bulunan 2 hasta kadın olup, kadın hastalıkları ve doğum polikliniği ile dahiliye gastroenteroloji servisinden gönderilmiştir.

Sonuç: HCV enfeksiyonlu hastalarda, organ spesifik olmayan otoantikor varlığının belirlenmesi nedeniyle bu hastalarda immün sistem homeostazisinde değişiklikler olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda, ANA pozitifliği anti-HCV pozitif serum örneklerinde % 2,6 olarak tespit edilmiştir. HCV ile enfekte hastalarda otoantikor yanıtının incelenmesi, HCV ile birlikte bulunan otoimmün hastalıkların veya HCV enfeksiyonuna bağlı gelişen otoantikor yanıtının ayrımını sağlaması ve hastalığın tedavisi açısından da önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Anti HCV, ANA, Otoantikor

[PS-023][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**HBsAg pozitif olgularda delta antikor sıklığı**

Salih Çetiner¹, Pınar Etiz², Filiz Kibar¹, Akgün Yaman³

¹Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana

²Çukurova Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Adana

³Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı, Adana

Amaç: Hepatit delta virus (HDV) enfeksiyonu önemli viral enfeksiyonlar arasında yer almaktadır. Defektif bir RNA virüsü olan HDV sadece hepatit B virüs (HBV) varlığında enfeksiyona yol açabilmektedir. Dünyada yaklaşık 15 milyon kişinin HDV ve HBV ile koenfekte olduğu bilinmektedir. HDV enfeksiyonu ülkemizde de halen önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Bu çalışmada retrospektif olarak HBsAg pozitif olgularda delta antikor sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmada Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı İmmünoloji birimine Ocak-Aralık 2014 tarihleri arasında HBsAg araştırılması amacıyla gönderilen serum örneklerinden HBsAg pozitif olduğu tespit edilen olgularda anti-HDV antikor araştırılmıştır. Çeşitli kliniklerden gönderilen serum örneklerinde HBsAg elektrokemilüminesans (Cobas e 601, ROCHE), anti-HDV antikor ise mikro ELISA (Dia-pro, ITALYA) yöntemi ile araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya 445'i kadın (%41,5), 627'si erkek (%58,4) 1072 HBsAg pozitif olgu alınmıştır. HBsAg pozitif 1072 olgunun 61'inde (%5,6) anti-HDV pozitifliği saptanmıştır. Anti-HDV pozitifliği saptanan 61 kişinin 36'sı erkek, 25'i kadın olup, yaş ortalamaları 47,2±9,9'dur.

Sonuç: HDV enfeksiyonunun varlığının tek başına hastalığın prognozu ve patojenitesi açısından fazla bir önemi bulunmamaktadır. Ancak HBV enfeksiyonu ile birlikte olduğu zaman hastalığın prognozu açısından önem taşımaktadır. Bu nedenle HBV enfeksiyonu olan olguların HDV açısından da izlenmesinin önemli olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Delta Antikor, HBsAg, HDV

[PS-024][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**Sitomegalovirüs Hastalığının Tanısında Antijenemi Testinin Yeri**

Server Yağcı, Çağrı Ergin, İlknur Kaleli

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Denizli

Amaç: Sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonu, bağışıklık sistemi baskılanmış solid organ ve kemik iliği transplantasyon alıcılarında halen önemli bir morbidite nedenidir. Antiviral tedavisi mümkün olan CMV hastalığında vireminin tanısında kanda viral antijenin ve genomun gösterilmesi anlamlıdır. Antijenemi testi, yapısal geç bir protein olan pp65 antijenini lökositlerde saptayan, yarı kantitatif bir testtir. Bu çalışmada çeşitli hasta gruplarından alınan kan örneklerinde CMV antijenemi test sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Mart 2014 –Mart 2015 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen örneklerde CMV pp65 pozitif hücreler 2 x 10⁵ lökositte indirekt immünfloresan yöntemi ile firma önerileri doğrultusunda araştırıldı (Cinakit, Biomerieux- Argene, Fransa).

Bulgular: Toplam 168 hastadan 767 örnek değerlendirildi. Örneklerin en fazla hematoloji/kemik iliği transplantasyon (%40,4) ve organ nakli (%16,9) ünitelerinden gönderilmişti (Tablo 1).

Örneklerden 80 tanesi (%6) lökosit sayısı yetersiz olduğundan ya da lökositler ayrıştırılamadığından değerlendirilemedi. Kalan 687 örneğin 629'u CMV antijeni yönünden negatif olarak saptanırken 58 örnekte pozitif olarak değerlendirildi. Pozitif olarak saptanan 58 örnekte 56'sında saptanan titreler tabloda gösterilmiştir (Tablo 2).

Sonuç: CMV antijenemi testi CMV hastalığının tanısı, vireminin derecesinin saptanması ve tedavinin izleminde kullanılabilmektedir. CMV antijenemi testi, kısa sürede sonuç verebilmesi nedeni ile ve çok özel donanımlı laboratuvar koşulları gerektirmediği için ekonomik açıdan da avantajlı bir testtir.

Anahtar Kelimeler: Sitomegalovirus, antijenemi

CMV antijenemi testi için örnek gönderilen bölümler

HEMATOLOJİ POLİKLİNİĞİ	234	30,6
KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYON	75	9,8
DİĞER SERVİSLER	11	1,4
NEFROLOJİ POLİKLİNİĞİ	301	39,2
DİĞER POLİKLİNİKLER	16	2,1
ORGAN NAKLİ KLİNİĞİ	100	13
ORGAN NAKLİ POLİKLİNİĞİ	30	3,9
TOPLAM	767	100

CMV Atijeni pozitif örneklerdeki titre değerlerinin dağılımı

TİTRE	SAYI	YÜZDE
1/200000	25	44,6
2/200000	7	12,4
3/200000	9	16,1
4/200000	3	5,3
5/200000	1	1,8
6/200000	2	3,6
7/200000	2	3,6
8/200000	1	1,8
10/200000	1	1,8
12/200000	1	1,8
15/200000	1	1,8
18/200000	1	1,8
20/200000	1	1,8
25/200000	1	1,8
Toplam	56	100

[PS-025][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**Kronik bruselloza gidişte rol oynayan immünolojik faktörlerin CD4+ T hücrelerinde mRNA array ile araştırılması**

Ferah Budak¹, Haldun Bal¹, Gülçin Tezcan², Emin Halis Akalın³, Güher Göral⁴, Abdullah Yılmaz⁵, Haluk Barbaros Oral¹

¹Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji AD, Bursa

²Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Bursa

³Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD, Bursa

⁴Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Bursa

⁵İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul

Amaç: Bruselloz, gelişmekte olan ülkelerde endemik olarak görülen zoonozdur. Akut brusellozda çoğunlukla ateş, halsizlik, iştahsızlık, baş ağrısı, sırt ağrısı, kilo kaybı, miyalji ve artralji görülür. Akut faz ya iyileşir ya da kronik yorgunluk sendromuna benzeyen subfebril ateş, terleme, kilo kaybı ve lokalize enfeksiyonlar ile tanımlanan kronik forma dönüşür. Erken tanı ve tedaviye rağmen hastaların yaklaşık %10-30'unda enfeksiyon kronikleşir. Brucella virülans faktörleri ve konağın bu etkene yanıtı hakkında bilgilerimizin hızla artmasına rağmen, immün sistemden nasıl gizli kalabildiği ve kronik hastalığa sebep olduğu halen bilinmemektedir. Çalışmamızın amacı, bu sorunun cevabında rol oynayan immünolojik faktörlerin neler olabileceğini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda akut ve kronik bruselloz tanısı alan hastalardan ve sağlıklı kontrollerden alınan periferik kandan flow sitometri ile CD4+ T hücreleri ayrılarak mRNA microarray ile yaklaşık 30.000 gen taranmıştır. Kronik ve akut enfeksiyonlarda öne çıkan genler belirlenmiştir. **Bulgular:** CD4+ T hücrelerinde kronik/kontrol ve akut/kontrol karşılaştırılmasında yalnızca kronik vakalarda eksprese edilen akut vakalarda eksprese edilmeyen 19 adet gen tespit edilmiş olup, bunlar arasında immünolojik olarak anlamlı genler olan HIPK2 ve LIAS'ın artarak, LGALS7 ve ADAM12'nin ise azalarak eksprese edildiği (p< 0.05; kat değişim > 2) görülmüştür. Bu genlerin kronik vakalar için belirteç olma potansiyeli bulunmaktadır.

Sonuç: Bu çalışma insan CD4+ T hücrelerinin kullanıldığı ve kronikleşmeye cevap arıyan ilk mRNA ekspresyon çalışması olma özelliğindedir. Kronik ve akut enfeksiyonlarda öne çıkan genler belirlenerek kronik enfeksiyona dönüşümde rol oynayan immünolojik ve genetik faktörlerin rolü belirlenmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, CD4+ T hücreleri, kronik enfeksiyon

"Bu proje TÜBİTAK (Proje no:111S182) tarafından desteklenmiştir."

[PS-026][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**Brusellozda, kronikleşmeye gidişte rol oynayan immünolojik faktörlerin CD8+ T hücrelerinde mRNA array ile araştırılması**

Ferah Budak¹, Haldun Bal¹, Gülçin Tezcan², Emin Halis Akalın³, Güher Göröl⁴, Günnur Deniz⁵, Haluk Barbaros Oral¹

¹Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji AD, Bursa

²Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Bursa

³Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD, Bursa

⁴Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Bursa

⁵İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul

Amaç: Bruselloz, gelişmekte olan ülkelerde endemik olarak görülen zoonozdur. Akut brusellozda çoğunlukla ateş, halsizlik, iştahsızlık, baş ağrısı, sırt ağrısı, kilo kaybı, miyalji ve artralji görülür. Akut faz ya iyileşir ya da kronik yorgunluk sendromuna benzeyen subfebril ateş, terleme, kilo kaybı ve lokalize enfeksiyonlar ile tanımlanan kronik forma dönüşür. Erken tanı ve tedaviye rağmen hastaların yaklaşık %10-30'unda enfeksiyon kronikleşir. Brucella virülans faktörleri ve konağın bu etkene yanıtı hakkında bilgilerimizin hızla artmasına rağmen, immün sistemden nasıl gizli kalabildiği ve kronik hastalığa sebep olduğu halen bilinmemektedir. Çalışmamızın amacı, bu sorunun cevabında rol oynayan immünolojik faktörlerin neler olabileceğini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda akut ve kronik bruselloz tanısı alan hastalardan ve sağlıklı kontrollerden alınan periferik kandan flow sitometri ile CD8+ T hücreleri ayrılarak mRNA microarray ile yaklaşık 30.000 genin ekspresyonu taranmıştır. Kronik ve akut enfeksiyonlarda ekspresyonu anlamlı şekilde değişen genler belirlenmiştir.

Bulgular: CD8+ T hücrelerinde kronik/kontrol ve akut/kontrol karşılaştırılmasında her iki grupta anlamlı değişim saptanan ortak genlerin kat değişimleri arasındaki farklılık değerlendirilmiştir. CD8+ T hücrelerinde bu genlerden 41 tanesinin kronik/kontrol ile akut/kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ekspresyon gösterdiği belirlenmiştir. Bu genler içerisinde immünolojik açıdan anlamlı olan genler; CD101, CST5, LILRB3, S100A12 ve SERPINA1'in kronik/kontrol karşılaştırılmasında akut/kontrol karşılaştırılmasına göre artmış olduğu (p< 0.05 veya kat değişim > 2), DEFA3, NLRP3, PLAUR ve SH2D1B'de azalmış olduğu (p< 0.05 veya kat değişim > 2) görülmüştür. Ayrıca HECTD2, CORO1B, SPRY2, HLA-DQA1, IER3, SPATCIL ve GRASP genlerinin, kontrol grubu ve akut vakalardan farklı olarak kronik vakalarda ekspresyon seviyelerinin anlamlı şekilde değiştiği belirlenmiştir (p< 0.05). Bu nedenle bu genler kronik vakalar için belirteç olma potansiyeli taşımaktadır.

Sonuç: Bu çalışma insan CD8+ T hücrelerinin kullanıldığı ve kronikleşmeye cevap arayan ilk mRNA ekspresyon çalışması olma özelliğindedir. Kronik ve akut enfeksiyonlarda öne çıkan genler belirlenerek kronik enfeksiyona dönüşümde rol oynayan immünolojik ve genetik faktörlerin rolü belirlenmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bruselloz, CD8+ T hücreleri, kronik enfeksiyon

“Bu proje UÜ-BAP (Proje no: UAP(T)_2011/15 tarafından desteklenmiştir.”

[PS-027][Enfeksiyon immünolojisi ve bağışıklama]**Nükleik Asit Temelli TLR Agonistlerinin Salmonella Aşı Formülasyonlarında Adjuvant Olarak Kullanımı**

Kübra Almacıoğlu, Fuat Cem Yağcı, İhsan Gürsel
Thorlab, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilkent Üniversitesi, Ankara

Patojenik Salmonella suşları insan ve birçok memeli türünde hastalık etkenidir. Salmonella serotipleri gastroenteritten, tifo, bakteremi, fokal enfeksiyonlar ve yaşam boyu taşıyıcı duruma kadar geniş bir hastalık spektrumuna yol açabilmektedir. Tifoid olmayan Salmonella enfeksiyonu, günümüzde birçok ülkede gıda kaynaklı enfeksiyonların başında gelmektedir. Enfeksiyon dozu düşük olan Salmonella'nın az miktarda dahi bulaşması çeşitli klinik belirtiler göstermesine, septisemi ve ölümlerle sonuçlanabilmesine yol açmaktadır. İnsanlarda Salmonella nedenli enfeksiyonlardaki artış ve izole edilen etkenlerdeki çoklu antibiyotik dirençlilikleri Salmonella enfeksiyonlarının insan sağlığı açısından önemini artırmaktadır. Aşılama, Salmonella ile mücadelede en etkin yöntemlerden biridir. Günümüzde Salmonella enfeksiyonlarına karşı inaktive ve atenüe canlı aşılar kullanılmaktadır. Fakat bu aşuların etkinliklerinin yeterli düzeyde olmaması ve özellikle canlı aşı kullanımının tehlikeleri, Salmonella ile mücadelede büyük problemler yaratmaktadır. Bu bağlamda, inaktive Salmonella aşularının potensini arttırabilecek yeni nesil adjuvantların kullanımı oldukça önem arz etmektedir. Yapılan klinik öncesi ve klinik çalışmalar, bakteri genomundan esinlenerek sentezlenen metillenmiş Sitozin-Guanin motifleri içeren kısa, tek sarmallı DNA molekülleri olan CpG ODN'lerin ve virüs genomundan esinlenerek sentezlenen kısa tek sarmallı RNA molekülleri olan R848'in birçok enfeksiyöz hastalık için umut vadeden bir adjuvant adayı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu moleküllerin aşı formülasyonlarında adjuvant olarak kullanımının şarbon, leishmania, influenza, hepatit B gibi birçok hastalığa karşı oluşan sıvısal ve hücresele immün yanıtı arttırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular ışığında çalışmamızda CpG ODN ve R848 içeren ve içermeyen formülasyonlarla ülkemizde en sık görülen Salmonella serotipleri olan S. enteritidis, S. typhimurium S. infantis ve S. virchow suşlarına ait hücre ekstraktlarından oluşan formülasyonların etkinliklerinin in vivo fare deneyleri ile tespiti amaçlanmıştır. Formülasyonlar, farelere derialtı enjeksiyonla üç hafta ara ile 2 kez uygulanarak Salmonella aşısına karşı immün tepkime oluşturulmuştur. İmmün hayvanların aşılamadan dört ay sonrasında elde edilen serumlarından, anti-Salmonella antikör titreleri (total IgG, IgG1 ve IgG2a) ve serum IFN γ seviyeleri ELISA yöntemiyle tayin edilmiştir. Sonuçlarımız, CpG ODN ve R848 içeren formülasyonlarla immünize edilen farelerin serum örneklerindeki i) anti-salmonella total IgG ve IgG2a seviyelerinin ii) IgG2a:IgG1 oranlarının, iii) IFN γ seviyelerinin aşısız deneklere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Özetle, nükleik asit temelli adjuvantları içeren formülasyonların Salmonella'ya karşı daha güçlü ve daha uzun süreli sıvısal ve hücresele immün yanıt oluşturabildiğini ve oluşan immünitenin etkili aşı formülasyonlarından beklendiği gibi Th1 karakterinde olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Salmonella, aşı, adjuvant

PS-028][İmmün düzenlenme]**Eksozomların İmmün Hücrelerince İnternalizasyon Mekanizmaları**

Elif Senem Kayalı, Defne Bayık, Begum Yıldız, Tamer Kahraman, Ihsan Gursel
Thorlab, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilkent Üniversitesi, Ankara.

Eksozomlar hücrelerden salınan nanokeseciklerdir. İmmün hücreler de dahil, alındıkları hedef hücrede fizyolojik değişikliğe neden olduklarından hücreler arası iletişimde etkin rolleri bulunmaktadır. Bu çalışmada, immünmodülatör etkilerini çalıştığımız eksozomların hücre içine alım kinetiklerini ve alımda rol oynayan olası mekanizmaları araştırdık. Değişik hücre (RAW264, EG7.7, NIH3T3; makrofaj, T-hücre ve fibroblast tipi) hatlarından izole edilen eksozomlar önce lipofilik boyalarla (DiI, SpDiOC, CM143 gibi) işaretlenerek makrofaj hücreleriyle inkübe ederek hücre içine alım kinetikleri belirledik. Elde ettiğimiz veriler, eksozomların, Hücre:Eksozom oranına ve inkübasyon süresine bağlı olarak immün hücrelerince etkin bir şekilde alındıklarını göstermiştir. 16 saatlik inkübasyon sonucunda bu keseciklerin neredeyse tüm hücrelerce alındığını belirledik. Daha sonra sodyum azid veya ammonyum klorit gibi değişik endositoz inhibitörlerinin varlığında ya da scavenger receptör antagonistlerinden fucoidan veya dekstran sülfat varlığında hücre yüzeyine bağlanma ve hücre içine alım kinetiğindeki değişiklikleri akış sitometrisi ve konfokal mikroskopisi teknikleriyle belirlemeye çalıştık. Bazı deneylerde HEK hücreleri YFP, RFP, veya GFP ifade eden RAB5, RAB9, RAB11, ya da CD63 plazmitleriyle transfekte edilerek inhibitörlerin varlığında ya da yokluğunda eksozomların hücre içi alım kinetiklerindeki olası etkiler de araştırılmıştır. Verilerimiz, değişik hücrelerden salınan eksozomların makrofajlara değişik kinetikle bağlandığını göstermiştir. Chlatrin-coated pitlerin oluşum düzeyiyle internalizasyon veriminin korele olduğu gözlemlenmiştir. Fukoidan veya dekstran ile ön muamele edilen makrofajlara yaklaşık %50 civarında daha az eksozom girişi gerçekleşmiştir. Konfokal verilerimiz eksozomların internalizasyonundan sonra CD63 ile kolokalize olduklarını önermektedir. Hücre içine alımın ilk evrelerinde RAB proteinlerinin etkisinin olmadığı bulunmuştur. Bu çalışma makrofajların eksozomları internalize etme mekanizmasına ait iki yeni model önermektedir. Aşı taşıyıcı, ya da anti-kanser terapide kullanım alanları bulunan eksozomların hücre içine alımı ve akümülyasyon kinetiğinin anlaşılması bu nanokeseciklerin etkin kullanımına katkı sağlayacak düzeydedir.

Anahtar Kelimeler: eksozom, internalizasyon, immunité

[PS-029][İmmün düzenlenme]**Vitamin D Replasman Tedavisinin Endotelial Progenitor Hücre Sayısı Üzerine Etkisi**

Murat Kadri Gürses¹, Hande Canpınar², Duygu Koçyiğit¹, Muhammed Ulvi Yalçın¹, Alper Gürlek³, Lale Tokgözoğlu¹, Dicle Güç²

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı

²Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Bilim Dalı

Amaç:

Bu çalışmada, ülkemizde de sıklıkla görülen vitamin D eksikliğinin ve verilen uygun replasman tedavisinin endotelial progenitor hücre sayısı üzerine olan etkisinin gösterilmesi hedeflenmiştir.

Gereç-Yöntem:

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Bilim Dalı polikliniğinde 2011 yılında yayınlanan Endocrine Society kılavuzundaki tanımlara uygun olarak vitamin D eksikliği tanısı konulan ve vitamin D replasmanı yapılması planlanan ve ek hastalık tanısı olmayan premenopozal kadın hastalar alınmıştır. CD34+VEGFR2+ ve CD133+VEGFR2+ endotelial progenitor hücre sayısı Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında akım sitometri yöntemi ile belirlenmiştir. Ölçümler, bazal ölçümlerden 6 ay sonra tekrarlanmıştır.

Bulgular:

Çalışmaya vitamin D eksikliği tanısı almış 31 premenopozal kadın (33.1± 5.7 yaş) dahil edilmiştir. Kılavuzlara uygun biçimde gerçekleştirilen vitamin D replasmanı sonrası vitamin D düzeyi istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmıştır (10.6± 4.7 vs. 31.4± 8.6ng/ml, p<0.001). Altı aylık vitamin D replasmanı sonrasında, hem CD34+VEGFR2+ (26.2± 20.5 vs. 40.5± 19.2/μL, p<0.001); hem de CD133+VEGFR2+ (27.4± 18.5 vs. 33.9± 18.2/μL, p=0.025) endotelial progenitor hücre sayılarının anlamlı şekilde yükseldiği belirlenmiştir.

Sonuç:

Vitamin D eksikliğine yönelik uygun replasman tedavisinin, endotelial progenitor hücre sayısında artış ile sonuçlandığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Vitamin D, Endotelial Progenitor

[PS-030][İmmün düzenlenme]**Vitamin D Replasman Tedavisinin Antiinflamatuvar Sitokin Düzeylerine Etkisi**

Murat Kadri Gürses¹, Hande Canpınar², Duygu Koçyiğit¹, Muhammed Ulvi Yalçın¹, Alper Gürlek³, Lale Tokgözoğlu¹, Dicle Güç²

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı

²Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Bilim Dalı

Amaç:

Son yıllarda yapılan çalışmalar, kalsiyum metabolizması ve kemik mineralizasyonundaki rolü bilinen vitamin D'nin, immün sistem fonksiyonlarında da yeri olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada, ülkemizde de sıklıkla görülen vitamin D eksikliğinin ve verilen uygun replasman tedavisinin IL- 10, IL- 13 ve IL-17 düzeyi üzerine olan etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Gereç-Yöntem:

Çalışmaya Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Bilim Dalı polikliniğinde 2011 yılında yayınlanan Endocrine Society kılavuzundaki tanımlara uygun olarak vitamin D eksikliği tanısı konulan ve vitamin D replasmanı yapılması planlanan ve ek hastalık tanısı olmayan premenopozal kadın hastalar alınmıştır. IL- 10, IL- 13 ve IL-17 düzeyleri Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. Ölçümler, bazal ölçümlerden 6 ay sonra tekrarlanmıştır.

Bulgular:

Çalışmaya vitamin D eksikliği tanısı almış 31 premenopozal kadın (33.1± 5.7 yaş) dahil edilmiştir. Kılavuzlara uygun biçimde gerçekleştirilen vitamin D replasmanı sonrası 25- hidroksivitamin D (25-OH vitD) düzeyi istatistiksel olarak anlamlı biçimde artmıştır (10.6± 4.7vs. 31.4± 8.6ng/ml, p<0.001). Replasman ile IL- 10 (11.0± 4.2 vs. 14.3± 3.2 pg/ml, p<0.001) ve IL- 13 [1.40 (0.08-3.45) vs. 1.55 (0.30-3.84)pg/ml, p=0.022] düzeyleri de istatistiksel olarak anlamlı biçimde artış göstermiştir. IL- 10 düzeyindeki değişim; replasman ile 25-OH vitD (r=0.688, p<0.001) ve IL- 13 (r=0.502, p=0.004) düzeyleri ve akım aracılı dilatasyonda (FMD) (r=0.645, p<0.001) meydana gelen değişim ile korele bulunmuştur. IL- 13 düzeyinde ortaya çıkan değişim ise; replasman ile, 25-OH vitD (r=0.525, p=0.002), IL- 10 (r=0.502, p=0.004), IL- 17 (r=-0.479, p=0.006) düzeyleri ve FMD'de (r=0.485, p=0.006) meydana gelen değişim ile korele bulunmuştur. Replasman ile IL- 17 düzeyi, istatistiksel olarak anlamlı biçimde azalma göstermiştir (11.76± 4.99 vs. 6.95± 3.56 pg/ml, p<0.001).

Sonuç:

vitamin D eksikliğine yönelik uygun replasman tedavisinin, IL- 10 ve IL- 13 düzeylerinde artış ile sonuçlandığını ve bu artışın 25-OH vitD düzeyi ile korele olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, vitamin D eksikliğine yönelik uygun replasman tedavisinin, IL- 17 düzeyinde azalma ile sonuçlandığını ve IL-17 düzeyindeki azalmanın 25-OH vitD düzeyi ile negative ilişkili olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Vitamin D, antiinflamatuvar sitokin

[PS-031][İmmün düzenlenme]**CXCL kemokinlerden türevlenen küçük peptit moleküllerinin immün düzenleyici etkileri**

Diğdem Yöyen Ermiş, Pınar Karaşar, Güneş Esendağlı
Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

Genel bilgi ve Amaç: Küçük peptit molekülleri birçok fizyolojik süreç ve hücreler arası iletişimin düzenlenmesinde görev alır. CXCL kemokinleri immün hücreler ve hasarlı dokular tarafından üretilen proteolitik enzimler ile işlenerek biyoaktif formlarına dönüştürülür. Bu süreç boyunca birçok küçük peptit molekülü açığa çıkar. Bu çalışmada, CXCL kemokinlerden türevlenen kısa peptitler in silico biyoinformatik yaklaşımla belirlenmesi belirlenmiş, bu amaçla çeşitli kriterler oluşturulmuş ve ilgili peptitlerin hücreler ile iyi düzeyde etkileşmesini sağlamak üzere seçilmiştir. Bu çalışmanın amacı, CXCL kemokin moleküllerinden türev alan kısa peptit dizilerinin immün yanıtları modüle edip etmediği yönünde bilgiler elde etmektir.

Yöntem: CXCL kemokinlere ait protein dizileri kullanılarak endopeptidaz kesim bölgeleri, uzunluk, net yük, hidrofobik amino asit oranı (polar ortamda çözünürlük) ve amfipatiklik özelliklerini göz önünde bulunduran ve özgün ögeler barındıran bir algoritma kullanılmıştır. Tasarlanan ve sentezlenen küçük peptit dizileri HPLC ve kütle spektrofotometri analizleri ile doğrulandı. Peptitlerin olası toksisitesinin belirlenmesi amacıyla insan periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) ile farklı konsantrasyonlarda ve zaman aralıklarında MTT analizleri gerçekleştirildi. Ayrıca, bu peptitler varlığında PKMH'ler farklı koşullarda (aCD3/aCD28; LPS; allojenik monositik hücreler/aCD3) uyarıldı. Aktivasyon belirteçlerinin (CD80, CD86, CD154, CD25, CD69, HLA-DR) düzeyi ve hücre çoğalması (CFSE analizi) akım sitometri ile değerlendirildi.

Bulgular-Sonuç: Yüksek hidrofobisite ve stabilite sorunları nedenleriyle tasarlanan 22 küçük peptit dizisinden 15 tanesi (HPLC ile yapılan kütle spektrofotometri analizleri sonucunda %86.3-93.6 saflıkta) sentezletildi. PKMH'ler ve peptidlerin 96 saat ko-kültürleri sonucunda sadece belirlenmiş en yüksek konsantrasyonda (250 uM) hafif bir toksisite olduğu (canlılık %72-94) görüldü. Sentezlenen peptitlerden (25 uM) bazılarının LPS, anti-CD3 ve allojenik miyeloid hücreler veya anti-CD28 ile uyarılmış PKMH'ler üzerinde immün modülatör etkileri görüldü. Özellikle, CD86, CD154, HLA-DR ve/veya CD69 seviyeleri Pep8, Pep9, Pep17-2, Pep1+ELR, Pep8+ELR ve Pep14 olarak kodlanmış peptitler ile modüle (artış veya azalış yönünde) oldu. Bu peptidlerin hücre proliferasyonu üzerine etkileri de aktivasyon belirteçleri ile korelasyon gösterdi. İlk sonuçlarımız CXCL kemokinlerinden kaynaklanan kısa peptit dizilerinin immün yanıtları etkileme potansiyellerinin olduğunu gösterdi.

*Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir (Proje no: 113Z061).

Anahtar Kelimeler: İmmün düzenlenme, kemokin, peptit

[PS-032][İmmün düzenlenme]

Akut Miyeloid Lösemi Hücrelerinde Miyeloid-Kökenli Baskılayıcı Hücre Karakterlerinin Araştırılması

Diğdem Yöyen Ermiş, Pınar Karaşar, Gürcan Tunalı, Güneş Esendağlı
Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

Amaç: Kronik inflamatuvar hastalıklarda tam olarak olgunlaşmamış granülositik veya monositik hücrelerin kemik iliğinden çıkarak dolaşıma geçtiği gösterilmiştir. Bu miyeloid-kökenli hücrelerin immün yanıtları baskılama kapasitesi olduğu bildirilmektedir. Miyeloid-kökenli baskılayıcı hücreler (MKBH) olarak isimlendirilen bu hücrelerin insan akut miyeloid lösemi hücreleri ile ortak yüzey belirteçlerine (CD33, CD13, CD14, CD15, vb.) sahip olduğu görülmektedir. MKBH'ler reaktif oksijen türleri (ROS), prostaglandin E2 (PGE2), nitrik oksit (NO) üretimi, arginin (arginaz) ve triptofan (IDO) tüketimi ile özellikle T lenfositler üzerinde genel bir baskılayıcılık sağlar. Bu çalışmanın amacı akut miyeloid lösemi hücrelerini farklı olgunlaşma basamaklarına sürükleyerek MKBH karakterlerinin kazanılıp kazanılmadığını belirlemektir.

Gereç-Yöntem: Granülositik veya monositik-benzeri miyeloid hücreleri modelleyebilmek için, HL-60 miyeloid lösemi hücre hattı all-trans retinoik asit (ATRA) ve 1 α ,25-dihidroksivitamin D3 (D3) ile 24, 48 ve 96 saat boyunca uyarıldı. Ayrıca, granülositik veya monositik özellikler kazandırılmış bu hücreler 48 saat boyunca LPS veya IFN- γ ile uyarılarak inflamatuvar uyarılara verdikleri yanıtlar değerlendirildi. Tüm bu uyarım koşulları sonrasında hücre morfolojisi (Giemsa boyama), hücre yoğunluğu (Percoll yoğunluk analizi) ve CD11b, CD11c, CD14, CD16, CD15 CD66b, TLR4, CD62L, CD40, TRAIL, CD70, HLA-DR belirteçlerindeki değişim (akım sitometri) değerlendirildi. Bu hücrelerin CD4+ veya CD8+ T hücre proliferasyonuna etkisi (CFSE analizi), ROS üretimi (H2DCFDA boyama) ve NO üretimi (Griess reaksiyonu) araştırıldı. Ek olarak, MKBH-ilişkili genlerin (NOX2, MPO, COX2, IDO1, NOS2, ARG1, ARG2) ekspresyonu (RT-PCR) ve bu hücrelere özgül transkripsiyon faktörü STAT3'ün varlığı ve fosforilasyon düzeyi (Western-Blot) değerlendirildi.

Bulgular: ATRA ve D3 inkübasyon ile AML hücrelerinin yoğunluğunda artış ve olgun hücre morfolojisi gözlemlendi. CD11b ve CD11c bu hücrelerin farklılaştığını gösteren en önemli belirteçler iken, D3 uyarımı sonrasında bu belirteçlere ek olarak CD14 pozitifliğinde de artışa neden oldu. ATRA ile granülositik, D3 ile monositik seri yönünde farklılaşmanın uyarıldığı belirlendi. STAT3 yolağı da bu hücrelerin ATRA ve D3 ile inkübasyonunu takiben daha belirgin hale geçmişti. Gerek ATRA gerekse D3 ile muamele edilen hücrelerde NO üretimi ve NOS2 mRNA düzeylerinde değişiklik görülmedi. ROS üretimi, NOX2 ve MPO mRNA ekspresyonu ise ATRA varlığında büyütülen hücrelerde anlamlı düzeyde arttı. ATRA veya D3 ile farklılaştırılan hücrelerin IFN- γ uyarımı sonrasında CD4+ veya CD8+ hücrelerin proliferasyonu daha az uyardığı gösterildi.

Sonuç: Tüm bu sonuçlar doğrultusunda özellikle granülositik özellikteki miyeloid lösemi ve MKBH'ler arasında benzerliklerin olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular AML biyolojisinin ve immün baskılama mekanizmalarının anlaşılmasında faydalı olabilecektir.

Anahtar Kelimeler: miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler, miyeloid lösemi, immün baskılama

[PS-033][İmmün düzenlenme]**Çocuklarda 25-hidroksi D Vitamin Serum Düzeylerinin İncelenmesi - Çift Merkez Çalışması**Murat Koşer¹, Nilgün Işıksacan²¹Mehmet Akif Ersoy Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, İstanbul²Bakırköy Dr.Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, İstanbul

Amaç: 1,25 dihidroksi D vitamininin tip 1 T yardımcı hücre sitokinlerinin (INF-gamma vs.) uyarılmasını inhibe ettiği ve tip 2 T yardımcı hücre cevabını tetiklediği gösterilmiştir.

Bu etki, B hücre proliferasyonunda, plasma hücresine farklılaşmada ve IgG salınımında azalmaya neden olmaktadır. Dolayısı ile D vitamini eksikliği humoral immüniteyi etkileyerek enfeksiyona meyli arttırmaktadır.

Bu çalışmada İstanbul'da Küçükçekmece ve Bakırköy bölgelerinde bulunan ve birbirlerine yerleşim olarak yakın olan iki hastaneye başvuran sağlıklı çocukların D vitamini düzeylerinin retrospektif olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne (BEAH) ve Mehmet Akif Ersoy Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne (MAEH) başvuran her biri 180'er toplam 360 çocuk çalışmaya dahil edilmiştir. 25 hidroksi D-vitamini ölçümleri Cobas e411 otoanalizörü kullanılarak (Roche, ABD) kemilüminesans metoduyla ile yapılmıştır.

İstatiksel analiz

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı ile Mann Whitney U, Pearson Ki-Kare, Spearman's Korelasyon analizi yapılmıştır. $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Bulgular: Çalışma, 2014 yılının haziran ile aralık ayları arasında hastanelere başvuran ve 360 çocuğa ait verilerin derlenmesi ile yapılmıştır. Çocukların %61.9'u (n=223) kız, %38.1'i (n=137) ise erkektir. Çocukların yaş aralığı 0 ile 18 yıl arasında değişmekte olup, ortalama 8.77 ± 6.19 yıldır. (Medyan= 9 yıl)

D-vitamini düzeyleri ise 3 ile 70 ng/ml arasında değişmekte olup, ortalama 29.25 ± 18.07 ng/ml'dir.

Hastanelere göre dağılım incelendiğinde çocukların yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p > 0.05$).

BEAH'ndeki çocukların D-vitamini düzeyleri, MAEH'ndeki çocuklardan anlamlı düzeyde düşük olduğu görülmüştür. ($p < 0.01$).

BEAH'ndeki çocukların D-vitamini düzeyleri cinsiyetlere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir, kız çocukların D-vitamini düzeyleri erkeklerden anlamlı düzeyde düşüktür ($p < 0.01$).

MAEH'ndeki çocukların ise D-vitamini düzeyleri cinsiyetlere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p > 0.05$).

BEAH'ndeki çalışmaya katılan tüm çocukların yaşları arttıkça D-vitamini düzeylerinin azaldığı ve arada istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($r: -0.589$; $p < 0.01$). Kız çocuklarda bu korelasyon $r: -0.568$; $p < 0.01$ iken erkek çocuklarda $r: -0.435$; $p < 0.01$ şeklindedir.

MAEH'nde de çalışmaya katılan tüm çocukların yaşları arttıkça D-vitamini düzeylerinin azaldığı ve arada istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($r: -0.424$; $p < 0.01$). Kız çocuklarda bu korelasyon $r: -0.405$; $p < 0.01$ iken erkek çocuklarda $r: -0.484$; $p < 0.01$ şeklindedir.

Sonuç: Son yıllarda yapılan çalışmalarda D vitamininin eksikliğini enfeksiyonlara meyili arttırdığı ve immün yanıtı baskılayabildiği gösterilmiştir. Sonuçlarımız hayatlarının ilk yıllarında çocukların D vitamini düzeylerinin ilerleyen yaşlarla kıyaslandığında daha yüksek olduğunu göstermektedir, bu da çocukların yaş ilerledikçe D vitamin açısından daha yakından takip edilmesinin yararlı olacağını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: 25 hidroksi D vitamini, immünite

[PS-034][İmmün düzenlenme]**Kommensal Bakteri Kökenli Membran Keseciklerinin İmmünomodülatör Etkileri**

Esin Alpdündar¹, Soner Yıldız¹, Merve Aydın², Can K. Akçalı³, İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler, Ankara

²Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara

³Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Ankara

Hücre-dışı membran veziküllerinin salgılanması arkea, bakteri ve ökaryotların ortak özelliğidir. Gram negatif patojenik bakterilerin ürettiği membran veziküllerinin patogenez üzerindeki etkileri kapsamlı bir şekilde çalışılmış olmasına rağmen kommensal bakterilerin bu vezikülleri salgılayıp salgılamadıkları henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada, mikrobiyotanın immün sistem üzerindeki düzenleyici etkisini göz önünde bulundurarak kommensal kökenli bakterilerin ürettiği veziküllerin immünomodülatör özelliklerini belirlemeyi amaçladık. Üç farklı insan kommensal laktobasil türünden izole edilen vezikülleri E.coli'den izole edilen veziküllerle karşılaştırarak etkilerini değerlendirdik. Atomik kuvvet mikroskopisi ve zeta potansiyel ölçümleri kommensal bakterilerden izole edilmiş veziküllerin yaklaşık 250 nm çapında ve negatif yüklü (-40 mV) olduklarını gösterdi. Veziküllerin in vivo etkileri fare immünizasyon çalışmalarında incelendi. Bu amaçla, kommensal veziküllerin OVA immünizasyon modelinde anti-OVA antikor cevabını baskıladığı ve bunun sonucunda OVA ifade eden EG7 tümör hücresi verildiğinde tümör oluşumunu şiddetlendirdiği gözlemlendi. Bu sonuçlar, kommensal kökenli membran veziküllerinin Th-1 tipi enflamatuvar yanıtı baskıladığını düşündürmektedir. Buna karşılık membran veziküllerine cyclic-di-GMP enkapsüle edildiğinde cyclic-di-GMP'nin uyarıcı etkisinin arttığı, veziküllerin immün baskılayıcı potansiyelinin kaybolduğu gözlemlendi. Aynı şekilde, kommensal veziküllerin etkileri farklı bir model olan karaciğer fibroz modelinde incelendi. Model dört hafta süren kalsiyum tetraklorür enjeksiyonları ile oluşturulduktan hemen sonra bir hafta boyunca gün aşırı üçer enjeksiyon şeklinde membran vezikülleri verildi. Deneyin sonucunda kontrol grubuyla kıyaslandığında membran veziküllerinin karaciğerdeki fibrozu azalttığı gözlemlendi. Bu sonuçlar, kommensal bakteriden salgılanan veziküllerin güçlü immünomodülatör etkilerinin olduğunu ve anti-enflamatuvar ajan olarak kullanılma potansiyelleri olduğunu göstermektedir. Bu önbulguların ışığında yara iyileşme modelinde de membran veziküllerin pozitif etkileri olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: immünomodülatör, kommensal bakteri, membran veziküller

[PS-035][İmmün düzenlenme]

İmmün Baskılayıcı Sentetik Oligodeoksinükleotid A151'in Kontrolsüz İnflamazom Aktivasyonundan Kaynaklı Hastalıklarda Terapötik Ajan Olarak Etkileri

Naz Sürücü¹, Ersin Gül¹, İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler, Ankara

²Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara

Sitozolik multi-protein oligomeri olan inflamazomlar patojen bağlantılı moleküler yapılar ve patojen bağlantılı olmayan hücresel tehlike oluşturabilecek moleküler yapılar tarafından tetiklenebilmektedir. İnflamazom oluşumu sonucunda pasif prokaspaz-1 molekülü işlenerek aktif kaspaz-1 molekülüne dönüştürülür ve bu da proenflamatuar pro-IL-1b ve pro-IL-18 öncülerinin işlenerek aktif IL-1 β ile IL-18 sitokinleri olarak salımına ve piroptoz diye adlandırılan kaspaz-1 bağlantılı programlı hücre ölümüne sebep olur. İnflamazomlar bu etkenlerle organizmada enflamasyonu tetikledikleri ve sürekliliğini sağladıkları için bağışıklık sisteminde çok önemli role sahiptir. Ancak inflamazomların kontrolsüz aktivasyonu Alzheimer, tip-2 diabet, gut hastalığı, obezite ve ateroskleroz gibi bir çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir ve böylece bu yolların baskılanması terapötik açıdan büyük önem kazanmıştır. TTAGGG motifleri içeren A151 sentetik oligodeoksinükleotidin (ODN) dsDNA gibi immün uyaranlarıyla rekabet ederek sitozolik algılama yollarının aktivasyonunu engellediği bilinmektedir. Bu çalışmada A151 ODN kullanılarak, THP-1 hücre hattında inflamazom kompleksi oluşumunun belli oranlarda baskılanarak IL-1b salımını azalttığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar A151 ODN'in kontrolsüz inflamazom aktivasyonlarına karşılık potansiyel terapötik ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: A151, inflamazom, kaspaz-1

[PS-036][İmmün düzenlenme]**Kommensal ve Patojen DNA' larının Bağışıklık Sistemi Üzerindeki İmmünomodulator Etkisi**

Sinem Günalp, Bilgi Güngör, Esin Alpdündar, Soner Yıldız, Ersin Gül, Mayda Gürsel
Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler, Ankara

Bakteri DNA'ları buldukları türlere göre farklı miktarda immün baskılayıcı, G kuadrupleks, ve immün stimulan CpG motifleri içerirler. Kommensal bakterilerin genellikle immün baskılayıcı motif miktarı patojenlere kıyasla daha fazladır ve bundan dolayı immün hücrelerde farklı etkiler yaratabilirler. CpG zengini sekansları tanıyan endozomal patojen tanıma reseptörü TLR9 dışında sitozolde bulunan DAI, IFI16, cGAS, DDX41, DHX9-36 gibi sensörlerin uyarılması tip I IFN ve inflammatuar sitokin üretimine yol açarken AIM 2 kaynaklı inflamazoma oluşumuna da yol açabilmektedirler. Bu çalışmada bağırsaktan izole edilmiş *L. salivarius*, *L. fermentum*, *E. faecium* adlı kommensal suşlardan ve patojen olan *Streptococcus pyogenes*, *L.monocytogenes* ve *E. Faecium* suşlarından elde edilen DNA'ların periferik kan hücrelerinden, fare dalak hücrelerinden, THP1, B16-STING ve B16-STING yoksunu hücre hatlarında farklı etkiler gösterdiği bulunmuştur. İnsan Periferik kan hücrelerinde kommensal DNA'lar patojenlerden farklı olarak IFN γ ve IP-10 üretimine yol açarken patojen kökenli DNA'lar inflammatuar sitokin olan TNF α , IL-6 ve IL1-B üretimini tetiklemiştir. Bunun yanısıra, patojenler PMA ile farklılaştırılmış THP-1 hücrelerinden kommensallara kıyasla daha fazla inflammatuar oluşumuna yol açmıştır. Benzer şekilde, fare dalakta hücreleri, patojen kaynaklı DNA'lara komensallara kıyasla daha fazla TNF-a, IL-6 ve IFN- γ sitokinleri salgılayarak yanıt vermiştir. B16 (fare melanoma) hücre hattı sitosolik DNA sensörlerini ve onların adaptörü olan STING'i içermekte ve tip 1 IFN üretiminin ölçümünü sağlamaktadır. Bu hücre hattında ve STING reseptörü olmayan B16 hücre hatlarında yapılan çalışmalar patojen ve kommensal kaynaklı IFN gama üretiminin büyük oranda STING'e bağımlı bir şekilde tetiklendiğini göstermiştir. Bu çalışma, kommensal kökenli DNA'ların kronik tip 1 IFN üretimine yol açarak immün sistemi viral enfeksiyonlara karşı hazır duruma getirdiğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: DNA sensörleri, Kommensal bakteri, patojenik bakteri

[PS-037][İmmün düzenlenme]**İmmün Baskılayıcı Oligodeoksinükleotid A151'in Tip 1 İnterferonopatilere Yönelik Terapötik Ajan Olarak Etkileri**Ersin Gül¹, Naz Sürücü¹, Bilgi Güngör¹, Esin Alpdünder¹, İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹¹Biyolojik Bilimler Departmanı, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE²Moleküler Biyoloji ve Genetik Departmanı, Bilkent Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE

Hücrelerin yaşaması için gerekli talimatları taşıyan DNA(deoksiribonükleik asit), memeli hücrelerinde çekirdek içerisinde bulunur. Hücrenin yaşaması için gerekli bilgileri taşımasına ek olarak, DNA molekülünün immün sistem için de çok büyük bir öneme sahip olduğu son yıllardaki makalelerde gösterilmiştir. Patojen kökenli DNA'nın sitozolde bulunması, yine sitozolde yer alan bir dizi patojen tanıma reseptörü tarafından tehlike işareti olarak algılanmakta ve tip 1 interferon salınımıyla sonuçlanan sinyal ileti yollarının etkinleşmesiyle antiviral tepki oluşturmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. Son yıllarda bu yolağın konak kökenli DNA'ya da yanıt oluşturduğu anlaşılmış, SAVI, Aicardi-goutieres sendromu, Ataxia telangiectasia, gibi otoenflamatuvar/nörodejeneratif hastalıklarda, DNA metabolizması/patojen tanıma reseptörlerindeki mutasyonların sonucu bu yolların kontrolsüz çalıştığı ve aşırı interferon salımı gözlemlendiği gösterilmiştir. Bu bakımdan, sitozoldeki DNA molekülünün tanınması sonucu salınan tip 1 interferon sitokininin salınımını negatif olarak baskılayacak ajanların bulunması bu hastalıkların tedavisi açısından büyük önem taşımaktadır. Bir sentetik oligodeoksinükleotid olan A151 ODN, yapısında TTAGGG motifleri içerir ve daha önceki çalışmalarda A151 ODN'nin immün baskılayıcı özellikleri olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada A151 ODN'nin sitozoldeki DNA'nın tespit edilmesi sonucu salınan tip 1 interferon salınımını büyük oranda baskıladığı THP-1, B16 hücre hatları, ve insan periferik mononükleer kan hücrelerinde gösterilmiştir. Antiviral tepkide yer alan IP-10 (IFN-inducible protein-10) kemokinin salınımının da yine A151 kullanılarak baskılabileceği gösterilmiştir. Bu sonuçlar, sitozolik DNA algılama yollarının deregülasyonundan kaynaklanan otoenflamatuvar hastalıkların tedavisinde A151 ODN'nin terapötik ajan olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: A151 ODN, DNA, Tip 1 interferon

[PS-038][İmmün düzenlenme]

LİPOZOMA YÜKLENMİŞ D-TİPİ VE K-TİPİ CpG ODN'LERİN SİNERJİK İMMÜN AKTİVASYONU

Begüm Horuluoğlu, Ihsan Gürsel

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

Yüksek yükleme verimi ve güvenliği sayesinde, lipozomlar kararsız biyoaktif ajanların taşınmasında en iyi taşıma ve salım sistemlerinden biridir. İnsanda, yapı olarak farklı gruplandırılan CpG ODN'ler farklı sinyal yollarını aktive ederek, değişik immün cevaplara yol açarlar. K-tipi ODN plazmasitoid dendritik hücrelerin (pDC) olgunlaşması ve aktifleşmesi sonucu TNF α salgılanmasına sebep olurken, D-tipi ODN IRF7'ye bağımlı sinyal yollarını aktive ederek IFN α üretilmesine neden olur. Klinikte, K-tipi anti-bakteriyel özellik gösterirken, D-tipi CpG ODN ise anti-viral etki oluşturmada kullanılacak ajanlardır. Çarpıcı bir şekilde, K-tipi ve D-tipi ODN'ler serbest halde karıştırılıp hücrelere verildiklerinde, K-tipi ODN, D-tipi CpG ODN'in immünolojik etkisini bloke eder ve sadece K-tipine ait immün cevap gözlemlenir. Her iki tip CpG ODN'in kendilerine has özelliklerini kaybetmeyecekleri bir taşıyıcı sistemin geliştirilmesi klinik uygulamalar için çok önemlidir. Bu çalışmada, öncelikle K- ve D- tipi ODN'leri 5 farklı lipozoma yükleyerek sinerjik etkilerini araştırdık. Bu lipozomlara yüklü ODN'lerin insan periferik kan mononükleer hücreleri ve fare dalak hücreleri üzerinde sinerjik bir etki gösterebilme kabiliyeti en yüksek olan potansiyel gruplarını seçtik. İnsan periferik kan hücreleri üzerinde yapılan sitokin ELİSA deneyleri sonucunda, kullanılan 5 lipozomal kombinasyonun da serbest ODN'lere göre daha fazla IFN α ve TNF α ürettiğini gözlemledik. Serbest haldeki K-ve D-tipi ODN'ler beraber inkübe edildiklerinde beklendiği gibi D-spesifik olan IFN α salımında azalma gözlemlenmiştir. Nötral ve anyonik lipozoma yüklü D-tipi ODN (ND ve AD) ile katyonik lipozoma yüklü K-tipi ODN (CK) beraber hücreye verildiklerinde ise, ODN'leri arasındaki antagonizm yerine, hem K-tipine özgü etkiyi arttırmakta, hem de D-tipine spesifik etkiler ortaya çıkmaktadır. Bu gelişmiş sinerjik etki, ND+CK grubunda TNF α salımı için kullanılan kan örneklerinin %100'ünde gözlemlenirken, IFN α için %90'ında gözlemlenmiştir. Bunlara ek olarak, hücre içi sitokin boyama deney sonuçlarına göre TNF α ve IFN α pDC'lerden üretilmektedir. Ayrıca APC'lerden co-stimülatör molekül ifadeleri lipozomal kombinasyonlarda, serbest ODN'lere göre belirgin bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Fare deneylerinde, insan deneylerinden farklı olarak ND+CK grubu yerine, K-tipi ODN yüklü sterik olarak stabilize edilmiş katyonik lipozom (SSCL) ile D-tipi ODN yüklü i) nötral, ii) anyonik, iii) katyonik ve iv) stealth kombinasyonlarında sinerjik etkiler görülmüştür (IL6, IL12 ve IFN γ salınımlarında artış). Ex-vivo deneyleri sonucunda, lipozomal kombinasyonların CpG ODN'lerin hücre içine alımını ve proinflamatuvar sitokinlerin gen ifadelerini arttırdığı ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada hem insan, hem farede uygun lipozom tipi seçimiyle K-tipi ODN'in, D-tipi ODN'e karşı oluşturduğu antagonistik etkiyi, sinerjistik bir etkiye dönüştürebileceğimizi gösterdik. Yaklaşımımız bu önemli iki tip ODN'in immunoterapötik uygulamalarda birlikte kullanımını arttıracak niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Lipozom, Oligonükleotid, CpG ODN

[PS-039][İmmün yetmezlikler]**Primer İmmün Yetmezlik Hastalarımız; Erzurum Deneyimi**Dilara Fatma Kocacık Uygun¹, Demet Hafizoğlu²¹Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İmmünoloji-Alerji²Erzurum Bölge Eğitim Araştırma Hastanesi Çocuk İmmünoloji-Alerji

Amaç: Primer immün yetmezlikler (PİY), immün sistemin doğumsal eksiklikleri sonucu gelişen kronik ya da tekrarlayan enfeksiyonlarla karakterize hastalık grubudur. Gelişmiş ülkelerde toplumda görülme olasılığı 1/10.000-1/100.000 arasında değişmektedir. Ülkemizde sıklığı tam bilinmemekte, akraba evliliğinin yoğunluğu nedeni ile otozomal resesif geçiş gösteren tiplere sık rastlanmaktadır. Erken tanı yaşam kurtarıcı olup morbiditenin azaltılması, yaşam kalitesinin artırılması, genetik danışma ve prenatal tanıda önem taşır. Hastalıkların ayırıcı tanısında düşünülmesi ve immünolojik değerlendirmenin yapılması, erken dönemde tanı almasını sağlamaktadır. Bu nedenle immünoloji ile uğraşan hekimlerin sayısının artması ve çocuk hastalıklarına yönelik hizmet veren hekimlerin bilgilendirilmesi önem taşır. Bu sunuda biz Erzurum'da mevcut olan 2 immünoloji merkezi olarak izlemdeki hastalarımızı sunmayı amaçladık.

Olgu: Haziran 2013-Şubat 2015 tarihleri arasında takip edilen ve yeni tanı alan PİY'li olgular değerlendirildi. Toplam 97 hasta merkezimizde izlemdeydi. Hastaların 4'ü ağır kombine immün yetmezlik, 78'i antikor eksikliği, 11'i fagositer sistem bozukluğu, 2'si ataxi teleanjiektazi, 1'i kronik mukokutanöz kandidiazis, 1'i IFN aks bozukluğu nedeni ile takipteydi. Toplam 16 hastaya intravenöz immünglobulin tedavisi başlanmış, 3 hastaya kemik iliği nakli yapılmış, izlemde 2 hasta ağır enfeksiyondan kaybedilmişti.

Sonuç: Erken tanı yaşam kurtarıcı olup immünolojik değerlendirmenin yapılması, hastaların erken dönemde tanı almasına olanak sağlamaktadır. Bu konuda hekim bilgilendirilmesi önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: İmmün yetmezlik, intravenöz immünglobulin

[PS-040][İmmün yetmezlikler]

Hiper IgE Sendromlu Hastalarda DOCK8 Düzeyleri: Akan Hücre Ölçer ile Saptanması

Suzan Çınar¹, Metin Yusuf Gelmez¹, Serdar Nepesov², Yıldız Camcıoğlu², Günnur Deniz¹
¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

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

Amaç:

Dedicator of cytokinesis 8 (DOCK8) immün sistem hücrelerinde sinyal iletiminde rol oynayan adaptör bir proteindir. DOCK8 eksikliği, tekrarlayan akciğer ve deri enfeksiyonları, artmış serum IgE düzeyi ve alerji ile karakterize kombine immün yetmezlik hastalığı olan otozomal resesif geçişli Hiper IgE Sendromu'na (HIES) neden olmaktadır. DOCK8 eksikliği olan hastaların prognozu diğer HIES'li hastalara göre daha kötü seyretmektedir. HIES'li hastalarda DOCK8 düzeyinin saptanması klinik açıdan oldukça önemlidir. Bu çalışmada HIES tanısı almış olgularda DOCK8 düzeylerinin akan hücre ölçer ile saptanması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem:

HIES tanısı almış 10 hasta ve 7 sağlıklı bireyden elde edilen heparinli periferik kan örneklerinde, CD3⁺ T hücrelerinde DOCK8 ekspresyonu anti-CD3-PE, anti-DOCK8, anti-fare IgG1-FITC (sekonder) ve fare IgG1-FITC (izotip) antikorları kullanılarak akan hücre ölçer yöntemi ile analiz edilmiştir. Anti-DOCK8 ile hücre içi boyama iki farklı üreticiye ait (BD-Pharmingen ve İnvitrogen) fiksasyon-permeabilizasyon kitleri kullanılarak karşılaştırılmıştır. Akan hücre ölçer ile değerlendirmeler sonucunda DOCK8 düzeyi izotipe göre hesaplanan ortalama floresan yoğunluğu (MFI), MFI-fark (F) ve MFI-indeks (İ) ile belirlenmiştir.

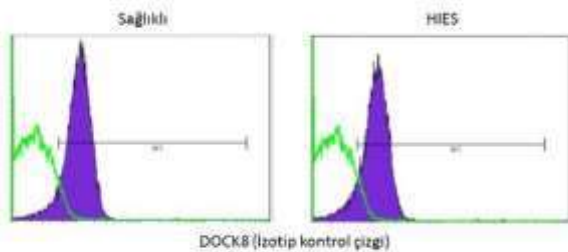
Bulgular:

On HIES (1K, 9E; 11.60 ± 3.17 yıl), 7 sağlıklı birey (2K, 5E; 31.14 ± 19.31 yıl) çalışmaya katılmıştır. Olguların IgE düzeyleri 9602.13 ± 9452.71 IU/ml'dir. Akan hücre ölçer ile yapılan ölçümlere göre olgularda DOCK8 eksikliği gözlenmemiştir (Şekil 1). BD-Pharmingen veya İnvitrogen kitinin kullanıldığı tam kan (TK) ve periferik kan mononükleer hücre (PKMH) sonuçları arasında MFI ve MFI-F'de anlamlı fark bulunmasına karşılık (p=0.004, p=0.006, p=0.012, p=0.012, sırasıyla), BD-Pharmingen kitinin İnvitrogen kiti ile karşılaştırılmasında fark saptanmamıştır (Tablo 1).

Sonuç:

DOCK8 proteinin hücre içi boyanmasını sağlayan fiksasyon-permeabilizasyon kitlerinin ekspresyonun gösterilmesinde etkisi olmadığı gözlenmiştir. DOCK8 ekspresyonunun PKMH ile karşılaştırıldığında TK metodunda daha yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir. HIES olgularında beklenen düşük DOCK8 seviyesinden dolayı MFI yoğunluğu önemlidir. Bu nedenle TK yöntemi seçilmelidir. HIES olgularında immünolojik yöntem ile normal düzeylerde saptanan DOCK8 proteinin moleküler yöntemler ile mutasyon yokluğu gösterilerek desteklenmesi önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Hiper IgE sendromu, DOCK8, Flow sitometri

Şekil 1

HIES ve sağlıklı bireye ait izotip ve DOCK8 akan hücre ölçer histogram örneği

Tablo 1

	BD			İnvitrogen		
	TK	PKMH	p	TK	PKMH	p
MFI	15.26 (9.1-29.36)	10.37 (8.46-19.63)	0.004	23.16 (13.84-51.29)	21.13 (8.73-37.81)	0.012
MFI Fark	11.33 (5.17-25.43)	7.17 (5.26-16.43)	0.006	20.17 (10.85-48.3)	18.72 (6.32-35.4)	0.012

TK ve PKMH örneklerinde BD ve İnvitrogen tamponlarıyla muameleden sonra akan hücre ölçer ile elde edilen MFI ve MFI-Fark bulguları medyan (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

[PS-041][İmmün yetmezlikler]**Gözden Kaçan DiGeorge Sendromu**

Serdar Nepesov, Fatma Deniz Aygün, Haluk Çokuğraş, Yıldız Camcıoğlu
İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Enfeksiyon Hastalıkları, Klinik İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı

Amaç: DiGeorge Sendromu(DGS), timus ve paratiroid bezlerinin yokluğu veya hipoplazisi, dismorfik yüz görünümü ve kalp ve damar anomalilerin eşlik ettiği bir immün yetersizliktir, %90 olguda 22q11.2 delesyonu gösterilmiştir. Akciğer enfeksiyonu nedeni ile enfeksiyon servisine yatırılan, dismorfik yüz görünümü ve ventriküler perimembranöz septal defekti dikkate alınarak incelemeler sonucunda DiGeorge Sendromu(DGS) tanısı konulan hasta kalp hastalıklarında İmmün yetersizlik araştırılması gereğine dikkat çekmek amacıyla sunulmuştur.

Olgu: Özel bir üniversite kliniğinde perimembranöz VSD tanısıyla izlenen ve tekrarlayan akciğer enfeksiyonu öyküsü olan 8 aylık kız bebek bronkopnömoni ön tanısı ile Çocuk enfeksiyon servisine yatırıldı.

Fizik muayenesinde hafif gelişme geriliği(boy: 68 cm (25-50 p) kilo:7,2 kg (3-10p)) olan kız çocuğunun son 2-3 günden beri süregelen ateş, öksürük ve hırıltı yakınmaları mevcutmuş. Bilateral ekspiriyum uzunluğu,yaygın krepan ralleri ve mezokardiyak alanda 1/6 şiddetinde sistolik üfürümü olan hastanın, dismorfik yüz görünümü(hipertelorizm, burun kökü basıklığı, düşük göz aksı,mikrognati) dikkat çekti. Hafif anemisi olan hastanın lenfopeni, nötropeni, ve trombopenisi yoktu. Akut faz reaktanları yüksek bulundu(BK: 18000/mm³, CRP: 2 mg/dl)., Ter testi: 30 mmol/l idi. Akciğer grafisinde bronkopnömoni ile uyumlu bilateral parakardiyak infiltrasyon görüldü, timus gölgesi vardı. Dismorfik yüz görünümü ve kardiyak anomalisi mevcut olan hasta DiGeorge Sendromu açısından tetkik edildi. Tiroid, parathormon ve 25-hidroksivitamin D düzeyleri normaldi(Parathormon: 35 pg/ml, Ca:9,9 mg/dl, P:4,2 mg/dl, TSH:4,16 µIU/ml sT4:1,21 ng/dl). Serum IgG düzeyi yaşına göre düşük bulundu(IgA: 30,6 mg/dl IgG:350 mg/dl IgM: 40 mg/dl IgE:16.5 IU/ml). Hücresel değerleri normaldi(CD45: 100%,CD3:66%, CD4: 63%, CD8:34% CD19:31%, CD20:31%, CD16/56:5%,CD45 RA:84%, CD45RO:16%). FISH yöntemi ile yapılan sitogenetik analizde 22q11.2 delesyonu saptandı. Klinik, laboratuvar ve genetik bulguları ile hastaya DiGeorge Sendromu tanısı konularak, çocuk immunoloji ve kardiyoloji polikliniğinde izleme alındı.

Sonuç: Kalp anomalisi ile izlenmekte olan çocuklar, yineleyen enfeksiyonlar ile kliniğe müracaat ettiğinde, ayrıntılı fizik inceleme yapıp özellikle dismorfik yüz görünümü dikkate alınarak mutlaka immün yetersizlik yönünden incelenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Di George, İmmün yetersizlik, Kalp anomalisi

Dismorfik yüz görünümü olan 8 aylık kız bebek

Dismorfik yüz görünümü olan 8 aylık kız bebek

[PS-042][İmmün yetmezlikler]**İzole Trombositopenili Wiscott Aldrich Sendromu**

Serdar Nepesov¹, Haluk Çokuğraş¹, Tülây Erkan², Hasret Ayyıldız Civan², Yıldız Camcıoğlu¹

¹İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Enfeksiyon Hastalıkları, Klinik İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Bilim Dalı

Amaç: Wiscott Aldrich sendromu(WAS), X'e bağlı genetik geçiş gösteren, küçük trombositlerle birlikte trombositopeni, egzema, immün yetmezliğe bağlı tekrarlayan enfeksiyonlar, malignite ve otoimmünite artışı olan bir primer immün yetersizlik hastalığıdır. Alt gastrointestinal sistem kanaması ile gelen ve trombositopeni saptanan erkek çocuklarda, diğer WAS belirtileri olmasa da ayırıcı tanıda WAS'ın akla getirilmesi amacıyla bu olgu sunulmuştur.

Olgu: Beş günlükken yenidoğan sarılığı nedeniyle Diyarbakır'da bir devlet hastanesine fototerapi tedavisi için yatırılan bebeğin kan sayımında trombositopenisi (29000/mm³) saptanmış. İki kez IVIG verilmiş, ancak tedaviye yanıt alınamamış. İzole trombositopeni nedeniyle izlenmekte olan 2,5 aylık erkek bebek, alt gastrointestinal sistem kanaması ve trombositopeni nedeniyle ileri tetkik ve tedavi için Çocuk Gastroenteroloji servisine yatırıldı.

Soygeçmişinde ailenin 5. gebeliğinden 4. yaşayan çocuğu olarak miadında dünyaya geldiği, yaşayan üç kız kardeşinin sağlıklı olduğu ancak benzer şikayetleri bulunan bir erkek kardeşinin 10 aylık iken öldüğü öğrenildi. Annede ve babada kronik hastalık ve ilaç kullanım öyküsü yok.

Bebeğin fizik gelişmesi yaşına uygun, sistem muayeneleri normaldi, deri muayenesinde ekzema bulunmadı.. Anal bölgede saat 2 hizasında fissür mevcut. Kan sayımında hemoglobin 6,4 gr/dl, hematokrit % 18,8, lökosit: 8700/ mm³, trombosit: 42000/ mm³, MPV:6,6 fl idi. Akut fazları negatif bulundu. Periferik kan yaymasında trombositlerin çapları küçük ve nadir kümeler yapmıştı %33,9 nötrofil, %38,5 lenfosit ve %11 eozinofil görüldü. Serum immün globülinleri yaşına uygun değerlerdeydi(IgA: 37,2 mg/dl, IgG:557 mg/dl, IgM:24,2 mg/dl, IgE:55,6 IU/ml). Hastanın CD 8 düzeyi düşük bulundu(CD45: 99%,CD3:55%, CD4: 89%, CD8:9%,CD19:27%, CD20:20%, CD16/56:13%,CD45 RA:82%, CD45RO:18%.) Anti-HBs antijeni olumlu bulundu(18 mIU/mL). Kemik iliği aspirasyonu normosellüler olarak değerlendirildi, megakaryosit görüldü. Kan, idrar ve gaita kültürü sterildi. Viral seroloji negatif saptandı. Rektosigmoidoskopta damarsal anomali gözlenmedi. TAR sendromu açısından ön kol grafisi çekildi ve radiusu görüldü. Annede trombositopeni gözlenmedi. Hastaya, mikrotrombositopeni ve erkek bebek olması nedeniyle Wiscott Aldrich sendromu olabileceği düşünülerek yapılan gen analizinde p.E31K(c.91G >A) hemizigot gen mutasyonu saptandı. WAS tanısı konularak antibiyotik profilaksisine alınarak KİT'e yönlendirildi.

Sonuç: Trombositopeni WAS'lı olgularda tek başvuru bulgusu olabilir. Erkek bebeklerde görülen ve nedeni belirlenemeyen trombositopenilerin ayırıcı tanısında WAS akla gelmeli ve hastalar erken dönemde KİT için yönlendirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: WAS, İmmün Yetersizlik, trombositopeni

[PS-043][İmmün yetmezlikler]**Ataksi-telenjiektazi'li Bir Olguda Mesanede Telenjiektazi**

Serdar Nepesov, Fatma Deniz Aygün, Haluk Çokuğraş, Yıldız Camcıoğlu
İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Enfeksiyon Hastalıkları, Klinik İmmünoloji ve Allerji Bilim Dalı

Amaç: Ataksi-Telenjiektazi (A-T), ilerleyici serebellar ataksi, okülokutanöz telenjiektaziler, immün yetmezliğe bağlı tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar, iyonize radyasyona aşırı duyarlılık ve kanser gelişimine yatkınlıkla karakterize nadir görülen ve OR geçiş gösteren bir primer immün yetersizliktir. A-T hastalarında diğer organlarda vasküler anomaliler bildirilmesine rağmen; mesane duvarında telenjiektazi görülmesi oldukça nadirdir. Hematüri yakınmaları ile getirilen, mesanede telenjiektazi saptanan 9 yaşında A-T olgusunu, ender rastlanan bu birlikteliğe dikkat çekmek amacı ile sunmayı uygun gördük.

Olgu: 4 yaşında erkek çocuk tekrarlayan akciğer enfeksiyonu ve menenjit öyküsü ile kliniğimiz İmmünoloji polikliniğine başvurmuş.. Gelişme geriliği olan (<3p) hastanın serebellar ataksisi ve oküler telenjiektazisi mevcutmuş. Yapılan tam kan sayımı, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri normal ancak serum alfa fetoprotein (AFP) artmış(196,45 IU/ml, normal<5.8 IU/ml), serum immunglobulin G değeri düşük, IgM'i yüksek (IgG:427 mg/dl, IgM:1330 mg/dl Ig A:32mg/dl) bulunmuş. Akım hücre ölçer ile T,B ve NK hücreleri yaşına uygun değerlerde bulunmuş. Kraniyal MR incelemesinde serebellar atrofi gözlenmiş. Klinik, radyolojik ve laboratuvar bulgularına ek olarak A-T tanısı için ATM gen mutasyon araştırılmış ve saptanan gen mutasyonu (c.7788G>A(p.Glu2596Glu) Homozigot) tanıyı desteklemiştir.

İmmünoloji polikliniğinde izleme alınan hastada 9 yaşında B hücreli Non-Hodgkin lenfoma gelişti, R-CHOP kemoterapi protokolü ile tam iyileşme sağlandı. İzlemdeki hastanın 6 ay sonra masif ağrısız hematüri ile kliniğimize yatırıldı. Hastanın kan basıncı, üre, kreatin değerleri ve koagülasyon parametreleri normaldi, trombositopenisi yoktu. İdrar kültürü sterildi. Üriner ultrasonografide patoloji saptanmadı. Sistoskopisinde mesane duvarında multipl telenjiektazi ve mesanede yaygın pıhtılar görüldü. Serum fizyolojik ile mesane irrigasyonu yapılan hastaya bilateral üreteral stent yerleştirildi. Bu uygulama sonrası klinik semptomları geriledi ve hasta yakın izleme alındı.

Sonuç: A-T hastalarında beyin parankimi, hepatik ven ve intestinal mukozalarda vasküler anomaliler sıklıkla bildirilmesine rağmen; mesane duvarında telenjiektazisi oldukça nadir bildirilmiştir. Telenjiektaziler A-T dışında, herediter hemorajik telenjiektazi, portal hipertansiyon, gebelik, şistozomiyazis, Klippel-Trenaunay sendromu, iliak ven trombozu ve retroperitoneal fibroziste görülebilir.

Anahtar Kelimeler: Mesanede telenjiektazi, Ataksi-telenjiektazi

Ataksi-telenjiektazi'li 9 yaşında erkek olgu

Ataksi-telenjiektazi'li 9 yaşında erkek olgu

[PS-044][İmmün yetmezlikler]**Sağlıklı yetişkin bireylerde lenfosit alt grupları; referans aralıklarının belirlenmesi**

İsmail Öğülür, Dilek Çiçekkökü, Safa Barış, Elif Karakoç Aydın, Ahmet Özen, Işıl Barlan
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul

Amaç: Primer immün yetmezlikli (PIY) hastaların sınıflandırılmasında lenfosit alt gruplarının tanımlanması gerekmektedir. Akan hücre ölçer ile immünofenotiplendirme yapılırken kontrol grubundan elde edilmiş referans değerlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, sağlıklı yetişkinlerde T, B ve NK hücreler ve alt gruplarına ait referans aralıklar belirlenmiştir.

Gereç-Yöntem: PIY uyarıcı bulgusu ve kronik hastalığı olmayan sağlıklı yetişkinlerden (n=15) periferik kan örnekleri toplandı. Kan örnekleri dört panelli fraksiyonlara bölünerek (her tüpe 100 µl) önceden karıştırılmış antikor kokteylleri ile inkübe edildi. Değerlendirmede (i) genel lenfosit alt tipleri, (ii) B-hücre alt tipleri, (iii) CD4+ alt tipleri, (iv) CD8+ alt tipleri, (v) recent thymic emigrants (RTE) hücreleri akan hücre ölçer cihazı ile belirlendi. Analizlerin yapılması ve kadran istatistiklerinin (ortalama değer, standart sapma ve yüzde değerler) belirlenmesi BD FACS CellQuest Pro yazılımı ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Tam kan lenfositlerin hücre yüzey belirteçleri ile boyanması sonucu: (i) CD3+ T lenfositler, CD4+ Th, CD8+ Tc, CD19+ B, CD16+56+ NK hücreler genel lenfosit altgrupları belirlendi. Ardından (ii) naif, sınıf dönüşümü yapan / yapmayan hafıza, aktive, transisyonel B hücreler ve plasmoblast hücreler analiz edildi. CD4 ve CD8 altgruplarında ise (iii), (iv) naif, santral hafıza, efektör hafıza ve exhausted hücreler değerlendirildi. Son olarak (v) α/β ve γ/δ T hücrelerin, CD4+ T hücrelerde RTE hücrelerin yüzde ve mutlak sayıları belirlendi.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları 15 yetişkin sağlıklı kontrolün lenfosit hücre alt tipleri dağılımını göstermektedir. Klinik immünolojide her geçen gün artan yenilikler nedeniyle ayrıntılı immünofenotipleme analizine gereksinim duyulmaktadır. Bu çalışmada elde ettiğimiz veriler hasta değerlendirmesinde fayda sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: İmmünofenotipleme, Primer İmmün Yetmezlik

Sağlıklı yetişkinlerde lenfosit alt gruplarının referans verileri

	Yüzde (ort±SD)	Mutlak sayı (ort±SD)
ALC	-	2209±386
CD3+ T	76,6±4,4	1698±336
CD3+ CD4+ T	46,6±5,7	1059±268
CD3+ CD8+ T	26,7±5,8	576±155
CD4+ CD45RA	393±140	38±11,6
CD4+ CD45RO	58,7±8,9	663±218
CD8+ CD45RA	54,6±9,7	314±109
CD8+ CD45RO	42,7±10,6	249±72
CD19+ B	9,42±3,3	210±80
CD16-56+ NK	10,2±3,2	226±80
Naif B	56,1±9	113±44
Sınıf çevrimi yapan hafıza B	21,3±4,8	45±20
Sınıf çevrimi yapmayan hafıza B	19,5±6,3	44±29
Aktive B	3,8±1,7	9±5
Transisyonel B	0,65±0,78	1±1
Plazmoblast	1,88±0,8	4±2
Naif CD4	46,9±9,2	491±140
Santral hafıza CD4	41,8±8,4	453±190
Efektör hafıza CD4	6,7±2,4	56±17
Exhausted CD4	4,6±3,2	51±37
Naif CD8	42,3±9,9	231±95
Santral hafıza CD8	6,6±3,2	37±16
Efektör hafıza CD8	19,9±9,6	104±39
Exhausted CD8	31,2±10,8	168±82
α/β TCR	93,9±2,1	1598±314
γ/δ TCR	5,6±2,1	91±43
Double negatif	1,3±0,5	22±13
RTE	12,6±3,6	124±63
CD3+ HLADR	3,6±1,5	61±39

[PS-045][İmmün yetmezlikler]**Pediyatrik immün yetersizlikli hastaların kemik iliği nakli sonrası proliferatif yanıtları**

Umut Can Küçüksezer¹, Yahya Abusamra², Serdar Nepesov², İlhan Tahralı¹, Yusuf Metin Gelmez¹, Abdullah Yılmaz¹, Yıldız Camcioğlu², Günnur Deniz¹

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

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

Amaç: Primer immün yetersizlikler, genellikle pediyatrik hastaları etkileyip, hücreyel yetersizliklere bağlı immün fonksiyon bozuklukları hayat tehdit edici enfeksiyonlara yatkınlığa neden olmaktadır. Kemik iliği nakli sonucu hastalarda sağlıklı immün yanıtlar oluşmakta, nakil sonrasında aşılama için doğru zaman noktalarının belirlenmesi doğru aşı yanıtlarının alınabilmesi için önem taşımaktadır. Antijenlere yanıtta ilk aşama hücre proliferasyonu olup yeterli sayıda hücre, immün fonksiyonların gerçekleştirilmesi için gereklidir. Proliferatif kapasitenin değerlendirilmesinde karboksifloresen süksinimidil diester (CFSE) dilüsyonu yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu yöntemle çoğalmakta olan hücre alt grupları hakkında bilgi edinmek mümkündür. Bu çalışma, kemik iliği nakli gerçekleştirilen primer immün yetersizlikli pediyatrik hastalarda proliferatif kapasitenin değerlendirilmesini amaçlamaktadır.

Gereç-Yöntem: İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından takip edilen, kemik iliği nakli geçirmiş ve 1 yılı doldurmuş primer immün yetersizlikli hastalar (n=43) ve sağlıklı kontrollerden (n=15) alınan heparinize venöz kan örneklerinden periferik kan mononükleer hücreler (PKMH) fikal gradyan santrifüj yöntemi ile saflaştırılarak CFSE ile boyanmış ve hücre kültürü ortamında 5 gün boyunca, poliklonal aktivatörler olan fitohemaglutinin (PHA) ve anti-CD2, -CD3 ve -CD28 monoklonal antikor kokteyli (CD-mix) ile uyarılmışlardır. Kültür süresinin ardından floresan işaretli anti-CD4 ve -CD19 monoklonal antikorları ile T ve B hücreleri işaretlenmiş, hücre proliferasyonu akan hücre ölçer ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya katılmış sağlıklı kontrollerden, uyarılmamış koşul (us), CD-mix ve PHA uyarımları için eşik değerler hesaplanmış, bu değerlerin üzerinde saptanan hasta proliferasyon sonuçları normal olarak değerlendirilmiştir. Nakil sonrası 1. yılda 30 hastanın proliferasyon değerleri sağlıklı kontrollerle uyumlu olarak saptanırken 13 hastanın değerleri tam olarak normalleşmemiştir. Beş hastada sadece PHA'ye, 5 hastada sadece CD-mix'e, 3 hastada ise her iki mitojene normalden düşük yanıtlar gözlenmiştir. Hem sağlıklı kontrol hem de hastalarda PHA ve CD-mix, uyarılmamış koşulla karşılaştırıldığında ileri derece anlamlı olarak proliferasyonu uyarmıştır. Değerleri normalleşmiş hastalar ile sağlıklı kontrollerin total PKMH, CD4⁺ ve CD19⁺ hücrelerinin uyarımsız ve PHA veya CD-mix uyarımlı proliferasyon değerleri arasında istatistiksel anlamlılık gözlenmemiştir.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları, primer immün yetersizlik hastası olup kemik iliği nakli geçirmiş bireylerde, proliferatif kapasitenin geri kazanıldığını göstermektedir. Bu sonuçlar, CFSE dilüsyonu yöntemi ile akan hücre ölçerde proliferasyon analizinin, immünolojik açıdan kemik iliği naklinin başarısını göstermekte iyi bir araç olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akan hücre ölçer, proliferasyon, mitojen

[PS-046][Kanser immünolojisi]**Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) Hastalarda Gözlenen Delesyonların Araştırılması**Metin Yusuf Gelmez¹, Ender Coşkunpınar², Günnur Deniz¹, Melih Aktan³¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji A.D, İstanbul²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fak. İç Hastalıkları A.D, Tıbbi Genetik B.D, İstanbul³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fak. İç Hastalıkları A.D, Hematoloji B.D, İstanbul**Amaç:**

Kronik lenfositik lösemi (KLL) erişkinlerde en sık gözlenen lösemi tipidir. Hastaların %30-50'sinde 17p13, 11q22.3, 13q34 ve 13q14 bölgelerinde delesyonlar görülmektedir. Bu delesyonların oluşum mekanizmaları henüz net olarak ortaya konulmamıştır. Aktivasyon ile indüklenen sitidin deaminaz (AID) B hücrelerinde immünoglobülin (Ig) genlerinde nokta mutasyonları oluşturarak somatik hipermutasyon ve Ig sabit bölgelerinde kırılma noktaları oluşturarak izotip dönüşümü mekanizmalarında rol oynamaktadır. AID'in çeşitli lenfoproliferatif hastalıklar da görülen IgH/myc ve bcr/abl translokasyonlarından sorumlu olduğunu destekler nitelikte bulgular, mikroRNA aktifleşme sürecinde rol oynayan Dicer ve Drosha'nın aynı zamanda çift zincir DNA kırıklarının tamir mekanizmaları ile birlikte işlev gördüğünü ve kanser hastalarında ekspresyon düzeylerinde değişim olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada KLL'li hastalarda gözlenen delesyonlarda AID, Drosha ve Dicer moleküllerinin rolü aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Gereç-Yöntem:

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi İç Hastalıkları AD Hematoloji BD'nda tanısı konulmuş 66 hasta ve 26 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Gönüllülerden alınan periferik kan örneklerinden RNAeasy Mini Kit (Qiagen, ABD) kullanılarak total RNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen total RNA örneklerinin konsantrasyonları NanoDrop 2.0 spektrofotometre ile ölçüldü. Reverse transkriptaz enzimi (Fermantes) kullanılarak cDNA sentez edildi. Hedef genler (AID, Drosha ve Dicer) ve referans gene (HPRT1) ait primer ve probler kullanılarak Light Cycler 480 cihazı (Roche) ile QRT-PCR yapıldı. Elde edilen veriler 2-ΔΔCT metodu kullanılarak analiz edildi. Ayrıca hasta ve sağlıklı kontrollerden elde edilen hücre lizatlarında ELISA kiti (Cusabio, Çin) kullanılarak AID protein düzeyleri tespit edildi.

Bulgular:

Delesyonu olan hastalarda (n:28) AID ekspresyonunun hem kontrol grubuna (n:26), hem de delesyonu olmayan hasta grubuna (n:38) göre anlamlı derecede arttığı görülmüştür. Prognozun daha kötü olduğu 17p ve 11q delesyonlu hastalarda AID protein düzeyinin hem diğer hastalara hem de sağlıklı kontrollere göre arttığı gözlenmiştir. Delesyonu olan hastalarda Dicer ekspresyonunun azaldığı görülmüştür. Buna karşın delesyonu olmayan hastalarda Drosha ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir.

Sonuç:

Bu çalışma sonucunda çeşitli lenfoproliferatif hastalıklarda görülen translokasyon-AID ilişkisi dışında, AID'in sadece Ig genlerinde değil non-Ig genlerinde de kırıklar yaratarak delesyonların oluşumunda rol oynadığı düşünülebilir. Ayrıca delesyonu olan hastalarda Dicer ekspresyonunun azalması bu hastalarda gözlenen çift zincir DNA kırıklarının tamir mekanizmasında bir bozulmanın olduğunu ve delesyonların oluşumunda rol oynayabileceği izlenimini vermektedir. Delesyonu olmayan hastalarda Drosha ekspresyonunun yüksek olarak bulunması bu hastalarda çift zincir DNA kırıklarının tamirinde Drosha'nın koruyucu rolü olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: AID, Dicer, Kronik lenfositik Lösemi

[PS-047][Kanser immünolojisi]**ZAP70 ve CD38 Belirteçlerinin KLL hastalarında İncelenmesi**

Nilgün Işıksacan¹, Suzan Çınar², Esin Aktaş², Melih Aktan³, Günnur Deniz²

¹Bakırköy Dr.Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmunoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Hematoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç: Kronik lenfositik lösemi (KLL) Batı ülkelerinde en sık görülen lösemi türü olup % 95 oranında B lenfosit kökenli bir hastalıktır. RAİ tarafından oluşturulan evreleme sistemi KLL hastalarının tedavi gereksinimi ve sağkalımlarını öngörmeye faydalıdır.

Zeta ilişkili protein (ZAP70) ve CD38 prognozu belirlemede önemli önemli biyolojik belirteçlerdir. Bu çalışma tek merkezli ve retrospektif olup ZAP70 ve CD38 ekspresyonu arasındaki ilişki Rai evreleme sistemi kullanılarak incelenmiştir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmaya İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hematoloji Kliniği'nde Ulusal Kanser Enstitüsü Çalışma Grubu'nun 1996'da yayınladığı KLL tanı kriterleri kullanılarak tanısı yeni konmuş veya takip edilmekte olan 11'i kadın (ort. yaş:58) ve 17'si erkek (ort. yaş:60) 28 hasta alınmıştır. Bu çalışmada olgular Rai evreleme sistemi kullanılarak gruplandırılmış ve ZAP70 ile CD 38 ekspresyonları akım sitometrisi yöntemi ile ölçülmüştür. Cut off sınır ZAP70 için %20, CD38 için %30 olarak kabul edilmiş ve bu değerlerin üzerindeki ekspresyon pozitif olarak kabul edilmiştir.

Bulgular: RAİ evreleme sistemine göre iki gruba ayrılmış, 15 hastanın 0. veya 1. evrede, 13 hastanın ise 2., 3. veya 4. evrede olduğu saptanmıştır. İki grubun ZAP70 ekspresyonu arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede fark bulunmuştur (p <0.02).

RAİ 0-1 evrelerdeki 8 hastada, RAİ 2.-4. evrelerdeki 9 hastada ise ZAP70 pozitifliği saptanmıştır. CD38 ekspresyonu incelenen 20 hastanın 12'sinin 0.-1. evrelerde, 8'inin ise RAİ 2.-4. evrelerde olduğu görülmüştür. İki grup arasındaki CD38 ekspresyonunda anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0.05).

Sadece 1 hastanın hem ZAP 70, hem de CD38 ekspresyonunun birlikte pozitif olduğu bulunmuştur. (ZAP70 +CD38+)

Sonuç: Bu çalışmada ileri evre vakalarda yüksek oranda ZAP70 ekspresyonu görülürken, CD38 ekspresyonunda herhangi bir farklılık görülmemiştir. ZAP70'in ve CD38'in aynı anda tamamlayıcı prognostik faktör olduğu gösterilememiştir. Bu durumda CD38'in hastalığın seyri sırasında değişebilen kararsız bir belirteç olmasına bağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: KLL, ZAP70, CD38

[PS-048][Kanser immünolojisi]**Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) Hastalarda mir-93 ve mir-155 ile AID Regülasyonu Arasındaki İlişki**

Metin Yusuf Gelmez¹, Ender Coşkunpınar², Günnur Deniz¹, Melih Aktan³

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji A.D, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fak. İç Hastalıkları A.D, Tıbbi Genetik B.D, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fak. İç Hastalıkları A.D, Hematoloji B.D, İstanbul

Amaç:

Kronik lenfositik lösemi (KLL) erişkinlerde en sık gözlenen lösemi tipidir. Hastaların %30-50'sinde 17p13, 11q22.3, 13q34 ve 13q14 bölgelerinde delesyonlar görülmektedir. Bu delesyonların oluşum mekanizmaları henüz net olarak ortaya konulmamıştır. Aktivasyon ile indüklenen sitidin deaminaz (AID) B hücrelerinde immünoglobülin (Ig) genlerinde nokta mutasyonları oluşturarak somatik hipermutasyon ve Ig sabit bölgelerinde kırılma noktaları oluşturarak izotip dönüşümü mekanizmalarında rol oynamaktadır. AID'in çeşitli lenfoproliferatif hastalıklar da görülen IgH/myc ve bcr/abl translokasyonlarından sorumlu olduğunu destekler nitelikte bulgular vardır. AID'in mutator etkisi yol açabileceği zararlar göz önüne alındığında, hücre içindeki regülasyonunun oldukça önemli olması gerekir.

miRNA'lar 18-24 nükleotit uzunluğunda kodlanmayan küçük RNA molekülleridir. miRNA'lar, hedef genin 3'UTR bölgesine veya hedef mRNA'nın ORF (open reading frame) bölgesine bağlanarak kendilerine komplementer olan gen ya da gen gruplarının mRNA ekspresyonunu baskılayarak protein sentezinin düzenlenmesine katılırlar. Bu çalışmada KLL'li hastalarda AID ekspresyonunun regülasyonunda rol oynayan mir-93 ve mir-155 ekspresyon düzeylerinde değişiklik olup olmadığı araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem:

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi İç Hastalıkları AD Hematoloji BD'nda tanısı konulmuş 66 KLL'li hasta ve 26 sağlıklı gönüllü alındı. Serum örneklerinden miRNeasy Mini Kit (Exiqon, ABD) kullanılarak miRNA izolasyonu yapıldı. miRNA örneklerinin konsantrasyonları NanoDrop 2.0 spektrofotometre ile ölçüldü. miRNA'lar için reverse transkriptaz enzimi (miRCURY LNA Universal RT microRNA PCR Kit) kullanılarak cDNA sentez edildi. Hedef miRNA'lar (mir-93 ve mir-155) ve referans gene (U6), hedef gen AID ve referans gene (HPRT1) ait primer ve probalar kullanılarak Light Cycler 480 cihazı (Roche) ile QRT-PCR yapıldı. Elde edilen veriler 2- $\Delta\Delta$ CT metodu kullanılarak analiz edildi. Ayrıca hasta ve sağlıklı kontrollerden elde edilen plazma örneklerinde ELISA kiti (Cusabio, Çin) kullanılarak AID protein düzeyleri tespit edildi.

Bulgular:

KLL'li hastalarda AID ekspresyonunun sağlıklı kontrollere göre arttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte prognoz daha kötü seyrettiği delesyonu olan hastalarda (n:28) AID ekspresyonunun hem sağlıklı kontrollere, hem de delesyonu olmayan hastalara (n:38) göre daha fazla arttığı saptanmıştır. KLL'li hastalarda plazma AID protein düzeyinin sağlıklı kontrollere göre azaldığı görülmüştür. KLL'li hastalarda mir-93 ve mir-155 ekspresyonlarının sağlıklı kontrollere göre arttığı gözlenmiştir.

Sonuç:

AID'in aşırı ekspresyonunun non-Ig genlerde kırıklar yaratarak translokasyonlara neden olabileceği ortaya konmuştur. AID'in mutator etkisi göz önüne alındığında hücre içinde regülasyonu oldukça önemlidir. AID etkisini sadece nükleus içinde göstermektedir. Çalışmamızda plazmada AID proteininin varlığı tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz bulgulara göre plazmada AID proteininin varlığı, AID regülasyonunda hücre dışına taşınmanın da önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte hastalarda plazma AID düzeyinin kontrollere göre düşük olarak bulunması, KLL'li hastalarda AID'in hücre dışına taşınma mekanizmalarında da bozukluk olabileceği izlenimini vermektedir. Hastalarda artan AID mRNA ekspresyonu ile birlikte mir-93 ve mir-155 ekspresyon düzeylerinin artması, her iki miRNA'nın AID regülasyonunda rol oynayabileceklerini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: AID, miRNA, Kronik Lenfositik Lösemi

[PS-049][Kanser immünolojisi]**Deneysel meme kanseri modelinde splenektominin miyeloid-kökenli hücre düzeyine etkisi**

Diğdem Yöyen Ermiş¹, Murat Sevmiş², Derya Karakoç², Güneş Esendağlı¹

¹Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji AD.

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD.

Genel bilgi ve Amaç: Tümör mikroçevresinden yayılan faktörler ve kronik inflamasyon sinyalleri miyelopoezi artırır ve dolaşıma çıkan immatür miyeloid kökenli hücreler (MKH) tümör gelişimine, yayılım ve damarlanmasına katkıda bulunabilir. Dalak MKH'lerin primer yerleşim alanıdır. Bu çalışmanın amacı deneysel meme kanseri modelinde splenektomi ile MKH'lerin uzaklaştırılması ve tümör gelişimi üzerine etkilerini araştırmaktır.

Yöntem: Toplam 38 adet, altı haftalık Balb-c cinsi fare kullanılmıştır. Kontrol grubu (laparotomi+bir hafta sonra PBS), meme kanseri grubu (laparotomi+bir hafta sonra PBS içerisinde 4T1 meme kanseri hücresi), splenektomi grubu (splenektomi+bir hafta sonra PBS), meme kanseri sonrası splenektomi grubu (splenektomi+bir hafta sonrası PBS içerisinde 4T1), meme kanseri öncesi splenektomi grubu (PBS içerisinde 4T1 meme kanseri hücreleri verilen ve bir hafta sonra splenektomi) olmak üzere toplam beş deney grubu oluşturulmuştur. Farelerde haftada iki kez tümör çapı, vücut ağırlıkları ve genel sağlık durumları takip edilmiştir. Tümör inokülasyonundan iki hafta sonra deneyler sonlandırılmıştır. Toplanan kan, karaciğer ve dalak örneklerinde MKH hücre düzeyleri akım sitometri ile analiz edilmiştir.

Bulgular-Sonuç: Operasyon sonrasında hayvan ağırlıklarında kısa süreli düşüş gözlenirken kanser gelişen gruplarda bu düşüş daha belirgindi. Splenektomi yapılmayan tümürlü hayvanlarda splenomegali oluştu. Splenektomi yapılan farelerde belirgin lökositoz izlendi ve özellikle tümör gelişiminden sonra dalağı çıkartılan farelerde tümör büyümesinde anlamlı yavaşlama görüldü. Dalakta ve karaciğerde yüksek düzeyde MKH (CD11b⁺Gr-1⁺) ve immatür granülositik hücre (CD11b⁺Ly6C^{lo}Ly6G⁺) birikimi olduğu saptanmıştır. Splenektomi sonrasında ise, periferik kanda ve karaciğerde hem granülositik hem de monositik (CD11b⁺Ly6C^{hi}Ly6G⁻) MKH düzeyinin belirgin şekilde arttığı saptanmıştır. Bu çalışmada splenomegaliye neden olan ve immün baskılama kapasitesi bulunan MKH hücrelerinin splenektomi ile azaltılmasının tümör gelişimini yavaşlatabileceğine dair bilgiler elde edilmiştir. Ancak, dalak yokluğunda MKH'lerin karaciğere yığılması ve periferik dolaşımda belirgin artış göstermesi tümör gelişimine verdikleri desteğin sekteye uğrasa bile devam ettiğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dalak, Kanser, Miyeloid hücre

[PS-050][Kanser immünolojisi]**Kostimülatör ICOS-LG molekülünün akut myeloid lösemi ve meme kanseri alt-tiplerinde incelenmesi**Pınar Karaşar¹, Didem Özkazanç¹, Güldal Esendağlı Yılmaz², Güneş Esendağlı¹¹Hacettepe Üniversitesi, Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı, Ankara²Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

Genel bilgi ve Amaç: T hücreler aktive olmak için, antijenleri tanıdıkları reseptörden kaynaklanan uyarımın yanı sıra ikincil sinyallere de gereksinim duyar. Bu ikincil sinyaller B7 ligand ailesi veya diğer ko-stimülatör moleküller tarafından sağlanır. B7 ligandları T hücre yanıtını düzenleyen en kritik ko-stimülatör moleküllerdir. Bu moleküller esas olarak profesyonel antijen sunucu hücreler (ASH) tarafından ifade edilseler de bazı tümör hücrelerinin yüzeyinde eksprese olduğu bildirilmektedir. ICOS-LG (B7-H2), T hücre aktivasyonunu destekleyen başlıca ko-stimülatör molekülleri arasında yer alır. Bu çalışmada, inflamatuvar uyarımlar IFN- γ ve LPS varlığında farklı matürasyon basamaklarındaki akut myeloid lösemi (AML) ve farklı moleküler alt-tiplere sahip meme kanseri hücre hatlarındaki B7-H2 mRNA ve protein düzeylerindeki değişimin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, insan meme kanseri dokularında B7-H2 ekspresyonu ve meme kanserinin moleküler alt-tipine göre dağılımı da araştırılmıştır.

Yöntem: AML hücre hatları (HL-60, THP1, U937, Kasumi-1, KG-1) ve meme kanseri hücre hatları (MCF-7, BT-474, MDA-MB-231, MDA-MB-468, SK-BR-3, HCC38, T-47D, ZR-75-1) ile normal meme epitel hücre hattı MCF-12A'nın kültürleri ayrı ayrı gerçekleştirildi. Meme kanseri hücre hatları 20 saat boyunca 1 μ g/ml LPS ve/veya 200 U/ml IFN- γ ile inkübe edildi. AML hücreleri 200 U/ml IFN- γ ve/veya LPS ile 0, 4, 8, 16, 24, 32, 64, ve 128 saat boyunca uyarıldılar. Periferik kandan izole edilen mononükleer hücreler ise 16 ve 64 saat boyunca IFN- γ ve LPS ile uyarılmıştır. ICOS-LG mRNA düzeyleri RT-PCR ile protein düzeyi ise akım sitometri ile belirlenmiştir. İnsan doku örneklerinde ICOS-LG varlığı immünohistokimyasal boyama ile araştırılmıştır.

Bulgular-Sonuç: Meme kanserinde ICOS-LG: Lüminal tipteki meme kanseri hücre hatlarında daha yaygın olduğu (%30-60) görüldü. LPS uyarımı ICOS-LG ifadesinde bir fark yaratmazken IFN- γ ile sadece Her2hi SK-BR-3 hücresinde azalma saptanmıştır. Bazal-benzeri alt tipteki hücrelerde ise ICOS-LG özellikle protein düzeyinde %3-8 aralığında pozitiflik gösterdi. İnsan meme kanseri dokularında ise, özellikle evre-III ER+ lüminal tipteki meme kanserlerinde güçlü boyanma gözlemlendi. AML'de ICOS-LG: ICOS-LG düzeyleri AML hücre hatları içinde matürasyonla ters orantılı bir grafik çizmiştir (KG-1>HL-60>Kasumi-1>THP-1>U937>Periferik kan mononükleer hücre). KG-1, Kasumi-1 ve HL-60 mRNA düzeylerinde çok az veya hiç değişim görülmezken daha matür THP-1 ve U937 de IFN- γ ile özellikle 16.saatte artan ICOS-LG düzeyi ilerleyen saatlerde yine eski seviyesine dönmektedir. Bütün hücrelerde uzun süre IFN- γ uyarımı ile (özellikle 32 saatten sonra) ICOS-LG proteininin iyice düştüğü gözlemlendi. ICOS-LG ko-stimülatör molekülünün hem meme lüminal alt-tipinde hem de AML'de belirgin düzeyde bulunması ve IFN- γ varlığında ekspresyon kinetiğinin değişmesi, bu molekülün meme kanseri ve AML alt-tiplerinde inflamatuvar mikroçevreye katkı sağlayabileceğine, özellikle T hücre aktivasyonunun düzenlenmesinde etkili olabileceğine dair çıkarımlar yapılabilir.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, AML, ICOS-LG

[PS-051][Kanser immünolojisi]**CCRL2 atipik kemokin reseptörü izoformlarının ekspresyonu meme kanserinde inflammatuvar yanıt ile ilişkilidir**

Parisa Sarmađı¹, Gürcan Tunalı¹, Güldal Esendağlı Yılmaz², Kerim Bora Yılmaz³, Güneş Esendađlı¹

¹Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

³Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Ankara

Genel bilgi ve Amaç: Atipik kemokin reseptörleri (AKR'ler) özgül kemokinlerin gradyanını doğrudan tuzak reseptör gibi davranarak şekillendirir ve inflammasyonun düzenleyicisi olarak fonksiyon gösterirler. Kanser gibi inflammatuvar hastalıklarda da AKR'lerin rol oynayabileceği belirtilmektedir. Bu çalışmanın amacı, en yeni AKR üyeleri arasında bulunan sinyal iletmeyen yedi transmembran-geçişli (7TM) reseptör CCRL2 (AKR5)'nin meme kanserinde ekspresyonu ve inflammatuvar yanıtın arasındaki ilişkiyi incelemektir. İnsanlarda CCRL2'ye ait CRAM-A ve CRAM-B olarak adlandırılan iki izoform bulunmaktadır.

Yöntem: Arşivlenmiş parafine gömülü ve taze elde edilmiş meme kanseri doku örnekleri örnekleri kullanılarak CCRL2 mRNA (her iki varyant, RT-PCR) ve protein (immünohistokimya) düzeyi araştırıldı. Meme kanseri hücre hatları proinflammatuvar sitokinler (IL-1b, IL-6, TNF-a, IFN-g) ile uyarılarak CCRL2 varyantlarının gen ekspresyon düzeyi belirlendi ve Western-Blot ile bulgular doğrulandı. CRAM-A varyantı ile fonksiyonel analizler yapılması amacı ile rekombinant CRAM-A ekspresyon kasetini oluşturuldu. Bu kaset HEK293T hücrelerine ve BT-474 meme kanseri hücrelerine aktararak ilgili genin aşırı ekspresyonu sağlandı. Akım sitometri ve ELISA (CCL19 ve CCL5) analizleri ile ortamdan kemokin uzaklaştırma ve internalize olma düzeyleri bloklayıcı antikorlar varlığında araştırıldı.

Bulgular-Sonuç: Bu çalışmada ilk defa, CCRL2 ekspresyonu insan meme kanserinde belirlendi ve insan dokularındaki immün infiltrasyon ile ilişkili olduğu bulundu. Moleküler (ER+ luminal veya triple-negatif bazal-benzeri) karakterlerinden bağımsız olarak, çoğu meme kanseri hücreleri CCRL2'yi pro-inflammatuvar sitokinler varlığında ifade etme kapasitesine sahipti. Ayrıca, IFN-g CCRL2 (CRAM-A) alternatif transkript varyantının esas indükleyicisi idi. Rekombinant CRAM-A molekülü ile yapılan analizlerde, bu AKR'nin meme kanseri mikroçevresinde yüksek ölçüde eksprese olan CCL19 düzeyini değiştirme potansiyelinin olabileceği yönünde bulgulara ulaşıldı. Sonuç olarak, CCRL2'nin varlığı, özellikle CRAM-A izoformu, tümörlerin inflammatuvar karakterine işaret eden bir belirteçtir ve bu molekülün meme kanserinde immün yanıtlarının düzenleyicisi olarak görev yapabileceği düşünölmüştür.

Anahtar Kelimeler: immün yanıt, meme kanseri, inflammasyon

[PS-052][Kanser immünolojisi]**Kronik Lenfositik Lösemide TCTP/HRF ve Mcl-1 İfadelenmesi**

Handan Kayhan¹, Münci Yağcı¹, Asuman Sunguroğlu², Sanem Gökçen¹, Canan Kızılkaya¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Erişkin Hematoloji Bilim Dalı

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı

Amaç:

Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) erişkinde en sık görülen lösemi tipidir. Genetik yatkınlık dışında etyolojik bir faktör saptanamamıştır. KLL'de apoptoz mekanizmasının bozulduğu, apoptozu önleyen Bcl-2, Mcl-1 gibi proteinlerin yüksek düzeyde ifade edildiği bilinmektedir. Bu antiapoptotik proteinlerin aşırı ifadesinin tedavi yanıtı ve sağkalımı olumsuz etkilediği saptanmıştır.

Translasyonel Olarak Kontrol Edilen Tümör Proteini (TCTP) şu ana dek çalışılan tüm ökoryatlarda görülen, evrimsel olarak iyi korunmuş çok işlevli bir proteindir. İşlevleri arasında hücre proliferasyonunu indüklemesi, apoptozu engellemesi, histamin salınımını uyarması, immün yanıtta hücreler arası sinyal molekülü rolü ve B hücre proliferasyonunu uyarması sayılabilir. TCTP şaperon bir proteindir. Antiapoptotik Mcl-1'e bağlanır ve onu kararlı hale getirir.

TCTP bazı kanser tiplerinde aşırı ifade edilir ve ifadesinin azaltılması kanser hücrelerinin yaşamasını olumsuz etkiler. U937 ve diğer tümör hücrelerinde siRNA ve antisens oligonükleotidler kullanılarak TCTP ifadesi inhibe edildiğinde apoptozun arttığı görülmüştür. Tuynder ve ark.nın yaptığı bir diğer çalışma malign hücrede TCTP'nin baskılanmasının tümör geri dönüşümü / iyileşmesine ("tumor reversion") neden olduğunu göstermiştir (Tuynder M. ve ark., 2002 ve 2004).

Literatürde KLL TCTP ilişkisini inceleyen bir çalışma yoktur. TCTP ve Mcl-1 KLL patogeneğinde, hastalığın ilerlemesi ve tedavi direncinde rol oynayabilir.

Gereç-Yöntem:

KLL lenfositlerinde TCTP seviyesi protein (akım sitometri) ve mRNA (Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu: "Real time PCR") düzeyinde belirlendi ve hasta olmayan normal insanlarınkiyle karşılaştırıldı.

Sonuç:

Yapılan çalışmada TCTP ve Mcl-1 KLL hastalarında sağlıklı bireylere göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p < 0,001). TCTP ve Mcl-1 düzeyleri arasında çok kuvvetli ilişkili gözlenmiştir (p < 0,001). Ancak KLL'de TCTP ve Mcl-1 düzeyleri ile hastalığın evresi, sitogenetik anormallikler ve CD38 düzeyi arasında ilişki bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: HRF, KLL, Mcl-1

HRF'nin özellikleri ve görevleri

Gelişim
- TCTP-noksan *D.melanogaster*'de organ büyüklüğü ve hücre sayısı küçülmüştür
- TCTP-noksan fare ana karında ölmüştür

Transkripsiyon faktörüdür
- OCT4
- NANOG


Tümör geri dönüşümünde rolü vardır
- Yumurtalık kanseri hücrelerinde TSC22'yi stabilize ederek apoptozu önlediği belirlendi

Yeni bir "Heat shock protein" olabilir

Farmakolojik hedeftir
Sertraline, thioridazine ve artemisinin

Anti-apoptotik
- MCL1 ve BCL-XL aktivitesini artırır,
- BAX dimerizasyonunu inhibe eder

CREB transkripsiyon faktörleri tarafından düzenlenir



Protein Sentezi
- Translasyon aşamasında Uzama faktörleri EF1Bβ ve EF1A 'ya Bağlanır
- "GDP dissociation inhibitor" olarak hareket eder

İlgiliplikleri ile bağlantılıdır
- CHF1R'ye bağlanır
- PLK tarafından fosforillenir

Ca bağlama bölgesi içerir
Plasental Ca transportunda rolü vardır

Yaşam sürdürücü faktördür

Protein salgısı ve veziküler trafik
TSAP6 ve p53 kontrolü altında eksozomlar yoluyla protein salgısında rolü var

Alerji
- Histamin salgılayıcı faktördür
- Basofillerden histamin salgısını uyarır
- IL3 bağımsız yolak

Potansiyel tedavi hedefidir
Prostat kanserinde siRNA'lar kullanılarak TCTP baskılanmıştır

İlaç allerjisinde rolü olabilir

Büyüme ve yaşam devamlılığı
B hücreleri için büyüme faktörü

KLL hastalarının kontrollere göre istatistiksel değerlendirme sonuçları.

	TCTP miRNA Değeri (log2+/U)	TCTP Protein Yüzdeleri	Mcl-1 Protein Yüzdeleri	Bel Evre	Çal. Sırasındaki Birinci Kan Hücreleri	Çal. Sırasındaki Hemoglobün Miktarı	Plaklet Sayısı	Serbest Kapsa Düzeyi	Serbest Lambda Düzeyi
TCTP miRNA Değeri (log2+/U)		<0,001, r=0,555	<0,001, r=0,598	0,48	0,628	0,784	0,085	0,323	0,261
TCTP Protein Yüzdeleri	<0,001, r=0,555		<0,001, r=0,923	0,179	0,08	0,316	0,155	0,079	0,955
Mcl-1 Protein Yüzdeleri	<0,001, r=0,598	<0,001, r=0,923		0,535	0,142	0,401	0,145	0,067	0,938
Çalışma Sırasındaki Lenfosit Sayısı	0,018, r=0,354	0,002, r=0,419	0,004, r=0,399	0,877	0,67	0,025, r=-0,521	0,098	0,899	0,863
Çal. Sırasındaki Normal Kan Hücreleri	0,628	0,08	0,142	0,045, r=-0,300		<0,001, r=0,858	0,018, r=0,347	0,204	0,847
Çal. Sırasındaki Hemoglobün Miktarı	0,784	0,316	0,401	0,009, r=-0,387	<0,001, r=0,923		0,007, r=0,396	0,173	0,048, r=-0,326
Plaklet Sayısı	0,085	0,155	0,145	0,001, r=-0,498	0,018, r=0,347	0,007, r=0,396		<0,001, r=0,591	0,048, r=-0,352
Serbest Kapsa Düzeyi	0,323	0,079	0,067	0,006, r=-0,448	0,204	0,173	<0,001, r=0,591		0,003, r=-0,472
Serbest Lambda Düzeyi	0,261	0,955	0,938	0,458	0,347	0,048, r=-0,326	0,048, r=-0,332	0,003, r=-0,472	
Zap70 Yüzdeleri	0,025, r=0,359	0,079	0,063	0,233	0,439	0,415	0,646	0,652	0,712

Tüm KLL hastalarının kontrollere göre istatistiksel karşılaştırma sonuçları. İstatistiksel olarak anlamlı p değerleri (Spearman's rho) koyu olarak gösterilmiştir.

[PS-053][Kanser immünolojisi]**Proinflamatuar Sitokinler Varlığında Meme Kanseri Hücrelerinden Fibronektin Üretimi ve Miyeloid Hücre Olgunlaşmasına Etkisi**

Gürçan Tunalı, Güneş Esendağlı

Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

Amaç: Tümör mikroçevresinde bulunan miyeloid hücreler kanserin ilerlemesine neden olacak şekilde tümör-aracılı immün düzenlemeye maruz kalır. Tümör tarafından üretilen hücre-dışı matriks bileşenleri, özellikle fibronektin, miyeloid kökenli hücrelerin olgunlaşma ve farklılaşmasına katkıda bulunabilir. Bu çalışmada, inflamatuvar koşullar altında meme kanseri hücrelerinde fibronektin ekspresyonundaki değişim ve fibronektinin miyeloid farklılaşma üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Gereç-Yöntem: Pro-inflamatuar sitokinler (IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve IFN- γ) ile uyarılan meme kanseri hücrelerinde (MCF-7, BT-474, SK-BR-3, MDA-MB-468, MDA-MB-231 ve HCC38) fibronektin ekspresyonu real-time RT-PCR, akım sitometri ve ELISA ile değerlendirildi. Sonuçlar Western-Blot analizi ile doğrulandı. Miyeloid-kökenli hücre hatları (THP-1 ve U937) immatür miyeloid hücre modeli olarak kullanıldı. Miyeloid hücreler, ilgili meme kanseri hücre süpernatantları ile kültür yapıldı. Bu miyeloid hücrelerde fibronektin bağlama kapasitesine sahip reseptörler olan α 4, α 5, α V, α X, α M, β 1, β 3, β 7 integrinlerin gen ekspresyon düzeyindeki değişimi belirlendi. Fibronektinin bu reseptörlerle etkileşim düzeyini değiştirmek amacıyla fibronektin bloklayıcı antikor veya rekombinant fibronektin varlığında deneyler gerçekleştirildi. Miyeloid hücrelerin canlılığı (Annexin V/PI), çoğalma düzeyi (CFSE) ve fonksiyonları (DCFH-DA ile ROS üretimi ve opsonize lateks boncuklar ile fagositoz yeteneği) akım sitometri ile analiz edildi.

Bulgular: Bazal-benzeri meme kanseri hücrelerinde fibronektinin hali hazırda yüksek düzeyde bulunduğu ve inflamatuvar sitokinler varlığında gen ekspresyonunda görülen belirgin artışın her zaman hücre içi ve salgılanan protein düzeyine yansımadağı görüldü. Hem bazal-benzeri hem de lüminal meme kanseri hücrelerinde, IL-1 β varlığında fibronektin ekspresyonunun mRNA ve protein düzeyinde stabilizasyonu gerçekleşti. Diğer taraftan, özellikle IL-6 ve IFN- γ ile uyarılan bazal-benzeri meme kanseri hücrelerinde fibronektin üretiminin azaldığı tespit edildi. Bazal benzeri meme kanseri hücre süpernatantları ile kültürü yapılan miyeloid hücrelerde α X, β 3 ve β 7 integrin düzeylerinin arttığı gözlemlendi. Fibronektin düzeyi bloklanan veya artırılan bazal benzeri meme kanseri hücre süpernatantlarının miyeloid hücrelerin fagositoz kapasitesinde, ROS üretiminde, canlılığında ve çoğalma kapasitesinde anlamlı düzeyde değişikliğe neden olmadığı belirlendi.

Sonuç: Bu çalışmada, meme kanseri hücrelerinden salgılanan fibronektinin miyeloid hücre matürasyonunu tek başına değiştirme kapasitesine sahip olmadığına dair bulgulara ulaşılmıştır. Ancak, özellikle IL-1 β varlığında artan fibronektin düzeylerinin proinflamatuar sitokinlerin miyeloid matürasyon üzerindeki etkisini güçlendirebileceği yönünde yeni hipotezler kurulmuştur.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir (KBAG, 113Z923).

Anahtar Kelimeler: Fibronektin, meme kanseri, miyeloid hücre

[PS-054][Kanser immünolojisi]**Siçan kimyasal meme kanseri modelinde tümör mikroçevresi elemanlarından Kanserle İlişkili Fibroblastların karakterizasyonu ve tümörün immün kaçıışı üzerine etki mekanizmalarının değerlendirilmesi**

Gürcan Günaydın, Dicle Güç

Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

Amaç: Tümörlere karşı eliminasyon, denge ve kaçış olmak üzere üç evrede incelenen immün yanıtlarda, efektör T hücreleri önemli rol oynamaktadır. Tümöre infiltre olan T hücrelerindeki fonksiyonel yetersizliğe yol açan hücre ve moleküllerin tespiti ile ilgili araştırmalar genellikle tümör hücrelerinin, dendritik hücrelerin ve regülatuar T hücrelerinin üzerine odaklanmış; stromal hücresel elemanların katkısı ise yeterince aydınlatılmamıştır. Fibroblastlar tümör mikroçevresinde Kanserle ilişkili fibroblastlara (KİF) dönüşürler. Tümöre karşı gelişen yetersiz T hücre yanıtlarında KİF'lerin önemli rolü olduğu düşünülmektedir, ancak bu konuda çalışmalar kısıtlıdır. Bu çalışmayla KİF'lerin morfolojik / fenotipik karakterizasyonu ve böylece tümör mikroçevresinin tümöre karşı immün yanıtlardaki rolüne yeni bir bakış açısı getirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: NMU (N-Nitrozo N-Metil Üre) aracılı siçan kimyasal meme karsinogenez modeli kullanılmıştır. 21 günlük dişi Sprague Dawley siçanlara 4 hafta süreyle haftada bir kez NMU enjekte edilmiştir. Hayvanlar yaklaşık 3 aylık olduklarında, oluşan tümörler steril koşullar altında cerrahi olarak çıkarılarak KİF izolasyonu için kullanılmıştır. Kollajenaz ve Hyaluronidaz enzimleri aracılı yöntemle meme tümör dokularından fibroblast izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde dokular enzimle parçalandıktan sonra, fibroblast seçici ortamda kültüre alınmıştır. Sağlıklı meme dokularından normal doku fibroblastı (NF) izolasyonu da benzer protokol ile gerçekleştirilmiştir. KİF'ler ve NF'ler; α -SMA ve vimentin gibi yüzey belirteçlerindeki ekspresyon farklılıklarının gösterilmesi için immünsitokimya ile değerlendirilmiştir ve böylece KİF hücrelerinin normal doku fibroblastlarından ayrımı yapılabilmektedir. Comet analizleri ile NMU enjeksiyonlarına bağlı muhtemel DNA hasarı farklı zamanlarda değerlendirilmiştir. KİF ve NF hücrelerinin yüzey belirteç ekspresyonları, akım sitometri tekniğiyle değerlendirilmiştir. Hem KİF hem de NF hücrelerinin, splenosit hücreleriyle kokültürleri yapılmış ve CFSE proliferasyon analizi yöntemiyle fonksiyonel değerlendirmeler yapılmıştır. Ayrıca, kokültürlerden elde edilen splenositlerde aktivasyon ve sitotoksikite belirteçlerinin gen ekspresyon düzeyleri, Real-Time RT-PCR kullanılarak incelenmiştir.

Bulgular: İmmünsitokimya, KİF'lerde ve NF'lerde vimentin ekspresyonunun benzer düzeyde olduğunu göstermiştir. Histolojik incelemeler bu iki hücre tipi arasında belirgin morfolojik farklar göstermiştir. Comet analizlerinde tümörlü hayvanlarda son NMU enjeksiyonundan 2-3 ay sonraki DNA hasarı seviyesi, kontrol hayvanlardaki düzeye benzer bulunmuştur. Akım sitometri incelemelerinde, KİF hücrelerinin CD80 ekspresyon etmediği izlenmiştir. Ayrıca, bu hücrelerde granulositik veya nötrofilik belirteçler de ekspresyon edilmemektedir. CFSE proliferasyon deneyleriyle yapılan fonksiyonel analizler, KİF'lerin splenositler üzerinde immünsupresif etkileri olduğunu göstermiştir. KİF ile kokültür yapılmış splenositlerde aktivasyon belirteçlerinin gen ekspresyonlarında azalma olduğu izlenmiştir.

Sonuç: Siçan kimyasal meme karsinogenez modeli etkin bir şekilde kullanılarak stabil KİF ve NF izolasyonları gerçekleştirilmiştir. KİF hücrelerinin hem morfolojik hem de fenotipik özellikleri incelenmiştir. Ayrıca, T hücrelerinde meydana gelen değişiklikler hem fonksiyonel analizler hem de gen ve protein düzeyinde incelemeler ile değerlendirilmiştir.

Bu proje, TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No: 111S271).

Anahtar Kelimeler: fibroblast, meme kanseri, tümör mikroçevresi

[PS-055][Kanser immünolojisi]**Kolorektal Kanser Gelişiminde CTLA4'ün-CD28 Gen Variantlarının Etkileri**

Bayram Kıran¹, Ozlem Kuçukhuseyin², Saime Turan², Soykan Arıkan³, Yigit Duzkoğlu³, Ezgi Nurdan Yenilmez², Arzu Ergen², Umit Zeybek², Gulbu Isitmangil⁴, Huseyin Vahit Kıran⁵, Ilhan Yaylım²

¹Kastamonu Üniversitesi

²Istanbul Üniversitesi, DETAE

³Istanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi

⁴Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi

⁵Anadolu Üniversitesi

Amaç:

CTLA4'ün 318 dağılımını belirlemektir C> T (rs5742909), CTLA4 49 A> G (rs231775) ve CD28 C> T (rs3116496) varyantları ve CRC hastalarında CTLA4'ün ve CD28 plazma seviyeleri risk ve hastalığın ilerlemesini değerlendirmek ve tedavi stratejileri geliştirmek için daha ileri. Gereç-Yöntem: 80 CRC hasta ve kontrol grubu olarak 115 sağlıklı gönüllü bu çalışmaya dahil edildi. CTLA4 318 ° C> T (rs5742909), CTLA4 49 A> G (rs231775) ve CD28 C> T (rs3116496) genotipleri polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon kullanarak fragmanı uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ve sCTLA4 ve sCD28 tarafından belirlendi serum seviyeleri imalatçının talimatlarına uygun olarak (ELISA) kit bağlı immünosorban ticari olarak temin edilebilen enzim kullanılarak belirlenmiştir.

Bulgular:

sCTLA4 ve sCD28 serum düzeyleri hastalarda ve sağlıklı kişilerde (p <0.001) arasında anlamlı bir farklılık. CRC hastalar v sağlıklı kontrolde sCTLA4 serum seviyeleri 0.326 ± 0.034ng / ml → 0,372 ± 0.039ng / ml ve sCD28 seviyeleri için 2.63 ± 0.473ng / ml → 2.10 ± 0.220ng / ml oldu. Bizim çalışma gruplarında CTLA4 -318C / T, CTLA4 49A> G ve CD28 genotipleri analiz Öte yandan, biz CTLA4 -318C / T genotipleri ve kolorektal kanser riski arasındaki önemini tespit ettik. hastalarda genotip dağılımları% 92.5 CC,% 7.5 BT, CTLA4 318 ° C> T (rs5742909) için% 0,0 TT; % 47.5 AA,% 45.0 AG, CTLA4 49 A> G (rs231775) için% 7.5 GG; ve% 6.2 CC,% 33.8 BT, CD28 C> T (rs3116496) için 40.0% TT ve kontrol grubunda bu% 77.8,% 20.4,% 1.8 idi; % 46.9,% 45.1,% 8.0; ve 12.4%, sırasıyla% 32.7,% 54.9, Öte yandan, CRC hastalarında CTLA4 49A> G polimorfizmi ile sCD28 düzeyleri arasında bir ilişki vardı. Anjiolenfatik işgali var AG genotipi taşıyıcıları işgali bu tür yoksun olanların daha düşük sCD28 seviyeleri var.

Sonuç:

Kanserin önceki çalışmalar, kanser ilerlemesi bağışıklık sisteminin destekleyici rolleri belirtildiği gibi, kolorektal kanser riski CTLA4-CD28 polimorfizmleri ve bu proteinlerin çözünür düzeyleri ile ilişkili olabileceği ileri sürülebilir. Bu çalışmada C> T, sCTLA4'ün -49 A> G, CD28 C> T polimorfizmleri ve patogenezi Türk halkı arasında sCTLA4 veya sCD28 düzeyleri veya CTLA4'ün -318 arasındaki bağlantıyı kurmak için bir ön çalışma oldu. CTLA4 ve CD28 varyantları plazma seviyeleri veya bu proteinlerin fonksiyonlarını ya etkileyebilecek olup büyük kohortlarda ile daha ileri çalışmalar belirlemek için gereklidir.

Anahtar Kelimeler: kolon, polimorfizm, CD28

[PS-056][Kanser immünolojisi]**HER2+ Meme Kanseri Hücrelerinde PI3K/Akt/mTOR Yolağı İnhibitörlerinin IL-8 ve CXCR1 mRNA Ekspresyonuna Etkisi**

Burcu Şirin, M. Emre Gedik, A. Lale Doğan, Emin Kansu
Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

Amaç: Meme kanserinde HER2-HER3 heterodimeri en potent onkojenik dimerdir. HER2 ve HER3 reseptör tirozin kinazların (RTK) birlikte ekspresyonu meme kanseri hücrelerinde interleükin (IL)-8 salınımını ve invazyonu uyarmaktadır. CXCR1 ve CXCR2, IL-8 sinyalini ileten reseptörlerdir. Meme kanserinde, PI3K (Fosfatidilinozitol 3 kinaz)/Akt/mTOR sinyal yolağının onkojenik aktivasyonuna sıklıkla rastlanılmaktadır. Bu çalışmada, HER2 (İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2) ekspresyonu artmış olan SKBR-3 insan meme kanseri hücre dizisinde;
a) PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağı inhibitörleri olan PI-103 ve AKTi'nin, HER2, HER3, IL8 ve CXCR1 mRNA ekspresyonlarına etkisini ve
b) PI-103'ün zamana bağlı olarak aktive RTK'ların (p-HER2 ve p-HER3) ekspresyonuna etkisini incelemek amaçlandı.

Gereç-Yöntem: a) SKBR-3 hücreleri, hücre kültürü koşullarında, 8 ve 24 saat süreyle AKTi ve PI-103 ile muamele edildi. Daha sonra, Eş zamanlı PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile bu ajanların HER2, HER3, IL-8 ve CXCR1 mRNA ekspresyonlarına etkisi incelendi.
b) SKBR-3 hücrelerine, hücre kültürü ortamında farklı süreler ile PI-103 (1-3-6-12-24 saat) ilaç uygulaması yapıldı ve protein lizatları hazırlandı. SKBR-3 hücrelerinde, p-HER2 ve p-HER3 ekspresyonu analizleri Western blot yöntemi ile incelendi. Tüm sonuçlar student t testi ile analiz edildi ve $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: a) AKTi ve PI-103'ün 8 ve 24 saatlik inkübasyonları sonucunda HER2 ve HER3 mRNA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.
b) AKTi'nin 8 ve 24 saatlik inkübasyonları sonucunda, IL8 ve CXCR1 mRNA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenirken, PI-103 inkübasyonu IL8 ve CXCR1 mRNA düzeylerinde anlamlı değişiklik yapmadı.
c) PI-103'ün p-HER2 ve p-HER3 ekspresyonlarına etkisi incelendiğinde, bu ajanın kontrol hücrelerinde izlenen fosfoprotein paternini değiştirmedeği saptandı. SKBR3 hücrelerinde, aktive RTK düzeylerinin değişmemesi, total protein düzeylerinin ilaçtan etkilenmemesi ile uyumlu bulundu.

Sonuç: PI-103 ile sağlanan tersinir inhibisyon HER2 ve HER3 ekspresyonunu ve reaktivasyonunu tetiklememektedir. IL-8 ve CXCR1 mRNA düzeylerinin PI-103'ten etkilenmemesi de reaktivasyonun olmaması ile uyumludur. PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağının AKTi ile inhibisyonu ise IL8 ve CXCR1 mRNA ekspresyonlarını anlamlı olarak azalmaktadır. Bu azalış, SKBR-3 hücrelerinde, Akt inhibisyonunun transkripsiyonel regülasyonu etkilediğine işaret etmektedir.

Bu proje, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (BAP Proje No:013 D12 104 001) ve Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: HER2, HER3, IL-8

[PS-057][Kanser immünolojisi]**Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Hastalarda CD8+ T Lenfosit ve NK Hücre Sitotoksik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi**

Bahar Eryaşar¹, Esin Aktaş Çetin¹, Umut Can Küçüksezer¹, Nilgün Akdeniz¹, Abdullah Yılmaz¹, Akif Turna², Günnur Deniz¹

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

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

Amaç: Küçük hücre dışı akciğer kanseri olup (KHDAK) yaşam şansı yüksek hastalar Evre IA (T1aN0M0) olgulardır, ancak bu grubun bile yaklaşık üçte biri teşhisten sonraki 5 yıl içinde yaşamını kaybetmektedir. Bu nedenle, akciğer kanserli hastalarda, en uygun tedaviyi ve prognozu belirleyebilecek, klasik TNM evrelemesi dışında faktörlerin olduğu düşünülmektedir. NK hücreleri salgıladıkları sitokinler ve kemokinler yoluyla immünregülatör rol oynamakta ve tümörlere karşı MHC bağımsız güçlü sitolitik yanıt göstermektedir. Sitotoksik T hücreleri ise MHC molekülleri tarafından sunulan tümör antijenlerini tanıyıp antitümöral immünitede rol oynamaktadır. LAMP-1 olarak da bilinen CD107a yüzey ekspresyonunun CD8+ T hücre ve NK hücre sitotoksitesiyile korele olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda, küçük hücre dışı akciğer kanserlerinde, NK hücreler ve CD8+ T hücre alt gruplarının sitotoksik aktiviteleri ve regülatör rolleri araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamıza T1-T3N0M0 evresinde kemoterapi ve radyoterapi almamış, KHDAK tanılı hastalar (n=4, yaş ortalaması 62 ± 12) ve sağlıklı kontrol grubu (n=6, yaş ortalaması 45 ± 13) dahil edilmiştir. Bu amaçla hasta ve sağlıklı gruptan periferik kan mononükleer hücrelerin (PKMH) izolasyonunu takiben, 1:10 (Hedef hücre:PKMH) oranında uyarımsız ve K562 uyarımlı şartlarda 4 saatlik inkübasyonun ardından NK hücre, CD8dim, CD8bright T hücre alt gruplarında CD107a ekspresyonu flow sitometride analiz edilmiştir. İstatistiksel analizler non-parametrik Wilcoxon ve Mann-Whitney U testleriyle yapılmıştır.

Bulgular: KHDAK grubunda CD107a ekspresyonu K562 ile stimüle NK ve CD8dim hücreleri ile stimülasyonsuz şartlarda CD8dim T hücrelerinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanmasına karşılık CD8bright T hücreleri gruplar arasında fark göstermemiştir (p=0,038, p=0.010 ve p=0.019). Sadece sağlıklı grupta tümör stimülasyonu NK, CD8bright ve CD8dim hücre alt gruplarında stimülasyonsuz şartla kıyaslandığında CD107a regülasyonunda artışla sonuçlanmıştır (p=0.028). Hem KHDAK hem de sağlıklılarda CD8dim T hücrelerinin sitotoksik aktivitesi CD8bright hücre alt grubuna göre yüksek bulunmuş, bu hücre alt grubunun sitotoksik fonksiyonlarda primer rol oynayabileceği düşünülmüştür. (p=0.03 ve p=0.002).

Sonuç: Bulgularımız akciğer kanserli olgularda NK hücre ve CD8dim T lenfosit sitotoksik yanıtlarının sağlıklı bireylere göre azaldığı yönündedir. CD107a regülasyonundaki bozukluk KHDAK hastalarında düşük sağkalım süresinin immünolojik yönünü açıklayabilir.

Anahtar Kelimeler: Kanser immünolojisi, küçük hücre dışı akciğer kanseri, sitotoksikite

[PS-058][Otoimmünite ve tolerans]**Ankilozan Spondilitli Hastalarda IL-23'ün Klinik Ve Laboratuvar Parametreleri İle İlişkisi**

Bilal Elbey¹, Mehmet Orhan Ayyıldız², Ümit Can Yazgan³, Remzi Çevik⁴, İbrahim Kaplan⁵, Mustafa Akif Sarıyıldız⁴

¹Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloj Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

²Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

³Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

⁴Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi Ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Diyarbakır

⁵Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Diyarbakır

Amaç: Aksiyel iskeleti etkileyen, yapısal ve fonksiyonel yetersizlikle birlikte yaşam kalitesinde azalmaya yol açabilen, karakteristik inflamatuvar bel ağrısına sebep olan yaygın romatizmal bir hastalık olan Ankilozan spondilitli (AS) hastalarda İnterlökin-23(IL-23)'ün klinik ve laboratuvar parametreleri ile ilişkisini araştırmak ve aynı zamanda AS'li hastalarda BASDAI (Bath ankilozan spondilit hastalık aktivite indeksi), BASFI (Bath ankilozan spondilit fonksiyonel indeksi), VAS(vizüel analog skala) ve ASQoL(Ankilozan spondilitli hastalarda yaşam kalitesi) ölçeklerini karşılaştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı polikliniğine,15 Aralık 2013-30 Mart 2014 tarihleri arasında başvuran, kronik bel ağrısı olan AS tanısı alan hastalar dahil edildi. Hasta ve kontrol grubunda yaş, cinsiyet, eğitim durumu gibi demografik verileri kaydedildi. Laboratuvar bulgusu olarak ESH, CRP ve IL-23 değerleri kaydedildi. Hastaların fonksiyonel olarak değerlendirilmeleri için BASDAI, BASFI, VAS ve ASQoL ölçekleri kaydedildi.

Bulgular: AS hastalarının IL-23 seviyeleri sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek tespit edildi ($p<0,05$). Korelasyon analizinde IL-23 seviyeleri periferik artrit sayısı ve CRP seviyesi ile pozitif yönde ilişki göstermekteydi. Enteziti olan ve olmayan hastaların klinik ve laboratuvar parametreleri karşılaştırıldığında enteziti olan hastalarda BASDAI, BASFI ve VAS skorları entezit olmayanlara kıyasla anlamlı yüksekti ($p<0,05$). ASQoL skoru yüksek/düşük olan hastalarda AS'nin klinik ve laboratuvar parametreleri (IL-23,ESH, CRP) karşılaştırıldığında ASQoL skoru yüksek olan hastalarda BASDAI, BASFI, VAS skorları anlamlı yüksekti ($p<0,05$). Laboratuvar parametrelerindeki ESH anlamlı yüksekti.

Sonuç: Ankilozan Spondilitin AS progresif bir hastalık olduğunu, hastaların yaşam boyu izlenmesi gerektiğini, CRP ye göre daha pahalı olsa da IL-23'ün de laboratuvar bulgusu olarak kullanabileceğini ve BASDAI, BASFI, VAS ve ASQoL'ün bu izlemlerde faydalı olabileceğini söyleyebiliriz. Ayrıca tedavide IL-23 baskılanmasının ne kadar anlamlı olacağı mutlaka araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Ankilozan Spondilit, BASDAI, IL-23

Hasta ve kontrol grubunun demografik verileri

	kontrol n=42	hasta n=38	P
Yaş	30.02±6.24	32.42±7.06	0.13
Boy(cm)	173.9±6.98	173.0±7.5	0.42
Kilo(kg)	72.16±11.70	73.84±14.07	0.69
ESH	4.12±1.34	13.68±1.83	<=0.001
CRP	0.47±0.14	2.07±3.23	0.013
IL-23	22.03±17.75	31.08±17.49	0.012

SD:Standart Deviasyon, SH: standart hata ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı,CRP: C Reaktif Protein, IL23: Interlökin 23

Hastaların ilaç gruplarındaki akut faz reaktanlarının demografik verilerle ilişkisi

	1. İlaç Grubu n=8	2. ilaç grubu n=9	3. ilaç grubu n=21	P
Yaş	32.1±7.56	32.3±7.92	32.5±6.86	0.99
Boy (cm)	168±9.47	175±7.49	173±7.5	0.19
Kilo (kg)	71.1±11.0	75.3±22.0	76.4±12.2	0.77
ESH	18.5±14.28	12.4±10.02	12.3±11.65	0.30
CRP	3.3±5.46	1.22±1.27	1.94±2.68	0.83
IL-23	19.67±13.88	33.30±15.72	34.47±18.26	0.13

SD:Standart Deviasyon, SH: standart hata, ESH: eritrosite sedimentasyon hızı,CRP: C Reaktif Protein, IL-23: Interlökin 23

Hasta gruplarında klinik parametrelerin karşılaştırılması

	1. İlaç grubu n=8	2. İlaç grubu n=9	3. İlaç grubu n=21	P
VAS	6.56±1.91	6.83±2.17	2.90±2.16	<0.001
ASQoL	25.50±7.32	24.22±4.91	30.33±5.74	0.026
BASDAI	5.53±2.44	5.4±2.07	2.74±2.16	0.003
BASFI	3.25±2.56	3.46±2.56	1.56±1.85	0.044
Sabah tutukluğu süresi	35.62±32.00	55.55±45.51	31.66±37.09	0.33
Sabah tutukluğu şiddeti	5.25±3.95	6.33±3.46	2.66±2.83	0.029

VAS:vizüel analog skala, ASQoL: Ankilozan spondilitli hastalarda yaşam kalitesi skoru, BASDAI: Bath ankilozan spondilit,BASFI: Bath ankilozan spondilit fonksiyonel indeksi

[PS-059][Otoimmünite ve tolerans]**Loneatriyal Fibrilasyon Hastalarında beta-1 Adrenerjik Reseptörlere Karşı Otoantikor Düzeyleri**

Muhammed Ulvi Yalçın¹, Murat Kadri Gürses¹, Duygu Koçyiğit¹, Sacit Altuğ Kesikli², Kudret Aytemir¹, Dicle Güç²

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı

²Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı

Amaç:

Beta- 1 adrenerjik reseptörler, kardiyak yerleşimli G- protein ilişkili reseptörlerdendir. Ventriküler aritmiler, iletim bozuklukları ve atriyal fibrilasyon (AF) gibi çeşitli aritmilerde; dilate kardiyomyopati ile Graves' hipertiroidisinde bu reseptörlere agonist etki gösteren otoantikorlar gözlenmiştir. Bu çalışmada amacımız paroksizmal lone AF hastaları ve sağlıklı kontrol bireyleri arasında beta- 1 adrenerjik reseptörlere karşı otoantikor (anti- β 1-R) düzeylerini kıyaslamak ve otoantikor düzeylerinin bağımsız öngörücülerini belirlemektir.

Gereç-Yöntem:

75 paroksizmal lone AF hastası (52.8± 6.8 yaş, %53 erkek) ve yaş ile cinsiyet bakımından eşleşmiş 75 sağlıklı kontrol bireyi (53.3± 6.8 yaş, %54 erkek) çalışmaya dahil edilmiştir. Serum anti- β 1-R düzeyleri, ELISA ile ölçülmüştür.

Bulgular:

Anti- β 1-R düzeylerinin paroksizmal lone AF hastalarında, sağlıklı kontrol bireylerine kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür[102.56 (65.18-348.41) vs. 44.17 (30.89-158.54) ng/mL; p<0.001]. Korelasyon analizinde anti- β 1-R düzeyleri ve kadın cinsiyet (r=0.269, p<0.001), sol atriyum çapı(r=0.290, p<0.001) ile yüksek duyarlılık C- reaktif protein (hs- CRP)(r=0.228, p=0.005) arasında istatistiksel bakımdan anlamlı korelasyon saptanmıştır.

Sonuç:

Serum anti- β 1-R düzeyleri paroksizmal lone AF hastalarında yükselmiştir ve bu yükseklik AF gelişimi için risk faktörü olduğu bilinen kadın cinsiyet ve sol atriyum çapı ve inflamatuvar durumun belirteci olan hs- CRP ile korele seyretmektedir.

Anahtar Kelimeler: Atrial Fibrilasyon, beta-1 adrenerjik reseptör, otoantikor

[PS-060][Otoimmünite ve tolerans]**MEFV Geni R202Q Değişikliği Ailevi Akdeniz Ateşine Neden Olan Bir Mutasyon Olabilir mi?**

Mine Havan¹, Selcan Gürtuna², Hüseyin Tutkak¹, Türker Duman¹

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

²Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bölümü

Amaç: Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) Ermeni, Yahudi, Arap ve Türklerde sıklıkla rastlanan otozomal resesif kalıtılan bir hastalıktır. Hastalıktan sorumlu gen, Pyrin proteinini kodlayan MEFV genidir. Pyrin, inflamasyonda rol oynayan, beyaz kürelerde, nötrofil, eozinofil, monositler gibi hücrelerde eksprese olan bir proteindir. Hücrenin yapısal iskeletini oluşturan, hücrenin büyüklük şekil ve hareketinde önemli olan sitoskeleton ile birlikte bulunur. Pyrin proteininin, sitoskeleton ile etkileşerek inflamasyonun kontrolünde yardımcı olduğu, beyaz kürelerin inflamasyon bölgesine yönelmesinde ve inflamasyonun sonlandırılması ya da yavaşlatılmasında rolü olduğu düşünülmektedir. MEFV geni 16. kromozomun kısa kolunda 13.3 de 3.232.028 ile 3.246.627 baz çiftleri arasında lokalizedir, 10 ekzondan oluşur ve 781 aminoasitten oluşan bir protein kodlar. mutasyonlar yoğun olarak 10. ekzonda bulunur. Bu ekzondaki M694V mutasyonu farklı toplumlardan bildirilen en yaygın mutasyondur. Yapılan çalışmalarda AAA ve M694V, M694I, M680I, V726A and E148Q gibi MEFV mutasyonları arasındaki ilişki açık bir şekilde ortaya konulmuşsa da 2. ekzondaki arjinin (R) glutamin (Q) değişikliğinin klinik önemine ilişkin çelişkili görüşler vardır. İlk olarak Bernot ve ark. tarafından benin bir polimorfizm olarak tanımlanmış ve AAA veri bankasında M694V ile birlikte kalıtılan bir polimorfizm olarak belirtilmişse de son yıllarda hastalığa yol açan bir mutasyon olabileceğini iddia eden çalışmalar yayınlanmıştır.

Bu çalışmanın amacı M694V ile birlikte kalıtıldığı ve polimorfizm olduğu düşünülen 2. ekzondaki R202Q (c.605G>A) değişikliğinin klinik önemini ortaya koymaktır.

Gereç-Yöntem: Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Hastalar imzalı onay formları alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma kapsamında AAA ön tanısıyla laboratuvarımıza gönderilen kan örneklerinden DNA elde edilmiş ve PCR ile 2. ve 10. ekzonlar çoğaltılmıştır. Çoğaltılan ekzonlardaki mutasyonları belirlemek üzere, ABI Prism 310 ve Beckman Coulter CEQ 8000 tam otomatik sekans cihazları kullanılarak DNA dizi analizi yapılmıştır

Bulgular: AAA ön tanısıyla rutin amaçlarla MEFV gen analizi istenen 2000'den fazla örnekten R202Q homozigot 100 kişiyi seçilerek incelenmiştir. Bu örneklerin 52 sinde R202Q homozigotluğu dışında ikinci bir mutasyon bulunmazken, örneklerin 48'sinde R202Q ya eşlik eden M694V heterozigotluğu görülmüştür. Bu kişilerin klinik bilgilerine ulaşılmaya çalışıldığında, 32'sinin AAA ön tanısı doğrulanmıştır, diğerlerinde AAA tanısı doğrulanamamış yada dışlanamamıştır. Tanısı kesinleşmiş R202Q homozigot 15 hastada heterozigot M694V mutasyonu görülmüştür. 17 hastada ise R202Q homozigotluğuna eşlik eden başka bir mutasyon belirlenmemiştir.

Sonuç: Bu çalışmada incelenen 32 kişideki AAA hastalığını R202Q homozigotluğu ile açıklamak mümkün olmakla birlikte, bu kişilerde 2. ve 10. ekzonlar dışında da mutasyonlar olabileceği düşünülmelidir. Bu bakımdan kesin olmasa da elde ettiğimiz sonuçlar R202Q değişikliğinin AAA hastalığına yol açan bir mutasyon olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: AAA, MEFV, R202Q

[PS-061][Otoimmünite ve tolerans]**Behçet Hastalığında Lenfositlerdeki uyarılmış IL-17 ekspresyonu Takayasu Arteriti'ne göre daha yüksektir**

Filiz Türe Özdemir¹, Rabia Deniz², Aysin Tulunay Virlan¹, İmren Aydın Tatlı¹, Gülşen Özen³, Fatma Alibaz Öner³, Ali Uğur Ünal³, Gonca Mumcu⁴, Tülin Ergun⁵, Haner Direskeneli³

¹Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul

³Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Romatoloji Bilim Dalı, İstanbul

⁴Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Sağlık Bilişimi ve Teknolojileri Anabilim Dalı, İstanbul

⁵Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

Amaç: İnterlökin-17'nin (IL-17) çeşitli otoimmün/inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı bilinmektedir. Bu çalışmada, fenotipik olarak farklı iki hastalık grubunda: doğal immün yanıt ile ilişkili Behçet Hastalığı (BH) ve adaptif immün yanıt ile ilişkili Takayasu arteriti'nde (TAK), IL-17 ile ilişkili immün yanıtı incelemeyi planladık.

Gereç-Yöntem: Çalışmada, 32 BH (yaş: 39,2±10,1 yıl), 13 TAK (yaş: 50,9±15,5 yıl) ve 18 sağlıklı kontrolden (SK) (yaş: 40,9±6,9 yıl) elde edilen periferik kan mononükleer hücreleri kullanıldı. Hücreler, Th17 farklılaştırıcı koşullarda (IL-6, PHA, IL-1beta ve IL-23) 6 gün süre ile kültür edildi. Hücreler kültür sonrası yüzey molekül ve sitokin ekspresyonları değerlendirmek üzere CD4, CD8, CD3, TCRgamma/delta, CD19, IFN-g ve IL-17 antikoları ile boyanarak akan hücre ölçer ile değerlendirildi.

Bulgular: Behçet hastalarında, CD4+ T hücrelerinin uyarı sonrası IL-17 ekspresyonları hem TAK hem de SK'lerden daha yüksek saptandı (sırasıyla p=0,03 ve p=0,02). Gamma/delta ve CD8+ T hücrelerinden salınan IL-17 de BH'da SK'lere göre anlamlı olarak yüksek bulundu (sırasıyla p=0,03 ve p<0,01). B hücrelerinde IL-17 salınımı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Th17 farklılaştırma koşullarında BH ve TAK hastalarının CD4+ ve CD8+ T hücrelerinden IFN-g salınımı da SK'lere göre anlamlı olarak yüksekti (p<0,05). Gamma/delta T hücreleri ve B hücrelerinde IFN-g salınımı açısından da gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Sonuç: Çalışmamızda elde ettiğimiz ön veriler, BH'larının T hücrelerinde uyarı sonrası, TAK ve SK'ya oranla daha yüksek düzeyde IL-17 üretimi olduğunu göstermektedir. Adaptif immünite ile seyreden TAK'dan farklı olarak, BH'da IL-17 ve IFN-g seviyelerinin tüm lenfosit alt gruplarındaki artışı, BH'da dokuda erken nötrofil infiltrasyonu ve şiddetli doğal immün yanıtı neden olabilir.

Anahtar Kelimeler: IL-17, Behçet Hastalığı, Takayasu Hastalığı

[PS-062][Otoimmünite ve tolerans]

Anti Nükleer Antikor (IFA) Negatif ve Pozitif Olgularda Sıklıkla Bulunan Otoantikorlar

Özgün Bağlan, Rahime Aksoy, Türker Duman, Mine Havan, Çiğdem Geçdoğan, Dilek Arslan, Nazlı Ecem Dal, Filiz Özdemir, Semahat Akbay, Necibe Aslan, Hüseyin Tutkak
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı

Amaç: Anti nükleer antikor (ANA) testi, otoimmün romatolojik hastalıkların tanısında önemli olan otoantikorların tayininde sıklıkla kullanılmaktadır. ANA (IFA) testinde, otoantikor pozitiflikleri değişik boyanma modelleriyle, otoantikor/otoantikorlar hakkında ön bilgiler verebilir, negatif test sonucu ise otoantikorun mevcut olmadığını kesin olarak göstermeyebilir. Bu durumda otoantikorların tayininde EIA veya İmmünblot gibi farklı testlere başvurmak gerekebilir. İmmünblot yönteminde birden fazla (6-16) otoantikor aynı anda tayin edilebilirken testlerin nicel olmaması ve daha iyi standartize edilememeleri gibi dezavantajları vardır. Bu çalışmamızda İmmünoloji Laboratuvarımızda son bir senede yapılan immünblot testlerinin ANA (IFA) testlerinin sonuçlarıyla karşılaştırarak, ANA(IFA) test sonucu negatif olgularda hangi otoantikorların immünblot testinde pozitif olduğu, ANA(IFA) pozitif olgularda ise boyanma modellerine göre immünblot testlerinde hangi otoantikorların saptanabildiği retrospektif olarak araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Laboratuvarında son bir yıl içindeki İmmünblot (n: 4285) (Imtec-ANA-LIA, Germany, 17 otoantikor) ve ANA IFA (Euroimmun, Germany) test sonuçları karşılaştırılmıştır.

Bulgular: ANA negatif, İmmünblot testinde tüm otoantikor negatif olgu sayısı 1377 (%32,1), ANA negatif olmasına karşın İmmünblot testinde otoantikor pozitifliği bulunan olgu sayısı 183 (%4,4) olup otoantikorun bu gruptaki dağılımı SS-A (60kD) % 20,2; dsDNA 16,9; Mi 15,3; SmD1 %13,7; Ku %13,1; SS-B %12,6; SS-A (52kD) %7,7; PM-Scl %5,5; U1-snRNP %4,9; diğer %13,1 olarak bulunmuştur. İmmünblot çalışılan olguların 2490'unda (%58,1) ANA testi pozitif bulunmuş olup bunların boyanma patterni dağılımı; benekli %32,3; nükleolar %15,7; homojen %6,3; stoplazmik % 5,4, DFS70 %5,3; sentromer %1,9'dur. **Homojen** boyanma modelinde İmmünblot yöntemiyle en sık tespit edilen otoantikorlar; dsDNA %20,5; SmD1 %13, nükleozom %11,9; SS-A(60kD) %10; histon %7,5; SS-A(52kD) %7,1; U1-snRNP %5,2; SS-B %4,9, Ku %4,1, P0 %3,4; Mi %2,6. **Benekli** boyanma modelinde saptanan otoantikorlar; SS-A(60kD) %13; SS-A(52kD) %9,5; dsDNA %7,4; SS-B % 5,3; Sm 4,6; Ku %4,6; U1-snRNP %4,1, Mi-2 %2,3, diğer %10,3. **Nükleolar** boyanma patterninde tespit edilen otoantikorlar; SS-A(60kD) %10,9; dsDNA %7,3, SS-B %4,62; Mi-2 %3,3; Sm %3,1; Scl70 %2,2 olarak bulunmuştur. **Sentromer** boyanma modelinde ise saptanan otoantikorlar; sentromer %79; SS-A(60kD) %4,9. **DFS-70** boyanma modelinde bulunan otoantikorlar; dsDNA %3,5; SS-B %2,2 ve Sm, SS-A(60kD), SS-A(52kD) oranları % 1,8 olarak tespit edilmiştir.

Sonuç: Otoantikor taramalarında ANA (IFA) tarama testi ve altın standart olarak kabul edilmektedir. Testin negatif bulunması otoantikorların tümünün negatif olduğunu göstermeyebilir. Bulgularımızda bunu destekler nitelikte olup ANA (IFA) negatif olgularda SS-A, SS-B, Sm, dsDNA, Mi-2, Ku ve U1-snRNP pozitifliklerinin bulunması bu kanıyı güçlendirmektedir. Ancak dsDNA ve Sm pozitiflikleri klinisyenler tarafından dikkatle değerlendirilmelidir. Pozitifliklerin bir bölümü testte kullanılan antijen kaynağına bağlı değişkenlik gösterebilir. ANA pozitif olgularda boyanma patternlerine ile uyumlu otoantikor pozitiflikler bulunmuştur. Sonuçlar otoantikorların tanımlanmasında daha gelişmiş test sistemlerine gereksinim olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: ANA (IFA), Otoantikorlar, İmmünblot

ANA İFA Negatif ve Pozitif Olgularda İmmunblot Yöntemiyle Saptanan Bazı Otoantikolar

ANA (İFA) Neticesi	dsDNA %	SmD1 %	SS-A (60kd) %	U1-snRNP %	PM-Scl %	Sentromer %	Mi-2 %	Ku %
NEGATİF %4,3	16,9	13,7	20,2	4,9	5,5	1,0	15,3	13,1
POZİTİF Homojen %6,28	20,5	13,0	10,0	5,2	0	0	2,6	4,1
POZİTİF Benekli %32,2	7,4	4,6	13,0	4,1	1,0	1,0	2,3	4,6
POZİTİF Nükleolar %15,7	7,3	3,1	10,9	1,0	1,0	1,9	3,3	0
POZİTİF Sentromer %1,9	0	0	4,9	0	0	79,0	0	0
POZİTİF DFS-70 %5,3	3,5	1,8	1,7	0	0	0	0	0

[PS-063][Otoimmünite ve tolerans]**Tip-1 ve tip-2 diyabetli hastalarda CD3+CD56+ hücre oranları ve IFN- γ , IL-17A düzeyleri**

Çağdaş Uğur Adaş¹, İlhan Tahralı¹, Abdullah Yılmaz¹, Umut Can Küçüksezer¹, İlhan Satman², Günnur Deniz¹, Ali Osman Gürol¹, M. Temel Yılmaz³

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, İTF İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, Diyabet Uygulama ve Araştırma Merkezi (DİYAM), İstanbul

Amaç: CD3+56+ hücreler, NKT ve NKT benzeri hücre gruplarını kapsayan T lenfositlerinin küçük ama önemli bir populasyonunu oluşturur. Bu hücre grubunun tip-1 ve tip-2 diyabetle ilişkisini gösteren çalışmalar sınırlı sayıdadır. Deneysel çalışmalar, pankreas beta hücre apoptosunda IL-17A'nın, diyabet sürecinde ise IFN- γ 'nın rolü olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, tip-1 ve tip-2 diyabetli hastalarda CD3+56+ hücre sıklığı, IFN- γ ve IL-17a düzeyleri incelenmiş sonuçlar sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Diyabetli hastaların ve sağlıklı kontrollerin heparinize periferik kan örneklerinden ficoll ayrımı ile elde edilen periferik kan mononükleer hücreler (PKMH), hrIL-2 varlığında ve yokluğunda 24 saat 37°C %5 CO₂'li etüvde kültüre edilmiş, kültürün 20. saatinde Brefeldin A eklenmiştir. Kültür sonrası hücre yüzey molekül ekspresyonları anti-CD3-FITC, anti-CD56-APC, hücre içi sitokin seviyeleri ise anti-IL17a-PE ve anti-IFN- γ -PE/Cy7 monoklonal antikorlarıyla işaretlenerek akan hücre ölçer (FACSaria II) cihazı ile ölçülmüş, FACSDiva yazılım programı ile analiz edilmiştir.

Bulgular: CD3+56+ hücre sıklığı oranı tip-1 diyabetli hastalarda tip-2 diyabetli ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır (p=0,022; p=0,035, sırasıyla). CD3+56+ hücre içi IFN- γ , IL-17a ve IFN- γ /IL-17a düzeyleri tip-1 diyabetli hastalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,050; p=0,037; p=0,049, sırasıyla).

Sonuç: CD3+56+ hücre sıklığı ve bu hücrelerin salgıladıkları sitokinlerin diyabet patogenezinde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, CD3+56+ Hücreler, Sitokin

[PS-064][Otoimmünite ve tolerans]**Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde iki farklı yöntemle araştırılan anti-dsDNA antikorları**

Gül Aydın Tıǧlı¹, Esvet Mutlu¹, Derya Mutlu², Gözde Öngüt¹, Meral Gültekin¹

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Temel İmmünoloji Bilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya

Amaç: Otoimmün hastalıklarda hücre çekirdeği ve sitoplazmasında bulunan çeşitli antijenlere karşı otoantikorlar gelişebilmektedir. Bunlardan biri olan çift zincirli DNA antikorları (Anti-dsDNA) DNA molekülünün pürin ve pirimidin bazlarına karşı oluşmaktadır. Anti-dsDNA antikorlarının SLE için özgüllükleri oldukça yüksektir ve titreleri çoğu zaman hastalık aktivitesi ile korelasyon göstermektedir. Bu antikorların saptanmasında en çok kullanılan iki yöntemden biri olan enzim immunoassay (EIA) yönteminin diğer yöntem olan immün floresan antikor (IFA) testinden daha duyarlı olduğu ancak IFA yönteminin SLE tanısı için daha spesifik olduğu bilinmektedir. Hastanemizde her iki yöntem de rutin olarak anti dsDNA antikorlarının saptanmasında kullanılmaktadır. Bu çalışmada laboratuvarımızda çalışılmış olan anti-dsDNA test sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi ve özellikle her iki yöntemle eş zamanlı olarak çalışılan örneklerin sonuçlarının incelenmesi amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarına 01.01.2014-01.01.2015 tarihleri arasında anti-dsDNA çalışılması istemiyle gönderilip IFA (Euroimmun, Almanya) ve EIA (Euroimmun, Almanya) yöntemleriyle çalışılan örnekler retrospektif olarak değerlendirildi.

Bulgular: Bir yıllık süreçte 1051 örnekte IFA yöntemi ile, 385 örnekte EIA yöntemi ile anti-dsDNA araştırılırken; 189 örneğin her iki yöntemle eş zamanlı çalışılması istenmiştir. IFA yöntemi ile çalışılan örneklerden 73 (%7,1)'ü, EIA yöntemi ile çalışılan örneklerden 30 (%7,9)'u pozitif saptanmıştır. Her iki yöntemle eş zamanlı çalışılan örnekler (n=189) değerlendirildiğinde, 170'inde her iki yöntemle negatif, 12'sinde her iki yöntemle pozitif olmak üzere 182 (%96,3)'ünde uyumlu sonuç alındığı görülmüştür. Uyumsuz sonuç alınan yedi örnekten altısı yalnızca EIA yöntemi ile pozitif bulunmuştur. Bir örnek EIA ile negatif, IFA yöntemi ile zayıf pozitif sonuç vermiştir. Laboratuvar kayıtlarının incelenmesi ile her iki yöntemle anti-dsDNA'sı pozitif olan 12 hastanın dokuzunda aynı dönemde immünblot yöntemi ile anti-dsDNA'nın pozitif olduğu belirlenmiştir. Diğer üç hastada anti-dsDNA pozitifliği başka testle kanıtlanamamış ancak kompleman C3, C4 düzeylerinin düşük olduğu görülmüştür. Tek başına EIA ile pozitiflik saptanan altı hastanın beşinde kompleman düzeylerinin normal olduğu, bunlardan immünblot çalışılan dördünde anti-dsDNA'nın bu yöntem ile de negatif bulunduğu görülmüştür. Bir hastada ise altı ay önce EIA yöntemi ile yüksek titrede (>800 IU/ml), beş ay önce de IFA ile pozitif sonuç görülmekte iken hastanın IFA yöntemi ile anti-dsDNA'sının negatifleşip EIA yöntemi ile titresinin düştüğü (250 IU/ml) anlaşılmıştır. IFA yöntemi ile zayıf pozitiflik saptanan hastanın immünblot yöntemi ile sonucunun negatif olduğu, kompleman düzeylerinin de normal olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Serum örneklerinde anti-dsDNA araştırılmasında EIA ve IFA yöntemleri ile yüksek oranda (%96,3) uyumlu sonuç elde edilmiştir. Tek başına EIA ile pozitif sonuçların spesifik olmayan antikorların saptanmasına bağlı olduğu düşünülmektedir ve bu gibi durumlarda IFA ile doğrulama önerilmektedir. Çalışmamızda bir hastada tek başına IFA ile zayıf pozitif saptanmasının da değerlendirmenin subjektifliğinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Tarama testi olarak IFA, antikor düzeylerinin takibi için EIA yönteminin daha uygun olması nedeni ile her iki yöntemin de rutin laboratuvar çalışma listesinde yer almasının uygun olduğunu düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Anti-dsDNA, EIA, IFA

[PS-065][Otoimmünite ve tolerans]

Behçet Hastalığı'nda İnterlökin 37 Düzeyi ve İnterlökin 37 Gen Polimorfizminin Prediktif ve Prognostik Önemi

Selcan Özgüçlü¹, Darya Farhoomand², Orhan Küçükşahin³, Türker Duman², Hüseyin Tutkak², Ümit Ölmez²

¹Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bölümü

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları BD

³Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Romatoloji Bölümü

Amaç: Behçet Hastalığı (BH); etyopatogenezi tam aydınlatılmamış, kronik otoinflamatuvar bir hastalıktır. Bu çalışmada IL-37 düzeyinin ve gen polimorfizminin hastalığın klinik prezentasyonuna etkisini belirlemeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbn-i Sina Hastanesi Behçet Hastalığı Kliniklerarası (Multidisipliner) Tanı ve Tedavi Ünitesi'ne başvuran 231 Behçet hastası, kontrol grubu olarak 80 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Behçet hastaları Mukokütanöz ve Vasküler Behçet olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. Hastalık alt grupları ile kontrol grubunda IL-37 düzeyi ve rs3811047 G/A polimorfizmi bakıldı. IL-37 düzeyi kantitatif sandwich enzim immünassay tekniği ile, gen polimorfizmi ise PCR-RFLP yöntemiyle belirlendi.

Bulgular: Gruplar arasında IL-37 düzeyi açısından fark anlamlı saptandı (p=0.002). Farkın anlamlı olduğu grup MB olarak belirlendi (MB-kontrol karşılaştırması: p=0.011; MB-VB karşılaştırması: p=0.004) (Tablo 1). Mukokütanöz klinik bulgular ile IL-37 arasındaki ilişki anlamlı, vasküler bulgularla IL-37 arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamsız saptandı. Mukokütanöz bulguların anlamlılık düzeyi sırasıyla; oral aft: p=0.003, genital ülser: p=0.003, PPE: p=0.003, artralji: p=0.001, paterji: p= 0.003, EN: p<0.001. IL-37 genindeki rs3811047 polimorfizmi açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2).

Sonuç: Bugüne kadar BH'de IL-37 düzeyi ve gen polimorfizmiyle ilgili yapılmış bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Çalışma sonuçlarımız IL-37'nin BH etyopatogenezinde rol aldığını ve mukokütanöz bulgularla ilişkili olduğunu desteklemektedir. Ancak hastalık aktivitesiyle IL-37 ve rs3811047 G/A polimorfizmiyle hastalık riski arasındaki ilişki ortaya konamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı (BH), IL-37

Tablo 1.

	Mukokutanöz Behçet	Vasküler Behçet	Kontrol Grubu	P değeri
IL-37 (pg/mL) ortalama±SD ortanca (min-max)	17.12±20.56 11.01 (7.81-146.28)	23.54±76.43 8.46 (7.81-701.9)	12.56±8.17 7.83 (7.81-54.77)	0.002

Mukokutanöz Behçet-kontrol ve Mukokutanöz Behçet-Vasküler Behçet karşılaştırmaları verilmiştir

Tablo 2.

IL-37	BH (n=229)%	Kontrol (n=77) %	OR	p	%95CI
Genotip					
GG	104 45	38 49	0.85	0.549	0.51-1.43
GA	73 32	19 25	1.43	0.235	0.79-2.57
AA	52 23	20 26	0.559	0.84	0.46-1.52
GA,AA	125 55	39 51	1.17	0.549	0.70-1.96
Alel					
G	281 61	95 62	0.99	0.941	0.68-1.44
A	177 39	59 38	1.01	0.941	0.70-1.48

IL-37 Geni rs3811047 G/A Polimorfizminin Behçet Hastaları ve Kontrollerdeki Genotip Dağılımları ve Alel Frekansları

[PS-066][Otoimmünite ve tolerans]

Tip2 Diyabet Etiyopatogenez ve Prognozunda CD55 VE CD59 Belirteçleri ve SDF-1 ve CXCR-4 Polimorfizmleri

Burçin Aydın¹, Sema Bilgiç Gazioğlu¹, Ender Coşkunpınar², Abdullah Yılmaz¹, Yasemin Müşteri Oltulu², Bedia Çakmakoğlu², Günnur Deniz¹, Mehmet Temel Yılmaz³, Ali Osman Gürol¹

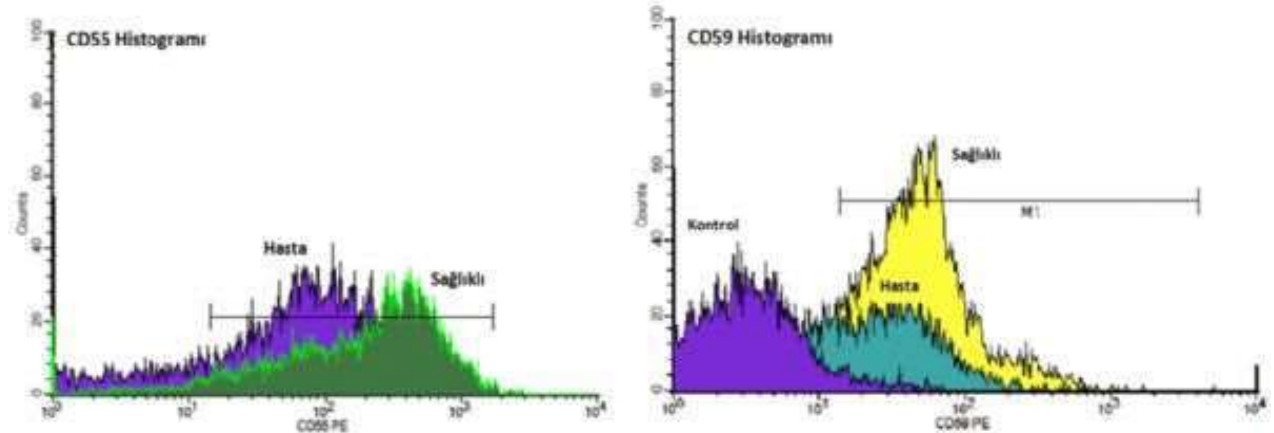
¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE), İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, DETAE, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi (İTF), İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul

Diyabet, insülin üretimi, salgılanmasındaki bozukluk veya insülin direncine bağlı gelişen hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Hastalığın patogenezi ve sürecinde kompleman regülatörleri ve kemokinler önemli rol oynamaktadır. CD55, CD59 kompleman regülatör proteinlerdir. SDF-1, CXCR-4 inflamasyonda görevli kemokinlerdir. Bu çalışmada, Flow sitometri ve RT-PZR kullanılarak 75 T2DM hastası ve 73 sağlıklı kontrolde CD55, CD59 ekspresyonları ile SDF-1, CXCR-4 polimorfizmlerinin T2DM komplikasyonlarıyla ilişkisi incelenmiştir. CD55, CD59 ekspresyon düzeyleri nefropati, retinopati ve kardiyovasküler hastalığı olan T2DM'li hastalarda kontrollere göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır. Çalışma grupları arasında SDF-1 genotip ve allel dağılımları açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. CXCR-4 genotip dağılımında anlamlı fark bulunmamasıyla birlikte allel dağılımlarında anlamlılığa yakın bir değer bulunmuştur. CXCR-4 T alleli taşıma frekansının hastalarda kontrollere göre yükseldiği ve hastalık için 1,6 katlık risk oluşturduğu gözlenmiştir. Hastalarda nefropati varlığına göre SDF-1 genotiplerinde fark gözlenmezken, CXCR-4 genotiplerinde anlamlı fark tespit edilmiştir. CXCR-4 A alleli taşıyanlarda nefropati varlığının anlamlı olarak azaldığı, CXCR-4 T alleli taşıyanlarda ise istatistiksel anlamlılığa ulaşmasa da nefropati varlığının yaklaşık 2 kat yüksek olduğu gözlenmiştir. CXCR-4 TT genotipli bireylerde nefropati gelişme riski 10 kat artmaktadır. Hastaların retinopati varlığına göre SDF-1 genotiplerinde anlamlı fark gözlenmiştir. SDF-1 CC genotipli bireylerinin tümünde retinopati bulunduğu ve CC genotipinin retinopati gelişiminde etkili olduğu izlenimi edinilmiştir. Ancak CXCR-4 genotipleriyle ilgili anlamlılık bulunamamıştır. Hastalarda kardiyovasküler hastalık varlığına göre SDF-1 genotiplerinde anlamlı fark gözlenmiştir. Kardiyovasküler hastalık gelişme riski SDF-1 T alleli taşıyan bireylerde 5 kat ve CXCR-4 T alleli taşıyanlarda 1,9 kat yüksek tespit edilmiştir. Bu çalışma T2DM'de CD55 ve CD59 ekspresyonları, SDF-1 ve CXCR-4 polimorfizmlerinin birarada bakıldığı ilk çalışmadır.

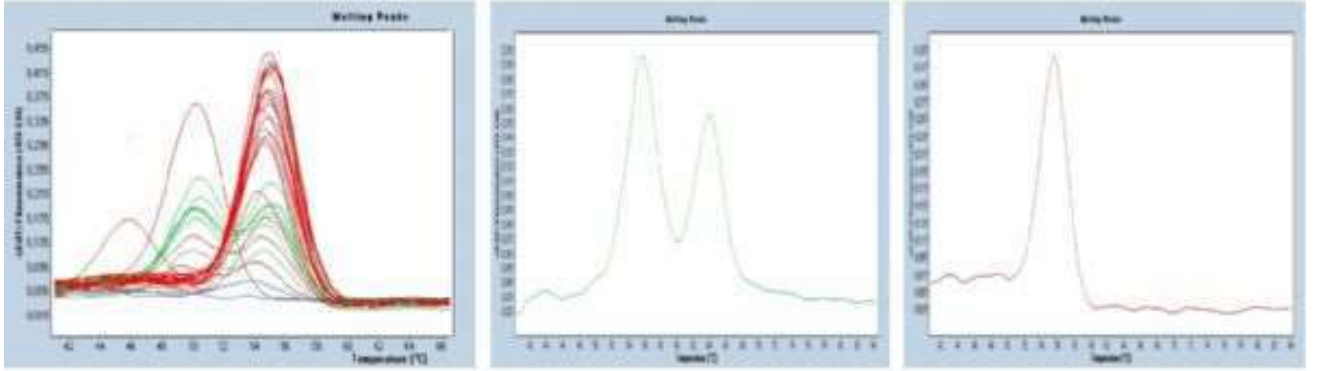
Anahtar Kelimeler: Tip 2 Diyabet, CD55 ve CD59, SDF-1 ve CXCR-4

Figür 1

Figür 1: Hasta ve sağlıklı kontrol lenfositlerindeki CD55 ve CD59 ekspresyonu

Hasta ve sağlıklı kontrol lenfositlerindeki CD55 ve CD59 ekspresyonu

Figür 2



Figür 2: RT-PCR Sonuçları, heterozigot ve homozigot mutant örnekleri

RT-PCR sonuçları, heterozigot ve homozigot mutant örnekleri

[PS-067][Otoimmünite ve tolerans]**Multipl Skleroz hastalarında CD16+CD56soluk ve CD16-CD56parlak NK hücrelerinin farklı sitokin uyarımlarına geç yanıtları**

İlhan Tahralı¹, Umut Can Küçüksezer¹, Nilgün Akdeniz¹, Esin Aktaş¹, Çağdaş Uğur Adaş¹, Uğur Uygunoğlu², Ayşe Altıntaş², Günnur Deniz¹

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

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

Amaç: Doğal immün sistemin önemli elemanlarından olan Doğal Öldürücü (Natural Killer – NK) hücrelerin, bir merkezi sinir sistemi hastalığı olan Multipl Skleroz (MS) pato-fizyolojisindeki fonksiyonları henüz netlik kazanmamıştır. MS hastalarının yaklaşık % 87'sini oluşturan, atak ve gerileme dönemleriyle kendisini gösteren relapsing-remitting (RR)-MS hastaları ile MS'in başlangıç formu olabileceği ileri sürülen Klinik İzole Sendrom (KİS) hastalarının dahil edildiği önceki çalışmamızda, hasta ve sağlıklı donörlerin periferik kan örneklerinden elde edilen periferik kan mononükleer hücreler (PKMH), uyarımsız ve IL-2, IL-4 veya IL-12 uyarımları altında 24 saat süreyle kültüre edilerek, MS hastalarının CD16+CD56soluk ve CD16-CD56parlak NK hücre alt grup oranları ve sitokin içerikleri sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmıştır. Farklı sitokin uyarımlarına erken yanıtların ölçüldüğü çalışmada, 24. saatte hasta grupları ile sağlıklı kontrollerin NK hücre alt grup oranlarında anlamlı farklılık saptanamamıştır.

Gereç-Yöntem: Mevcut verilerin ışığında gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada, DMD (disease modifying drug) tedavisi görmekte olan ve tedavi görmeyen RR-MS hastaları ile KİS hastalarının periferik kan örneklerinden izole edilen PKMH'ler 72 saat süreyle IL-2, IL-4 ve IL-12 sitokinleri varlığında veya sitokin uyarımı olmadan kültüre edilerek, CD16+CD56soluk ve CD16-CD56parlak NK hücre oranları sağlıklı kontrollerle ve 24. saatteki erken yanıt oranlarıyla karşılaştırılmıştır.

Bulgular: 72. saatlik kültür sonucunda DMD tedavisi görmekte olan RR-MS hastalarının CD16-CD56parlak NK hücre oranlarının uyarımsız, IL-2 ve IL-12 uyarımlı koşullarda diğer hasta gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir. IL-2 uyarımına yanıt olarak tedavisiz RR-MS ve KİS hastalarının CD16-CD56parlak NK hücre oranları sağlıklı kontroller ve tedavili RR-MS hastalarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Farklı kültür koşullarında, tüm hasta gruplarının CD3+ T hücre ve CD16+CD56soluk NK hücre düzeylerinde, sağlıklılara göre anlamlı fark bulunmamıştır. 24. ve 72. saatteki NK hücre alt grup oranları birbirleriyle karşılaştırıldığında, IL-2 ve IL-12'ye yanıt olarak CD16-CD56parlak NK hücrelerinin 72. saatte anlamlı derecede artış gösterdiği, ancak hasta gruplarındaki artışın sağlıklılardaki kadar yüksek olmadığı görülmüştür.

Sonuç: Elde edilen veriler, sitokin uyarımlarına karşı NK hücre yanıtlarının 24. saate kıyasla 72. saatte daha güçlü olduğunu; tedavisiz RR-MS ve KİS hastalarının IL-2 ve IL-12'ye yanıtta yetersiz kaldığını, bununla birlikte uygulanan DMD tedavisinin RR-MS hastalarının CD16-CD56parlak NK hücre oranlarını arttırdığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, CD16-CD56parlak NK hücrelerindeki fonksiyonel bozukluğun MS seyri veya patogenezinde kritik bir role sahip olabileceğini ve DMD tedavisinin CD16-CD56parlak NK hücre oranlarını arttırmak suretiyle hastalık sürecinde olumlu etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Tüm bu sonuçlar, NK hücrelerinin RR-MS patogenezinde önemli rolü olabileceğine dair bulguları kuvvetlendirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Doğal Öldürücü (NK) Hücreler, Multipl Skleroz

[PS-068][Otoimmünite ve tolerans]

İnsanlarda gebelik diyabeti üzerine obezite parametrelerinin etkisi

Fatma Tuba Akdeniz¹, Zeynep Akbulu¹, Hakan Sarı³, Hasan Aydın², Burak Dalan⁴, Dede Şit³, Seda Güleç Yılmaz⁴, Turgay İsbir⁵, Gülderen Yanıkkaya Demirel¹

¹Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji ABD

²Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji

³Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi

⁴Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp

⁵Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Moleküler Tıp

Amaç: Gebelik diyabeti fetal mortaliteye sebep olan hipergliseminin bir tipidir. Gebelik diyabetli tanılı kadınlarda insülin rezistansı ve insülin salınımında defekt mevcuttur. Bu kadınlar hayatlarının ilerki dönemlerinde önemli derecede diyabet geliştirme riskine sahiptirler. Çalışmamızda gebelik diyabeti tanılı hastaların serumlarında obezite ile ilgili immun parametreler araştırılmıştır.

Bu parametrelerden ICAM -1 önemli adezyon moleküllerinden biridir. Daha önce yapılan çalışmalarda yüksek glukoz ve serbest radikallerin ICAM-1 'in hücrel ekspresyonunu arttırdığı söylenmiş, hipergliseminin insülin bağımsız diyabet hastalarında oksidatif strese bağlı olarak ICAM -1 plazma seviyelerini yükselttiği gösterilmiştir. ICAM-1 lipid metabolizmasında da yer alır, lipid biyosentezi ve yüksek trigliserid seviyesi ile ilişkisi yapılan çalışmalar ile rapor edilmiştir. Diğer bir parametre TNFα 'nı lipid ve glukoz metabolizması üzerine etkileri önemlidir. Bu etki soluble TNF-R aracılığı ile gerçekleşir.

Obesitede TNFα seviyelerinin yükseldiği bilinmektedir. TNFα'nın insüline bağımlı olmayan diyabet hastalarında sistemik insülin rezistansında önemli rol oynadığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. CD40/CD40L interaksyonu immün aktivasyonda yer alır. CD40L yüksek seviyeleri adiposita (vücutta yağ birikimi), ateroskleroz ve diyabetli hastaların serumlarında gösterilmiştir. Miyeloperoksidaz miyeloid hücrelerden salınan bir glikoproteindir. Diyabetlilerde yüksek seviyeleri gösterilmiştir.

GEREÇ Yöntem: Bu çalışmada gebelik diyabetli 49 hasta ile 29 sağlıklı gebenin kan serum örnekleri kullanılmıştır. Leptin, Resistin, CD40L, TNF-R (Tümör Nekroz Faktör Reseptör), OPG (Osteoprotegerin), MCP-1 (Monosit Kemoaraktan Protein), M P O (Miyeloperoksidaz), I C A M -1 (Intersellüler Adezyon Molekülü) serum seviyeleri akan hücre ölçerde boncuk temelli yöntem ile ölçülmüştür.

Bulgular: OPG serum seviyeleri gebelik diyabetli hastalarda kontrole göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (66.31±352.50 - 8.24±5.71,pg/ml p=0.11). Leptin (18.02±6,87 - 14.78±8.90ng/ml,p=0.31), TNF-R serum seviyeleri de kontrole göre yüksek bulunmuştur (0,87±0,26 - 0,66±0,24 ng / ml, p = 0.92). M C P-1 (1 1 8 3. 3 8 ± 1 1 4 8. 7 1 - 1011.27±739.61pg/ml,p=0.84), MPO (219.27±86.43 - 199.23±54.93 ng/ml,p=0.075), ICAM-1 (465.76±245.75 - 409.39±175.94 ng/ml,p=0.31) CD40L (1704.99±1143.99 - 1668.78±790.12 pg/ml,p=0.28) değerleri gebelik diyabetlilerde kontrollere göre hafifçe yüksek bulunmuştur. Resistin seviyeleri ise kontrollere göre gebelik diyabetlilerde düşük bulunmuştur (619.34±556.72 - 4802.50±2527.01 pg/ml,p=0.000).

Sonuç: Diğer bazı çalışmaların tersine çalışmamızda resistin serum seviyesinin azaldığı bulunmuştur. Çalışma modellerinin farklılığı, intra-inter bireysel farklılıklar ve farklı zamanlarda farklı metodlarla ölçümlerin, zıt çıkan sonuçlar üzerine etkisi olabileceği söylenebilir. Elde edilen yüksek OPG seviyeleri, yüksek östrojen hormon seviyeleri ile OPG seviyeleri artarken mRNA resistin seviyelerinin azaldığı önceki hayvan çalışmaları ile konfirmedir. Resistin ve OPG'nin ikisinin birlikte glukoz metabolizması sinyal yollarında rolleri olduğu düşünülmüştür ve gelecekteki çalışmalarla daha çok araştırılmaları gerekmektedir.

Bu çalışmada doğal immün sistemin farklı parametrelerinin hem enfeksiyon hem obezite mekanizmasındaki rolleri göz önüne alınıp, diyabet hastalığı başlangıcı ve tetiklenmesi ile ilişkili rolleri de ortaya koyulmaya çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gebelik diyabeti, obezite

[PS-069][Transplantasyon immünolojisi]**Böbrek Transplantlı Hastaların Tek Antijen Boncuk Temelli PRA İzlemi- 2008-2015 Memorial İmmünoloji Deneyimi: HLA Uyumunda Yanlış Antijenlere mi Bakıyoruz?**

Emel Eksioğlu Demiralp¹, Aydın Türkmen¹, Berna Yelken¹, Serpil Görçin¹, Funda Yalçın², Cihan Karataş¹, Burak Koçak¹

¹MSG, İstanbul Özel Memorial Şişli Hastanesi, Transplantasyon Ünitesi;

²MSG, İstanbul Özel Hizmet Hastanesi, Transplantasyon Ünitesi

Amaç: Bu çalışmamızda 2008-2015 yılları arasında böbrek transplantasyonu olup immünolojik izlemi yapılan 133 kadın (%39), 208 erkek (%61) toplam 341 hastanın tek antijen mütipleks temelli PRA sonuçlarını detaylı olarak inceleyerek, de novo antikor gelişme sıklığını, ve post transplant en sık antikor geliştirilen antijenleri belirlemeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: Tek antijen PRA izlemi, boncuk temelli mütipleks yöntemi ile gerçekleştirildi. Lumineks cihazında okundu ve ilgili programda değerlendirildi. Pozitiflik, transplant öncesi MFI>5000 üstü olarak, transplant sonrası donör spesifik antikorlar (DSA) için MFI>3000 ve diğerleri için MFI>5000 olarak değerlendirildi. Transplant öncesi PRA pozitifliği olup, tedavi edildikten sonra transplante edilip, transplant sonrası aynı antijenler için PRA pozitifliği gösteren hastalar değerlendirilmeye alınmadı.

Bulgular: Çalışma grubundaki hastaların ortalama izlem süreleri 73.5 ±16.5 ay (aralık 1-73 ay) idi. İzlem aralığı 1-3 ay olan hastalar tüm hastaların % 21,7 sini, 3 ay-1 yıl olanlar %31'ini ve izlem süresi 1-5 yıl olanlar ise tüm hasta grubunun %47.2'sini oluşturdu. Transplant öncesi, hasta grubumuzun %12,6 sında PRA Sınıf I; %11,2'sinde PRA Sınıf II antikorlarının pozitif olduğu saptandı. Transplant sonrası hastalarımızın % 13,5'inde de novo PRA Sınıf I pozitifliği saptanırken, de novo PRA sınıf II pozitifliği olan hasta oranı %21.5 idi. Post transplant PRA oluşumunda cinsiyetler arasında fark olup olmadığı incelendiğinde, kadınların %18 inde post transplant de novo PRA Sınıf I antikorları oluşurken erkeklerin % 10,5'inde pozitiflik saptandı(p=0,052). Kadınların %23,3 ünde, erkeklerin %20,2'sinde post transplant de novo PRA Sınıf II oluşumu gözlemlendi. Alıcı ve verici cinsiyetlerinin farklılığının PRA oluşumu üzerine bir etkisi olup olmadığı ayrı ayrı incelendi ve gruplar arasında bir fark saptanmadı. Post transplant en sık pozitifleşen sınıf I antijenleri incelendiğinde, De novo PRA I (46/341) üretenlerin %43.5'inde ortak antijen pozitifliği (Bw4 ve/veyaBw6), %41.3'ünde ortak antijenlerle beraber ya da ayrı DSA olmayan PRA sınıf I pozitifliği saptandı. DSA sıklığı ise %23,9 olarak belirlendi. Ortak antijenlerin dışında Post transplant en sık antikor geliştirilen HLA antijenlerinin sırasıyla HLA-A (%23,9), HLA-B (%17,3) ve HLA-C (%8,7) olduğu gösterildi. Post transplant en sık pozitifleşen Sınıf II antijenleri incelendiğinde ilk sırada HLA-DQ'nun olduğu, izole olarak pozitif hastaların %47,9'unda ve diğer antijenlerle birlikte %72,5'inde pozitif olduğu bulundu. De novo Sınıf II PRA oluşumuna neden olan ikinci en sık antijen grubunun DRB3/4/5 olduğu (izole olarak pozitif hastaların %11'inde; diğer gruplarla beraber %27.4'ünde pozitif), DQ kadar olmasa da DP pozitifliklerinin de oldukça yüksek sıklıkta görüldüğü (%24,6) belirlendi. DSA olan ya da olmayan de novo HLA-DR antikor pozitifliği ise %8,2 idi.

Sonuç: Beş yıllık hasta izlemimiz, böbrek transplantlarında uyumunu dikkate almadığımız HLA'ların, özellikle HLA-DQ'nun, DP ve HLA-C'nin de mutlaka değerlendirilmesi gerektiğine dikkat çekmektedir. Yöntem kısıtlılığı nedeni ile var olduğu tahmin edilen ancak gösterilemeyen ortak antijenlere karşı pozitifliklerin yeni yöntemlerle ispatlanması ise transplantasyon immünolojisi pratiğine yeni immünolojik yaklaşımların eklenmesi zorunluluğunu beraberinde getirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ortak HLA Antijenleri, PRA, Post-transplantasyon immünolojik izlem

BİLİMSEL SEKRETERYA

Doç. Dr. Güneş ESENDAĞLI
Hacettepe Üniversitesi
Kanser Enstitüsü
Temel Onkoloji Anabilim Dalı
Tümör Biyolojisi ve
İmmünolojisi Bilim Dalı,
Sıhhiye, Ankara
URL : www.immunoloji2015.org
E-mail: gunese@hacettepe.edu.tr

ORGANİZASYON SEKRETERYASI

Serenas Uluslararası Turizm
Kongre Organizasyon A.Ş.
Turan Güneş Bulvarı 5. Cad. No:13
Yıldız, Çankaya / Ankara
Tel : +90 312 440 50 11
Faks : +90 312 441 45 63
URL : www.serenas.com.tr
E-mail : info@immunoloji2015.org