



TÜRK
İMMÜNOLOJİ
DERNEĞİ



XXVII. ULUSAL
İMMÜNOLOJİ
KONGRESİ
26-29 NİSAN 2026

Prof. Dr. Mete Cengiz Kültür Merkezi, BURSA
Bursa Uludağ Üniversitesi

www.ulusalimmunoloji2026.org

Kongre Başkanı

Dr. Öğr. Üyesi Salih Haldun Bal
E-Mail : haldun@uludag.edu.tr

Bilimsel Sekreteryaya

Doç. Dr. Mehmet Yabaş
E-Mail : mehmet.yabas@ozal.edu.tr

burken®
TURİZM & KONGRE

444 9 443
kongre@burkon.com



DİJİTAL BİLDİRİ KİTABI

ISBN: '978-625-6443-69-3'

DAVET

Değerli Bilim İnsanları,

Türk İmmünoloji Derneği olarak “XXVII. Ulusal İmmünoloji Kongresi”ni 26-29 Nisan 2026 tarihleri arasında kültür mirası, doğal güzellikleri ve zengin bilim ortamıyla öne çıkan Bursa şehrinde gerçekleştireceğimizi duyurmaktan büyük mutluluk duyuyoruz. Bursa Uludağ Üniversitesi Görükle yerleşkesinde bulunan “Prof. Dr. M. Mete Cengiz Kültür Merkezi”nde gerçekleştirilecek kongremizde sizlerle birlikte olmaktan onur duyacağız.

Bu yılki kongremizde, ulusal ve uluslararası düzeyde saygın konuşmacılar immünolojinin tüm alt alanlarını kapsayan güncel gelişmeleri, yeni bulguları ve translasyonel yaklaşımları içeren sunumlar gerçekleştirecektir. Bu değerli bilim insanlarıyla sizleri bir araya getirecek bu platformun bilimsel açıdan olduğu kadar iş birlikleri yönünden de zengin bir deneyim sağlayacağına inanıyoruz. Sizleri, araştırmalarınızı paylaşmak, alanınızdaki yenilikleri tartışmak ve yeni akademik bağlantılar kurmak üzere kongremize davet ediyoruz.

Kongreye göndereceğiniz bildirilerin kongremizin bilimsel niteliğinin en önemli belirleyicilerinden biri olduğunun bilincindeyiz. Bu nedenle Bilim Kurulu tarafından yapılacak olan değerlendirmeye göre bildirilerin bir kısmı sözlü, bir kısmı poster bildiri olarak kabul edilecektir. Bilimsel hakem heyetinden yüksek puan alan çalışmalar, kongre kapsamında çeşitli ödüllerle desteklenecektir. Ayrıca, Türk İmmünoloji Derneği ve Kongre Düzenleme Kurulu olarak, özellikle genç araştırmacıları teşvik etmek amacıyla kayıt, konaklama ve seyahat giderlerinin bir kısmını karşılayan destek paketleri sunmayı planlıyoruz.

İmmünoloji alanında çalışan genç araştırmacılar ile deneyimli bilim insanlarının bir araya getirerek güçlü bir bilimsel etkileşim ortamı yaratmayı hedeflediğimiz kongremizde sizlerle buluşmayı sabırsızlıkla bekliyoruz.

Saygılarımızla

Düzenleme Kurulu Adına

Doktor Öğretim Üyesi Salih Haldun Bal

XXVII. Ulusal İmmünoloji Kongresi Başkanı

KURULLAR

Düzenleme Kurulu

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Salih Haldun Bal

Bilimsel Sekreter

Doç. Dr. Mehmet Yabaş

Üyeler

Prof. Dr. Arzu Aral

Prof. Dr. İhsan Gürsel

Prof. Dr. Ayça Sayı-Yazgan

Prof. Dr. Güneş Esendağlı

Prof. Dr. Elif Karakoç-Aydiner

Prof. Dr. Haluk Barbaros Oral

Doç. Dr. Diğdem Yöyen-Ermiş

Dr. Gözde Arslan

Araş. Gör. Mert Karaca

Bilimsel Kurul

Ahmet Özen
Arzu Bakırtaş
Arzu Latife Aral
Atakan Ekiz
Ayça Sayı-Yazgan
Baran Erman
Begüm Horuloğlu
Bilkay Baştürk
Candan Çiçek
Cansın Saçkesen
Cemil Pehlivanoglu
Cevayir Çoban
Cezmi Akdiş
Diğdem Yöyen-Ermiş
Elif Karakoç-Aydiner
Emel Demiralp-Ekşioğlu
Emin Kansu
Emine Rabia Koç
Ercüment Ovalı
Esin Çetin-Aktaş

Fatma Oğuz-Savran
Güher Saruhan-
Direskeneli
Güneş Esendağlı
Günnur Deniz
Haluk Barbaros Oral
İhsan Gürsel
İshak Özel Tekin
İsmail Cem Yılmaz
İsmail Reisli
Levent Tufan Kumaş
Mayda Gürsel
Mehmet Ali Öktem
Mehmet Batu Erman
Mehmet Yabaş
Mübeccel Akdiş
Onur Serçinoğlu
Orhan Kaya Köksalan
Özgün Gökçe
Özlem Göksel

Petek Korkusuz
Ramazan Uluhan
Safa Barış
Salih Haldun Bal
Selin Seda Timur
Servet Uluer-Biçeroğlu
Şebnem Kılıç-Gültekin
Şermin Genç
Şükrü Çekiç
Tolga Sütlü
Tunç Akkoç
Umut Can Küçüksezer
Umut Şahin
Ümit Murat Şahiner
Vedat Bulut
Yasemin Heper
Yavuz Pehlivan
Yıldız Camcioğlu
Yusuf Metin Gelmez
Yüce Ayhan

İÇİNDEKİLER

DAVET.....	3
KURULLAR	4
BİLİMSEL PROGRAM	9
SÖZEL BİLDİRİLER	
SB1 Cd22, Foliküler T Hücre Programını Tanımlar ve Hümmoral Toleransı Destekler	17
SB2 Mikrobiyal Disbiyozis, Siklik Dinükleotidler Aracılığıyla Stıng-İlişkili Otoinflamasyonu Tetikler	19
SB3 Ankilozan Spondilit'te Ortak İmmünojenik Peptit İmzalarının Tanımlanması	21
SB4 İgE-BAĞIMLI VE BAĞIMSIZ ANAFİLAKSİ ROTALARINDA DOĞAL LENFOİD HÜCRE DİNAMİKLERİ	23
SB5 Ürtikerde Nöroimmün Bağlantı Olarak Asetilkolin Aracılı Mast Hücresi Uyarımının Araştırılması	25
SB6 Biyomimetik Çip-Üstü-Organ Platformlarında Çevresel Maruziyetlere Bağlı Bariyer Hasarı ve İmmün Yanıtın İncelenmesi	26
SB7 Ctps1 Eksikliği Olan Bireyde Doğuştan ve Edinsel Bağışıklık Yanıtlarının İmmünofenotipik ve Fonksiyonel Analizi	28
SB8 Germline Ctla-4 Yetersizliğinin $\alpha\alpha$ Tc Ve Bcr Profillerine Etkileri: Adaptif Repertuar Analizi	29
SB9 Üçlü Negatif Meme Kanseri (Tnbc) Mgcl ₂ 'nin Miyeloid Kökenli Baskılayıcı Hücreler (Mdsc) Üzerine Fenotipik Ve Fonksiyonel Etkileri	36
SB10 Kolorektal Kanserde İmmün Kaçış Ve Metastatik Belleğin Moleküler Temeli	38
SB11 Asbestozise Neden Olan Tremolit, Krizotil Ve Eriyonit Maddelerinin T Ve B Hücre İmmün Yanıtları Üzerine Etkileri	40
SB12 Genetik Olarak Modifiye Edilmiş Menb Serotipinden Gmp Uyumlu Elde Edilen Omv Aşılarının İndüklediği Fonksiyonel Antikor Yanıtlarının Ticari Aşı İle Karşılaştırılması	44
SB13 Kısa Zincirli Yağ Asitlerinin Sedef Fare Modelinde Gamma Delta ($\gamma\delta$) T Hücre Aracılı İnflamasyona Etkisinin Araştırılması	45
SB14 Adalimumabın İnsan Nk Hücrelerinde Apoptoz, Hücre Sağkalımı, Proliferasyon, Alt-Grup Oranları, Sitokin Salınımı Ve Sitotoksiteye Etkileri	47
SB15 Metrn1/İl-41 Sıçanlarda İrritabl Bağırsak Sendromu Modelinde Lökosit Trafiğini Ve Viseral Hassasiyeti Düzenleyerek Nöroimmün Rol Oynar	48
SB16 Nörogelişimsel Gerilikli Bir Olguda <i>Folr1</i> Geninde Novel Homozigot Varyantın Fonksiyonel Folat Transport Bozukluğu İle Gösterilmesi	50
POSTER BİLDİRİLER	
PB 1 İn Ovo Beslemenin İn Ovo Veya Konvansiyonel Aşılama Uygulanan Tavuklarda Infectious Bursal Disease (İbd) Virusuna Spesifik İmmün Yanıt Üzerine Etkileri	52
PB2 Yüksek Riskli Pediatrik Solid Tümörlerde Serum Çözünür İmmün Kontrol Noktası İmzasında Tim-3/Galektin-9 Eksen Baskınlığı	54
PB3 Çocuklarda Salmonella Enfeksiyonları Altta Yatan Primer İmmün Yetmezliğin Bir İpucu Olabilir Mi? On Yıllık Tek Merkez Deneyimi	55

PB4 Nadir Bir Lizozomal Depo Hastalığı Olan Gaucher Hastalığının İmmünolojik Ve Genetik Açidan Değerlendirilmesi	56
PB5 Over Kanserinde Cd27 Ve Cd28 Ko-Ekspresyonu İle Tanımlanan Tem Hücrelerinin Prognostik Biyobelirteç Olarak Klinik Önemi	58
PB6 Kanser Hücresinin Oluşturduğu Metabolik Stres Altında Cd4+ Yardımcı T Hücre Yorulmasının Multi-Omik Analizi	59
PB7 Pediatrik B Hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi Olgularında Monositlerin Fenotipik Özellikleri	61
PB8 B. Abortus Ve B. Melitensis Kaynaklı Dış Membran Veziküllerinin Thp-1 Hücrelerinde Makrofaj Polarizasyonu Ve Oksidatif Yanıt Üzerine Etkilerinin İncelenmesi	62
PB9 Eritrosit Süpernatantlarının İmmün Kontrol Noktaları Üzerindeki Etkileri	64
PB10 Hiv-1 Rezervuar Hücreleri Ve Hücresel Yaşlanma İlişkisine Yönelik Akan Hücre Ölçer İle Ayırıştırma Paneli Validasyonu.....	66
PB11 Hemofagositik Lenfositosis Şüphesi Bulunan Olgularda Cd107a Düzeyinin Değerlendirilmesi.....	67
PB12 Kalsiyum Akış Kinetiğinin Akım Sitometrik Değerlendirilmesi.....	68
PB13 Özgün Salisilik Asit Türevlerinin Gastrointestinal Sistem Kanseri Hücre Hatlarında Anti-Kanser Etkinliğinin In Vitro Değerlendirilmesi.....	69
PB14 Triple-Negatif Meme Kanserinde Mf/Cd74 Ekseninin Tümör Derecesi İle İlişkisi Ve İmmün Profil Analizi.....	70
PB15 Pd-1/Pd-L1 Yolağının Modülasyonu Altında Mikroglial Demir Yanıtı: İnflamasyon Ve Mitokondriyal Kalite Kontrolün In Vitro Değerlendirilmesi.....	72
PB16 4t1 Uyarımı İle İndüklenen Cd4 ⁺ Trm-Benzeri Hafıza Öncül Hücrelerin Antitümör Fonksiyonu.....	73
PB17 Romatoid Artrit Th17.1 Artışı Ve Tedavi Yanıtı İle İlişkili T Hücre Profili	75
PB18 Cpg Ve Cpg/Tat Adjuvanlı İntranazal Aşılama Sonrası Dokuda Yerleşik Hafıza T Hücreleri Ve Antikor Yanıtı.....	77
PB19 Myastenia Gravis'te Periferik Ve Timik Cd4+ T Hücrelerinde Stat-1 Aktivasyonu Ve Düşük İnterferon Yanıtı.....	78
PB20 Helicobacter Pylori Dış Membran Veziküllerinin Dalak Hücrelerinin Proliferasyon, Il-6 Ve Ifn-Gamma Üretimi Üzerindeki Etkisinin Araştırılması.....	80
PB21 Multipl Sklerozda Transkriptomik Ve Dna Metilasyon Verilerinin Entegrasyonu İle Hücre/Doku Tipine Özgü Gen Ekspresyonu–Metilasyon İlişkilerinin Çok Katmanlı Omik Analizi.....	81
PB22 Türk Klinik Helicobacter Pylori İzolatlarından Elde Edilen Dış Membran Veziküllerinde Lipopolisakkarit Detoksifikasyonu.....	82
PB23 Fare Peritoneal B Hücrelerinden Kaynaklanan Il-27 Yanıtı Ve Farklı Mog35-55 Peptit Sekanslarıyla İndüklenen Eae'de Klinik Skorlar İle Demiyelinizasyon Paternleri.....	84
PB24 Klebsiella Pneumoniae'ye Karşı Omv Tabanlı Aşı Formülasyonlarının İmmün Yanıt Ve Koruyucu Etkilerinin Değerlendirilmesi.....	86
PB25 Cdc Crossmatch İle Total Ve İzole T/B Hücre Temelli Flow Crossmatch Yöntemlerinin Karşılaştırılması.....	87

PB26 Eritrosit Süspansiyonlarının Depolama Süresi Ve Lökoreduksiyon İşleminin Etkisiyle Salınan Eksozomların T Lenfosit Proliferasyonu Üzerindeki Etkileri.....	89
PB27 İnek Sütü Proteinini Alerjisinde Süt Oral İmmünoterapisi Bazofil Aktivasyonu Üzerindeki Etkisi: Direkt Ve Pasif Bat Analizi.....	91
PB28 İnaktif Kombine Aşılar İçin İmmünojenite Değerlendirmesinde Yeni Bir Alternatif: Rat Modeli.....	93
PB29 Helicobacter Pylori Dış Membran Veziküllerinin Dalak Hücrelerinin Canlılığı Ve IL-10 Üretimi Üzerindeki Etkisinin Araştırılması.....	95
PB30 Gebelikte İmmün Toleransla İlişkili Aday Hedef Genlerin Belirlenmesi: Multipl Sklerozda Cd4+ T Hücre Transkriptom Yeniden Analizi.....	96
PB31 Cxcl Kemokinlerinden Türevlenen Küçük Peptit Dizilerinin Meme Kanseri Ve İlişkili Monositler Üzerine Etkisi.....	98
PB32 Foliküler Sitotoksik T Hücrelerinin Cd40l Ekspresyonuna Bağlı Fonksiyonel Farklılıklarının İncelenmesi.....	100
PB33 Akut Myeloid Lösemide Cd11b/Cd64 İmmünofenotipi Ve Genetik Risk İlişkisi.....	101
PB34 Nod2 Varyantlarının Otoinflamasyonun Ötesindeki Rolü: Epistatik Etkileşimler, B-Hücre Disregülasyonu Ve “Nod2-Opati” Spektrumu.....	102
PB35 Sitomegalovirus Ön Üveiti Patogenezinde Nk Hücreleri Ve İmmün Kontrol Noktası Reseptörlerinin Rolü.....	103
PB36 Hepatosellüler Karsinomda Testosteronun Anti-Kanser Ve İmmün Düzenleyici Etkilerinin Değerlendirilmesi.....	104
PB37 Uçay Uçuşunun Nötrofillerin T Lenfositler Üzerindeki İmmün Düzenleyici Fonksiyonlarına Etkisi...105	105
PB38 Buffy-Coat Eksozomlarının Nötrofillerin Ros Üretim Kapasitesi Üzerindeki Etkisi.....	106
PB39 Over Kanseri Hastalarının Periferik Kan, Asit Sıvısı, Lenf Düğümü ve Tümör Dokusunda Hla-Dr+ T Lenfositlerin Fenotipik Karakterizasyonu.....	108
PB40 Salmonella Typhimurium, İnflamazom İmmün Yanıtından Gasdermin B Konak Proteinini Düzenleyerek Kaçmaktadır.....	110
PB41 İn Vivo Akciğer Tümör Mikroçevresini İncelemek İçin Tekrarlanabilir Yöntem: Aspirasyonla Oluşturulan Ortotopik Akciğer Kanseri Modeli.....	111
PB42 Viroloji ve İmmünoloji Araştırmalarında Tunable Resistive Pulse Sensing (Trps) ile Nanopartikül Analizi.....	112
PB43 Anti-Mda5 Dermatomyozitli Hastalarda Otoantikor Reaktivitesinin ve Hla Sınıf II Allellerinin Karakterizasyonu.....	113
PB44 STAT3 Mutasyonlarında Domain-Spesifik Fosforilasyon Yanıtları.....	116
PB45 Timoma-İlişkili Myasthenia Gravis'te Çift-Negatif B Hücrelerinin Kemokin Reseptör Profili: Perifer ve Timustaki Dağılımları.....	117
PB46 IL-9'un Bilinmeyen İmmünometabolik Rolü: İmmünsüpresif T Hücre Yanıtları.....	118
PB47 In Vitro Bir Hepatosellüler Karsinom Modelinde Cd47 Aracılı İmmün Kaçışın Değerlendirilmesi İçin Fagositoz Temelli Ko-Kültür Sisteminin Optimizasyonu.....	119
PB48 Homozigot Rhoh Varyantı ve Kombine İmmün Yetmezlik.....	121

PB49 Lökosit Azaltılmış Eritrosit Süspansiyonlarından İzole Edilen Eksozom ve Mikropartiküllerin Hemostaz Üzerine Etkileri.....	122
PB50 Kolorektal ve Meme Tümörlerini İnfiltrate Eden Makrofaj ve Nötrofillerde Cd14/Hla-Dr Düzeyi Yeni Hücre Alt-Popülasyonlarına İşaret Edebilir Mi?.....	124
PB51 Yaş Tıp Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonunda Bevacizumab Tedavisinin Lokal ve Sistemik İmmün Yanıtlara Etkileri.....	125
PB52 Juvenile Dermatomyozitte İmmün Regülasyon: Lrba–Ctla4 Ekseninin Araştırılması.....	127
PB53 Otoimmün Hipofizit: Patofizyolojik Mekanizmaların Aydınlatılmasında Yeni Bir DeneySEL Model Stratejisi.....	128
PB54 İmmün Yetmezlik ve Hla-B27 Taramasında Longcyte ve Navios Akış Sitometri Cihazlarının Karşılaştırmalı Analizi.....	129
PB55 Car-T Hücre Sitotoksiste Analizleri İçin Plego-Casper3-Puro Plazmidinin Tasarlanması ve Casper3 ⁺ Raji Hücre Hattının Oluşturulması.....	131
PB56 Antibiyotik Dirençli Enterobakteriler Por Oluşturan Konak Doğal Bağışıklık Proteini Tarafından Öldürülmektedir.....	133
PB57 Fosfoinositid-3-Kinaz (P13k) Sinyal Yolağında Yaşa Özgü Fosfo-Akım Sitometri Referans Değerleri.....	134
PB58 Koronavirüs Proteini Konak Doğal Bağışıklık Yanıtını Piroptoz ve Apoptoz Hücre Ölüm Yolakları Üzerinden Düzenlemektedir.....	135
PB59 Üçlü Negatif Meme Kanseri Modelinde Antijen Dekore Edilmiş Omv Tabanlı Aşı Platformunun Değerlendirilmesi.....	136
PB60 Yaşlılarda Primer Sarkopeni Ve Doğal İmmün Yanıt Dinamikleri: Sarc-F, Serum Tlr-4, Tlr-9 ve Resolvin Düzeyleri.....	137
PB61 Selaginellaceae Polifenolleriyle İlişkili Poli-Arillenmiş Floren Türevlerinin Adam17, Tnf-A Ve No/İnos Eksenlerindeki Eşzamanlı Modülasyonu.....	140
PB62 İmmünomodülatör Ajanların Değerlendirilmesine Yönelik Checkpoint Biyoanalizinde T Hücre Aracılı Sitotoksistenin Dinamik Aralığın Belirlenmesi.....	142
PB63 Farklı Lentiviral Paketleme Sistemleri ile Virüs Benzeri Parçacık (Vlp) Üretimi ve Transdüksiyon Verimliliğinin Araştırılması.....	144
PB64 Yeni Bir <i>Itgb2</i> Splice-Bölge Varyantı Taşıyan Lad-1 Olgusunda Cd18 Kaybı ve Lenfoid Kompartıman Disfonksiyonu.....	148
PB65 Artmış Tcr Yanıtı ve Disregüle Aktivasyon İle İlişkili Olası Digeni Etkileşim: <i>Card11</i> Ve <i>Mefv</i> Varyantları.....	149
PB66 Kronik İtp ile Seyreden Bir Olguda <i>Elf4</i> Geninde Yeni Bir Varyant.....	150
PB67 <i>Cdc42</i> Mutasyonlu Nocarh Sendromunda Ilc2–Ilc3 Eksikliği Ve Treg Fonksiyonel Yeniden Programlanması.....	151
PB68 Underlying Immunodeficiencies in Children Presenting With Invasive Pneumococcal Disease: A Retrospective Cohort Study	152

BİLİMSEL PROGRAM

Tarih	Saat	Salon	Program
26 Nisan 2026 Pazar			
26 Nisan 2026 Pazar	11:00 - 12:15	DENHAB	TRANSLASYONEL İMMÜNOLOJİDE İN VİVO/EX VİVO HAYVAN MODELLERİ İMMÜN-ONKOLOJİ MODELLERİYLE TÜMÖR MİKROÇEVRESİNİ ANLAMAK (TEORİK SUNUM) Oturum Başkanları: Haluk Barbaros Oral - Güneş Esendağlı Açılış, Hoş Geldiniz ve Kurs Bilgilendirmesi Diğdem Yöyen Ermiş Tümör İmmünolojisi ve Hayvan Modellerinde Tümör Mikroçevresi Diğdem Yöyen Ermiş Humanize Hayvan Modelleri: Translasyonel İmmünolojide Yeni Ufuklar Güneş Esendağlı
26 Nisan 2026 Pazar	12:15 - 13:15	DENHAB	ÖĞLE ARASI
26 Nisan 2026 Pazar	12:50 - 14:30	A SALONU (BÜYÜK SALON)	AKAN HÜCRE ÖLÇER - 1 (ANT MEDİKAL) Oturum Başkanları: Günnur Deniz - Tolga Sütü Akan Hücre Ölçer: Temel Prensipler Günnur Deniz Akan Hücre Ölçer Kullanım Alanları Umut Can Küçüksezer İmmünfenotiplendirme Analizlerine Genel Bakış Esin Çetin Aktaş
26 Nisan 2026 Pazar	13:00 - 14:30	B SALONU (KÜÇÜK SALON)	NAKİLLERDE İMMÜNOLOJİK ENGELLER VE ÇÖZÜMLERİ - 1 SOLİD ORGAN NAKİLLERİNDE SORUNLAR VE ÇÖZÜMLERİ (HİTİD ORTAK OTURUM) (GEN-PLUS) Oturum Başkanları: Bilkay Baştürk - Fatma Oğuz Savran Transplantasyonda HLA'lar Fatma Oğuz Savran Hücrel ve Humoral Yanıtın Önemi Servet Uluer Biçeroğlu Doku Tiplendirme ve Uygunluk Testleri Mehmet Ali Öktem
26 Nisan 2026 Pazar	13:15 - 14:20	DENHAB	OTOİMMÜN HASTALIKLARIN DENEYSEL MODELLERİ Multiple Skleroz ve Romatoid Artrit Modelinde İmmün Yanıt ve Sistemik Etkileri Haluk Barbaros Oral Enjeksiyon Uygulama Yöntemleri: Subkutan, İntraperitoneal, İntramüsküler ve İntravenöz Uygulamaların Gösterimi Faruk Küçükyıldız - Ekin Başpınar
26 Nisan 2026 Pazar	14:30 - 15:00		KAHVE ARASI

Tarih	Saat	Salon	Program
	14:30 - 15:45	DENHAB	UYGULAMALAR - 1 UYGULAMALAR PARALEL OLARAK AMELİYATHANE-1 VE AMELİYATHANE-2'DE YÜRÜTÜLECEKTİR Oturum Başkanları: Sabire Güler - Güneş Esendağlı Tümör Modelleri Uygulamaları - Ameliyathane-1 Ece Tavukçuoğlu - Demir Batuhan Yağcıoğlu - İlayda Memiş
26 Nisan 2026 Pazar	14:30 - 15:45	DENHAB	UYGULAMALAR - 2 UYGULAMALAR PARALEL OLARAK AMELİYATHANE-1 VE AMELİYATHANE-2'DE YÜRÜTÜLECEKTİR Oturum Başkanları: Haluk Barbaros Oral - Emine Rabia Koç Otoimmün Hastalık Modelleri Uygulamaları - Ameliyathane-2 Gözde Arslan - Müjdat Atılğan - Ceren Esen Kirez
26 Nisan 2026 Pazar	15:00 - 16:30	A SALONU (BÜYÜK SALON)	AKAN HÜCRE ÖLÇER - 2 (ANT MEDİKAL) Oturum Başkanları: Esin Çetin Aktaş - Umut Can Küçüksezer Panel Dizaynı Metin Yusuf Gelmez Kompanzasyon ve Veri Analizi Tolga Sütü
26 Nisan 2026 Pazar	15:00 - 16:30	B SALONU (KÜÇÜK SALON)	NAKİLLERDE İMMÜNOLOJİK ENGELLER VE ÇÖZÜMLERİ - 2 HÜCRESEL VE SIVISAL NAKİLLERDE SORUNLAR VE ÇÖZÜMLERİ (TKMTD ORTAK OTURUM) (DIAPRO) Oturum Başkanları: Ramazan Uluhan - Yasemin Heper Eritrosit Antijenleri, İmmünolojik Etkileri ve Önlemler Levent Tufan Kumaş Kök Hücre Naklinde İmmün Mekanizmalar Ercüment Ovalı Lökosit, Trombosit Antijenleri, İmmünolojik Etkileri ve Önlemleri Yüce Ayhan
26 Nisan 2026 Pazar	15:45 - 16:15	DENHAB	KAPANIŞ VE DEĞERLENDİRME
26 Nisan 2026 Pazar	16:30 - 17:00		KAHVE ARASI
26 Nisan 2026 Pazar	17:00 - 18:00	A SALONU (BÜYÜK SALON)	AÇILIŞ TÖRENİ
26 Nisan 2026 Pazar	18:00 - 18:40	A SALONU (BÜYÜK SALON)	AÇILIŞ KONFERANSI Oturum Başkanları: İhsan Gürsel - Ayça Sayı Yazgan Sıtma: Nasıl Baş Edilir? Cevayir Çoban
26 Nisan 2026 Pazar	18:40 - 20:30	FUAYE ALANI	AÇILIŞ KOKTEYLİ

Tarih	Saat	Salon	Program
27 Nisan 2026 Pazartesi			
27 Nisan 2026 Pazartesi	09:00 - 09:45	A SALONU (BÜYÜK SALON)	EPİTELYAL BARIYER HİPOTEZİNDE GÜNCEL GELİŞMELER Oturum Başkanları: Okan Töre - Haluk Barbaros Oral Konuşmacı Cezmi Akdiş
27 Nisan 2026 Pazartesi	09:45 - 10:15	A SALONU (BÜYÜK SALON)	2025 NOBEL TIP VE FİZYOLOJİ ÖDÜLÜ'NÜN ÖNEMİ Oturum Başkanları: Vedat Bulut - Mahmut Bayık Konuşmacı Emin Kansu
27 Nisan 2026 Pazartesi	10:15 - 10:45		KAHVE ARASI
27 Nisan 2026 Pazartesi	10:45 - 12:00	A SALONU (BÜYÜK SALON)	DOĞANIN KLİNİK DENEYLERİ; DOĞUMSAL BAĞIŞIKLIK KUSURLARI (TİD-KİD ORTAK OTURUMU) Oturum Başkanları: Yıldız Camcıoğlu - İlhan Tezcan - Arzu Aral Hedeflenmiş Tedavide Yükselen Yıldız; Kompleman Terapötikleri: Yeni Molekül ve Yeni Endikasyon Ahmet Özen Adaptif İmmün Sistemin Kaynağı: İmmün Repertuar ve İmmün Yetmezlikler Baran Erman CTLA-4 Eksikliği ile Seyreden İmmün Yetmezliklerde Omik Yaklaşımların Katkıları Safa Barış
27 Nisan 2026 Pazartesi	12:00 - 12:45	A SALONU (BÜYÜK SALON)	UYDU SEMPOZYUMU Oturum Başkanı: İsmail Reisli İmmünoglobulinlerin Tedavide Biyolojik Etkileri Şebnem Kılıç
27 Nisan 2026 Pazartesi	12:45 - 13:45		ÖĞLE YEMEĞİ
27 Nisan 2026 Pazartesi	13:45 - 15:30	A SALONU (BÜYÜK SALON)	TOLERANS KAYBI VE OTOİMMÜNİTE Oturum Başkanları: Nihat Sapan - Yavuz Pehlivan Tolerans İndükleyici Dendritik Hücrelerle Otoimmün Hastalıkların Tedavisi Haluk Barbaros Oral Kodlanmayan RNA'lar ve İmmün Regülasyon Atakan Ekiz Miyopatilerde Otoimmün Yanıtın Gelişimi: T Hücreleri ve Otoantikorların Rolü Begüm Horuluoğlu Sözlü Sunum 1 CD22, Foliküler T Hücre Programını Tanımlar ve Hümmoral Toleransı Destekler Fatma Betül Öktelik Sözlü Sunum 2 Mikrobiyal Disbiyozis, Siklik Dinükleotidler Aracılığıyla STING-İlişkili Otoinflamasyonu Tetikler Burcu Temizöz Sözlü Sunum 3 Ankilozan Spondilit'te Ortak İmmünojenik Peptit İmzalarının Tanımlanması Şeyma Çolaoğlu Özkaya

Tarih	Saat	Salon	Program
27 Nisan 2026 Pazartesi	15:30 - 16:00		KAHVE ARASI
27 Nisan 2026 Pazartesi	16:00 - 17:45	A SALONU (BÜYÜK SALON)	ALERJİK HASTALIKLARIN İMMÜNOLOJİK TEMELLERİ VE İNOVATİF TEDAVİLER (TİD-ÇAİAD-AİD ORTAK OTURUMU) Oturum Başkanları: Arzu Aral - Ümit Murat Şahiner Ağır Astım Remodeling ve Güncel Tedaviler Özlem Göksel Besin Alerjilerinde Tolerans İndüksiyonu Cansın Saçkesen Mikro ve Nanoplastiklerin Epitel Bariyer Disfonksiyonundaki Rolü: Çoklu Hücrel Stres Mekanizmaları Sena Ardıçlı Sözlü Sunum 4 IgE-Bağımlı ve Bağımsız Anafilaksi Rotalarında Doğal Lenfoid Hücre Dinamikleri Abdurrahman Şimşek Sözlü Sunum 5 Ürtikerde Nöroimmün Bağlantı Olarak Asetilkolin Aracılı Mast Hücre Uyarımının Araştırılması Sercan Güloğlu Sözlü Sunum 6 Biyomimetik Çip-Üstü-Organ Platformlarında Çevresel Maruziyetlere Bağlı Bariyer Hasarı ve İmmün Yanıtın İncelenmesi Pelin Sağlam Metiner
27 Nisan 2026 Pazartesi	17:45 - 18:15	A SALONU (BÜYÜK SALON)	KONFERANS Oturum Başkanları: Serkan Yazıcı - Tunç Akkoç Çeşitlilik ve Kapsayıcılığa Sosyo-Bilimsel Bir Bakış: Çeşitliliğin Gücünü En İyi İmmünologlar Bilir! Cemil Pehlivanoğlu
27 Nisan 2026 Pazartesi	18:15 - 18:45	A SALONU (BÜYÜK SALON)	KUŞ FOTOĞRAFLARI SUNUMU Konuşmacı Mehmet Ali Öktem
27 Nisan 2026 Pazartesi	19:00 - 19:30	B SALONU (KÜÇÜK SALON)	TİYATRO OYUNU Angst
28 Nisan 2026 Salı			
28 Nisan 2026 Salı	08:30 - 10:35	A SALONU (BÜYÜK SALON)	NE KADARINI BİLİYORUZ? Oturum Başkanları: Mehmet Yabaş - Şükrü Çekiç Akılcı İlaç Kullanımı Erkan Ermiş HLA Alt Tipleri (A, B, DR DQ vb) Arasındaki Yapısal ve Fonksiyonel Farklılıklar Onur Serçinoğlu Genomewide Association Studies (GWAS) Döneminde HLA Hastalık İlişkileri Güher Saruhan Direskeneli Tüberküloz Tanısında MHC Peptit Kompleksinin Yeri Orhan Kaya Köksalan Sözlü Sunum 7

Tarih	Saat	Salon	Program
			CTPS1 Eksikliği Olan Bireyde Doğuştan ve Edinsel Bağışıklık Yanıtlarının İmmünojenotipik ve Fonksiyonel Analizi İrem Evcili Sözlü Sunum 8 Germline CTLA-4 Yetersizliğinin αβ TCR ve BCR Profillerine Etkileri: Adaptif Repertuar Analizi Kutay Erdoğan
28 Nisan 2026 Salı	10:35 - 11:00		KAHVE ARASI
28 Nisan 2026 Salı	11:00 - 12:15	A SALONU (BÜYÜK SALON)	EKSTRASELÜLER VEZİKÜLLER Oturum Başkanları: Mayda Gürsel - Salih Haldun Bal EV Aşılari İsmail Cem Yılmaz Bakteriyel OMV Kökenli Aşılari İmmünojenitesi ve Koruyuculuğu Mayda Gürsel Kanser Tedavisinde EV'ler Petek Korkusuz
28 Nisan 2026 Salı	12:15 - 13:00	A SALONU (BÜYÜK SALON)	SPECTRAL AND IMAGING FLOW CYTOMETRY SOLUTIONS FOR CELLULAR AND EXTRACELLULAR VESICLE ANALYSES - SACEM Oturum Başkanı: İhsan Gürsel Konuşmacı Owen Hughes
28 Nisan 2026 Salı	13:00 - 14:00		ÖĞLE YEMEĞİ
28 Nisan 2026 Salı	14:00 - 15:45	A SALONU (BÜYÜK SALON)	TÜMÖR İMMÜNOLOJİSİ Oturum Başkanları: Güneş Esendağlı - Diğdem Yöyen Ermiş Tümör Mikroçevresinde Sıradışı Hücreler Güneş Esendağlı Kanserde Doğal Lenfoid Hücreler Günnur Deniz CAR-T Hücreler ve Nanobadiler M. Batu Erman Sözlü Sunum 9 Üçlü Negatif Meme Kanseri (TNBC) MgCl₂'nin Miyeloid Kökenli Baskılayıcı Hücreler (MDSC) Üzerine Fenotipik ve Fonksiyonel Etkileri İlayda Memiş Sözlü Sunum 10 Kolonorektal Kanserde İmmün Kaçış ve Metastatik Belleğin Moleküler Temeli Çiğdem Elif Çelik Sözlü Sunum 11 Asbestozise Neden Olan Tremolit, Krizotil ve Eriyonit Maddelerinin T ve B Hücre İmmün Yanıtları Üzerine Etkileri Zeynep Akidağ
28 Nisan 2026 Salı	15:45 - 16:15		KAHVE ARASI

Tarih	Saat	Salon	Program
28 Nisan 2026 Salı	16:15 - 18:00	A SALONU (BÜYÜK SALON)	TRANSLASYONEL İMMÜNOLOJİ Oturum Başkanları: Tuncay Göksel - İshak Özel Tekin Kanser ve CAR-NK Hücreler Tolga Sütü Kanser Tedavisinde Peptit Temelli Nanotaşıyıcı Sistemler Selin Seda Timur CAR-T Tedavilerinde İstanbul Deneyimi Ercüment Ovalı Sözlü Sunum 12 Genetik Olarak Modifiye Edilmiş MenB Serotipinden GMP Uyumlu Elde Edilen OMV Aşılarının İndüklediği Fonksiyonel Antikor Yanıtlarının Ticari Aşı ile Karşılaştırılması Seyhan İçier Sözlü Sunum 13 Kısa Zincirli Yağ Asitlerinin Sedef Fare Modelinde Gamma Delta (γδ) T Hücre Aracılı İnflamasyona Etkisinin Araştırılması Hüseyin Avcılar Sözlü Sunum 14 Adalimumabın İnsan NK Hücrelerinde Apoptoz, Hücre Sağkalımı, Proliferasyon, Alt-Grup Oranları, Sitokin Salınımı ve Sitotoksiteye Etkileri Fehim Esen
28 Nisan 2026 Salı	18:00 - 20:00	FUAYE ALANI	POSTER DEĞERLENDİRME
28 Nisan 2026 Salı	20:00 - 21:00	A SALONU (BÜYÜK SALON)	KONSER
29 Nisan 2026 Çarşamba			
29 Nisan 2026 Çarşamba	08:45 - 09:15	A SALONU (BÜYÜK SALON)	NON-CANONICAL FUNCTIONS OF TREG CELL IN TISSUE INFLAMMATION Oturum Başkanları: Arzu Aral - Güher Saruhan Direskeneli Konuşmacı Talal Chatila
29 Nisan 2026 Çarşamba	09:15 - 09:30	A SALONU (BÜYÜK SALON)	PROF. DR. IŞIL BERAT BARLAN BAŞARI ÖDÜLLERİ TÖRENİ Talal Chatila
29 Nisan 2026 Çarşamba	09:30 - 11:05	A SALONU (BÜYÜK SALON)	NÖROİMMÜNOLOJİ Oturum Başkanları: Ayça Sayı Yazgan - Şermin Genç Mikroglia ve Astroglia Arasında İmmün Diyalog Şermin Genç Nöroimmün Haritalama: Omik Yaklaşımlarla Yeni Perspektifler Özgün Gökçe Multipl Sklerozda Nöroimmün Etkileşimler Emine Rabia Koç Sözlü Sunum 15 METRNL/IL-41 Sıçanlarda İritabl Bağırsak Sendromu Modelinde Lökosit Trafikini ve Viseral Hassasiyeti Düzenleyerek Nöroimmün Rol Oynar Alperen Akbaba Sözlü Sunum 16

Tarih	Saat	Salon	Program
			Nörogelişimsel Gerilikli Bir Olguda <i>FOLR1</i> Geninde Novel Homozigot Varyantın Fonksiyonel Folat Transport Bozukluğu ile Gösterilmesi Şerife Erdem
29 Nisan 2026 Çarşamba	11:05 - 11:25		KAHVE ARASI
29 Nisan 2026 Çarşamba	11:25 - 12:00	KONGRE MERKEZİ GİRİŞİ	DÜNYA İMMÜNOLOJİ GÜNÜ KUTLAMASI - BALON UÇURMA ETKİNLİĞİ
29 Nisan 2026 Çarşamba	12:00 - 12:45	A SALONU (BÜYÜK SALON)	DAY OF IMMUNOLOGY Oturum Başkanları: Günnur Deniz - Elif Karakoç Aydın Antijene Karşı İmmün Tolerans Mekanizmaları Mübeccel Akdiş
29 Nisan 2026 Çarşamba	12:45 - 13:30	A SALONU (BÜYÜK SALON)	KAPANIŞ VE BİLDİRİ ÖDÜL TÖRENİ

SÖZEL BİLDİRİLER

SB1 CD22, FOLİKÜLER T HÜCRE PROGRAMINI TANIMLAR VE HÜMORAL TOLERANSI DESTEKLER

Fatma Betül Oktelik^{1,2,3}, Junhui Hu¹, Klaus Schmitz-abe⁵, Jeong-mi Lee⁶, Feven Getachew¹, Ki Pui Lam², Metin Yusuf Gelmez³, Pankaj B. Agrawal⁵, Shankai Yin⁴, Erdem Gürel⁷, Bahar Artım Esen⁷, Suzan Cinar³, Gunnur Deniz³, Lauren A Henderson², Peter T. Sage, Mehdi Benamar^{1,2,8,§}, Talal A. Chatila^{1,2,6,§}

¹ Division of Immunology, Boston Children's Hospital, Boston, Massachusetts, USA

² Department of Pediatrics, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA

³ Department of Immunology, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine (Aziz Sancar DETAE), Istanbul University, Istanbul, Türkiye

⁴ Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Shanghai Key Laboratory of Sleep Disordered Breathing, Otolaryngological Institute of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200233, China

⁵ Division of Neonatology, Department of Pediatrics, University of Miami Miller School of Medicine and Jackson Health System, Miami, FL, USA

⁶ Transplantation Research Center, Division of Renal Medicine, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, Boston, MA, USA

⁷ Istanbul Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of Rheumatology, İstanbul, Türkiye

⁸ Institute of Regenerative Medicine and Biotherapy, Inserm, University of Montpellier, Montpellier, France

Giriş ve Amaç: Foliküler T hücreleri; foliküler yardımcı (TFH), foliküler düzenleyici (TFR) ve foliküler sitotoksik (TFC) alt gruplarına ayrılmakta olup, germinal merkez (GM) reaksiyonlarının düzenlenmesinde ve antikor üretiminin dengede tutulmasında merkezi rol oynamaktadır. Özellikle TFR hücreleri, GM yanıtlarını baskılayarak otoantikor oluşumunu sınırlar. Sistemik Lupus Eritematosus (SLE), kontrolsüz GM yanıtları ve patojenik otoantikor üretimi ile karakterize kronik bir otoimmün hastalıktır. TFR hücre sayısı veya fonksiyonundaki bozulmaların SLE patogeneze katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Ancak foliküler T hücre alt gruplarının farklılaşma süreçleri ve fonksiyonel düzenleyici mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu çalışmada, CD22 molekülünün foliküler T hücre biyolojisindeki rolü araştırılmış ve CD22 ekspresyonunun yalnızca TFR hücreleriyle sınırlı olup olmadığı ve farklı foliküler T hücre alt gruplarında ekspresyon düzeyi ile fonksiyonel etkileri analiz edilmiştir. Ayrıca, Notch reseptör ailesinin bu alt gruplardaki ekspresyon profili incelenmiştir.

Gereç ve Yöntemler: Fare ve insan lenfoid dokularında foliküler T hücre alt grupları akan hücre ölçer sistemi ile fenotipik olarak karakterize edilmiştir. CD22⁺ ve CD22⁻ foliküler T hücre alt gruplarının transkripsiyonel profilleri RNA dizileme analizi ile karşılaştırılmış, fonksiyonel farklılıklar ise in vitro baskılama deneyleri ve hücre kültürü temelli fonksiyonel testler aracılığıyla değerlendirilmiştir. Ayrıca, Treg hücrelerine özgü Cd22 gen delesyonu taşıyan (Foxp3YFPCreCd22fl/fl) fare modelleri kullanılarak homeostatik ve antijene özgü antikor yanıtları incelenmiştir. Bu deneylere ek olarak, mekanistik düzeyde mTORC1-pSTAT3 sinyal yolağı ve Notch reseptör ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Çalışmamıza toplam 30 SLE hastası dahil edilmiş olup hastalardan elde edilen periferik kan örneklerinden izole edilen hücrelerde, akan hücre ölçer yöntemi kullanılarak CD22 ve Notch ekspresyon düzeyleri analiz edilmiştir.

Bulgular: Transkripsiyonel analizler, CD22⁺ TFR hücrelerinin Bcl6, Cxcr5 ve Tcf7 gibi foliküler programı düzenleyen temel transkripsiyonel faktörlerini yüksek düzeyde eksprese ettiğini ve buna paralel olarak mTORC1-STAT3 sinyal aktivasyonunun arttığını desteklemektedir. Fonksiyonel analizler, CD22⁺ TFR hücrelerinin baskılayıcı kapasitesinin daha yüksek olduğunu, Treg hücrelerine özgü Cd22 delesyonunun antikor yanıtlarında düzensizliğe neden olduğunu ve yaşla birlikte otoantikor üretiminde artışa yol açtığını göstermiştir. Mekanistik analizler, Cd22 eksikliğinin TFR hücre fonksiyonunu mTORC1-pSTAT3 sinyal yolu üzerinden etkilediği saptanmıştır. Bu verilere ek olarak,

Foxp3⁺ Treg hücrelerine özgü Bcl6 ve Notch1/2 eksikliğinde CD22 ekspresyonunun belirgin şekilde azalması, CD22'nin foliküler T hücre programının ana düzenleyicileri olan Bcl6 ve Notch sinyali tarafından kontrol edildiğini ortaya koymaktadır. Bu bulgular, CD22 molekülünün yalnızca bir yüzey proteini değil, foliküler T hücre farklılaşması ve fonksiyonel programlanmasında aktif bir düzenleyici molekül olduğunu ortaya koymaktadır.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, CD22–Notch–mTORC1–STAT3 ekseninin TFR hücre fonksiyonunun temel bir düzenleyicisi olduğunu göstermektedir. CD22⁺ TFR hücreler, humoral immün yanıtın büyüklüğünü ve kalitesini belirleyen kritik bir alt grup olarak öne çıkmaktadır. SLE gibi otoantikör aracılı hastalıklarda kontrolsüz GM reaksiyonları patogeneizde merkezi rol oynamaktadır. CD22–Notch–mTORC1–STAT3 yolunun bozulması TFR hücre fonksiyon kaybına ve otoantikör üretiminin artışına katkıda bulunabilir. Bu nedenle CD22⁺ foliküler T hücrelerinin hedeflenmesi veya fonksiyonlarının güçlendirilmesi, SLE ve diğer otoimmün hastalıklar için yeni terapötik stratejiler sunabilir.

Anahtar Kelimeler: CD22, foliküler T hücreleri, germinal merkez, humoral immün yanıt, sistemik lupus eritematozus, immune disregülasyon

SB2 MİKROBİYAL DİSBIYOZİS, SIKLIK DİNÜKLEOTİDLER ARACILIĞIYLA STING-İLİŞKİLİ OTİNFLAMASYONU TETİKLER

Burcu Temizöz¹, Takayuki Shibahara², Koji Hosomi³, Jonguk Park⁴, Erdal Sağ⁶, Takehiko Doi⁷, Marjan A. Versnel⁸, Jun Kunisawa³, Masahiro Yamamoto⁵, Peter D. Katsikis⁸, Cevayir Coban⁹, Mayda Gursel¹⁰, Seza Ozen⁶, Atsushi Kumanogoh², Ken J. Ishii¹

¹ Division of Vaccine Science, Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo

² Department of Respiratory Medicine and Clinical Immunology, Graduate School of Medicine, Osaka University, Osaka

³ Laboratory of Vaccine Materials, National Institutes of Biomedical Innovation, Osaka

⁴ Laboratory of Bioinformatics, Artificial Intelligence Center For Health and Biomedical Research, Osaka

⁵ Department of Immunoparasitology, Osaka University, Osaka

⁶ Department of Pediatric Rheumatology, Hacettepe University, Ankara

⁷ Department of Pediatrics, Hiroshima University, Hiroshima

⁸ Department of Immunology, Erasmus Mc, Rotterdam

⁹ Division of Malaria Immunology, The University of Tokyo, Tokyo

¹⁰ Izmir Biomedicine and Genome Center, Izmir

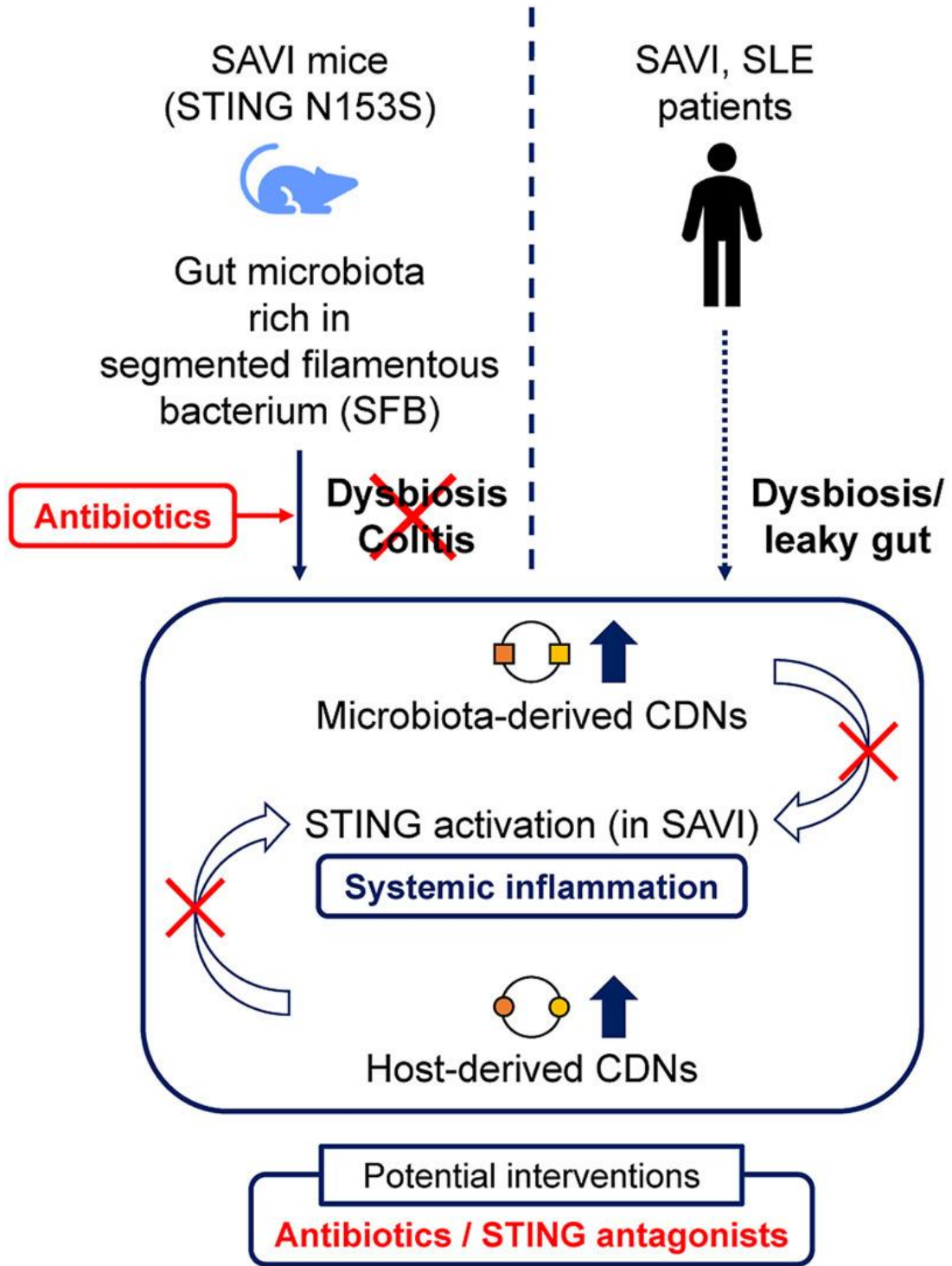
Giriş ve Amaç: STING (Stimulator of Interferon Genes) yolunun anormal aktivasyonu, özellikle infantil başlangıçlı STING ilişkili vaskülopati (SAVI) gibi otoinflamatuar hastalıkların temel patogenetik mekanizmalarından biridir. Ancak STING aktivasyonu ile klinik hastalık şiddeti arasındaki mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, mikrobiyal disbiyozisin ve siklik dinükleotidlerin (CDN) STING aracılı otoinflamasyonu nasıl güçlendirdiği araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: N153S STING mutasyonunu taşıyan SAVI fare modeli kullanılarak klinik fenotip, bağırsak mikrobiyotası kompozisyonu ve sistemik inflamasyon değerlendirilmiştir. Diyare gelişen ve gelişmeyen SAVI fareleri karşılaştırılmıştır. Mikrobiyal ve konak kaynaklı CDN düzeyleri ölçülmüş, antibiyotik tedavisinin inflamasyon üzerine etkileri incelenmiştir. Ayrıca SAVI hastaları ile sistemik lupus eritematozus (SLE) ve romatoid artrit (RA) hastalarından elde edilen örneklerde sistemik CDN düzeyleri ve hastalık belirtiçleri analiz edilmiştir.

Bulgular: N153S mutasyonlu SAVI farelerinin bir alt grubunda şiddetli kolit ve diyare ile seyreden artmış sistemik inflamasyon gözlenmiştir. Diyareli SAVI farelerinde belirgin disbiyozis saptanmış; kısa zincirli yağ asidi üreten bakterilerde azalma ve segmentli filamentöz bakterilerde artış belirlenmiştir. Bu mikrobiyal dengesizlik, hem mikrobiyal hem de konak kaynaklı CDN düzeylerinde artış ile ilişkilidir. Antibiyotik tedavisi inflamasyonu belirgin şekilde azaltmıştır ve bu durum disbiyozisin STING aracılı inflamasyonu tetiklediğini göstermektedir. SAVI hastalarında da sistemik mikrobiyal ve konak kaynaklı CDN düzeylerinin arttığı saptanmıştır. STING'in rol oynayabileceği heterojen bir otoimmün hastalık olan SLE'de sistemik mikrobiyal CDN düzeyleri, tip I interferon skorları ve anti-dsDNA antikorları ile anlamlı korelasyon göstermiştir. Buna karşılık, STING'den bağımsız kabul edilen RA'da bu ilişki gözlenmemiştir.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, hem mikrobiyal hem de konak kaynaklı siklik dinükleotidlerin STING aktivasyonunun temel sürükleyicileri olduğunu göstermektedir. Disbiyozis, artmış CDN üretimi aracılığıyla STING ilişkili otoinflamasyonu şiddetlendirmektedir. Elde edilen bulgular, sistemik CDN düzeylerinin STING aracılı hastalıklarda potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ve bireysel CDN profiline göre cGAS veya mikrobiyota hedefli kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: STING, siklik dinükleotid, disbiyozis, SAVI



Şekil 1. Bağırsak mikrobiyotasından kaynaklanan siklik dinükleotidler (CDN'ler), STING yolunu aktive ederek otoinflamatuvar ve otoimmün hastalıkların şiddetlenmesine katkıda bulunur. Bu moleküller hem potansiyel biyobelirteçler hem de tedavi hedefleri olarak değerlendirilebilir.

SB3 ANKİLOZAN SPONDİLİT’TE ORTAK İMMÜNOJENİK PEPTİT İMZALARININ TANIMLANMASI

Şeyma Çolakoğlu Özkaya¹, Kerem Abacar², Yunus Emre Dilek³, Banu Taktak Karaca⁴, Talat Yalçın⁶, Günseli Bayram Akçapınar³, Pamir Atagündüz⁵, Can Erzik¹

¹ Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

² Leeds Üniversitesi, Leeds Romatizma ve Kas-İskelet Hastalıkları Enstitüsü, Leeds, Birleşik Krallık

³ Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Medikal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴ Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁵ Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı, İstanbul

⁶ İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Kimya, İzmir

Giriş ve Amaç: Ankilozan spondilit (AS), doğal bağışıklık sistemi ve edinilmiş bağışıklık sistem dengesinin bozulması sonucu ortaya çıkan kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın patogenezinde en güçlü genetik risk faktörü İnsan Lökosit Antijen (HLA)-B27 olmakla birlikte, antijen işleme sürecinde görev alan Endoplazmik Retikulum Aminopeptidaz 1 ve 2 (ERAP1-2) genleri de aynı immün yolda yer almaktadır. Antijen işleme basamağında görev alan ERAP1 ve ERAP2 aminopeptidazları, MHC sınıf I moleküllerine yüklenecek peptitlerin uzunluğunu ve kompozisyonunu belirleyerek hücre yüzeyindeki immünopeptidom repertuarını şekillendirmektedir. Bu çalışmada, ERAP1-2 haplotipleri ve HLA-B varyantları zemininde şekillenen immünopeptidom repertuarını karakterize ederek, AS patogenezinde rol oynayabilecek immünojenik peptit imzalarını belirlemek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya 203 AS hastası ve 49 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen grupların *HLA-B* tiplendirilmesi LABType XR Class I B Locus Typing Test ile gerçekleştirilmiştir. *ERAP1* ve *ERAP2* haplotip analizleri Taqman SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, Foster City, USA) ve Gerçek Zamanlı PZR (Light Cycler 480, Roche) kullanılarak oluşturulmuştur. Genotip-fenotip ilişkileri ve *in silico* analizler doğrultusunda seçilen ikinci basamak çalışma grubunda, periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) ve sinoviyal sıvı mononükleer hücrelerinden (SFMC) elde edilen peptitler sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile tanımlanmıştır. Daha sonra peptitlerin immünojenite skorları ve MHC sınıf I bağlanma afiniteleri, Immune Epitope Database (IEDB) ve NetMHCcons platformu kullanılarak analiz edilmiştir. İmmünojenik skorları ve bağlanma afiniteleri dikkate alınarak aday olarak belirlenen, uzunluğu 7–14 aminoasit arasında değişen peptitler için mikrobiyal homoloji analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla UniProt peptit arama aracı ve EMBL-EBI FASTA benzerlik analizleri kullanılarak bakteriyel, fungal ve viral protein dizileri ile karşılaştırmalar yapılmıştır.

Bulgular: *ERAP1* ve *ERAP2* haplotip dağılımları hasta ve kontrol grupları arasında genel olarak benzer bulunmakla birlikte, Haplotip-8 (Hap8) hasta popülasyonunda en sık gözlenen haplotip olarak belirlenmiştir. HLA-B27 pozitifliği hasta grubunda %62 oranında saptanmış; HLA-B27 negatif hastaların %18’inde ise AS ile ilişkili alternatif risk alellerinin varlığı gösterilmiştir. ERAP risk ve koruyucu haplotipleri, HLA-B27 pozitif ve negatif hastalar ile sağlıklı kontrollerden oluşturulan alt gruplarda gerçekleştirilen immünopeptidom analizinde, MHC-I aracılığıyla sunulan peptit repertuarları karşılaştırılmıştır. Farklı genetik altyapılara rağmen belirli peptit dizilerinin hasta gruplarında tekrarlayan biçimde ortaya çıktığı gözlenmiştir. İmmünojenite skorları ve HLA bağlanma afiniteleri doğrultusunda filtrelenen ve mikrobiyal homoloji analizleri yapılan peptitler arasında; GGQGAAPV, QVSTHEQ, GSTLGGLL, KSAALLL, NSGPIII, KLAADNK, KRATVAP, TNAAEIP ve QSAALEP dizileri bakteriyel ve/veya fungal proteinlerle anlamlı benzerlik göstermeleri nedeniyle potansiyel artritojenik adaylar olarak belirlenmiştir. Diz sıvısı bulunan hastalarda yapılan karşılaştırmalı analizde KSAALLL, TNAAEIP, QVSTHEQ ve KRATVAP dizilerinin hem periferik kan hem de sinoviyal sıvı örneklerinde ortak olarak sunulduğu gösterilmiştir. Bu bulgular, ERAP ve HLA-B varyasyonlarının oluşturduğu genetik heterojeniteye rağmen, belirli immünojenik motiflerin AS patogenezinde ortak bir peptit imzası oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, antijen işleme ve sunum süreçlerinde görev alan *ERAP1* ve *ERAP2* varyasyonlarının şekillendirdiği immünopeptidom repertuarı içerisinde, genetik heterojeniteye rağmen tekrarlayan immünojenik peptit motiflerinin bulunduğunu göstermektedir. Tanımlanan aday peptitler artritogenik peptit teorisini desteklemekte olup, hastalık patogenezinde rol oynayabilecek ortak bir peptit imzasına işaret etmektedir. Bu bulgular, ileri fonksiyonel çalışmalar için temel oluşturmakta ve gelecekte geliştirilebilecek hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarına katkı sağlayabilecek potansiyele sahiptir.

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından SBAG-1001-219S794 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ankilozan spondilit, artritogenik peptid, HLA-B, ERAP

SB4 IgE-BAĞIMLI VE BAĞIMSIZ ANAFİLAKSİ ROTALARINDA DOĞAL LENFOİD HÜCRE DİNAMİKLERİ

Abdurrahman Şimşek¹, Muhammed Ali Kızmaz¹, Tuğçe Bozkurt¹, Sude Toprakkaz¹, Dane Ediger², Mehmet Emre Topçu³, Musa Özgür Özyiğit³, Ferah Budak Şener¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji ABD, Bursa

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları ABD, Bursa

³ Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji ABD, Bursa

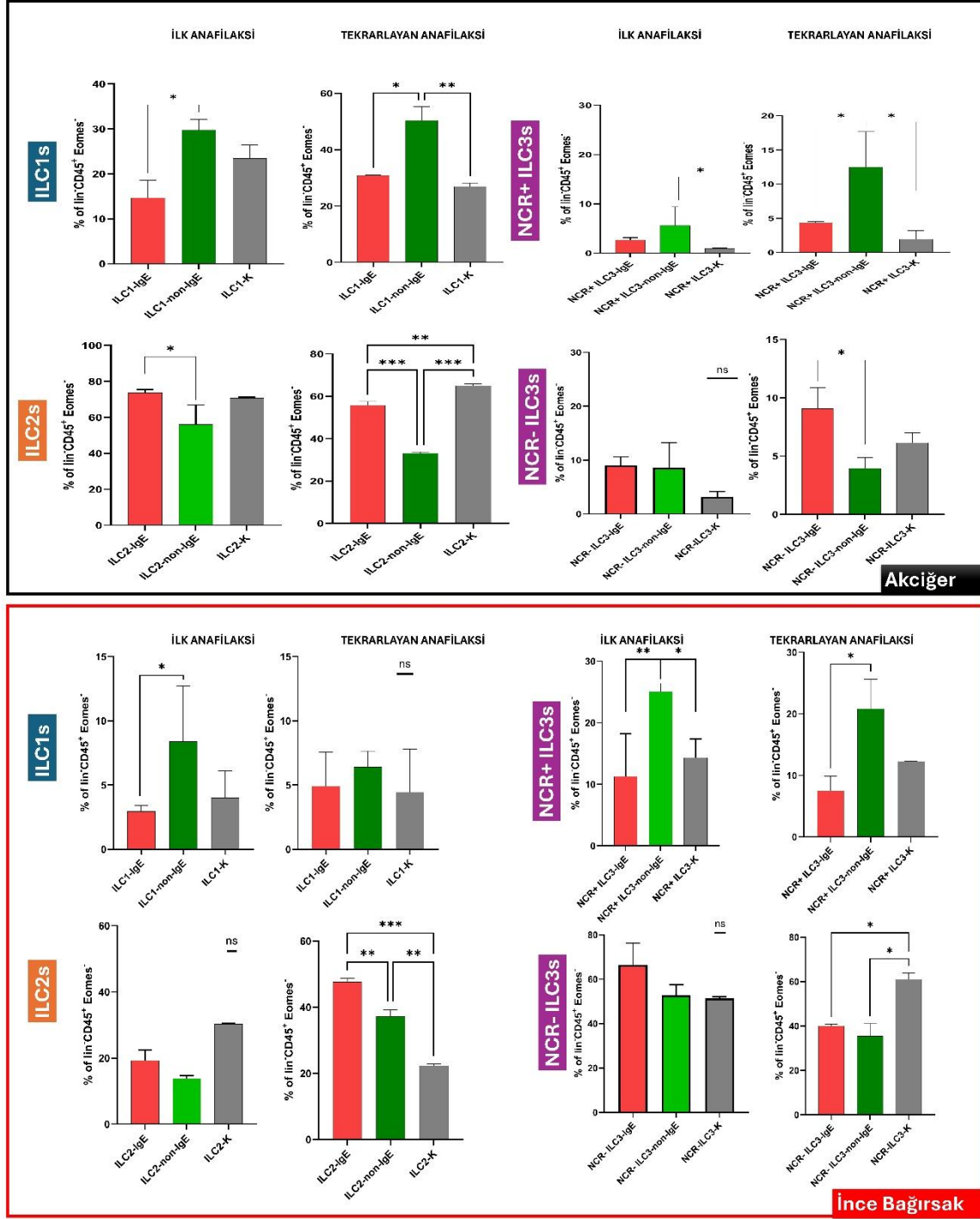
Giriş ve Amaç: Anafilaksi, hızlı gelişen ve tedavi edilmediğinde ölümcül olabilen sistemik bir aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Bu çalışmada, IgE-bağımlı ve IgE-bağımsız anafilaksi deney hayvanı modellerinde akciğer ve ince bağırsak kökenli doğal lenfoid hücrelerin (ILC) karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Toplam 100 BALB/C(WT) farede IgE-bağımlı, anti-IgE uygulamasıyla non-IgE ve anti-histaminik tedavi ile tekrarlayan anafilaksi modelleri oluşturulmuştur. Duyarlılık Ovalbumin ve Alum ile sağlanmış; anafilaksi klinik skorlama, hipotermi ve immünoglobülin düzeyleriyle doğrulanmıştır. Akciğer ve ince bağırsak dokuları izole edilerek ILC zenginleştirme sonrası örnekler akış sitometrisiyle analiz edilmiştir.

Bulgular: Akciğerde non-IgE grubunda ILC1'lerin anlamlı şekilde arttığı, IgE grubunda ise azalma eğilimi gösterdiği saptandı. Tekrarlayan IgE anafilaksisinde ILC1 düzeyleri bazale yaklaşırken non-IgE grubundaki artışın sürdüğü görüldü. İnce bağırsakta ILC1'ler akciğere benzer profil çizerken tekrarlayan anafilaksi sonrası bazale dönme eğilimi sergiledi. Akciğer ILC2'leri IgE grubunda artarken non-IgE grubunda azaldı ve bu seyir tekrarlayan anafilakside belirgin olarak değişmedi. İnce bağırsakta ILC2 profili, başlangıçta akciğere benzer olsa da tekrarlayan anafilaksi sonrası artış eğilimine geçti. NCR⁺ ILC3'ler hem akciğer hem bağırsakta non-IgE grubunda anlamlı artış gösterirken IgE grubunda belirgin değişim izlenmedi.

Tartışma ve Sonuç: Bu bulgular, anafilaksi sırasında ILC yanıtının anafilaksi rotasına göre farklılaştığını düşündürmektedir. IgE aracılı yanıtta ILC2'lerin öne çıkması, anti-IgE uygulamasında ise ILC1 ve ILC3'lerin artması dikkat çekicidir. Tekrarlayan anafilakside bazı alt grupların azalması dokuya özgü yeniden düzenlenme ile ilişkili olabilir. Benzer şekilde ince bağırsaktaki ILC2 değişimi, mukozal bariyer yanıtı ve epitel kaynaklı alarminlerin devreye girmesiyle uyumludur.

Anahtar Kelimeler: Doğal lenfoid hücreler, anafilaksi, immün disregülasyon



Şekil 1. Akciğer ve bağırsakta, tekrarlayan anafilakside ILC'lerin durumu

SB5 ÜRTİKERDE NÖROİMMÜN BAĞLANTI OLARAK ASETİLKOLİN ARACILI MAST HÜCRESİ UYARIMININ ARAŞTIRILMASI

Sercan Guloglu¹, Niklas Amadeus Mahnke², Stefan Frischbutter², Jörg Scheffel², Martin Metz², Betül Büyüktiryaki³, Emek Kocatürk², Cansın Saçkesen⁴

¹ Koç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji, İstanbul, Türkiye; Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi, İstanbul, Türkiye.

² Charité-Universitätsmedizin Berlin, Institute of Allergology, Berlin, Germany; Fraunhofer Institute for Translational Medicine and Pharmacology ITMP, Immunology and Allergology IA, Berlin, Germany.

³ Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji, İstanbul, Türkiye.

⁴ Koç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji, İstanbul, Türkiye; Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi, İstanbul, Türkiye; Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji, İstanbul, Türkiye.

Giriş ve Amaç: Kronik ürtikerin alt grubu olan kolinerjik ürtikerin patofizyolojisi karmaşık nöro-immün etkileşimleri içermektedir. Bununla birlikte, asetilkolinin (ACh) insan mast hücreleri üzerindeki doğrudan etkisi halen tartışmalıdır. Bu çalışmanın amacı, ürtiker hastalığının mekanizmasını daha iyi açıklayabilmek için moleküler ve fonksiyonel çalışmalardan elde edilen bulguları bütüncül bir yaklaşımla değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada; degranülasyonu değerlendirmek üzere beta-heksozaminidaz salınım testleri, hücre aktivasyonu ve yüzey reseptör profillemesi için akan hücre ölçer, ayrıca western blot, qPCR ve multipleks sitokin analizi yöntemlerini içeren çok modlu bir yaklaşım kullanılmıştır. HMC-1.2 ve LAD2 insan mast hücre hatları ile birlikte primer insan derisi kaynaklı mast hücreleri (hsMCs) anti IgE, Substance P, Compound 48/80, ionomisin ve asetilkolin klorür ile uyarılmıştır.

Bulgular: HMC-1.2 hücreleri, ACh uyarımı sonrasında uyarılmamış kontrollere kıyasla protein veya gen ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik göstermemiş ve pozitif kontroller de dahil olmak üzere hiçbir uyarana yanıt vermemiştir. LAD2 hücreleri ise pozitif kontrollere yanıt olarak güçlü degranülasyon ve aktivasyon yanıtı sergilese de; western blot, qPCR veya akan hücre ölçerde ölçülebilir bir değişiklik görülmeyerek ACh'ye yanıt vermemiştir. Benzer şekilde, primer hsMC'ler pozitif kontrollerle fonksiyonel yeterlilik gösterirken, kolinerjik uyarıya tamamen yanıtız kalmıştır.

Tartışma ve Sonuç: Bu bulgular, HMC-1.2 hücrelerinin reseptör yokluğu nedeniyle reseptör aracılı mekanizmaların incelenmesi için uygun olmadığını; buna karşılık hsMC'lerin ise fizyolojik açıdan altın standart mast hücre modeli olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen veriler, mast hücrelerinin MRGPRX2 ve IgE aracılı klasik yollar aracılığıyla güçlü birer inflamasyon kaynağı olarak işlev gördüğünü doğrulamaktadır. Bununla birlikte, çalışmamız “kolinerjik paradoks” olarak tanımlanan duruma açıklık getirmektedir; ACh, M3 muskarinik reseptörünün (CHRM3) hem genomik hem de proteomik düzeydeki yokluğu ile uyumlu olarak, mast hücrelerini doğrudan uyarmamaktadır. Sonuç olarak; mast hücreleri ürtiker için temel efektör hücre olmaya devam ederken, asetilkolin mast hücrelerini aktif etmek üzere uyarmamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Mast Hücresi, ürtiker, asetilkolin, kolinerjik ürtiker, kronik spontan ürtiker

SB6 BİYOMİMETİK ÇİP-ÜSTÜ-ORGAN PLATFORMLARINDA ÇEVRESEL MARUZİYETLERE BAĞLI BARIYER HASARI VE İMMÜN YANITIN İNCELENMESİ

Pelin Sağlam Metiner¹, Ömür Sert², Esra Erdal³, Özlem Göksel⁴, Tuncay Göksel⁴, Ömer Hıdır Yılmaz⁵, Özlem Yeşil Çeliktas⁶

¹ Ege Üniversitesi Solunum Araştırmaları Merkezi (EGESAM), İzmir, Türkiye; Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir, Türkiye; İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye; Koch Bütünleşik Kanser Araştırma Enstitüsü, Massachusetts Teknoloji Enstitüsü, Cambridge, ABD

² Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir, Türkiye

³ İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye

⁴ Ege Üniversitesi Solunum Araştırmaları Merkezi (EGESAM), İzmir, Türkiye; Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁵ Ege Üniversitesi Solunum Araştırmaları Merkezi (EGESAM), İzmir, Türkiye; Koch Bütünleşik Kanser Araştırma Enstitüsü, Massachusetts Teknoloji Enstitüsü, Cambridge, ABD

⁶ Ege Üniversitesi Solunum Araştırmaları Merkezi (EGESAM), İzmir, Türkiye; Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir, Türkiye; ODTÜ MEMS Merkezi, Ankara, Türkiye

Giriş ve Amaç: İklim değişikliği, çevre kirliliği ve sınır ötesi toz taşınımının etkisiyle artış gösteren inorganik tozlar, mikro/nanoplastikler ve diğer partikül maddeler (PM); küf, polen ve virüs gibi biyoaerosollerle birleşerek kompleks maruziyet senaryoları oluşturmaktadır. Bu ajanlar çoğunlukla inhalasyon yoluyla vücuda girerek solunum yollarının derin bölgelerine ulaşmakta, epitel-endotel bariyer bütünlüğünü bozmakta ve sistemik dolaşıma geçerek distal organlara yayılabilmektedir. Bu süreç, bariyer dokularda inflamatuvar yanıtı tetikleyerek başta astım ve KOAH gibi hava yolu hastalıklarının gelişimini ve progresyonunu etkilemekte, ilerleyen aşamalarda diğer organ bariyerlerinde bozulma ile ilişkili dejeneratif süreçleri başlatabilmektedir (1,2). Dünya genelinde geniş popülasyonların maruz kaldığı bu kirlleticiler için belirlenen PM sınır değerleri çoğu zaman aşılmakta olup, özellikle hava yolu epitel bariyeri bu ajanlara karşı ilk savunma hattını oluşturarak sistemik inflamatuvar yanıtın şekillenmesinde kritik rol üstlenmektedir (2,3). Fakat mevcut deneysel modeller insan fizyolojisine özgü epitel-endotel etkileşimlerini ve organlar arası iletişimi yeterince yansıtamamaktadır. Bu bağlamda, çip-üstü-organ platformları, organoid teknolojileri, çoklu-organ-arayüzü yaklaşımları ve indüklenmiş pluripotent kök hücre (iPSC) temelli biyomühendislik ürünü Yeni Yaklaşım Metodolojileri (NAMs), insan dokularının hem sağlıklı hem de hastalıklı durumlarına ait moleküler, yapısal ve fonksiyonel özelliklerini giderek yüksek doğrulukla taklit ederek toksikolojik, farmakolojik ve patofizyolojik araştırmalar için güçlü araçlar sunmakta, çevresel maruziyetlerin bariyer bütünlüğü ve immün yanıt üzerindeki etkilerinin incelenmesinde yenilikçi bir paradigma oluşturmaktadır (1).

Gereç ve Yöntemler: Çip-üstü-organ platformu çalışmalarımızda, geleneksel hücre hatlarının yanı sıra, insan iPSC'lerinden ve dokularından geliştirilen MUC1+ akciğer organoidleri, iPSC-türevli IBA1+ mikrogliya ve CD31+ endotel hücreleri ile zenginleştirilmiş kortikal plakaya sahip gelişmiş beyin organoidleri, EPCAM+/ALB+ karaciğer organoidleri ve insan kript kaynaklı bağırsak organoidleri karakterize edilmiştir. Ayrıca, fonksiyonel epitel-endotel bariyer tabakası taklidi için iPSC'lerden NKX2.1+/SPC+ alveolar epitel hücreleri (AEC) ile CD31+ beyin mikrovasküler endotel hücreleri (BMVEC) farklılaştırılmış, bariyer bütünlükleri yüksek transepitelial /endotelial elektriksel direnç (TEER) değerleriyle doğrulanmıştır. İnhaler <PM2.5 boyutunda inorganik partikül, toz ve polen maruziyetlerinin uygulandığı biyomimetik akciğer epitel bariyer tabakası, hava-sıvı arayüzü (ALI) koşullarında oluşturulmuş ve çip-üstü-organ platformuna entegre edilerek dinamik akış ve kayma gerilimi altında çalıştırılmıştır. Bariyer bütünlükleri ve doku dejenerasyonları TEER, geçirgenlik, hücre canlılığı ve adezyon proteinleri üzerinden değerlendirilmiş, immün yanıt ise proinflamatuvar sitokinler ve immün hücre aktivasyon belirteçleri ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Geliştirdiğimiz ileri düzey biyomühendislik modelleri, çevresel maruziyetlerin bariyer bütünlüğünü belirgin şekilde bozduğunu, doku yapısı boyunca geçişleri artırdığını, hücre ve organoid canlılığını azalttığını ve proinflamatuvar sitokin ekspresyonu ile immün hücre aktivitelerinin düzensizleştiğini göstermiştir. İnsan fizyolojik bariyerlerinin direnç ve esnekliği (resilience) bu platformlar üzerinde başarıyla modellenebilmiş, in vivo koşullardaki dinamik mekanik ve biyokimyasal kuvvetler yüksek doğrulukla yeniden üretilebilmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Epitel-endotel bariyerler, farklı organa özgü organoid modelleri ve çip-üstü-organ teknolojilerinin entegre edilmesi, hem organ-spesifik hem de sistemik yanıtları değerlendirebilen, insan fizyolojisine yüksek benzerlik gösteren güvenilir ve translasyonel bir platform sunmaktadır. Bu yaklaşımlar, doku dayanıklılığının ve toparlanma kapasitesinin maruziyetler karşısında nasıl değiştiğini inceleme imkânı vererek, çevresel toksisite ve immün yanıt mekanizmalarının anlaşılmasında güçlü bir araç oluşturmaktadır.

Teşekkür: TÜBİTAK 1001 (119M578 ve 123M406), Ege BAP Strateji (2019K12-149080), MIT-MISTI projeleri ile BİDEB 2218 (123C325) destekleri alınmıştır.

Kaynaklar: (1) Sağlam-Metiner P. ve ark. (2026) Thoracic Research and Practice (In press), (2) Goksel O. ve ark. (2024) Allergy, 79(11), 2953–2965, (3) Sert O. ve ark. (2025) Scientific Reports, 16, 3847

Anahtar Kelimeler: Çevresel maruziyet, organoid modelleri, çip-üstü-organ platformları, epitel bariyer hasarı

SB7 CTPS1 EKSİKLİĞİ OLAN BİREYDE DOĞUŞTAN VE EDİNSEL BAĞIŞIKLIK YANITLARININ İMMÜNOFENOTİPİK VE FONKSİYONEL ANALİZİ

İrem Evcili¹, Göksu Gökberk Kaya², Pınar Gür Çetinkaya², Bilgehan Ibibik², Mayda Gürsel¹, Çağman Tan³, Deniz Ayvaz³, İlhan Tezcan³, İhsan Gürsel¹

¹ Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir

² Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara

³ Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk İmmunolojisi Anabilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: CTPS1 (Sitidin trifosfat sentaz 1), lenfosit proliferasyonu sırasında *de novo* CTP sentezi için kritik öneme sahiptir. CTPS1 genindeki fonksiyon kaybı mutasyonları; bozulmuş adaptif bağışıklık ve tekrarlayan viral enfeksiyonlarla karakterize, nadir görülen bir primer immün yetmezliğe yol açmaktadır. CTPS1 eksikliğinin adaptif immünite üzerindeki etkileri bilinse de doğuştan bağışıklık sistemi üzerindeki hücresel sonuçları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, genetik tanısı doğrulanmış CTPS1 eksikliği olan bir hastada, hücresel ve doğuştan bağışıklık yanıtlarının immünofenotipik ve fonksiyonel düzeyde ayrıntılı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Hastadan elde edilen periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) üzerinde akış sitometrisi ile detaylı immüno-fenotipleme yapılmıştır. T hücrelerinde sitokin (IL-2, IL-4, IL-6) uyarımı sonrasında STAT fosforilasyon düzeyleri ve PMA/İyonomisin indüklenmesini takiben hücre içi sitokin (IFN- γ , IL-17A, IL-10) üretimleri değerlendirilmiştir. Doğuştan bağışıklık yanıtlarını analiz etmek üzere, TLR4, TLR7, TLR9 ligandları ve sitozolik sensörler (cGAMP, HSV) ile hücreler uyarılmıştır. Ayrıca miyeloid hücrelerin nötrofil ekstraselüler tuzak (NET) oluşum kapasiteleri de incelenmiştir.

Bulgular: Akış sitometrisi analizlerinde, anormal T hücre maturasyonu veya kronik aktivasyon ile uyumlu olarak, tersine dönmüş CD4:CD8 T hücre oranı ve belirgin bir CD3⁺CD8^{dim} alt popülasyonu saptanmıştır. Sitokin uyarımı sonrasında hastanın CD4⁺ T hücrelerinde; IL-2, IL-4 ve IL-6'ya yanıt olarak sırasıyla STAT5, STAT6 ve STAT3 fosforilasyonlarında belirgin azalma gözlenmiştir. Hücre içi sitokin analizlerinde IFN- γ , IL-17A ve IL-10 üretiminde saptanan azalma; Th1, Th17 ve düzenleyici T hücre (Treg) fonksiyonlarındaki bozulmaya işaret etmiştir. PBMC'lerin TLR ligandları ve sitozolik sensörlerle uyarılması sonucunda IFN- γ salımında düşüş saptanırken, TLR7 uyarımının aşırı IL-10 yanıtına yol açtığı ve immün regülasyonda sapmaya neden olduğu görülmüştür. Miyeloid fenotipinde ise CD14-CD15⁺ düşük yoğunluklu granülosit popülasyonunda artış ve sağlıklı kontrollere kıyasla spontane NET oluşumunda 4-5 katlık anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç: CTPS1 eksikliği yalnızca lenfoid hücreleri değil, miyeloid hücre hatlarını da etkileyerek; STAT sinyal iletimi, sitokin üretimi, doğuştan bağışıklık sensör yanıtları ve nötrofil fonksiyonlarında geniş çaplı bir bozulmaya yol açmaktadır. Elde edilen bulgular, CTPS1 enziminin immün homeostazın sürdürülmesindeki kritik ve çok yönlü rolünü vurgulamakta, potansiyel hedefli tedavi stratejileri için önemli patofizyolojik veriler sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: CTPS1 eksikliği, primer immün yetmezlik, doğuştan ve edinsel bağışıklık, nötrofil ekstraselüler tuzak (NET), immün disfonksiyon

SB8 GERMLİNE CTLA-4 YETERSİZLİĞİNİN $\alpha\beta$ TCR VE BCR PROFİLLERİNE ETKİLERİ: ADAPTİF REPERTUAR ANALİZİ

Gökhan Çıldır¹, Selin Çıldır¹, Rahmi Kutay Erdoğan³, Ümran Aba², Şule Haskoloğlu⁴, Selcen Bozkurt⁵, Necmiye Öztürk⁵, Caner Aytekin⁶, Nicholas I Warnock⁹, Chung Hoow Kok⁹, Damla Pehlivan³, Canberk Ipsir³, Ceren Yarımkaya², Bade Sıla Karataş², Nihan Doğa Kozanlı², Feyza Bayram Çatak⁵, Mehmet Cihangir Çatak⁵, Gülşah Merve Kılınç²³, Güneş Esendağlı¹⁰, Hamdullah Yanık¹⁰, Dilek Özcan¹¹, Mahir Serbes¹¹, Candan İslamoğlu⁴, Sara Şebnem Kılıç¹², Yasin Karal¹², Salim Can⁵, Melek Yorgun Altunbaş⁵, Esra Karabiber¹³, Çiğdem Aydoğmuş¹⁴, Sait Karaman¹⁵, Fatih Çelmeli¹⁶, Gül Ergen Yıldız¹⁶, Emine Vezir¹⁷, Gülay İrem Parlak Özel¹⁷, Sevgi Keleş¹⁸, İsmail Reisl¹⁸, Şükrü Nail Güner¹⁸, Mehmet Yavuz Özbey¹⁸, Alişan Yıldırım¹⁹, Şefika İlknur Kökçü Karadağ¹⁹, Nesrin Gülez²⁰, Ferah Genel²⁰, Figen Çelebi Çelik²⁰, Özgen Soysöz²⁰, Neslihan Edeer Karaca²¹, Güzide Aksu²¹, Tuba Arıkoğlu²², Aylin Kont Özhan²², Semanur Kuyucu²², Sevgi Biliç Eltan⁵, Elif Karakoç Aydın⁵, Figen Doğu⁴, Aydan İkinciogulları⁴, Ahmet Özen⁵, Safa Barış⁵, Baran Erman²

¹ Adelaide Üniversitesi, Sağlık Fakültesi, Kanser Biyolojisi Merkezi, Adelaide

² Hacettepe Üniversitesi, Translasyonel İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı, Can Sucak Araştırma Laboratuvarı, Ankara

³ Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik İmmünoloji Anabilim Dalı, Ankara

⁴ Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik İmmünoloji ve Alerji Anabilim Dalı, Ankara

⁵ Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul

⁶ Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Marmara Üniversitesi Hastanesi, Jeffrey Modell Primer İmmün Yetmezlik Hastalıkları Tanı Merkezi, Avrupa Alerji ve Klinik İmmünoloji Akademisi Mükemmeliyet Merkezi, İstanbul

⁷ Marmara Üniversitesi, Işıl Berat Barlan Translasyonel Tıp Merkezi, İstanbul

⁸ Dr. Sami Ulus Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Bölümü, Ankara

⁹ SA Pathology, Genetik ve Moleküler Patoloji Bölümü, Veri ve Biyoinformatik İnovasyon Birimi, Adelaide

¹⁰ Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

¹¹ Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Anabilim Dalı, Adana

¹² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik İmmünoloji ve Romatoloji Anabilim Dalı, Bursa

¹³ Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Erişkin Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul

¹⁴ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi, Pediatri Anabilim Dalı, İmmünoloji ve Alerji Bilim Dalı, İstanbul

¹⁵ Manisa Şehir Hastanesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Bölümü, Manisa

¹⁶ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Anabilim Dalı, Antalya

¹⁷ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatri Anabilim Dalı, Alerji ve Klinik İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara

¹⁸ Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, İmmünoloji ve Alerji Bilim Dalı, Konya

¹⁹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Anabilim Dalı, Samsun

²⁰ Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Anabilim Dalı, İzmir

²¹ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, İmmünoloji ve Alerji Bilim Dalı, İzmir

²² Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Alerji ve İmmünoloji Anabilim Dalı, Mersin

²³ Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoinformatik Anabilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: CTLA-4, T hücre aktivasyonunu baskılayan ve periferik immün toleransın korunmasında kritik rol oynayan bir immün kontrol noktası molekülüdür. CTLA4 genindeki monoallelik germline mutasyonlar CTLA-4 haployetmezliği olarak bilinen bir immün yetmezliğe yol açarken, LRBA genindeki biallelik mutasyonlar CTLA-4'ün hücre içi taşınmasını bozarak benzer bir

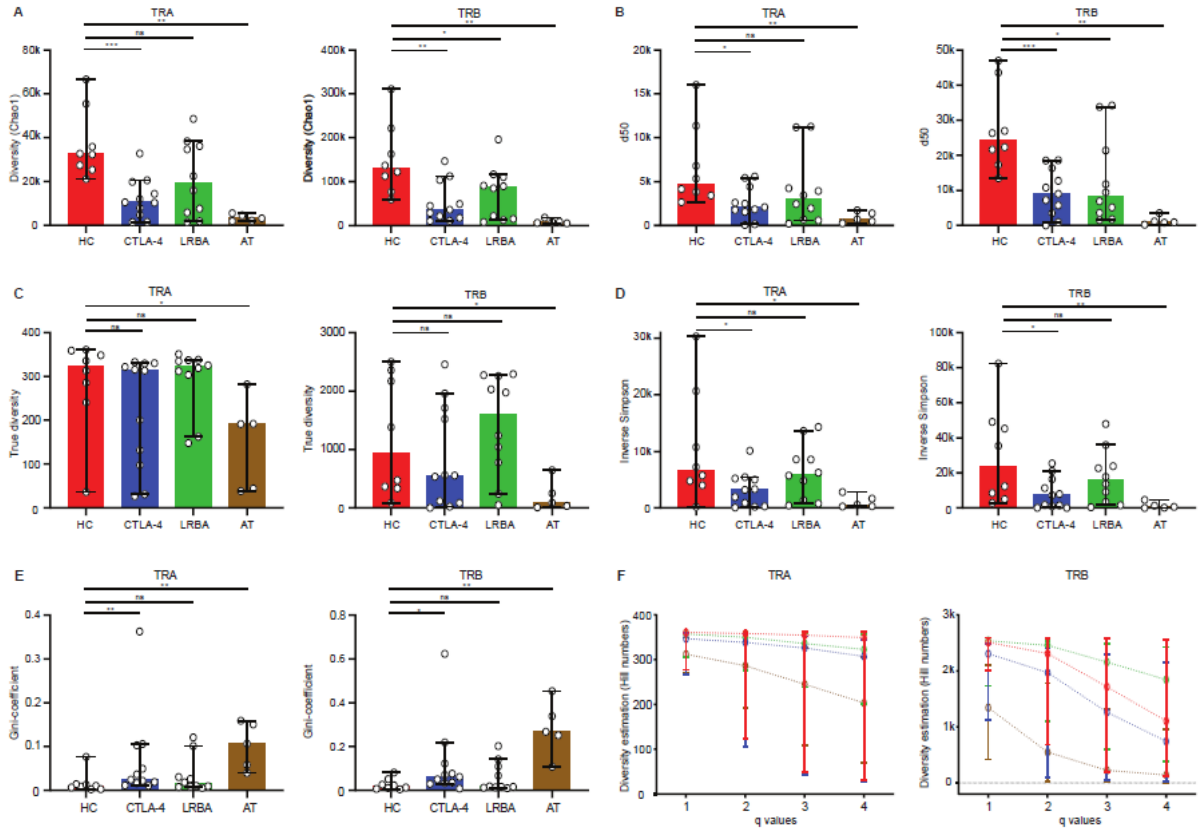
immün disregülasyon fenotipi oluşturur. Bu hastalıklar klinik olarak otoimmünite, lenfoproliferasyon, enfeksiyon yatkınlığı ve hipogammaglobulinemi ile karakterizedir. CTLA-4 fonksiyon bozukluğunun immün hücre fenotipleri üzerindeki etkileri iyi tanımlanmış olsa da adaptif immün yanıtın temel bileşeni olan T hücre reseptörü (TCR) ve B hücre reseptörü (BCR) repertuarı üzerindeki etkileri insanlarda yeterince aydınlatılmamıştır. Bu çalışmanın amacı, CTLA-4 ve LRBA eksikliği olan hastalarda immün repertuarın yüksek çözünürlüklü dizi analizini yaparak haployetersiz CTLA-4 yolağının $\alpha\beta$ TCR ve BCR repertuarı üzerindeki etkilerini ortaya koymaktır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya genetik olarak doğrulanmış 11 CTLA-4 ve 10 LRBA eksikliği olan hasta ile, 8 sağlıklı kontrol ve immün repertuar düşüklüğü iyi bilinen 5 ATM hastası pozitif kontrol olarak dahil edildi. $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücreleri negatif manyetik izolasyon yöntemi ile saflaştırıldı. İmmün repertuarı analizi için TRA, TRB, IgM ve IgG kütüphaneleri hazırlanarak Illumina MiSeq platformunda dizileme gerçekleştirildi. Repertuar çeşitliliği ve klonalite gibi özellikler Chao1, Inverse Simpson, True Diversity ve D50 indeksleri gibi çoklu metriklerle değerlendirildi. Veri analizi Immunarch paketinin kullanıldığı R ortamında gerçekleştirildi. Ayrıca seçilmiş örneklerde tek hücre TCR analizi yapılarak $\alpha\beta$ TCR⁺ T hücre reseptörleri incelendi.

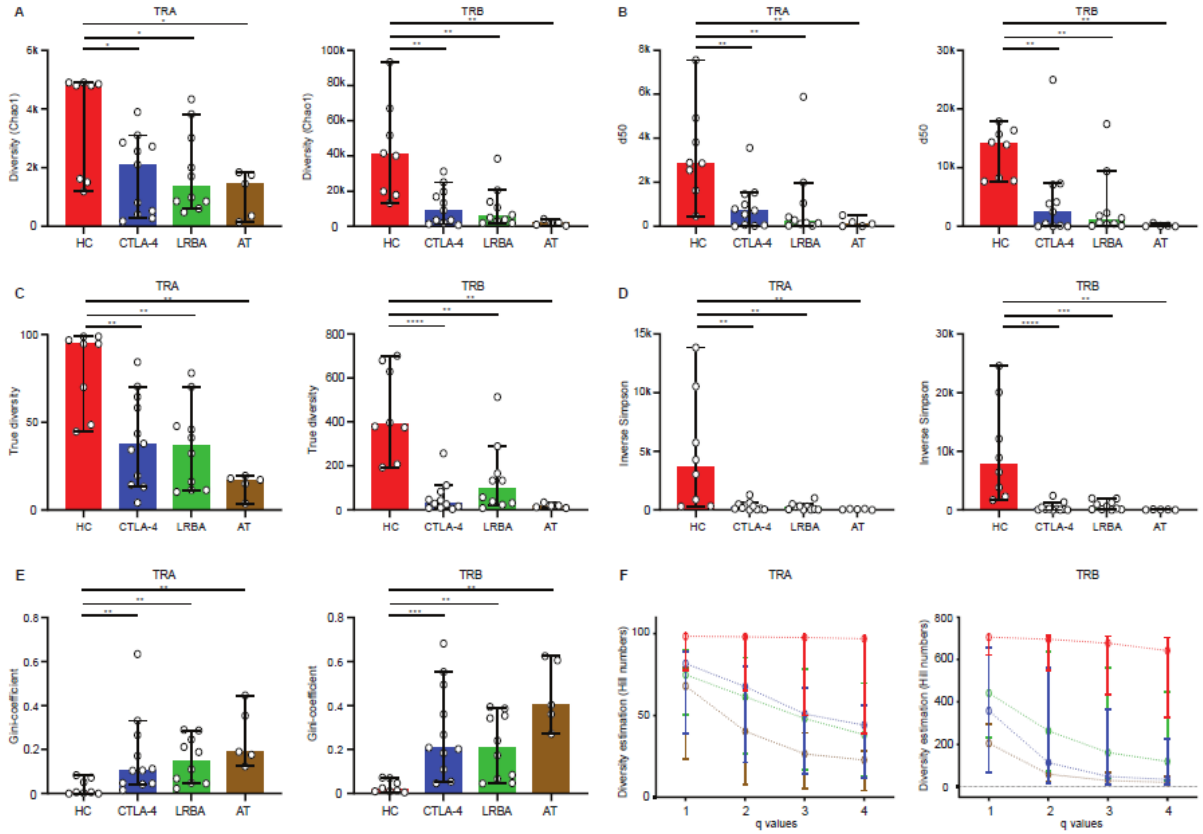
Bulgular: Analizler, CTLA-4 yetmezliği olan hastalarda $\alpha\beta$ TCR repertuarının belirgin şekilde kısıtlandığını ortaya koydu. Bu kısıtlanma özellikle $CD8^+$ T hücre kompartmanında daha belirgin olarak gözlemlendi (Şekil 1 ve 2). Klonal dağılım analizi hastalarda yüksek frekanslı klonların artışı ve küçük klonların azalmasını gösterdi (Şekil 3). Ayrıca hastalarda CDR3 uzunluğunda anlamlı bir kısalma saptandı (Şekil 3). Klinik aktiviteyi gösteren IDDA skorları ile $CD8^+$ TCR repertuar çeşitliliği arasında bir korelasyon gözlemlendi (Şekil 4). Abatacept tedavisi klinik düzelme sağlasa da TCR repertuarındaki kısıtlanmayı anlamlı şekilde düzeltmedi (Şekil 4). BCR repertuarı analizinde IgM repertuarının genel çeşitliliğinin korunmuş olduğu ancak otoimmünite ile ilişkili IGHV4-34 gen kullanımının arttığı gösterildi. Buna karşılık IgG BCR repertuarında belirgin bir çeşitlilik azalması tespit edildi (Şekil 5 ve 6).

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma CTLA-4 haployetmezliğinin adaptif immün sistemde belirgin bir klonal mimari değişikliğe yol açtığını göstermektedir. Özellikle $CD8^+$ T hücre repertuarındaki belirgin kısıtlanma hastalığın immün disregülasyon mekanizmasında önemli bir rol oynayabilir ve klinik şiddet ile ilişkili bir biyobelirteç adayı olabilir. IgM BCR repertuarında IGHV4-34 kullanımının artması B hücre toleransındaki bozulmayı düşündürürken, IgG repertuarındaki kısıtlanma humoral immün yetmezliği açıklayabilir. Bu bulgular CTLA-4 yolağı eksikliklerinin adaptif immün repertuarı şekillendiren temel mekanizmaları etkilediğini ve bu etkilerin kanser immün terapisinde kullanılan somatik CTLA-4 blokajından farklı olduğunu göstermektedir.

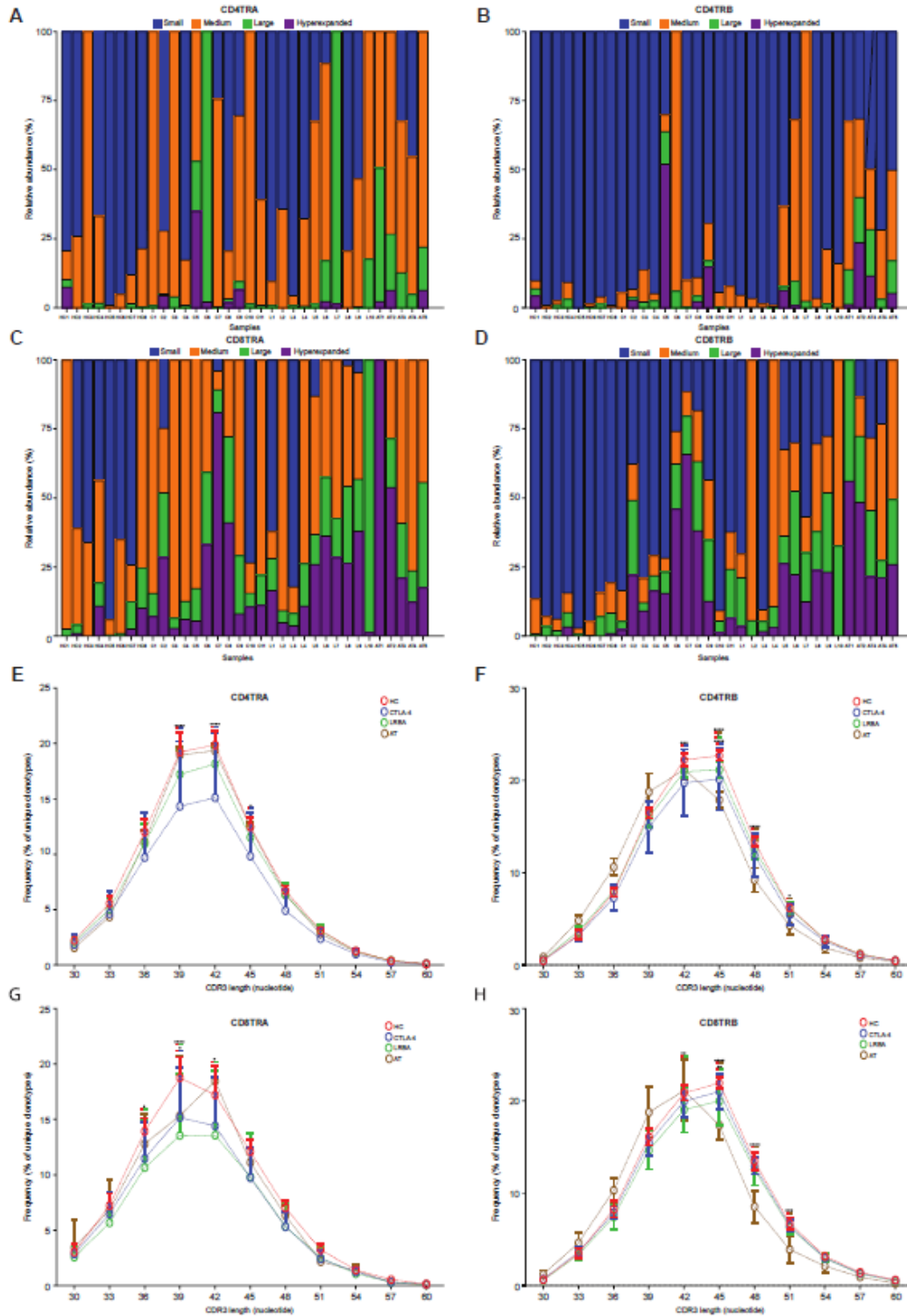
Anahtar Kelimeler: CTLA-4, LRBA, TCR ve BCR repertuarı, immün disregülasyon



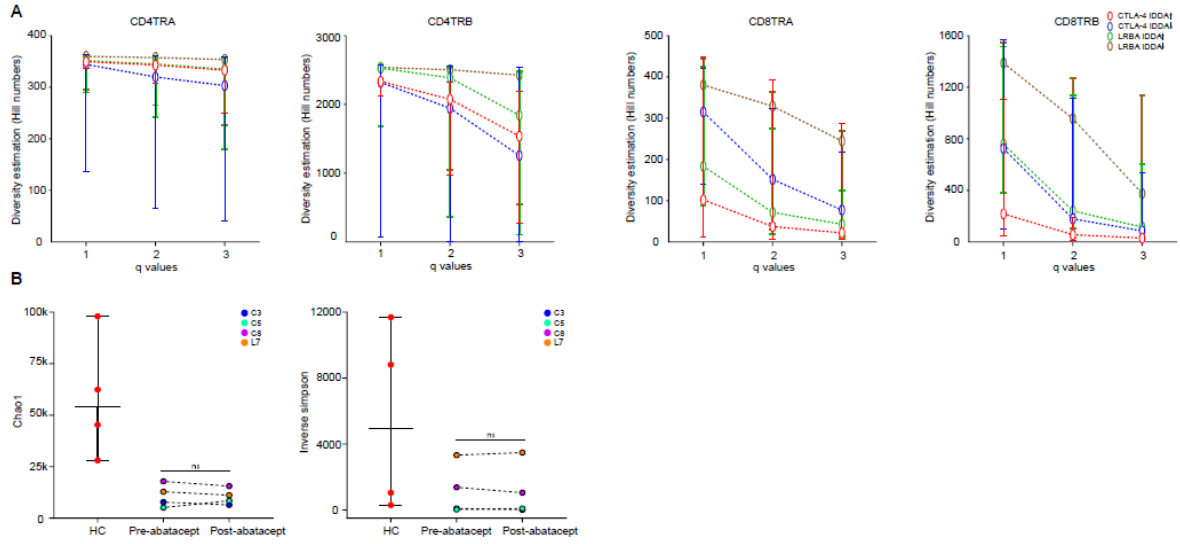
Şekil 1. $CD4^+$ T Hücrelerinde TCR Repertuar Çeşitliliği A. Chao1 indeksi ile hesaplanan TRA ve TRB immün repertuar çeşitliliği (zenginlik). B. $CD4^+$ T hücrelerinin TRA ve TRB repertuarına ait D50 çeşitlilik indeksi hesaplamaları. C. $CD4^+$ T hücrelerinin TRA ve TRB repertuarına ait gerçek çeşitlilik sonuçları. D. $CD4^+$ T hücrelerinin TRA ve TRB repertuarına ait Inverse Simpson analizi sonuçları. E. Gini katsayısı indeksi ile hesaplanan $CD4^+$ T hücrelerinin TRA ve TRB repertuarlarının eşitsizlik karşılaştırmaları. F. TRA ve TRB repertuarlarının kapsamlı çeşitlilik karşılaştırmaları (Hill sayıları). q değerleri, farklı çeşitlilik indekslerinin birleşimini temsil eder. $q1$: Shannon indeksi, $q2$: Simpson indeksi, $q3$ ve $q4$: yüksek ağırlıklı Hill sayısı.



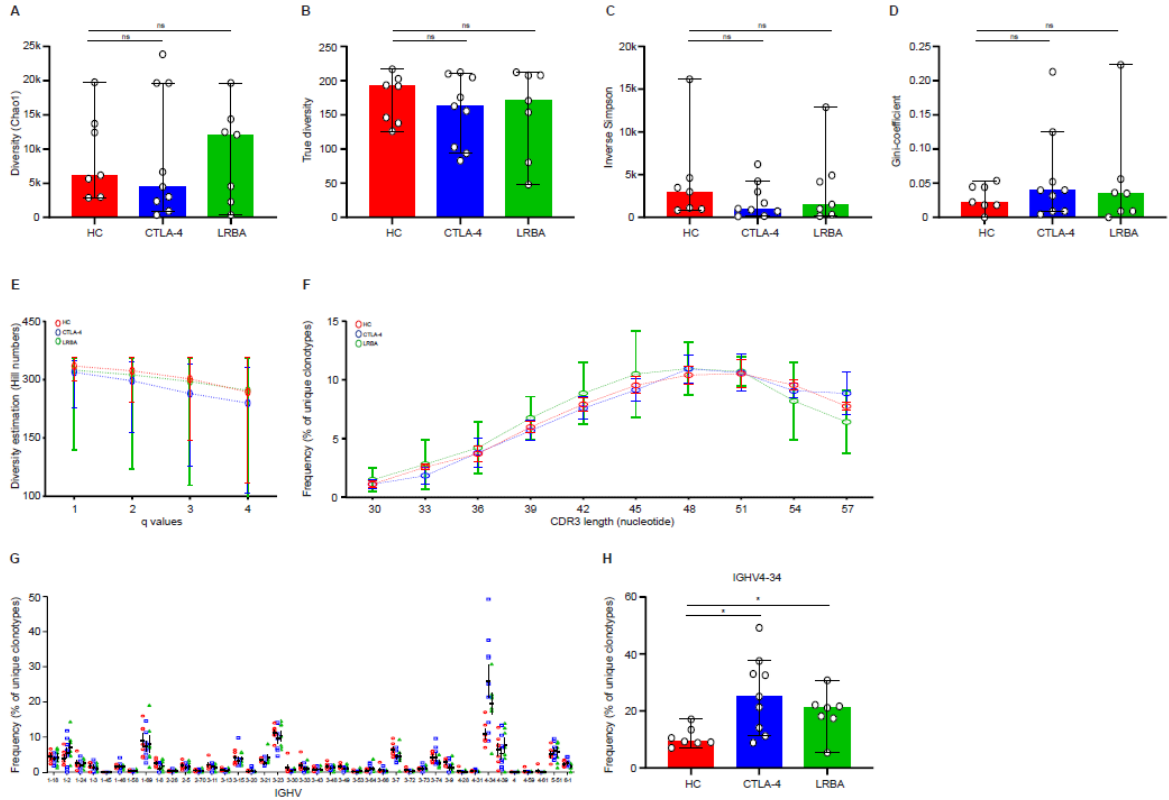
Şekil 2. $CD8^+$ T Hücresinde TCR Repertuar Çeşitliliği A. Chao1 indeksi ile hesaplanan TRA ve TRB immün repertuar çeşitliliği (zenginlik). B. $CD8^+$ T hücrelerinin TRA ve TRB repertuarına ait D50 çeşitlilik indeksi hesaplamaları. C. $CD8^+$ T hücrelerinin TRA ve TRB repertuarına ait gerçek çeşitlilik sonuçları. D. $CD8^+$ T hücrelerinin TRA ve TRB repertuarına ait Inverse Simpson analizi sonuçları. E. Gini katsayısı indeksi ile hesaplanan $CD8^+$ T hücrelerinin TRA ve TRB repertuarlarının eşitsizlik karşılaştırmaları. F. TRA ve TRB repertuarlarının kapsamlı çeşitlilik karşılaştırmaları (Hill sayıları). q değerleri, çeşitli çeşitlilik indekslerinin birleşimini temsil eder. $q1$: Shannon indeksi, $q2$: Simpson indeksi, $q3$ ve $q4$: yüksek ağırlıklı Hill sayısı.



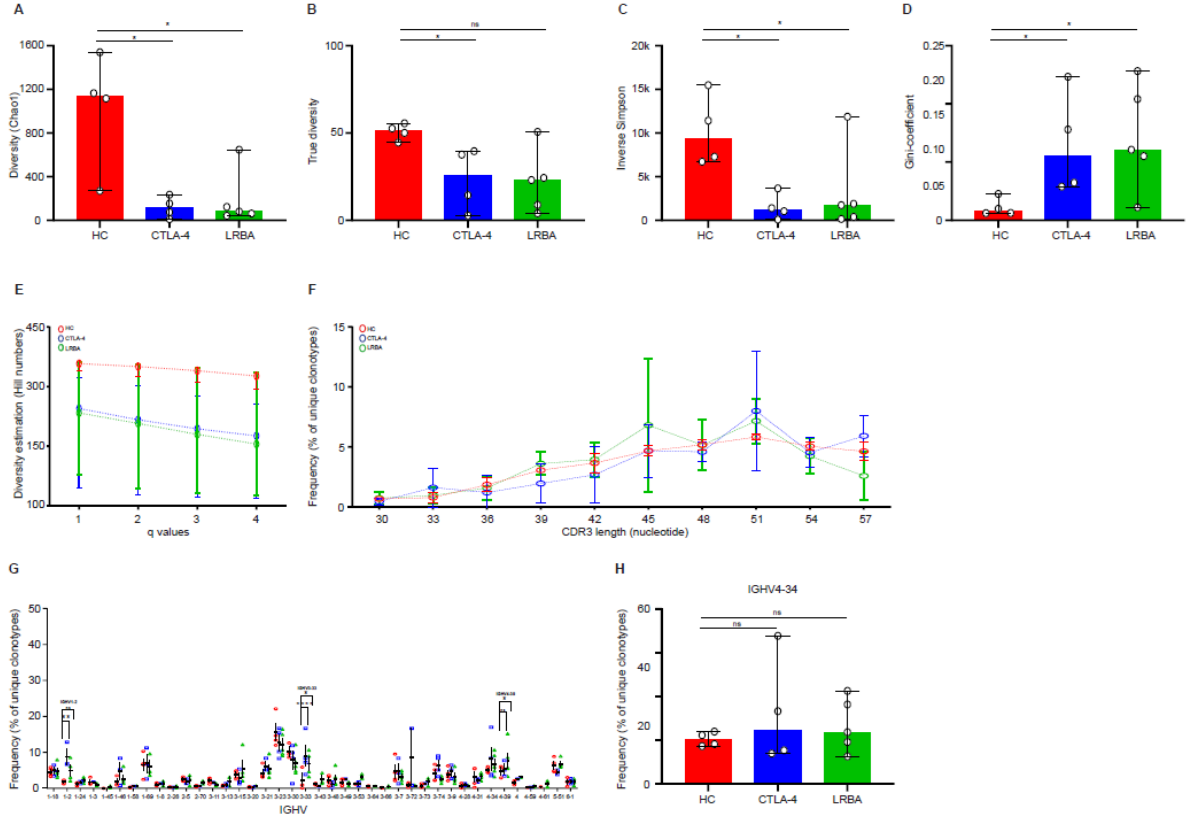
Şekil 3. TCR Klonal Dağılımı ve CDR3 Uzunluk Analizi A. CD4+ T hücre repertuar dizilerinde TRAV ve TRAJ genlerinin kullanım sıklığı B. CD4+ T hücre repertuar dizilerinde TRBV ve TRBJ genlerinin kullanım sıklığı C. CD8+ T hücre repertuar dizilerinde TRAV ve TRAJ genlerinin kullanım sıklığı D. CD8+ T hücre repertuar dizilerinde TRBV ve TRBJ genlerinin kullanım sıklığı E. CD4+ T hücrelerinden elde edilen TRA dizilerinde benzersiz klonotiplerin frekansı (%) ile CDR3 uzunluğu arasındaki ilişkinin analizi F. CD4+ T hücrelerinden elde edilen TRB dizilerinde benzersiz klonotiplerin frekansı (%) ile CDR3 uzunluğu arasındaki ilişkinin analizi G. CD8+ T hücrelerinden elde edilen TRA dizilerinde benzersiz klonotiplerin frekansı (%) ile CDR3 uzunluğu arasındaki ilişkinin analizi H. CD8+ T hücrelerinden elde edilen TRB dizilerinde benzersiz klonotiplerin frekansı (%) ile CDR3 uzunluğu arasındaki ilişkinin analizi



Şekil 4. IDDA Skoru ve TCR Repertuarı İlişkisi A. CD4 TRA, CD4 TRB, CD8 TRA ve CD8 TRB repertuarlarında IDDA skorlarının analizi ve Hill sayıları kullanılarak çeşitlilik tahmini. q değerleri, farklı çeşitlilik indekslerinin birleşimini temsil eder. q1: Shannon indeksi, q2: Simpson indeksi, q3: yüksek ağırlıklı Hill sayısı. B. Sağlıklı kontroller, CHAI (C3, C5, C8) ve LATAIE hastalarında (L7) TCR repertuarının Chao1 ve Inverse Simpson indeksi analizleri.



Şekil 5. IgM BCR Repertuar Analizi A. IgM BCR repertuarının Chao1 çeşitlilik indeksi ile analizi. B. IgM BCR repertuarının gerçek çeşitlilik indeksi ile analizi. C. IgM BCR repertuar çeşitliliğinin Inverse Simpson indeksi ile analizi. D. IgM BCR repertuar çeşitliliğinin Gini katsayısı ile analizi. E. IgM BCR repertuarının Hill sayıları kullanılarak çeşitlilik tahmini analizi. q değerleri, farklı çeşitlilik indekslerinin birleşimini temsil eder. q1: Shannon indeksi, q2: Simpson indeksi, q3 ve q4: yüksek ağırlıklı Hill sayısı. F. Benzersiz klonotiplerin frekansı (%) ile CDR3 uzunluğu arasındaki ilişkinin analizi. G. IGHV genlerine ait benzersiz klonotiplerin frekansı (%). H. IGHV4-34 genine ait benzersiz klonotiplerin frekansı (%).



Şekil 6. IgG BCR Repertuar Analizi. A. IgG BCR repertuarının Chao1 çeşitlilik indeksi ile analizi. B. IgG BCR repertuarının gerçek çeşitlilik indeksi ile analizi. C. IgG BCR repertuar çeşitliliğinin Inverse Simpson indeksi ile analizi. D. IgG BCR repertuar çeşitliliğinin Gini katsayısı ile analizi. E. IgG BCR repertuarının Hill sayıları kullanılarak çeşitlilik tahmini analizi. q değerleri, farklı çeşitlilik indekslerinin birleşimini temsil eder. q1: Shannon indeksi, q2: Simpson indeksi, q3 ve q4: yüksek ağırlıklı Hill sayısı. F. Benzersiz klonotiplerin frekansı (%) ile CDR3 uzunluğu arasındaki ilişkinin analizi. G. IGHV genlerine ait benzersiz klonotiplerin frekansı (%). H. IGHV4-34 genine ait benzersiz klonotiplerin frekansı (%).

SB9 ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİNDE (TNBC) $MgCl_2$ 'NİN MİYELOİD KÖKENLİ BASKILAYICI HÜCRELER (MDSC) ÜZERİNE FENOTİPİK VE FONKSİYONEL ETKİLERİ

İlayda Memiş¹, Onur Etgü¹, Haluk Barbaros Oral², Diğdem Yöyen Ermiş²

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp-İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye; Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Birimi (DENHAB), Deneysel ve Moleküler İmmünoloji (EXPERIM) Araştırma Grubu, Bursa, Türkiye

² Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp-İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye; Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Birimi (DENHAB), Deneysel ve Moleküler İmmünoloji (EXPERIM) Araştırma Grubu, Bursa, Türkiye; Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Giriş ve Amaç: Üçlü negatif meme kanseri (TNBC), yüksek metastatik kapasitesi ve immün kaçış mekanizmalarının baskınlığı nedeniyle en agresif tümörlerden biridir. Bu süreçte miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler (myeloid derived suppressor cells, MDSC), T hücre yanıtlarını inhibe ederek tümör progresyonunun temel sürücülerinden birini oluşturur. Son dönemde magnezyumun (Mg^{2+}) T hücre aktivasyonu için kritik olduğu gösterilmiş olsa da, hem normal miyelopoezde hem de tümör ilişkili miyeloid hücrelerin üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Literatürde $MgCl_2$ 'nin MDSC'ler üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız, $MgCl_2$ 'nin TNBC modelinde MDSC fenotipini ve fonksiyonunu üzerindeki etkileri ortaya koymuştur.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada önce $MgCl_2$ 'nin normal miyelopoez üzerindeki etkileri incelenmiştir. İn vitro (L929 (kontrol), BV-2, N9, RAW 264.7) ve ex vivo (splenositler) koşullarda farklı konsantrasyonlarda (1.6–40 mM) $MgCl_2$ ile kültürlenmiştir. Tümör taşımayan sağlıklı hayvanlara $MgCl_2$ düşük (30 mg/kg) ve yüksek (60 mg/kg) dozlarda intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Hücrelerin MTT yöntemi ile canlılıkları değerlendirilirken in vivo uygulama sonrası dalak, kan ve kemik iliğindeki monosit (CD11b+, Ly6C+ Ly6G-/Gr1^{orta}) nötrofil (CD11b+, Ly6C+ Ly6G/ Gr1^{yüksek}) yüzdeleri akış sitometri ile değerlendirilmiştir. Tümör enjeksiyonundan 5 gün önce veya sonrasında $MgCl_2$ düşük (30 mg/kg) ve yüksek (60 mg/kg) dozlarda intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Sakrifikasyonun sonrasında hayvanların kan, dalak, kemik iliği ve tümör dokuları toplanmıştır. MDSC hücreleri M-MDSC (CD11b^{yüksek}, Ly6C+ Ly6G-/Gr1^{orta}) ve G-MDSC (CD11b^{yüksek}, Ly6C+ Ly6G+/Gr1^{yüksek}) olarak fenotiplendirilmiştir. Bu hücrelerin T hücreler üzerindeki baskılama kapasitelerini değerlendirmek için fark görülen organdan MDSC'ler saflaştırılmış ve CFSE işaretli splenositler ile farklı oranlarda kültüre edilmiştir. Ko-kültürlerde inkübasyon sonrası lenfositlerin proliferasyon kapasitesi değerlendirilmiştir. Hayvanları tümör boyut ve ağırlıkları ve hayatta kalım eğrisi de analiz edilmiştir.

Bulgular: $MgCl_2$, L929 hücre canlılığını etkilemezken miyeloid hücrelerde doza bağlı değişiklikler oluşturmuştur. Ex vivo kültürlerde $MgCl_2$ 'nin splenosit canlılığını ve proliferasyonunu artırdığı görülmüştür. Sağlıklı farelerde farklı dozlarda $MgCl_2$ uygulanması sistemik immün parametrelerde belirgin değişikliklere yol açmıştır. $MgCl_2$ 'nin kemik iliğinde miyelopoezi indüklediği, nötrofil öncüllerini artırdığı ve lenfosit dağılımını modüle ettiği belirlenmiştir. Tümör enjeksiyonundan önce $MgCl_2$ uygulanan gruplarda tümör hacimleri daha düşük bulunmuştur. CD11b ekspresyonu, tümör öncesi tedavi gruplarının periferik kanında en yüksek düzeyde, tümör dokusunda en yüksek seviyeler 60 mg/kg $MgCl_2$ uygulanan grupta saptandı. G-MDSC popülasyonu 30 mg/kg $MgCl_2$ uygulanan grubun kanında artış gösterirken, 60 mg/kg grubun dalak dokusunda en düşük seviyede bulundu. M-MDSC popülasyonu ise özellikle tümör öncesi 60 mg/kg $MgCl_2$ uygulanan grubun kan ve dalak örneklerinde yüksek düzeyde tespit edildi. Ayrıca, tümör sonrası yüksek doz $MgCl_2$ uygulanan grupların dalaklarından izole edilen M-MDSC'lerin T hücrelerini baskılama kapasitesinin arttığı gözlemlendi. 4T1 tümör modelinde yapılan in vivo çalışmalarda, yüksek doz ve post-tümoral $MgCl_2$ uygulamasının sağ kalımı anlamlı şekilde artırdığı gözlemlenmiştir. (4T1 M-MDSC: Splenosit; %45.08±0.5893) (4T1 G-MDSC: Splenosit; %55.58±1.733). Post-tümöral hayvanlardan izole edilen splenik M-MDSC ve G-MDSC alt gruplarının T hücrelerini baskılamak yerine proliferasyonlarını desteklediği saptandı.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, $MgCl_2$ 'nin yalnızca T hücreler üzerindeki doğrudan etkilerinin ötesinde, tümör mikroçevresinin miyeloid bileşenlerini güçlü şekilde modüle ettiğini göstermektedir. $MgCl_2$ 'nin miyelopoezi artırdığı ve bu etkinin tümör bağlamında yeniden programlanabildiği ortaya konmuştur. Özellikle yüksek doz ve post-tümöral uygulamada MDSC'lerin immünsüpresif özelliklerini kaybederek immün destekleyici fonksiyon kazandığı görülmüştür. Sonuç olarak, $MgCl_2$ 'nin TNBC'de MDSC dinamiğini yeniden şekillendirerek antitümör immün yanıtı destekleyebileceği ve potansiyel bir immünoterapötik ajan olabileceği gösterilmiştir.

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TAY-2022-601 numaralı hibe kapsamında desteklenmiştir. Yazarlar, destekleri için BUÜ BAP Birimi'ne teşekkür eder.

Anahtar Kelimeler: $MgCl_2$, MDSC, TNBC, T hücre proliferasyonu

SB10 KOLOREKTAL KANSERDE İMMÜN KAÇIŞ VE METASTATİK BELLEĞİN MOLEKÜLER TEMELİ

Cigdem Elif Celik¹, Fusun Ozmen², Swagata Goswami³, Qiming Zhang³, Omer H. Yilmaz³

¹ Ege Üniversitesi Solunum Araştırmaları Merkezi (EGESAM), İzmir

² Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Ankara

³ David H. Koch Institute for Integrative Cancer Research, MIT, Cambridge

Giriş ve Amaç: Kolorektal kanser (KRK), dünya genelinde en sık tanı konulan üçüncü kanser türüdür. Metastaz, kanser ilişkili ölümlerin başlıca nedenlerindendir. Yüksek yağlı diyet (YYD) gibi beslenme alışkanlıkları, tümörigenez ve metastaz süreçlerinde giderek daha kritik bir rol oynamaktadır. Bu çalışmanın amacı; YYD'nin intestinal tümör oluşumundan metastazına giden süreçte moleküler ve hücresel mekanizmaları, bağırsak kök hücresi dinamikleri, tümör mikroçevresi (TME) ve immün hücre profilleri bakımından aydınlatmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışma, MIT Koch Enstitüsü'nde yürütülmüştür. APC, KRAS, p53 ve PTEN genlerinde CRISPR-Cas9 ile ardışık mutasyonlar taşıyan fare kolon kript hücrelerinden kolorektal kanser organoidleri (KRKO) üretilmiş; YYD (%60 kcal yağ) ve kontrol diyetiyle (KD) beslenen WT C57BL/6J farelerin rektosigmoid kolonlarına kolonoskopi aracılığıyla enjekte edilmiştir. Tümör yükü, karaciğer metastazları ve sağkalım takip edilmiştir. TME analizleri için akış sitometrisi ve tek hücre RNA dizileme (scRNA-seq) uygulanmış; immunohistokimya, immunofloresan ve Western blot ile moleküler yolak aktivasyonları değerlendirilmiştir.

Bulgular: YYD alan farelerde artmış vücut ağırlığı, yüksek primer tümör yükü ve artmış karaciğer metastazı saptanmıştır. YYD'nin kalıcı etkilerini araştırmak amacıyla *in vivo* tümörlerden birincil organoidler (1° YYD-KRKO ve 1° KD-KRKO) üretilip KD'li farelere nakledilmiştir. 1° YYD-KRKO'ların primer tümör yükü ve sağkalım açısından 1° KD-KRKO'larla benzer sonuçlar sergilemesine karşın metastatik potansiyellerini koruması, YYD kaynaklı tümörlerin bir "metastatik metabolik bellek" taşıdığını ortaya koymaktadır. Lipidomik analizler, 249 lipid türünün YYD grubunda anlamlı biçimde yüksek olduğunu; en belirgin artışın seramid sfingolipidlerinde gerçekleştiğini göstermiştir. Uzamsal lipidomik analizler, seramidlerin tümör hücrelerine özgü biçimde upregüle olduğunu doğrulamıştır. Bu metabolik bellek, kontrol diyeti alıcılarına nakledilen ikincil organoidlerde (2° YYD→KD-KRKO) farklı seramid profillerinin ekspresyonuyla kanıtlanmıştır. scRNA-seq analizleri, YYD grubundaki tümörlerde Clu+ tümöre özgü kök hücre popülasyonunun arttığını ortaya koymuştur. Bu hücrelerde revival kök hücre belirteci Anxa1/3 ile YAP1 sinyaliyle ilişkili CCN1/2 ekspresyonları upregüle bulunmuştur. YAP1 sinyal yolağının tümöre özgü kök hücrelerde Hippo-YAP ile Wnt yolları üzerinden YYD koşullarında arttığı gösterilmiştir. İmmün hücre profili analizlerinde YYD grubunda regülatör T hücrelerinde artma; dendritik hücre, endotel hücre ve fibroblast sayılarında azalma saptanmıştır. YYD, sitotoksik lenfosit ve NK hücre aktivitesini baskılayarak immünosüpresif bir ortam oluşturmuştur. Myeloid hücre analizlerinde on bir alt popülasyon tanımlanmış; Spp1+ makrofajların tümöre özgü biçimde çoğaldığı görülmüştür. Spp1, Arg1, Trem1 ve Mrc1 genlerinin YYD koşullarında upregüle olması, pro-tümörjenik M2 benzeri fenotipe geçişe işaret etmektedir.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, YYD'nin KRK biyolojisini kök hücre dinamiklerinden immün düzenlemeye, metabolik yeniden programlamadan metastaza uzanan çok katmanlı mekanizmalarla köklü biçimde değiştirdiğini göstermektedir. YYD; bağırsak kök hücrelerinde Hippo-YAP ve Wnt yolları üzerinden tümör başlangıcını hızlandırmaktadır. Özellikle Clu+ revival kök hücrelerinde DEGS1 aracılı seramid birikiminin YAP aktivasyonunu güçlendirdiği ve kontrol diyeti ortamında bile kalıcı bir "metastatik bellek" oluşturduğu gösterilmiştir; bu bulgu diyetin tümör hücreleri üzerinde epigenetik izler bırakabileceğine işaret etmektedir. Spp1+ tümör ilişkili makrofajların ve Treglerin artışı ile NK/sitotoksik T hücre baskılanması ise YYD'nin tümör mikroçevresini immünosüpresif yönde yeniden şekillendirdiğini göstermekte; tümörün bağışıklık sisteminden kaçışını ve metastazını kolaylaştırmaktadır. Seramidlerin ve YAP sinyalinin terapötik hedef

olması, diyetle ilişkili KKK riskinin azaltılmasında ve hasta sonuçlarının iyileştirilmesinde yeni kapılar aralamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kolorektal kanser, yüksek yağlı diyet, metastatik bellek, tümör mikroçevresi, seramid, revival kök hücresi, YAP sinyali, immün kaçış, tümör ilişkili makrofaj, 3D organoid

SB11 ASBESTOZİSE NEDEN OLAN TREMOLİT, KRİZOTİL VE ERİYONİT MADDELERİNİN T VE B HÜCRE İMMÜN YANITLARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Zeynep Akidağı¹, Hüseyin Avcılar², Şerife Erdem⁵, Mohammad Houran³, Mustafa Ermiş⁴, Ahmet Eken³

¹ Kapadokya Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri

² Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı

³ Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

⁴ Erciyes Üniversitesi, Deneysel Araştırmalar Uygulamalar ve Araştırma Merkezi

⁵ Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel İmmünoloji Anabilim Dalı

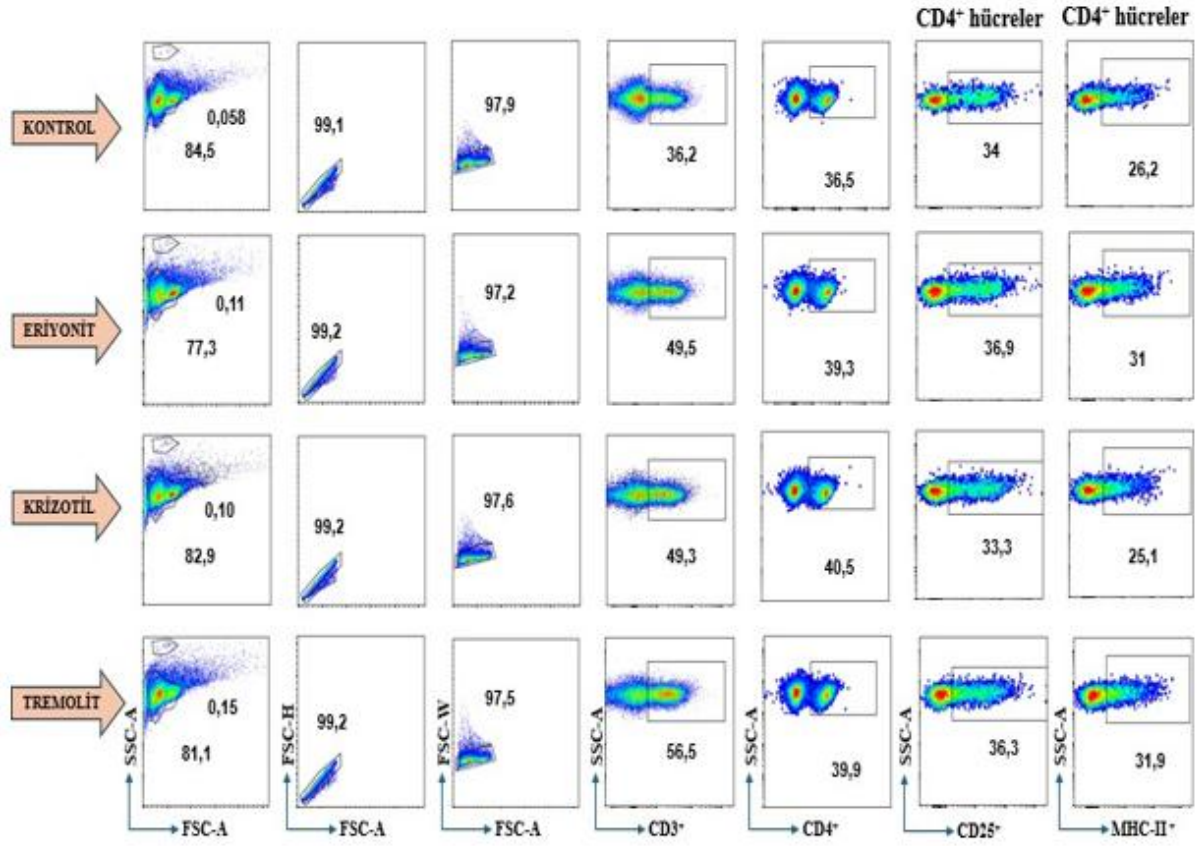
Giriş ve Amaç: Asbestozis, asbest liflerinin solunması sonucu akciğerlerde meydana gelen iki taraflı yaygın interstisyel fibrozis olarak tanımlanan bir akciğer hastalığıdır. Asbest olarak bilinen maddeler asbestozise neden olmaktadır. Bu çalışmada, asbest maddeleri arasında yer alan tremolit, krizotil ve eriyonit maddelerinin C57BL/6 cinsi farelerin lenf nodu, dalak ve akciğer dokularında bulunan T ve B hücre mutlak sayıları, frekansları ve sitokin yanıtlarını kapsayan immün yanıtlar araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada, T ve B hücreler ile alt popülasyonlarını tanımlamak için akım sitometri yöntemi kullanıldı. Asbest maruziyetinden sonra fare serumundaki sitokin konsantrasyonları, multipleks ELISA yöntemi ile akım sitometride ölçüldü. Fare lenf nodu, dalak ve akciğerlerinde bulunan CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerin sitokin yanıtları, hücre içi sitokin boyaması yapılarak akım sitometri yöntemi ile analiz edildi.

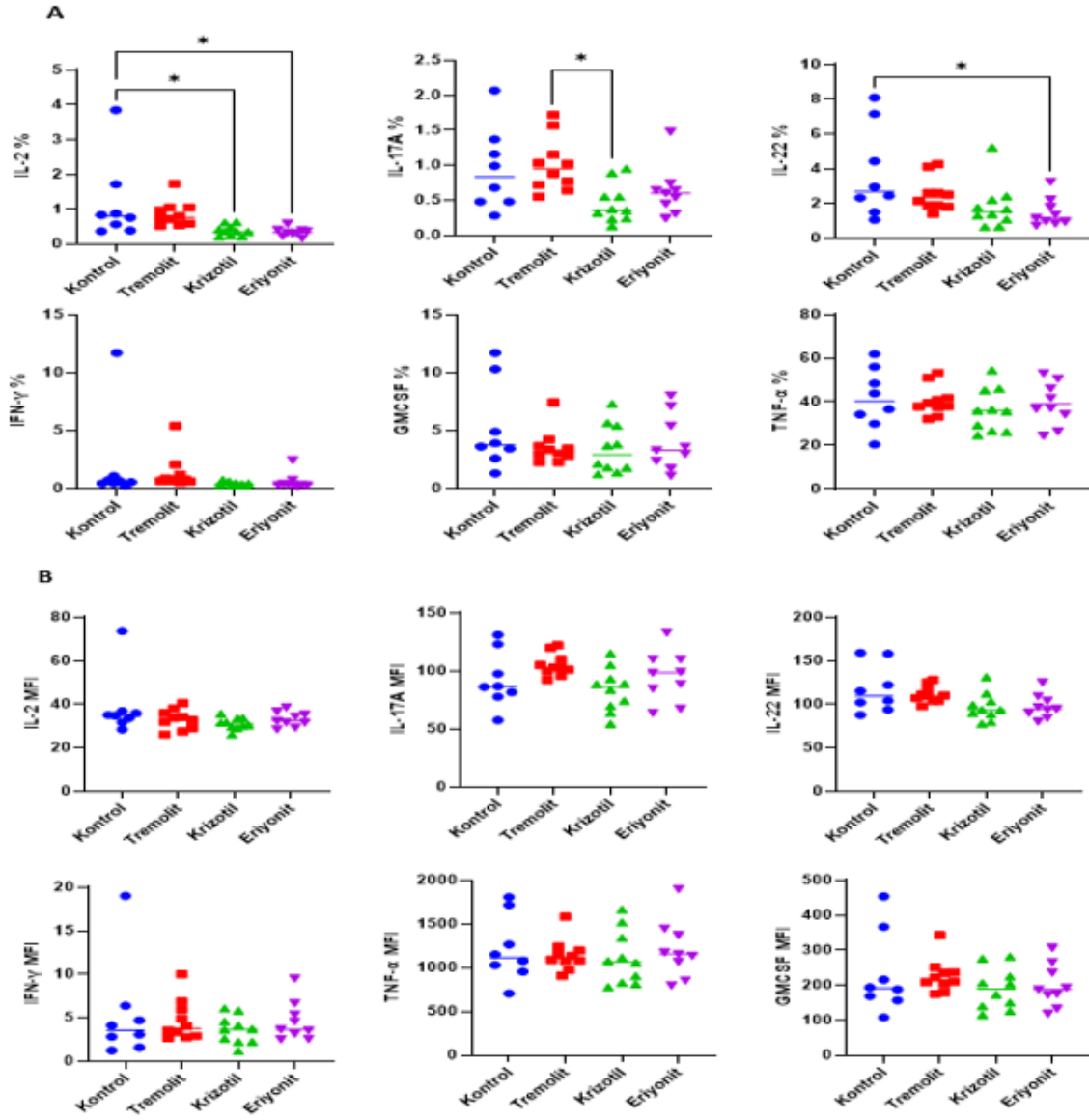
Bulgular: Analiz sonuçlarına göre, dalakta CD3+ ($p \leq 0.01$), CD3+CD4+ ($p \leq 0.01$), CD3+CD8+ ($p \leq 0.05$), CD8+CD25+ ($p \leq 0.05$) ve CD8+MHC-II+ ($p \leq 0.05$) hücre sayıları kontrol grubuna göre eriyonit grubunda anlamlı bir artış gösterirken CD4+CD25+ ($p \leq 0.001$) ve CD4+MHC-II+ ($p \leq 0.001$) hücre sayıları belirgin ve anlamlı bir seviye düşük bulundu. Dolayısıyla dalağın diğer asbestlere kıyasla eriyonit maruziyetinden en çok etkilenen doku olduğu tespit edildi. Lenf nodlarında, yalnızca CD3+CD4+ hücre sayılarında kontrol grubuna göre tremolit grubunda anlamlı bir azalma, CD4+CD25+ ($p \leq 0.05$) ve CD4+MHC-II+ ($p \leq 0.01$) hücrelerinde ise anlamlı bir artış saptandı ($p \leq 0.05$). Akciğerde, tremolit ve eriyonite maruz bırakılan grubun CD4+CD25+ ($p \leq 0.05$) hücre sayılarında, krizotile maruz kalan grubun ise CD8+CD25+ ($p \leq 0.05$) ve CD8+MHC-II+ ($p \leq 0.05$) hücre sayılarında anlamlı bir artış bulundu. Treg sayılarında ise gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. CD19+ B hücre sayısı yalnızca lenf nodunda kontrol grubuna göre krizotil grubunda anlamlı seviye yüksek bulundu ($p \leq 0.01$). B lenfosit alt gruplarından yalnızca erken dönem plazma hücre sayıları, lenf nodunda ($p \leq 0.01$) ve akciğerde ($p \leq 0.05$) krizotil grubunda anlamlı bir artış gösterirken dalakta da eriyonit grubunda bu hücrelerin artışı anlamlı bulundu ($p \leq 0.05$). Fare dokularında CD4+ ve CD8+ hücrelerden bakılan hücre içi sitokinlerden ise genel olarak IFN- γ , TNF- α , IL-17A, IL-2 ve IL-22 sitokin oranları bakımından gruplar arasında anlamlı farklar bulundu. Fare serumlarında bulunan proinflatuar TNF- α , IL-6, IL-17F, IL-13 ve IL-2 sitokin konsantrasyonları bakımından gruplar arasında anlamlı farklar tespit edildi. Elde edilen bulgularla, asbest maddeleri arasında krizotil maddesinin, CD19⁺ B hücre ve CD19+CD38⁺ erken dönem plazma hücre sayılarını arttırarak en çok lenf nodunu etkilediği ve serum sitokinyanıtını tetiklediği tespit edildi. Eriyonit maddesinin ise CD3+ total lenfosit, CD3+CD4+ T hücre, CD3+CD8+ T hücre ve CD19+CD38⁺erken plazma hücre sayılarını arttırarak daha çok dalak dokusundaki immün yanıtı uyardığı, tremolit maddesinin ise lenf nodlarındaki CD3+CD4+ T hücre sayılarını azaltarak Th1 inflammatuar yanıtı baskıladığı tespit edildi.

Tartışma ve Sonuç: Bu araştırma sonuçları, asbest maddeleri ile ilişkili hastalıkların immünopatogenezi alanında çalışan araştırmacılara ışık tutarak çalışmalarına yön verebilir. Ayrıca daha önce hiç çalışılmamış T hücre aktivasyon belirteçleri, erken ve geç dönem plazma hücreleri gibi konulara merak uyandırarak asbestozise yönelik immün yollarla yeni parametrelerin, asbest maddelerinin türüne özgü yeni terapötik yaklaşımların, biyobelirteçlerin ve dahi aşıların geliştirilmesinde önemli fikirlerin ortaya çıkmasına katkı sağlayabilir.

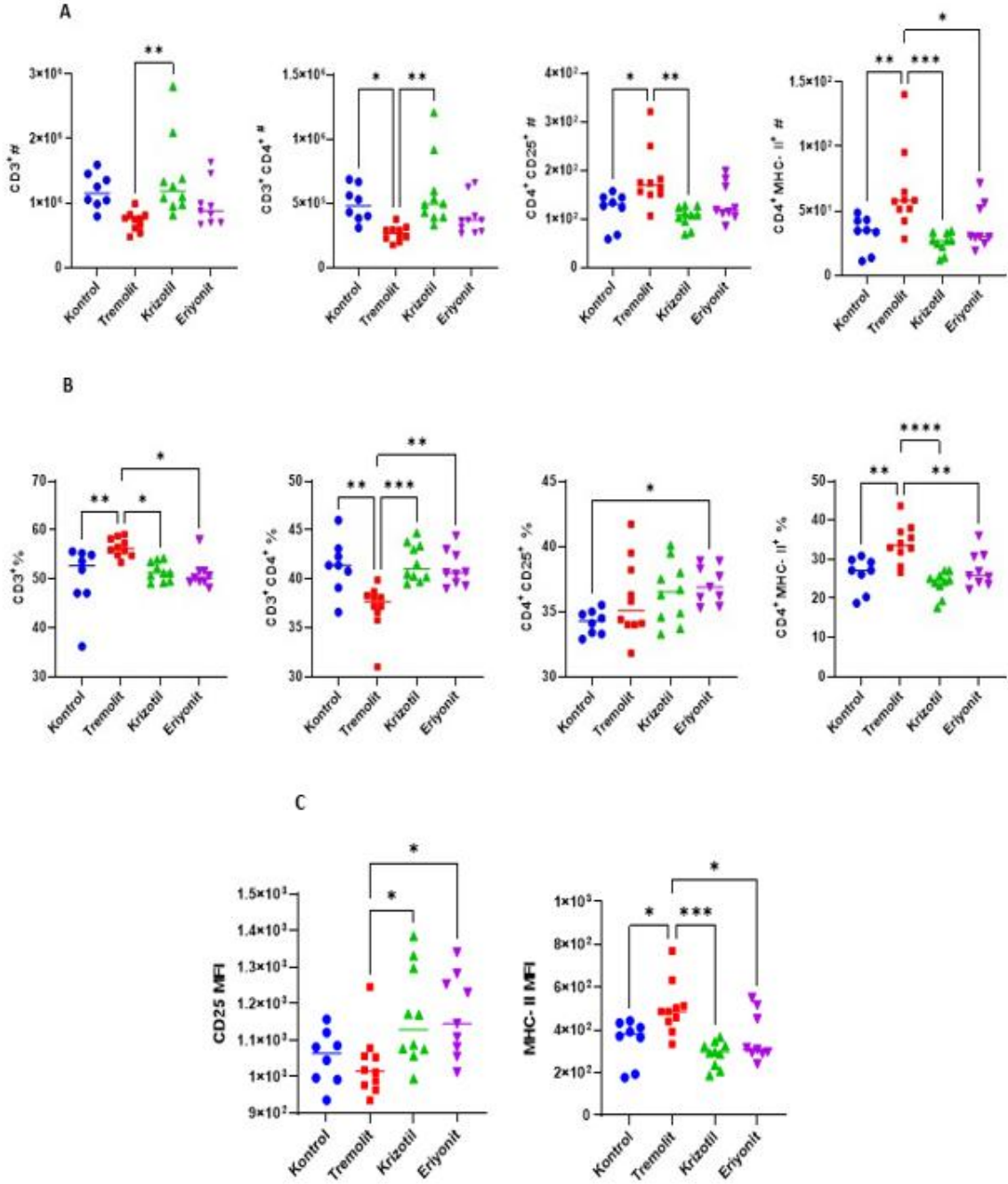
Anahtar Kelimeler: Asbestozis



Şekil 1. Fare lenf nodlarından izole edilen T hücre ve alt gruplarının akım sitometride kapılama stratejileri (FSC: Forward scatter channel, SSC: Side scatter channel).



Şekil-2. Fare lenf nodlarından izole edilen CD3+CD4+ T lenfosit ve alt gruplarının mutlak hücre sayılarının, frekanslarının ve CD25, MHC-II proteinlerinin MFI değerlerinin karşılaştırılması (Kontrol, n=8, Tremolit, n=10, Krizotil, n=10, Eriyonit, n=9). A. Fare lenf nodunda bulunan CD3+CD4+, CD4+CD25+ ve CD4+MHC-II+ hücre sayıları bakımından tremolit grubunda, kontrol grubuna göre belirgin ve anlamlı bir yükseliş bulundu. B. Fare lenf nodlarında, T lenfositler arasında CD3+ ve CD4+MHC-II+ hücre frekansları bakımından incelendiğinde, tremolit grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı bir artış bulundu. Fakat CD3+CD4+ Th hücre frekansı bakımından tremolit grubunda azalma, kontrol grubuna göre anlamlı bulundu. CD4+CD25+ hücre frekansı krizotil grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir farkla yüksek bulundu. C. CD25 aktivasyon belirteci taşıyan CD4+ Th hücrelerde CD25 proteini MFI değeri bakımından kontrol ve asbest grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Fakat MHC-II proteini MFI değeri tremolit grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı bir farkla yüksek bulundu (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.005$, **** $p \leq 0.001$).



Şekil 3. Fare lenf nodundan izole edilen CD4⁺ Th hücrelerde üretilen sitokinlerin kontrol ve asbest grupları arasında hücre içi yüzdelik dağılımlarının ve MFI değerlerinin karşılaştırılması (Kontrol, n=8, Tremolit, n=10, Krizotil, n=10, Eriyonit, n=9). A. Kontrol grubuna kıyasla asbestle maddeleri ile uyarılan grupların lenf nodlarında, GMCSF, IL-17A, IFN- γ ve TNF- α sitokinleri bakımından anlamlı bir farklılık bulunmadı. Krizotil grubunda IL-2 sitokini, eriyonit grubunda ise IL-22 sitokininde kontrol grubuna göre anlamlı bir düzeyde azalma bulundu. Tremolit grubunda, IL-17A sitokin üretimi krizotil grubuna göre anlamlı bir farkla artmış bulundu. B. Kontrol ve asbest gruplarında asbest maruziyeti sonrasında Th hücrelerde üretilen sitokinlerin MFI değerleri bakımından anlamlı bir fark bulunmadı (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.005$, **** $p \leq 0.001$).

SB12 GENETİK OLARAK MODİFİYE EDİLMİŞ MENB SEROTİPİNDEN GMP UYUMLU ELDE EDİLEN OMV AŞILARININ İNDÜKLEDİĞİ FONKSİYONEL ANTİKOR YANITLARININ TİCARİ AŞI İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Seyhan İçier¹, Zeynep Arzum², Gökçenaz Tülüoğlu², Ayça Özkan¹, Ayşe Nazlı Uğurlu², Dilara Güngör², Tuğçe Canavar Yıldırım¹, Muzaffer Yıldırım¹, İsmail Cem Yılmaz¹, Mayda Gürsel¹, İhsan Gürsel¹

¹ Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye

² Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye; Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Giriş ve Amaç: *Neisseria meningitidis* serogrup B, invaziv meningokokal hastalıkların önemli bir etkenidir ve hızlı klinik seyri nedeniyle etkili aşı geliştirilmesi kritik öneme sahiptir. Koruyucu bağışıklık yalnızca antikor miktarına değil, kompleman aracılı bakterisidal aktiviteye (Serum Bactericidal Activity-SBA) ve antikor alt sınıf dağılımına bağlıdır. Bu çalışmada, lipid A yapısı ve endotoksisite profili genetik olarak değiştirilmiş (*cpsΔ/PagL+lpXL1Δ*) MenB serotipi bakterinin dış membrane vezikülleri (OMV) saflaştırılarak aşı adayı olarak geliştirilmiştir. Aşının indüklediği humoral yanıtın fonksiyonel ve kantitatif özellikleri değerlendirilmiş ve ticari aşı-Bexsero® ile karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: 6–8 haftalık dişi C57BL/6 fareler (5 fare/Grup), iki hafta arayla *cpsΔ/PagL+lpXL1Δ* MenB OMV formülasyonları (3 µg ve 10 µg MenB OMV; Alum ve/veya K3-CpG ODN ile) ve ticari aşı (Bexsero®) ile subkutan yolla 200µL hacimde hazırlanarak immünize edilmiştir. Fonksiyonel antikor yanıtı SBA ile değerlendirilmiştir. Tüm gruplar referans MenB ST-complex-32 suşuna karşı test edilmiş, en yüksek yanıt veren grup PorA varyant suşlara karşı analiz edilmiştir. Serumlar 56°C’de 30 dk inaktive edilmiş, kompleman olarak bebek tavşan serumu kullanılmıştır. Humoral antikor titreleri end-point ELISA ile (total IgG, IgG1, IgG2c) 2. ve 6. haftalarda tayin edilmiştir.

Bulgular: En yüksek bakterisidal aktivite 10 µg *cpsΔ/PagL+lpXL1Δ* OMV + Alum + CpG ODN grubunda gözlenmiş ve referans suşa karşı ~1:24300 SBA titresi elde edilmiştir. Bu formülasyon varyant suşlara karşı da güçlü çapraz aktivite göstermiştir ($\geq 1:192$), ticari aşı ise daha düşük SBA titreleri oluşturmuştur (1:24–1:96). Total IgG düzeyleri 6. haftada gruplar arasında benzer olsa da, OMV + Alum + CpG ODN grubunda belirgin şekilde daha yüksek SBA titreleri elde edilmesi, antikor titrelerinin fonksiyonel etkinliği tümüyle yansıtmadığını göstermektedir. IgG2c yanıtı özellikle CpG ODN içeren gruplarda artmış ve SBA ile güçlü korelasyon göstermiştir.

Tartışma ve Sonuç: CpG ODN ve Alum ile adjuvanlanan genetik olarak modifiye edilmiş MenB OMV aşıları, ticari aşıya kıyasla belirgin şekilde üstün fonksiyonel antikor yanıtı oluşturmuştur. Benzer total IgG düzeylerine rağmen daha yüksek SBA titreleri ve artmış IgG2c yanıtı, bağışıklık yanıtının kalitesinin niceliğinden daha belirleyici olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, güvenlik profili optimize edilmiş OMV platformunun güçlü adjuvan kombinasyonları ile birlikte etkili ve translasyonel bir aşı stratejisi sunduğunu desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: *Neisseria meningitidis* serogrup B, dış membran vezikülleri (OMV), serum bakterisidal aktivite (SBA), CpG adjuvan

SB13 KISA ZİNCİRLİ YAĞ ASİTLERİNİN SEDEF FARE MODELİNDE GAMMA DELTA ($\gamma\delta$) T HÜCRE ARACILI İNFLAMASYONA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Hüseyin Avcılar¹, Zeynep Akidağı², Şerife Erdem³, Mohammed Houran⁵, Menekşe Ülger⁴, Işıl Tuğçe Turan⁴, Ahmet Eken⁵

¹ Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji ABD; Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Araştırma Merkezi (GENKÖK), Kayseri

² Kapadokya Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri, Nevşehir

³ Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel İmmünoloji, Kırşehir

⁴ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Abd, Kayseri

⁵ Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD; Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Araştırma Merkezi (GENKÖK), Kayseri

Giriş ve Amaç: Sedef hastalığı (Psoriasis), IL-17A/F ve IL-22 eksenli inflamasyonla karakterize kronik bir deri hastalığıdır. Son çalışmalar, dermal $\gamma\delta$ T hücrelerinin bu sitokinlerin başlıca kaynağı olarak patogeneizde kritik rol oynadığını göstermektedir. Bağırsak ve deri mikrobiyotasının fermantasyon ürünleri olan kısa zincirli yağ asitleri (asetat, propiyonat, bütirat) immün yanıtı modüle edebilmektedir. Bu çalışmanın amacı, imikimod ile oluşturulan deneysel sedef modelinde SCFA'ların hastalık şiddeti, histopatoloji, inflamatuvar gen ekspresyonu ve özellikle dermal $\gamma\delta$ T hücreleri üzerindeki terapötik etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Projede C57BL/6(B6) fareleri (dişi, 8-10 haftalık), 64 adet inbred fare kullanıldı. Fareler İmikimod (IMQ) içeren Aldara®%5 krem topikal olarak deriden 7 gün uygulanarak psoriasis fare modeli oluşturuldu. 6. gün de psoriasis modeli gelişen farelere hem oral yoldan hem de topikal olarak 3 farklı kısa zincirli yağ asiti (asetat, propiyonat ve bütirat) uygulandı. Fareler 13. günde sakrifiye edilerek kardiak kanları, lenf, dalak ve deri dokuları alındı. Kardiak kan örnekleri santrifüj edilerek serumları -80 °C de saklandı. Deri dokuları histoloji ve qPCR analizleri için kaldırıldı. Lenf nodu ve dalak dokularından PBMC izolasyonu yapıldı. Bu hücreler arasından $\gamma\delta$ T hücrelerin ve alt tiplerinin immünofenotipleme ve hücre içi sitokin tayini akım sitometri yöntemi ile analiz edildi. Akım sitometri verileri FlowJo 10.00 programı ile analiz edilirken verilerin istatistiksel analizi GraphPad Prism 9.0 programı ile yapıldı. İstatistiksel analizlerde $p \leq 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Psoriasisde fare lenf nodundaki ve dalaktaki $\gamma\delta$ T hücrelerin dokudaki yüzdelik dağılımları ve mutlak sayıları bakımından hem oral hem de topikal grup arasında verilen asetat, propiyonat ve bütirat yağ asitleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Fakat topikal ve oral bütirat grubunda $\gamma\delta$ TH17 hücreler (CCR6+CD27-), sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık bulundu ($p \leq 0.01$). Dalak dokusunda ise bu hücre sayıları bakımından anlamlı bir fark bulunmadı. IFN- γ sentezleyen $\gamma\delta$ T hücreler (CCR6-CD27+) bütirat verilen psoriasisli farelerin lenf nodlarında hem topikal hem de oral grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gösterdi ($p \leq 0.05$). Dalakta ise bu hücre sayıları bakımından anlamlı bir fark bulunmadı. Hücre içi sitokin boyaması analizlerinde IMQ uygulaması ile lenf nodunda IL-17A, TNF- α ve Granzyme-Perforin düzeylerinde dalakta IL-17 ve IL-22 düzeylerinde sağlıklı kontrole kıyasla anlamlı farklar bulundu. SCFA uygulamaları arasında özellikle propiyonat verilen gruplarda bazı proinflamatuvar sitokin yanıtlarında anlamlı farklar bulundu. IL-17A ve TNF- α düzeylerinde gruplar arası istatistiksel farklılıklar bulunurken, IFN- γ düzeylerinde daha sınırlı değişim izlendi. SCFA'ların özellikle belirli efektör yanıtları modüle ederek immün yanıtı yeniden şekillendirebildiğini düşündürmektedir.

Tartışma ve Sonuç: SCFA uygulamasının özellikle lenf nodu düzeyinde $\gamma\delta$ T hücre alt gruplarını seçici biçimde modüle ettiği bulundu. Bütiratın $\gamma\delta$ TH17 (CCR6+CD27-) hücrelerinde artışa yol açması, bu hücrelerin fonksiyonel plastisitesi ve dokuya göç potansiyeli açısından değerlendirildiğinde bağlamsal bir immün düzenlemeye işaret etmektedir. Buna karşılık IFN- γ üreten $\gamma\delta$ T hücrelerindeki azalma, bütiratın proinflamatuvar Th1-benzeri yanıtı baskılayıcı etkisini düşündürmektedir. Dalakta anlamlı değişiklik saptanmaması, etkinin daha çok bölgesel immün mikroçevre ile ilişkili olabileceğini

göstermektedir. Bu sonuçlar, SCFA'ların psoriasis modelinde $\gamma\delta$ T hücre aracılı immün yanıtı yeniden şekillendirebileceğini ve terapötik potansiyel taşıyabileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Sedef hastalığı (Psoriasis), gamma delta T hücreler, asetik Asit, propiyonik asit, butirik asit

Grup No	N	Grup İsmi	Uygulanan Madde	Uygulama Şekli	Uygulanan Doz
1	8	Sağlıklı Kontrol	Serum Fizyolojik	Gavaj	100 μ l (333 mg/mL)
2	8	IMQ+Kontrol	İmikimod +Serum Fizyolojik	Deriye Topikal Uygulama	100 μ l (333 mg/mL)
3	6	IMQ+Oral Asetat	İmikimod + Asetat	Gavaj	100 μ l (333 mg/mL)
4	6	IMQ+Oral Bütirat	İmikimod + Bütirat	Gavaj	100 μ l (333 mg/mL)
5	4	IMQ+Oral Propiyonat	İmikimod + Propiyonat	Gavaj	100 μ l (333 mg/mL)
6	8	IMQ+Topikal Asetat	İmikimod + Asetat	Deriye Topikal Uygulama	100 μ l (333 mg/mL)
7	8	IMQ+Topikal Bütirat	İmikimod + Bütirat	Deriye Topikal Uygulama	100 μ l (333 mg/mL)
8	8	IMQ+Topikal Propiyonat	İmikimod + Propiyonat	Deriye Topikal Uygulama	100 μ l (333 mg/mL)

SB14 ADALİMUMABIN İNSAN NK HÜCRELERİNDE APOPTOZ, HÜCRE SAĞKALIMI, PROLİFERASYON, ALT-GRUP ORANLARI, SİTOKİN SALINIMI VE SİTOTOKSİTEYE ETKİLERİ

Fehim Esen¹, Ayşenur Kökoğlu², Haner Direskeneli³, İlknur Tuğal Tutkun⁴, Ahmet Gül⁵, Günnur Deniz², Esin Aktaş Çetin²

¹ İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

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

³ Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı

⁴ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı

⁵ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

Giriş ve Amaç: Tümör nekrosis faktör- α (TNF- α) inhibitörleri birçok romatolojik hastalığın tedavisinde oldukça etkilidirler. Ancak sadece monoklonal antikor yapısındaki anti-TNF molekülleri dirençli üveitlerin tedavisinde fayda sağlamaktadır. Bu bilgi bize monoklonal anti-TNF moleküllerinin TNF- α nötralizasyonuna ilave olarak immün sistem üzerine başka etkileri olduğunu düşündürmektedir. Yakın zamanda Behçet üveiti hastalarında adalimumab tedavisinin NK hücre tükenmişliği fenotipini ve inhibitör reseptör ekspresyonunu arttırdığını saptadık. Bu çalışmada adalimumabın hücre kültürü ortamında sağlıklı insan NK hücrelerinde alt grup dağılımını, sağ kalımı, sitokin salınımı ve sitotoksik fonksiyonlarını etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Sağlıklı gönüllülerin kanlarından periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) ve NK hücreleri izole edilerek adalimumab varlığında ve yokluğunda 48 saat hücre kültürü yapıldı. NK hücreleri alt grupları CD16 ve CD56 ekspresyonları ile tanımlandı. Apoptotik indeks ve canlılık oranları Annexin V/propidyum, proliferasyon Ki-67 boyaması, hücre içi IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-17A ve IL-4 ekspresyonu ve sitotoksik aktivite akan hücre ölçer ile değerlendirildi. Kültür üst sıvılarında solubil IL-2, IL-4, IL-10, IL-6, IL-17A, TNF- α , çözünür Fas sFasL, IFN- γ , granzim A, granzim B, perforin ve granülizin düzeyleri akan hücre ölçerde analiz edildi.

Bulgular: Saf NK hücre kültüründe adalimumab ile apoptotik indekste artış, canlılık oranlarında azalma ve CD56^{bright}CD16^{bright} NK hücre alt grubu anlamlı olarak artış saptandı. PKMH kültüründe NK hücre sağ kalımı etkilenmedi. Adalimumab ile her iki kültür ortamında da NK hücrelerinde Ki-67 ekspresyonu anlamlı olarak arttı. Adalimumab ile NK hücrelerinde bazal degranülasyon oranı anlamlı olarak arttı ancak K562 hedef-hücre öldürme kapasitesi zayıfladı. Saf NK hücre kültüründe adalimumab ilavesi hücre içi TNF- α ekspresyonunu azalttı, buna karşılık IL-17A, IL-10 ve TGF- β ekspresyonları anlamlı olarak artış saptandı. Solubil mediyatörler incelendiğinde hücre kültürü üst sıvısında granzim A ve IL-17A artarken, TNF- α düzeylerinde azalma saptandı.

Tartışma ve Sonuç: Adalimumab NK hücrelerinde tek tip supresyondan ziyade farklı NK hücre alt grupları ve fonksiyonları üzerine özel etkiler göstermekte olup, tükenmişlik fenotipinde artış, hücre döngüsünde artış ve NK hücre sitotoksitesinde azalmaya neden olmaktadır. PKMH kültürlerinde bu etkilerin kısmen kaybolması hücre-hücre etkileşimleri ve etkileşimdeki immün sistem hücrelerinden gelen sinyallerin anti-TNF etkilerini kısıtladığını göstermektedir. Bu bulgu da adalimumab tedavisinin immün ayrıcalıklı bir organ olan gözde neden daha başarılı olduğunu açıklayabilir.

Anahtar Kelimeler: Adalimumab, doğal öldürücü hücreler, üveit, tümör nekrosis faktör

SB15 METRNL/IL-41 SIÇANLARDA İRRİTABL BAĞIRSAK SENDROMU MODELİNDE LÖKOSİT TRAFİĞİNİ VE VİSERAL HASSASIYETİ DÜZENLEYEREK NÖROİMMÜN ROL OYNAR

Alperen Akbaba¹, Alp Eren Barutçu², Banu Aydın Omay³, Berrak Ç. Yeğen¹

¹ Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

² Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul

³ Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul

Giriş ve Amaç: Sistemler arası iletişimi sağlayan fizyolojik mediyatörler, stres kaynaklarına karşı homeostazın korunmasında görev alır. Bu iletişimin aksaması ile birlikte, bariyer dokulardaki bozulma sistemik hastalıklara zemin hazırlayabilir. Bu çalışma, nörotrofik ve immün düzenleyici etkileri bulunan METRNL/IL-41'in irritable bağırsak sendromu'ndaki (İBS) olası terapötik etkisini incelemeyi amaçlamıştır.

Gereç ve Yöntemler: Dişi Wistar Albino sıçanlarda (8-10 haftalık) inflamasyon sonrası kronik stres kaynaklı İBS modeli geliştirilmiştir. Bu amaçla, anüsün 8 cm proksimaline intrakolonik asetik asitin (%4, 1 ml) 30 saniye boyunca uygulanmasını takiben, sıçanlar 10 gün boyunca günde 1 saat sudan kaçınma stresine (WAS) maruz kalmışlardır. Kontrol grubunda (n=6) sadece intrakolonik serum fizyolojik (SF, %0,9 NaCl) uygulanmış, test günlerine kadar kendi kafeslerinde barındırılmıştır. Sıçanlara gūnaşırı, toplam 6 defa, rekombinant METRNL/IL-41 (2,5 µg/kg, n=7; 10 µg/kg, n=7; 40 µg/kg, n=7; sırasıyla İBSMET2,5, İBSMET10, İBSMET40) veya SF (n=6, İBSSF) intraperitoneal uygulanmıştır. Protokolün 9. ve 11. günlerinde anüsün 4 cm proksimaline yerleştirilen balon kateterin kademeli şişirilmesiyle abdominal çekilme refleksinin olduğu ilk basınç değeri, viseromotor refleks eşiğı (VMR) olarak belirlenmiştir. Deney protokolünün sonunda (12. gün), proksimal kolon homojenatlarında ELISA ile IL-1β, IL-6, IL-10 seviyeleri değerlendirilmiştir. VMR'de etkin bulunan doz (İBSMET40) kullanılarak oluşturulan ek gruplarda (N=9) in-vivo lökosit trafiğini gözlemlemek için, WAS protokolünün tamamlanmasından bir gün sonra sıçanlara ketamin (100 mg/kg, ip) ve klorpromazin (10 mg/kg, ip) anestezisi altında, rodamin6G (0,1 ml, 2 mg/ml) retroorbital uygulanmış ve mezenterik venülleri intravital mikroskopi ile incelenmiştir. Verilerin istatistiksel analizleri için normallik testi sonrası tek-yönlü ANOVA uygulanmıştır. Deneysel çalışmaların yanı sıra, Gene Expression Omnibus'tan (GEO) elde edilen açık erişimli GSE229321, GSE245398 ve GSE229320 verisetlerinin analizleri gerçekleştirilmiştir. Post-enfeksiyöz İBS hastalarının ve sağlıklı gönüllülerin bağırsak düz kas RNA-seq (GSE245398) verisinde METRNL ekspresyonu normalize sayımlar üzerinden değerlendirilmiştir. Ayrıca, stres kaynaklı kolon inflamasyonu geliştirilen farelerin kolon CD45+ scRNA-seq verisi (GSE229321) Scanpy ile işlenmiştir. Kalite kontrol ve normalizasyon sonrası PCA ve UMAP ile boyut indirgenmiş, Leiden algoritmasıyla kümeleneip CellTypist ile anotasyon yapılmıştır. Aynı çalışmanın kolon bulk RNA-seq verisi (GSE229320) ise log2(TPM+1) dönüştürülerek gruplar karşılaştırılmıştır. Biyoinformatik verilerin istatistiksel analizinde verilerin normallik dağılımlarına göre t-testi veya Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

Bulgular: İBSSF, İBSMET2,5 ve İBSMET10 gruplarında VMR eşiğı kontrol grubuna göre düşerken (p=0,0003, p=0,0261, p=0,0068); İBSMET40 grubunun VMR değeri kontrol grubuna benzer bulunmuştur (p=0,1991). IL-1β ve IL-6 seviyeleri gruplar arasında farklılık göstermemiştir (p>0,05). IL-10 seviyeleri İBSSF'de ve İBSMET40'ta kontrol grubuna göre azalmıştır (p=0,0492, p=0,0404); İBSMET10 ve İBSMET2,5 gruplarında ise IL-10 seviyeleri korunmuştur. İBSSF grubunda, yuvarlanan (rolling/dk) ve yapışık (adherent/mm²) lökosit sayılarının kontrol ve İBSMET40 gruplarına göre arttığı bulunmuştur (p<0,05). İBS hastalarının bağırsak düz kaslarında METRNL ekspresyonunun azaldığı bulunmuştur (p=0,00392). Kronik strese maruz kalan farelerin kolon dokularında METRNL ekspresyonu yükselirken (p=0,014039), CD45+ hücre popülasyonları arasında fark saptanmamıştır. Hücre tiplerine göre karşılaştırıldığında, kronik stres grubunda CD11c+

makrofajlarda ve Clec4e+ monositlerde METRNL ekspresyonu azalırken ($p=0,0457$, $p=0,00030014$), diğer hücrelerde değişmemiştir.

Tartışma ve Sonuç: Bu bulgular, METRNL/IL-41'in kolonda seçilmiş miyeloid alt popülasyonlarda kronik stresle ekspresyon düzeyinin değiştiğini; inflamasyon sonrası stresle tetiklenen İBS modelinde doza duyarlı biçimde viseral ağrı eşiğini normalize ederken mezenterik mikrodolaşımda lökosit rolling ve adezyonunu azalttığını, kolon IL-10 seviyelerini koruduğunu, İBS fizyopatolojisinde nöroimmün bir modülatör olabileceğini düşündürmektedir.

Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (TTU-2025-11631) desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İrritabl bağırsak sendromu, lökosit trafiği, METRNL/IL-41, nöroimmünoloji

SB16 NÖROGELİŞİMSEL GERİLİKLİ BİR OLGUDA *FOLR1* GENİNDE NOVEL HOMOZİGOT VARYANTIN FONKSİYONEL FOLAT TRANSPORT BOZUKLUĞU İLE GÖSTERİLMESİ

Şerife Erdem¹, Perihan Kader Kendirli², Mohammad Houran³, Bayer Demir³, Muhammet Doğan⁴, Ekrem Ünal⁵, Ahmet Eken⁶

¹ Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Kırşehir

² Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Enstitüsü (GENKÖK), Kayseri

³ Medical Point Hastanesi, Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi Kliniği, Gaziantep

⁴ Kayseri Şehir Hastanesi, Tıbbi Genetik Kliniği, Kayseri

⁵ Hasan Kalyoncu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Gaziantep

⁶ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Giriş ve Amaç: *FOLR1* genindeki mutasyonlar, otozomal resesif kalıtılan serebral folat transport bozukluğuna yol açarak gelişimsel gerilik, epilepsi, hareket bozuklukları ve lökodistrofi ile karakterize klinik tabloya neden olmaktadır. Bu çalışmada, *FOLR1* geninde novel homozigot varyant saptanan bir olguda moleküler ve fonksiyonel düzeyde folat metabolizmasının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Nörogelişimsel gerilik, febril nöbet öyküsü ve tekrarlayan enfeksiyonlar nedeniyle değerlendirilen 3 yaşındaki hastada yeni nesil dizileme (NGS) panel analizi sonucunda *FOLR1* (NM_016729.3) geninde c.505T>C (p.Cys169Arg) homozigot varyant saptandı. Aile içi segregasyon analizinde ebeveynlerin heterozigot taşıyıcı olduğu gösterildi. Fonksiyonel analizler kapsamında taze izole edilen ve kültüre edilen PBMC’lerde *FOLR1*, *FOLR2*, *FOLR3*, *SLC19A1* ve *PCFT* (*SLC46A1*) gen ekspresyonları qPCR yöntemi ile değerlendirildi. Ayrıca CD4⁺ T hücrelerinde *SLC19A1* protein ekspresyon düzeyleri incelendi. Folat metabolizmasına duyarlılığı belirlemek amacıyla PBMC’ler farklı dozlarda metotreksat ve pemetreksat ile inkübe edilerek apoptoz oranları akım sitometrisi ile analiz edildi. Buna ek olarak, azaltılmış ve artırılmış folinik asit içeren kültür koşullarında CFSE bazlı proliferasyon analizleri gerçekleştirildi.

Bulgular: Saptanan varyant gnomAD veri tabanı ve mevcut literatürde daha önce bildirilmemiştir. Hastada varyant homozigot, ebeveynlerde ise heterozigot olarak tespit edilmiştir. Kültür sonrası koşullarda hastaya ait hücrelerde *FOLR1* ekspresyonunun belirgin derecede azaldığı gözlenirken *FOLR2* ve *FOLR3* düzeylerinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. PHA ile uyarılan CD4⁺ T hücrelerinde *SLC19A1* protein düzeyinin kontrol grubuna kıyasla azaldığı belirlenmiştir. Metotreksat uygulaması sonrası hasta lenfositlerinde doza bağımlı artmış apoptoz gözlenirken pemetreksat ile bu etkinin daha sınırlı olduğu görülmüştür. Azaltılmış folinik asit içeren kültür koşullarında hasta hücrelerinde proliferatif yanıt belirgin şekilde baskılanırken, artırılmış folinik asit ortamında proliferasyonun anlamlı düzeyde düzeldiği saptanmıştır. Bu bulgular, *FOLR1* p.Cys169Arg varyantının folat transportu ve hücresel proliferasyon üzerinde fonksiyonel etkileri olduğunu göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç: *FOLR1* geninde saptanan p.Cys169Arg varyantı kamusal veri tabanlarında daha önce bildirilmemiş olup muhtemelen novel bir varyanttır. Yapılan fonksiyonel analizler folat transportunda bozulmayı ortaya koymakta ve varyantın patojenitesini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: *FOLR1*, serebral folat transport bozukluğu, folat metabolizması

POSTER BİLDİRİLER

PB1 İN OVO BESLEMENİN İN OVO VEYA KONVANSİYONEL AŞILAMA UYGULANAN TAVUKLARDA INFECTİOUS BURSAL DİSEASE (IBD) VİRUSUNA SPESİFİK İMMÜN YANIT ÜZERİNE ETKİLERİ

Özer Ateş¹, Derya Yeşilbağ², Fulya Erbay², Mevlüt Yaşar³, Nilay Tereci³, Engin Erbay⁴, Kadir Yeşilbağ³

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

³ Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

⁴ Hastavuk Gıda, Tarım, Hayvancılık Sanayi ve Ticaret A.Ş., Bursa, Türkiye

Giriş ve Amaç: Infectious Bursal Disease (IBD), tavuklarda özellikle genç yaşlarda görülen ve bağışıklık sistemini hedef alan önemli bir viral hastalıktır. IBD virusu, primer lenfoid organ olan bursa Fabricius'u etkileyerek immünosupresyona neden olmakta ve sürülerde sekonder enfeksiyonlara duyarlılığı artırmaktadır. Bu durum, kanatlı yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. IBD'nin kontrolünde en etkili yöntem aşılama olmakla birlikte, aşılama uygulama zamanı ve yöntemi bağışıklık yanıtının düzeyi açısından büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda embriyonik dönemde uygulanan in ovo aşı teknolojileri, erken bağışıklık uyarımı sağlaması ve civcivlerde daha erken koruyucu bağışıklık oluşturabilmesi nedeniyle dikkat çekmektedir. Bununla birlikte, embriyonik dönemde uygulanan in ovo besleme uygulamalarının embriyo gelişimini desteklediği, bağırsak gelişimini hızlandırdığı ve bağışıklık sisteminin gelişimine katkıda bulunabileceği bildirilmektedir. Ancak in ovo besleme ile in ovo aşının birlikte uygulanmasının bağışıklık yanıtı üzerindeki etkileri hakkında sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, in ovo besleme ile birlikte uygulanan in ovo aşılama ve konvansiyonel aşılama yöntemlerinin IBD'ye karşı gelişen antikor ve sitokin yanıtı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Deney gruplarına dair bilgiler Tablo 1'de yer almaktadır. Gruplar eşit şartlarda ve erkek-dişi civcivlerden oluşturuldu. Aşı materyali olarak hem in ovo hem de çıkım sonrası uygulanabilen nitelikteki ticari yolla temin edilen IBD (Poultvac Bursaplex, Zoetis) aşısı kullanıldı. İn ovo besleme (kreatin monohidrat, glukoz, Vit C) uygulaması kuluçkanın 18.gününde amniyon kesesine 0,5 ml miktarında yapıldı. Grup I ve Grup II'ye in ovo aşı uygulaması in ovo beslemeyle birlikte yapılırken, Grup III ve Grup IV'te çıkım sonrası civcivler deneme ünitesine yerleştirildikten sonra (0.gün) konvansiyonel yöntemle (deri altı) aşı uygulandı. Tüm deneme gruplarına standart besleme/bakım koşulları uygulandı. Bu süreçte hayvanlardan çıkım sonrası 0., 5., 15., 25., ve 35. günlerde kan alımı yapıldı. Her örnekleme döneminde gruplardan rastgele seçilen 20 hayvandan kan alındı. Katkısız kan tüplerine alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dk +4°C'de santrifüj uygulanarak serum ayrıldı ve test edilinceye kadar -20°C'de muhafaza edildi. Serumlarda IBD antikorlarının varlığı ve düzeylerinin belirlenmesinde ticari bir ELISA kiti (BioChek IBD antibody) kullanıldı. Ayrıca deneme grubundan seçilen 8 hayvandan 0. ve 5. gün kan örneklerinde sitokin (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α ve IFN- γ) ve immünoglobulin (IgM ve IgY) düzeyleri ticari bir ELISA kiti (SunRed Biotechnology) ile belirlendi. Çalışma sonucunda elde edilen tüm veriler SPSS 25.0 programı kullanılarak değerlendirildi (SPSS, 2018).

Bulgular: Deney gruplarında ölçülen sitokin düzeyleri ve antikor titreleri değerlendirildiğinde, aşı uygulamaları sonrasında hem hücresel hem de humoral bağışıklık yanıtında gruplara bağlı değişimler gözlenmiştir. Deney gruplarında örnekleme günlerine göre tespit edilen IBD antikor titrelerinin ortalamaları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Deney gruplarında belirlenen IBDV antikor titreleri ve antikor pozitif hayvan oranları birlikte değerlendirildiğinde, uygulanan aşılama stratejilerine bağlı olarak gruplar arasında farklı düzeylerde humoral bağışıklık yanıtı geliştiği görülmüştür. İn ovo ve konvansiyonel aşılama uygulanan gruplarda zaman içinde antikor düzeylerinde değişimler gözlenmiş ve erken dönemlerde yüksek antikor varlığı belirlenmiştir. Denemenin ilerleyen dönemlerinde bazı gruplarda geçici düşüşler

görülse de koruyucu bağışıklığın sürdüğü saptanmıştır. Ayrıca sonuçlar, aşılama yöntemlerinin sürü düzeyinde bağışıklık yanıtını etkilediğini ve özellikle in ovo uygulamaların hücresel ve humoral bağışıklık yanıtının şekillenmesinde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir.

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 122O808 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: IBD, in ovo besleme, in ovo aşılama, konvansiyonel aşılama, immün yanıt

UYGULAMALAR	DENEME GRUPLARI			
	İn ovo tekniğiyle aşılama		Konvansiyonel tekniğe aşılama	
	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
	(n=64)	(n=64)	(n=64)	(n=64)
İn ovo besleme	-	+	+	-
İn ovo aşılama	+	+	-	-
Çıkım sonrası aşılama	-	-	+	+

((+): ilgili gruba uygulamanın yapıldı, (-): ilgili gruba uygulama yapılmadı.)

Tablo 1. Aşılama yöntemlerine göre oluşturulan deneme grupları ve yapılan uygulamalar

Örnekleme zamanı	İn ovo tekniğiyle aşılama		Konvansiyonel tekniğe aşılama		P değeri
	İn ovo aşı	İn ovo aşı + İn ovo Besleme	Konvansiyonel aşı + İn ovo Besleme	Konvansiyonel Aşı	
	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	
0.gün	10024.26 ^{bc}	8270.85 ^c	11514.57 ^b	13408.12 ^a	<0.001
5.gün	6184.93	7118.93	6373.37	6183.21	0.707
15.gün	1640.20 ^a	1830.03 ^a	1077.18 ^b	1168.20 ^b	0.003
25.gün	509.51	158.03	919.78	568.06	0.438
35.gün	715.33 ^b	877.65 ^b	2434.98 ^a	2858.41 ^a	0.043

(Aynı satırda farklı harflerle (a, b, c) gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p < 0.05). Veriler ortalama değerler olarak sunulmuştur. P değeri gruplar arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir.)

Tablo 2. İn ovo ve konvansiyonel aşılama uygulanan deney gruplarında örnekleme günlerine göre IBDV antikor titreleri

PB2 YÜKSEK RİSKLİ PEDIATRİK SOLİD TÜMÖRLERDE SERUM ÇÖZÜNÜR İMMÜN KONTROL NOKTASI İMZASINDA TIM-3/GALEKTİN-9 EKSEN BASKINLIĞI

Hikmet Gülşah Tanyıldız¹, Ayşenur Kökoğlu², Nurgül Naurzvai³, Umut Can Küçüksezer², Günnur Deniz², Esin Çetin Aktaş²

¹ İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü ve Hastanesi, Klinik Onkoloji, İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmunoloji Anabilim Dalı

² İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmunoloji Anabilim Dalı

³ Acıbadem Atakent Hastanesi, İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmunoloji Anabilim Dalı

Giriş ve Amaç: Yüksek riskli pediatrik solid tümörlerde immün kaçış tedavi direncinin temel belirleyicilerindendir. Doku temelli çalışmalar Tim-3/Galektin-9 ekspresyonunu göstermiş olsa da dolaşımdaki çözünür immün kontrol noktası reseptörlerinin profili yeterince tanımlanmamıştır. Çalışmamızda yüksek riskli nöroblastom (NB) ve rabdomiyosarkom (RMS) hastalarında serum çözünür kontrol noktası imzası ve moleküler alt gruplarla ilişkisi araştırıldı.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya 23 yüksek riskli hasta (10 NB, 13 RMS) dahil edildi. Serumda çözünür sCD25, sPD-1, sPD-L1, sPD-L2, sTim-3, sGalektin-9, sLAG-3, sCTLA-4 ve sCD27 düzeyleri akan hücre ölçer ile analiz edildi. Non-parametrik testler kullanıldı, etki büyüklüğü r katsayısı ile hesaplandı. Çoklu karşılaştırmalar için Benjamini-Hochberg düzeltmesi uygulandı. Ayırıcı performans ROC analizi ile değerlendirildi.

Bulgular: NB hastalarında sGalektin-9 düzeyleri RMS'ye göre anlamlı derecede yüksekti (1.59 kat artış; $p=0.002$; $r=0.65$). Bu fark çoklu karşılaştırma düzeltmesi sonrası da anlamlılığını korudu (FDR $p=0.019$). ROC analizinde sGalektin-9 NB'yi RMS'den ayırt etmede yüksek performans gösterdi (AUC=0.93). sTim-3 düzeyleri NB grubunda 2.78 kat yüksek olup istatistiksel sınırdaki farklılık gösterdi ($p=0.051$; $r=0.41$; AUC=0.76). FOXO1 pozitif hastalarda sCD25 ($p=0.009$) ve sTim-3 ($p=0.015$) anlamlı derecede yüksekti. sTim-3 + sGalektin-9 çift yüksekliği NB'de %70, RMS'de %31 oranında saptandı (Fisher $p=0.099$).

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma yüksek riskli pediatrik solid tümörlerde serum temelli özgün bir immün kontrol noktası imzası ortaya koymaktadır. Tim-3/Galektin-9 ekseninin moleküler risk biyolojisi ile paralel seyri, sistemik immün sistem tükenmişliğinin tümör alt gruplarına özgü bir imza taşıyabileceğini göstermektedir. Serum temelli çözünür immün kontrol noktası profili, pediatrik solid tümörlerde kişiselleştirilmiş immünoterapi stratejilerinin kapısını aralayabilecek dinamik ve non-invaziv bir biyobelirteç yaklaşımı sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kontrol noktası inhibitörleri, çocukluk çağı solid tümörler

PB3 ÇOCUKLARDA SALMONELLA ENFEKSİYONLARI ALTTA YATAN PRİMER İMMÜN YETMEZLİĞİN BİR İPUCU OLABİLİR Mİ? ON YILLIK TEK MERKEZ DENEYİMİ

İrem Nur İngenç¹, Öznur Ege Akdi¹, Kübra Aykaç¹, Yasemin Özsürekcı¹

¹ Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: Salmonella enfeksiyonları çocukluk çağında en sık görülen bakteriyel gastroenterit nedenlerinden biridir¹. Salmonella, Enterobacteriaceae ailesinin gram negatif ve fakültatif anaerob bir üyesi olup ince bağırsak epitel hücrelerini enfekte eder. Pediatristlerin tifo dışı Salmonella (NTS) gastroenteriti, NTS'nin ekstraintestinal enfeksiyonları ve tifoidal Salmonella'ya bağlı enterik ateşin klinik özellikleri, epidemiyolojisi, tanısı ve korunma yöntemleri hakkında bilgi sahibi olması önemlidir². Bununla birlikte bazı hastalarda invaziv enfeksiyonlar gelişebilmekte ve bu durum altta yatan immünolojik bozuklukların bir göstergesi olabilmektedir³⁻⁴. Bu çalışmada pediatrik Salmonella enfeksiyonlarının klinik, mikrobiyolojik ve laboratuvar özelliklerinin değerlendirilmesi ve altta yatan primer immün yetmezliklerin rolünün araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler: Bu retrospektif çalışma, Ocak 2015–Aralık 2024 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi'nde Salmonella enfeksiyonu tanısı alan 0–18 yaş arası hastalarda gerçekleştirildi. Kültürlerinde Salmonella üremesi saptanan hastalar çalışmaya dahil edildi. Demografik özellikler, klinik bulgular, enfeksiyon tipi, kültür sonuçları, serogrup dağılımı, antibiyotik tedavileri ve antibiyotik duyarlılıkları değerlendirildi. Ayrıca laboratuvar parametreleri, altta yatan hastalıklar, immünsüpresif tedavi kullanımı, komplikasyonlar, rekürrens ve mortalite verileri incelendi.

Bulgular: Çalışmaya toplam 112 hasta dahil edildi. Hastaların ortalama yaşı 4.7 yıl, median yaş 3.85 (0.11–16.99) idi ve %50.8'i erkekti. En sık başvuru semptomu ishal (%87.5) olup bunu kusma (%27.6) ve karın ağrısı (%22.2) izledi. Hastaların %86.6'sında ateş mevcuttu. Enfeksiyonların büyük çoğunluğu akut gastroenterit (%85.7) şeklinde seyretti. Bakteriyemi %5.3 ve osteomiyelit %3.6 oranında saptandı. Hastaların %30.3'ünde en az bir komorbid hastalık mevcuttu. Primer immün yetmezlik %8.9 hastada saptandı ve bunlar arasında IL12RB1 eksikliği, kronik granülomatöz hastalık, kombine immün yetmezlik, CVID ve hiper IgD sendromu yer aldı. İzolatların %99.1'i non-typhoidal Salmonella olup en sık Serogrup D saptandı. Takipte komplikasyon oranı %2.6, rekürrens %5.3 olup mortalite saptanmadı.

Tartışma ve Sonuç: Pediatrik Salmonella enfeksiyonlarının büyük çoğunluğu akut gastroenterit şeklinde seyretmekle birlikte bazı hastalarda invaziv enfeksiyonlar gelişebilmektedir. Çalışmamızda da olguların küçük bir kısmında bakteriyemi ve osteomiyelit gibi invaziv enfeksiyonlar saptanmıştır. Literatürde özellikle non-tifoidal Salmonella enfeksiyonlarının immün sistemi baskılanmış bireylerde veya altta yatan primer immün yetmezliği bulunan hastalarda daha ağır seyredebildiği bildirilmiştir³⁻⁴. Özellikle IL-12/IFN- γ aksındaki bozukluklar ve fagosit fonksiyon defektleri invaziv Salmonella enfeksiyonlarına yatkınlık ile ilişkilidir. Çalışmamızda primer immün yetmezlik oranının %8.9 olması, invaziv veya tekrarlayan Salmonella enfeksiyonlarının altta yatan immün yetmezlik açısından önemli bir uyarı işareti olabileceğini desteklemektedir. Bu bulgular, invaziv veya atipik Salmonella enfeksiyonları ile başvuran çocuklarda altta yatan immün yetmezliklerin erken tanınmasının klinik yönetim açısından önemli olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Salmonella enfeksiyonu, primer immün yetmezlik, pediatrik enfeksiyon

PB4 NADİR BİR LİZOZOMAL DEPO HASTALIĞI OLAN GAUCHER HASTALIĞININ İMMÜNOLOJİK VE GENETİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Suzin Tatonyan¹, Asuman Gedikbaşı², Fatmahan Atalar³, Mehmet Cihan Balcı⁴, Günnur Deniz¹, Nilgün Akdeniz¹

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

² İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Pediatrik Temel Bilimleri Ana Bilim Dalı

³ İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Nadir Hastalıklar Anabilim Dalı

⁴ İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı

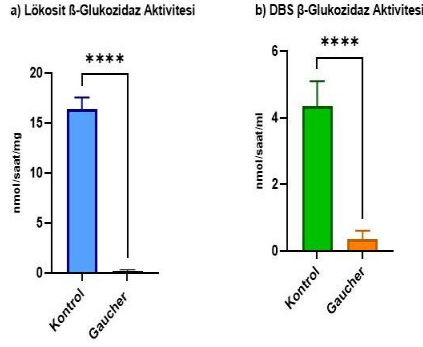
Giriş ve Amaç: Gaucher hastalığı, GBA1 genindeki mutasyonlar sonucu β -glukozidaz (glukoserebrosidaz) enzim aktivitesinin azalmasıyla ortaya çıkan, otozomal resesif kalıtılan lizozomal depo hastalıkları arasında en sık görülen hastalıktır. Makrofajlarda glukosilseramid birikimi hem organ tutulumuna hem de kronik inflamasyona yol açarak hastalığın multisistemik seyrini şekillendirir. Bu çalışmada Gaucher hastalarında immünolojik yanıtın sitokin profili ile değerlendirilmesi, enzim aktivite ölçümlerinin doğrulanması ve GBA1 gen varyantlarının belirlenerek genotip-fenotip ilişkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya 20 Gaucher hastası (Tip I: 13, Tip II: 3, Tip III: 4) ve 17 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Tanısal doğrulama amacıyla lökosit ve kuru kan örneklerinde β -glukozidaz enzim aktivitesi florometrik yöntemle ölçülmüştür. İmmünolojik değerlendirmede plazmada IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-18 başta olmak üzere toplam 13 sitokin/kemokin LEGENDplex™ çoklu analiz yöntemi ile ölçülmüştür. Moleküler düzeyde doğrulama için GBA1 geninde Sanger dizileme uygulanarak patojenik varyantlar belirlenmiştir.

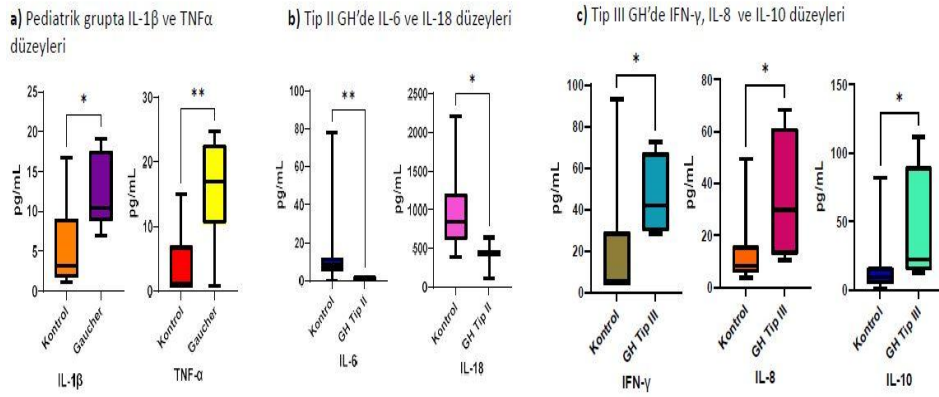
Bulgular: Enzim aktivite analizlerinde Gaucher hastalarında hem lökosit hem de kuru kan örneklerinde β -glukozidaz düzeylerinin kontrollere göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). Genetik analizlerde en sık tespit edilen varyant N409S olup özellikle Tip I fenotip ile ilişkili bulunmuştur. L483P mutasyonu ise nöropatik formlarda (Tip II ve Tip III) daha yüksek sıklıkta gözlenmiştir. V499M varyantı ağırlıklı olarak Tip I olgularda tespit edilmiştir. Bu dağılım, literatürde bildirilen genotip-fenotip ilişkileriyle uyumlu değerlendirilmiştir. Sitokin düzeyleri genel hasta grubu ile kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ancak pediatrik hasta grubunda IL-1 β ve TNF- α düzeylerinin kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,021$). Tip II hastalarda IL-6 ve IL-18 düzeylerinde azalma, Tip III hastalarda ise IFN- γ , IL-8 ve IL-10 düzeylerinde anlamlı artış tespit edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, Gaucher hastalığında enzim aktivite ölçümlerinin tanı açısından güçlü ve güvenilir olduğunu; genetik varyantların klinik fenotiple anlamlı ilişki gösterdiğini ortaya koymuştur. Pediatrik olgularda belirginleşen inflamatuvar sitokin artışı, Gaucher hastalığının yalnızca bir depo hastalığı değil, aynı zamanda immün disregülasyon bileşeni olan kompleks bir hastalık olduğunu desteklemektedir. Bu veriler, erken tanı, prognoz değerlendirmesi ve potansiyel hedefe yönelik tedavi stratejileri açısından katkı sağlamaktadır.

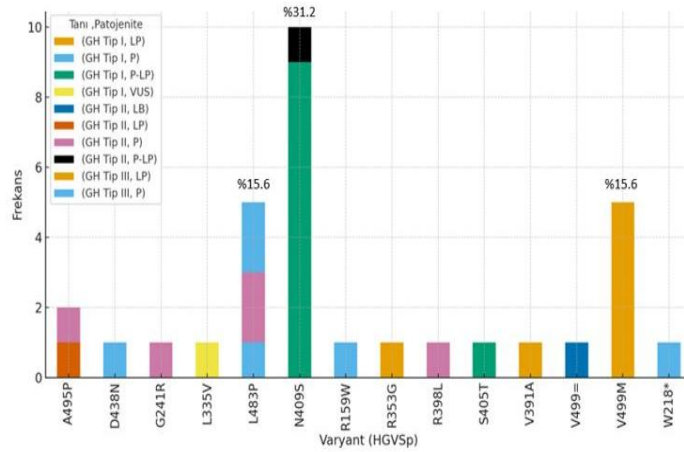
Anahtar Kelimeler: Gaucher hastalığı, GBA1, β -glukozidaz, sitokin



Şekil 1. Lökosit (a) ve DBS (b) örneklerinde β -Glukozidaz aktiviteleri



Şekil 2. Pediatrik grupta IL-1 β ve TNF- α düzeyleri (a) kontrollere göre anlamlı derecede artmış; Tip II hastalarda IL-6 ve IL-18 düzeylerinde azalma (b), Tip III hastalarda ise IFN- γ , IL-8 ve IL-10 düzeylerinde (c) anlamlı artış tespit edilmiştir.



Şekil 3. Hastalara ait varyant dağılımları, klinik sınıflandırması ve patojenitesi

PB5 OVER KANSERİNDE CD27 VE CD28 KO-EKSPRESYONU İLE TANIMLANAN TEM HÜCRELERİNİN PROGNOSTİK BİYOBELİRTEÇ OLARAK KLİNİK ÖNEMİ

Sıla Ulutürk¹, Işıl Akdağ Aras¹, Vildan Altahhan², Vefa Şakar², Berkan Karadurmuş³, Mehmet Mert Hıdıroğlu⁴, Sümeyra Güler⁵, İbrahim Burak Bahçecioğlu⁵, Özhan Özdemir², İsmail Ertürk³, Mehmet Ali Gülçelik⁵, Kerim Bora Yılmaz⁶, Güneş Esendağlı⁷

¹ Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara

³ Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Onkoloji Bölümü, Ankara

⁴ Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara

⁵ Cerrahi Onkoloji Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara

⁶ Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara; Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara

⁷ Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara; Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara

Giriş ve Amaç: Over kanseri, jinekolojik maligniteler arasında en yüksek mortalite oranına sahip olup tedavi yanıtı ve prognozu öngörebilecek biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, CD27 ve CD28 ko-ekspresyonu ile tanımlanan efektör hafıza T hücre (TEM) alt gruplarının periferik dolaşım ve tümör mikroçevresindeki dağılımı ile klinik parametrelerle olası ilişkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Yüksek dereceli over kanseri (FIGO III-C) tanılı hastalara ait periferik kan, asit sıvısı ve tümör dokusu örnekleri ile yaş uyumlu sağlıklı kontrollerin periferik kan örnekleri çok parametrelili akım sitometrisi ile analiz edilmiştir. Bulgular klinik verilerle karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Tüm örnek kompartmanlarında TEM hücrelerin baskın T-hücre popülasyonunu oluşturduğu ve özellikle tümör mikroçevresinde belirgin artış gösterdiği gözlenmiştir. Yaş uyumlu sağlıklı kontrol grubunda da TEM hücrelerin dolaşımdaki ana hafıza T hücre alt grubunu oluşturduğu izlenmiştir. CD27⁺CD28⁺ fenotipindeki hücrelerin hem dolaşımda hem de tümör dokusunda en yüksek oranda temsil edilen TEM fraksiyonu olduğu dikkati çekmiştir. Dolaşımdaki CD27⁺CD28⁺ yardımcı veya sitotoksik TEM hücre oranının %63'ün üzerinde olduğu hastalarda progresyonsuz sağkalımın daha uzun olduğu (yaklaşık 15–16 ay vs. 9–10,5 ay) gözlenmiştir. Ayrıca bu grubun reaktif lenf nodu varlığı ve daha olumlu CA125 kinetiği ile ilişkili olabileceği saptanmıştır.

Tartışma ve Sonuç: Ön bulgular, dolaşımdaki TEM hücrelerde CD27 ve CD28 ekspresyonunun korunmasının daha iyi klinik seyir ve aktif immün gözetim göstergeleri ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu moleküllerin kaybı ise terminal farklılaşma ve antitümör immün yanıtın zayıflaması ile ilişkili olabilir. Bu fenotip, over kanserinde potansiyel bir immün prognoz belirteci olarak değerlendirilebilir. Bulguların daha geniş hasta serilerinde doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tümör mikroçevresi, hafıza T hücreleri, CD27, CD28

PB6 KANSER HÜCRESİNİN OLUŞTURDUĞU METABOLİK STRES ALTINDA CD4+ YARDIMCI T HÜCRE YORULMASININ MULTİ-OMİK ANALİZİ

Sakine Ulusoy¹, Neşe Ünver¹, Güneş Esendağlı¹

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

Giriş ve Amaç: T-hücresi yorulması, kronik antijenik uyarımın bir sonucu olarak gelişmekle birlikte tümör mikroçevresinde gerçekleşen metabolik düzenlemeler de immün yanıtın şekillenmesinde ve T hücre fonksiyonlarının baskılanmasında kritik bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada, THP-1 lösemi hücrelerinden kaynaklanan metabolik değişikliklerin CD4+ T hücre fonksiyonları üzerindeki etkilerinin transkriptomik ve metabolomik düzeyde incelenmesinin yanı sıra, kostimülasyon molekülleri ve metabolik yollar arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntemler: Sağlıklı donörlerden Ficoll gradyan ayırma yöntemi kullanılarak periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) izole edildi ve CD4+ T hücreleri MACS yöntemiyle zenginleştirildi. Naif CD45RA+CCR7+ T hücreleri FACS ile izole edilerek farklı oranlarda THP-1 hücreleri veya monositler ile ko-kültüre edildi. THP:CD4+ T hücre (2:1) ko-kültüründen 24, 72 ve 120 saat inkübasyon sonrasında CD4+ T hücreler ayrıştırılarak transkriptomik ve GC-MS temelli metabolomik analizler gerçekleştirildi. THP-1 koşullu besiyerlerinde ve farklı pH (6.5 pH) koşuluna ayarlanmış RPMI ortamı kullanılarak CD4+ T hücre kültürleri oluşturuldu. Proliferasyon kinetiği CFSE, hücre canlılığı ise Annexin V-PI boyama yöntemleriyle belirlendi. İmmün kontrol noktası inhibitör reseptörleri PD-1, CTLA-4, LAG-3 ve TIM-3'ün ekspresyon kinetiği akış sitometrisi ile analiz edildi.

Bulgular: Elde edilen multi-omik veriler, T hücrelerinin 120. saatte anlamlı düzeyde metabolik bir stres altında olduğunu ortaya koymuştur. THP-1 sekretomunda saptanan yüksek sitrat düzeyine, T hücrelerinde belirlenen düşük düzeyde Hekzokinaz-2 (HK2) ekspresyonu eşlik etmektedir. Yolak analizleri sonucunda, Glikoliz ve oksidatif fosforilasyonun (OXPHOS) modüle edildiği ve T hücrelerinde Pentoz Fosfat yolağı ve yüksek düzeyde PCK2 ekspresyonunun ilişkili olduğu saptanmıştır. T hücre yorulmasının sadece ligand-reseptör etkileşimlerine bağlı bir süreç olmaksızın, miyeloid hücrelerin ortama sekrete ettiği metabolitler aracılığıyla da tetiklenebileceği hipotezinin doğrulanması amacıyla yapılan ko-kültür deneyleri, artan THP-1 oranının CD4+ T hücre proliferasyonunu doz-bağımlı şekilde baskıladığını göstermektedir. Uyarımsız ve besiyeri değişimi yapılmayan koşullarda proliferasyon indeksi, 1:1 (THP-1:CD4+) oranında 7.55 olarak saptanırken, 4:1 (THP-1:CD4+) oranında 2.02 düzeyine azalmıştır. Artan THP-1 oranının, CD4+ T hücrelerinde PD-1, CTLA-4 ve TIM-3 ekspresyonunu artırdığı; bu artışın özellikle LAG-3 düzeyinde olduğu bulunmuştur. Bazal düzeyde %5' den düşük ekspresyon yüzdeleri, ko-kültür ortamında 4:1 oranındaki THP-1 varlığında; PD-1 için %3.2'den %99.95'e, CTLA-4 için %0.3'ten %64.4'e, TIM-3 için %0.48'den %76.21'e ve LAG-3 için %0.13'ten %95.1'e artış göstermiştir. Koşullu besiyerleri ile gerçekleştirilen ko-kültür deneylerinde, CD4+ T hücre proliferasyonunun baskılandığı saptanmıştır. T hücre yorulma belirteci LAG-3'ün ise, ortam asidifikasyonundan bağımsız olarak hem transkripsiyonel hem de protein düzeyinde artış gösterdiği belirlenmiştir. Buna paralel olarak 2:1 (Monosit:CD4+) oranındaki ko-kültür modellerinde de LAG-3 ekspresyonu; pH 6.5 RPMI grubunda %28.33 düzeyinde iken, koşullu besiyeri grubunda %54.24'tür. Gen ekspresyonu analizlerine göre, 120. saatte LAG3 transkripsiyonel düzeylerindeki artış; asidik RPMI (pH 6.5) ko-kültürlerinde 2.5 kat oranında saptanırken, koşullu besiyeri varlığında 12.5 kat olarak belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Çalışmamız, T hücre yorulmasının antijenik uyarım veya kostimülasyon sinyalleri ile birlikte mikroçevrenin oluşturduğu metabolik koşullar tarafından da modüle edilebileceğini göstermektedir. Sekretom kaynaklı metabolik stresin LAG-3 ekspresyon artışıyla ilişkili olması, immünoterapide immün kontrol noktası moleküllerinin yanı sıra, tümör mikroçevresindeki metabolik yolların da hedeflenmesinin terapötik potansiyel taşıdığına işaret etmektedir.

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Kodu: TSA-2023-20772.

Anahtar Kelimeler: T hücre yorulması, kostimülasyon, LAG3, metabolit profileme

PB7 PEDIATRİK B HÜCRELİ AKUT LENFOBlastİK LÖSEMİ OLGULARINDA MONOSİTLERİN FENOTİPİK ÖZELLİKLERİ

Melis Afacan¹, Emine Türkkan², Ayşegül Ünüvar³, Günnur Deniz¹

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

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pediatrik Hematoloji ve Onkoloji, İstanbul

³ İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji ve Onkoloji, İstanbul

Giriş ve Amaç: Akut lenfoblastik lösemi (ALL), malign blast proliferasyonu ile karakterizedir ve normal kemik iliği immün mikroçevresini bozarak yeniden yapılanmaya neden olmaktadır. Monositler, kemik iliği kök hücreleri nişinin temel bileşenleridir ve normal hematopoetik kök hücrelerin düzenlenmesi ve korunmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. Klasik (CD14++CD16-), intermediate (CD14++CD16+) ve non-klasik (CD14+CD16++) alt gruplara ayrılmakta, farklı enflamatuvar, immün regülasyon ve antijen sunma özellikleri göstermektedir. Monosit alt gruplarındaki niceliksel ve fenotipik dağılım, lösemiye eşlik eden immün disregülasyonu yansıtabilir. Bu çalışmada, tanı anında ve tedavi almamış pediatrik B-ALL hastalarında kemik iliği monosit alt gruplarının dağılımının ve fenotipik özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Akut lösemi şüphesiyle kemik iliği örneği alınan pediatrik olgular çalışmaya dahil edildi. Akan hücre ölçer ile B-ALL tanısı doğrulanan hastalar ile çalışma grubu oluşturuldu. ALL veya akut miyeloid lösemi (AML) açısından patoloji saptanmayan olgular kontrol grubu olarak belirlendi. Monosit alt grupları CD14 ve CD16 ekspresyonuna göre sınıflandırıldı. Alt gruplarda CD163 ve HLA-DR ekspresyon düzeyleri analiz edilerek immün düzenleyici ve antijen sunum potansiyeline ilişkin fenotipik değerlendirme yapıldı.

Bulgular: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, B-ALL hastalarında klasik monositlerde (CD14++CD16-) anlamlı derecede azalma ($p<0.0001$), CD16 eksprese eden intermediate (CD14+CD16+) ve non-klasik (CD14+CD16++) monosit oranlarında ise anlamlı derecede artış (sırasıyla, $p<0.01$ ve $p<0.0001$) saptandı. CD163 ekspresyonu en yüksek oranda klasik monositlerde saptanırken, non-klasik monositlerde belirgin olarak daha düşük gözlemlendi. HLA-DR ekspresyonu değerlendirildiğinde, non-klasik monositlerde HLA-DR pozitif hücre oranının klasik ve intermediate monositlere kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu saptandı ($p<0.0001$).

Tartışma ve Sonuç: CD16+ intermediate ve non-klasik monositlerin B-ALL hastalarında istatistiksel olarak anlamlı derecede artması, kemik iliği monosit alt gruplarının dağılımında belirgin bir immün yeniden yapılanmaya işaret etmektedir. Klasik monositlerde tespit edilen CD163 reseptörü ve artmış ekspresyonu bu hücrelerin anti-enflamatuvar özelliklere sahip olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, B-ALL hastalarında en yüksek HLA-DR ekspresyonu intermediate ve klasik monositlerde, en düşük HLA-DR ekspresyonu ise non-klasik monositlerde tespit edilmiştir. Bu durum non-klasik monositlerin bağışıklık sistemini uyarma yeteneğini yitirmiş olabileceğine işaret etmektedir. Birlikte değerlendirildiğinde, klasik monositlerde CD163 ekspresyonunun artması ve intermediate CD14++CD16+ ve klasik CD14++CD16- monosit alt gruplarında HLA-DR ekspresyonunun artması, M1/M2 polarizasyon çerçevesi ile tam olarak açıklanamayan bu aktivasyona B-ALL hastalarında kemik iliği mikroçevresini değiştirmesiyle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu değişimlerin, biyolojik ve klinik etkilerini açıklığa kavuşturmak için fonksiyonel testleri içeren çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Lösemi, monosit, makrofaj, kanser

PB8 B. ABORTUS VE B. MELİTENSİS KAYNAKLI DIŞ MEMBRAN VEZİKÜLLERİNİN THP-1 HÜCRELERİNDE MAKROFAJ POLARİZASYONU VE OKSİDATİF YANIT ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Ceren Esen Kirez^{2,3}, Ülkü Tüzemen⁵, Müjdat Atılğan^{2,3,4}, İbrahim Hamal⁷, Diğdem Yöyen Ermiş^{1,2,3}, Salih Haldun Bal^{1,2,3}, Nilay Aybey⁶, Kadir Yeşilbağ⁶, Cüneyt Özakin⁵, Haluk Barbaros Oral^{1,2,3}

¹ İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

² Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Birimi, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

³ Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERIM), Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁴ Tıp-immünoloji Ana Bilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁵ Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁶ Viroloji Ana Bilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁷ Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

Giriş ve Amaç: Brucella, oksijenli ve oksijensiz koşullarda çoğalabilen, Gram-negatif zoonotik patojendir. Bruselloz, klinik tabloda ateş, artralji-miyalji, belirgin yorgunluk ve olgularda organ tutulumu/yetmezliği görülebilir. Literatürde koruyucu yanıtın ağırlıkla Th1 (özellikle IFN- γ aracılı makrofaj aktivasyonu) üzerinden geliştiği, ancak Brucella'nın bu yanıtı zayıflatacak immün kaçış stratejileri kullandığı bildirilmektedir. Brucella'nın patogenezi, fagositik hücrelerde—başta makrofajlarda—yaşamını sürdürmesine dayanır. Enfeksiyon sırasında salınan dış membran vezikülleri (OMV'ler), PAMP içeriğiyle doğuştan gelen immüniteyi modüle ederek inflamasyonu tetikleyebilir veya baskılayıcı düzenleyici yanıtları güçlendirebilir. Çalışmamızın amacı, B.abortus ve B.melitensis (canlı ve inaktif) kaynaklı OMV'lerin PMA ile farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış THP-1 hücrelerinde makrofaj polarizasyonu (M1/M2) ve oksidatif yanıt (ROS ve NO üretimi) üzerindeki immünomodülatör etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamızda inaktif B.melitensis ve B.abortus bakterilerinden ultrasantrifügasyon yöntemi (100000xg +4°C) kullanılarak OMV'ler izole edilmiştir. Bunun yanı sıra canlı B.melitensis ve B.abortus kültürlerinden bir izolasyon kiti kullanılarak OMV izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen OMV örneklerinin fiziksel karakterizasyonu Tunable Resistive Pulse Sensing (TRPS) yöntemi ile gerçekleştirilmiş. Veziküllerin hücre içi alımının değerlendirilmesi amacıyla inaktif ve canlı Brucella kaynaklı OMV örnekleri floresans 1,1-dioktadesil-3,3,3,3-tetrametilindotrikarbosiyanın iyodür (DiR) boyası ile işaretlenmiştir. Boyama sonrası OMV grupları, inaktif Brucella ve canlı Brucella türleri Forbol 12-Miristat 13- Asetat (PMA) ile farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış THP-1 hücreleri ile ko-kültüre edilmiştir. 48 saatlik inkübasyonun ardından hücrelerde CD14, CD80, CD86, HLA-DR, CD163, CD169 ve CD206 yüzey belirteçleri akan hücre ölçer cihazı ile analiz edilmiştir. Ayrıca hücrelerde reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrik oksit (NO) üretim kapasiteleri değerlendirilmiştir.

Bulgular: Canlı Brucella ile enfekte edilen ve canlı Brucella kökenli OMV'lerle muamele edilen hücrelerde CD80 ve CD86 ekspresyonunda belirgin bir artış saptandı. Buna ek olarak, hücrelerin CD169 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş gözlemlendi. Aynı zamanda ROS ve NO düzeylerinde OMV gruplarında azalma görüldü.

Tartışma ve Sonuç: Hücrelerin ROS ve NO düzeylerinde gözlemlenen azalma, Brucella kaynaklı veziküler yapıların yalnızca kostimülatör belirteçleri artırmakla kalmayıp, aynı zamanda oksidatif ve nitrozatif efektör yanıtları baskılayıcı bir immünomodülasyonla ilişkili olabileceğine işaret etmektedir. DiR ile işaretlenen veziküllerin hücre içi alımının değerlendirilmesinde ise, PMA ile farklılaştırılmış THP-1 hücrelerinde belirgin bir floresan sinyal tespit edilemezken, PMA ile uyarılmamış hücrelerde

vezikül alımına işaret eden floresan sinyaller gözlenmiştir. Bu bulgu, makrofaj farklılaşma durumunun vezikül alımı ve hücresel yanıtlar üzerinde belirleyici olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TPDD-2025-2350, TAY-2022-601 (araştırma altyapısı için) numaralı projeler ve TÜBİTAK 2209 lisans projesi ile desteklenmiştir. Projeye verdikleri desteklerden ötürü BUÜ BAP ve TÜBİTAK birimine teşekkürlerimizi sunarız.

Anahtar Kelimeler: Brucella, enfeksiyon, makrofaj, OMV

PB9 ERİTROSİT SÜPERNATANLARININ İMMÜN KONTROL NOKTALARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Salih Haldun Bal^{1,2,3,5}, Ceren Esen Kirez^{2,3}, Gözde Arslan^{2,3,4}, Levent Tufan Kumaş^{5,6}, Yasemin Heper^{5,6}

¹ İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

² Deney Hayvanları Araştırma Ve Yetiştirme Birimi, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

³ Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERIM), Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁴ Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul Teknik Üniversitesi, Maslak, İstanbul, Türkiye

⁵ Dr. Raşit Durusoy Kan Merkezi, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁶ Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

Giriş ve Amaç: Allojeneik kan transfüzyonu (AKT) hayat kurtarıcı olmakla birlikte alıcının immün sisteminde çeşitli değişikliklere yol açabilmekte ve bu durum transfüzyonla ilişkili immünmodülasyon (TRIM) olarak tanımlanmaktadır. TRIM, T hücre sayısı ve fonksiyonunda değişimler, Treg yanıtında artış, proliferasyonun baskılanması ve Th1/Th2 dengesinde kayma gibi mekanizmalarla klinik sonuçları etkileyebilmektedir. Ancak TRIM'in nedenleri hâlen net değildir. Bu çalışma, eritrosit süspansiyonu (ES) süpernatanı, depolama süresi, transfüze edilen miktar ve lökoreduksiyonun; immün kontrol noktaları üzerinde ki etkilerini değerlendirerek TRIM'in aydınlatılmasına katkı sunmayı amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada 10 gönüllü kan bağışçısından elde edilen eritrosit süspansiyonları (ES) iki eşit parçaya ayrıldı. Bir parça lökoreduksiyon uygulanmadan non-leukoreduced ES (NL-ES) olarak bırakıldı. Diğer parça 4-log lökosit filtresinden geçirilerek leukoreduced ES (LR-ES) elde edildi. 0., 21. ve 42. depolama günlerinde NL-ES ve LR-ES örneklerinden süpernatantlar ayrıştırıldı ve -80 °C'de saklandı. Tüm örnekler toplandıktan sonra, NL-ES ve LR-ES süpernatantları eşit hacimlerde alınarak 0., 21. ve 42. gün havuzları oluşturuldu. Allojeneik kan transfüzyonunu hücre kültürü ortamında taklit etmek amacıyla gönüllülerden mononükleer hücreler (MNH) izole edildi ve havuzlanan süpernatantla havuzlarıyla (kültürler için 1mL cRPMI içinde 1x10⁶ MNH için 12ul(x), 36ul(3x) ve 96ul(8x) süpernatant oranları kullanıldı) kültüre edildi. Allojeneik koşul için havuzlanmış süpernatantlar gönüllü MNH'leri ile 96 saat kültüre edildi. Kültür kuyucuklarından elde edilen örneklerde CD4+ ve CD8+ T hücreleri için NL-ES'lerin, LR-ES'lerin titrelerine ve depolama günlerine göre proliferasyon, LAG3, TIM3, TIGIT, CTLA4 ve PD1 düzeyleri üzerindeki etkileri ayrı ayrı değerlendirildi. CD4+ ve CD8+ T hücreleri ayrı analiz edildi. Proliferasyon deneyleri 5 sağlıklı gönüllü MNH'i ile, diğer parametreler ise 3 gönüllü ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Süpernatant maruziyeti, CD4 ve CD8 proliferasyonunu kontrol kuyucuklarına kıyasla anlamlı biçimde azalttı. Baskılanma özellikle CD8 proliferasyonu NL-ES'de, artan titre ve depolama süresinin uzaması (özellikle D21) ile daha belirginleşti. İnhibitör reseptörler açısından CD4+ T hücrelerinde LAG-3 ekspresyonu kontrol kuyucuğuna göre anlamlı bir şekilde düşük bulundu özellikle 3x konstrasyonunda süpernatanta maruz kalan hücrelerde LAG-3 düzeyinde anlamlı olarak düşme gözlemlendi. Hem NL-ES hem LR-ES'lerde CD4 ve CD8+ T hücrelerinde, 3x konstrasyonunda süpernatant maruziyeti ve 42.gün depolama süresinde TIM3 ekspresyonunda anlamlı olarak bir azalma görüldü. CD4+ hücrelerde LR-ES'lerde anlamlı bir şekilde CTLA4 ekspresyonu azalırken, CD8+ LR-ES'lerde anlamlı bir şekilde CTLA4 ekspresyonu artış gösterdi. Bu artışın doz ve depolama süresi ile ilişkili olduğu gözlemlendi. TIGIT ekspresyonunda CTLA4'e benzer olarak LR-ES grupta CD4+ hücrelerde anlamlı şekilde azalırken CD8+ hücrelerde artış gösterdi. PD-1 NL-ES ve LR-ES gruplarında CD4+ gruplarında anlamlı şekilde azalırken CD8+ hücre gruplarında artış görüldü.

Tartışma ve Sonuç: CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre proliferasyonlarında azalama CD8⁺ hücre gruplarında CTLA4, TIGIT ve PD-1 ekspresyonu artarken, CD4⁺ T hücrelerinde azalış gösteriyor olması allojeneik kan transfüzyonun es süpernatant aracılığıyla özellikle CD8⁺ T hücre gruplarında fonksiyonel bir yetersizliğe yol açtığını düşündürmektedir. Bu durum TRIM gelişmesindeki mekanizmalarından birisi olabilir.

Anahtar Kelimeler: TRIM, eritrosit süspansiyonu, T hücre, allojeneik

PB10 HIV-1 REZERVUAR HÜCRELERİ VE HÜCRESEL YAŞLANMA İLİŞKİSİNE YÖNELİK AKAN HÜCRE ÖLÇER İLE AYRIŞTIRMA PANELİ VALİDASYONU

Abdullah Demir¹, Furkan Aydın¹, Başak Aru¹, Arzu Kantürk², Mustafa Taner Yıldırım², Gülderen Yanıkkaya Demirel¹

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

² Prof. Dr. Cemil Taşcıoğlu Şehir Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

Giriş ve Amaç: İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV), tedavi edilmediği takdirde CD4⁺ T yardımcı hücrelerini hedef alarak edinilmiş immün yetmezlik sendromuna (AIDS) yol açan kronik bir viral enfeksiyondur. HIV-1 pozitif hastaların klinik seyri sırasında yaşlanma ile ilişkili çeşitli fenomenler gözlenmektedir. Antiretroviral tedavi (ART), yeni enfeksiyon döngülerini etkin bir şekilde baskılasa da HIV-1 rezervuar hücrelerindeki latent virüsü ortadan kaldıramaz. Bu çalışmanın amacı, optimize edilmiş çok renkli bir akan hücre ölçer paneli kullanarak HIV-1 rezervuar hücreleri ile hücresel yaşlanma arasındaki ilişkiyi araştırmak ve yaşlanmış CD4⁺, CD8⁺ ve CD32a⁺ HIV rezervuar hücrelerinin ayrıştırılmasını sağlamaktır.

Gereç ve Yöntemler: Panel optimizasyonu CytoFLEX SRT (Beckman Coulter, ABD) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Üç tüpte CD2-PB, CD3-ECD, CD4-FITC, CD8-PC7, CD16-APC750, CD20-PB, CD25-PE, CD28-APC700, CD30-PC5.5, CD31-APC700, CD32α-PE, CD38-V610, CD44-APC700, CD45-KO, CD45RA-PC5.5, CD45RO-PC5.5, CD56-PE, CD57-PB, CD62L-APC750 antikorları kullanılarak periferik kan örneklerinde immünofenotipik analiz yapılmıştır. Antikor titrasyonu, test başına beş farklı konsantrasyonda seri dilüsyonlar kullanılarak gerçekleştirildi (5,0 µl [üretici önerisi], 2,5 µl, 1,25 µl, 0,625 µl ve 0,3125 µl). Her bir antikor için ortalama floresan intensitesi (MFI) ve boyama indeksi (SI) hesaplandı. Spesifisite, duyarlılık, kantitasyon limiti (LoQ), kan yaşı testi ve operatörler arası varyasyon parametreleri değerlendirildi. Farklı hücre konsantrasyonları için hücre ayrıştırma (sorting) protokolleri valide edildi.

Bulgular: Optimize edilen panel, önceden tanımlanan eşik değeri (≤%40) içerisinde etkin kompanzasyon sağladı. Yüksek ekspresyon gösteren belirteçlere ait antikorlar düşük titrasyonlarda optimal sonuç verirken, nadir immünofenotipik alt popülasyonları hedefleyen antikorlar için üretici tarafından önerilenden daha yüksek konsantrasyonlar gerekli oldu. Hücre ayrıştırma verimi %95'in üzerinde elde edildi.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışmada geliştirilen ve optimize edilen çok parametrelili akan hücre ölçer paneli, HIV-1 rezervuar hücrelerinin yaşlanma ile ilişkili fenotipik özelliklerinin güvenilir biçimde tanımlanmasını sağlamaktadır. Panel, rezervuar alt popülasyonlarının ayrıştırılmasına ve bu hücrelerin yaşlanma durumlarının yüksek doğrulukla belirlenmesine olanak sunmaktadır. Klinik verilerle entegre edildiğinde, elde edilen bulguların hastalık takibi ve tedavi yönetimine yol gösterme potansiyeli olabilir. Bu yönüyle çalışma, temel immünolojik mekanizmalar ile klinik uygulamalar arasında translasyonel bir çerçeve sunmaktadır.

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 1001 – Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı (Proje No: 223S364) tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: HIV-1, HIV-1 rezervuar, hücre yaşlanması, hücre ayrıştırma

PB11 HEMOFAGOSİTİK LENFOHİSTİOSİTOZ ŞÜPHESİ BULUNAN OLGULARDA CD107A DÜZEYİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Anıl Işık¹, Zehra Genç², Elif Soyak Aytekin², Saliha Esenboğa², Deniz Çağdaş²

¹ Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı, İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara

² Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Çocuk İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: Hemofagositik lenfositiositoz (HLH), immün yanıtın kontrolsüz ve aşırı aktivasyonu sonucu gelişen, yaşamı tehdit eden bir hiperinflamatuvar sendromdur. HLH'nin farklı genetik formları lenfositlerde vezikül içeriğindeki sitotoksik enzim eksikliği, vezikül taşınmasındaki sorunlar ile ilişkilidir. HLH-2004 tanı kriterleri tanıda kullanılsa da, kriterlerin tamamının ilk anda hastalarda bulunmaması tanıyı zorlaştırmaktadır. HLH düşünülen hastalarda erken dönemde veziküler transportun göstergesi olarak CD107a ekspresyonunun çalışılması; CD8+ ve NK hücrelerinin veziküler transport farklılıklarının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamızda, HLH şüphesi olan ve HLH genetik tanıları bir hastanın ve sağlıklı kontrollerin periferik kanlarındaki lenfositlerde uyarım altında CD107a molekülünün ifadesi değerlendirilmiştir. Periferik kandan hücre izolasyonu gerçekleştirildikten sonra hücreler 4 saat PMA/I ve IL-2 aracılığıyla uyarılarak kültür yapılarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda oluşan CD107a molekül düzeyinin akım sitometri cihazı ile görüntülenmesi cihazda ilgili kapılamalar yaptıktan sonra gerçekleştirilmiştir. Bu ön çalışma kapsamında 4 hasta 3 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edilmiştir.

Bulgular: Lenfositler içerisindeki CD107a yüzdesi değerlendirildiğinde uyarım yapılmamış koşula göre uyarım yapılan koşullarda hastalarda sağlıklı kontrollere göre daha düşük düzeyde CD107a ekspresyonu (Kontrol: 34.71; Hasta: %17.3) görülürken; nadir görülen bir varyantta, farklı hücre alt tiplerinde CD107a ekspresyonu değerlendirilmiştir. RhoG defekti bulunan hastada, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CD8+ sitotoksik T lenfositlerde CD107a ekspresyonunda belirgin bir farklılık saptanmamıştır. Buna karşın NK hücrelerinde, uyarılmış koşullarda elde edilen CD107a düzeylerinin, sağlıklı kontrol grubunun uyarılmış koşullarına kıyasla yaklaşık %50 oranında az olduğu gözlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Sonuç olarak kliniğe başvurusu sonucunda HLH şüphesi sonucu yapılan tetkiklerde tanı almış veya henüz tanı almamış hasta popülasyonu değerlendirildiğinde lenfosit uyarımına bağlı olarak CD107a yüzdesinde sağlıklı kontrollere göre anlamlı ölçüde düşüklük belirlenmiştir. RhoG varyantında yapılan farklı lenfositlerin değerlendirilmesi sonucunda ise NK hücrelerde oluşan yanıtın sağlıklı kontrole göre düşük olduğunu ancak sitotoksik T lenfosit yanıtında ise bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Bu durum, farklı varyantlara sahip hastaların hücresel boyutta değerlendirmesinin fayda sağlayacağını, farklı mutasyonların hücre alt tiplerinde değişen yanıt kusurlarına neden olabileceğini göstermektedir. Bu bir ön çalışma bulgusu olup ilerleyen basamaklarda daha detaylı çalışmalar yapıp ek bulgu sağlanması hedeflenmiştir. Bu çalışma, hastanın izleminin ve ilerleyen tedavi sürecinin yönlendirilmesi açısından önemli olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Hemofagositik lenfositiositoz

PB12 KALSİYUM AKIŞ KİNETİĞİNİN AKIM SİTOMETRİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Ayşe Dölen¹, Rabia Esmâ Kara¹, Kevser Yılmaz¹, İsmail Yaz¹, Begüm Çiçek¹, Deniz İlğün Gürel², Büşra Hotaman², Ceren Üstün², Elif Soyak Aytekin², Saliha Esenboğa², Deniz Çağdaş Ayvaz², Sevil Oskay Halaçlı¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler Ana Bilim Dalı, Ankara

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

Giriş ve Amaç: Hücre içi kalsiyum (Ca^{2+}) sinyalleme, immün hücre aktivasyonu ve sinyal iletiminde temel rol oynayan kritik bir mekanizmadır. Bu süreçte görev alan genlerde meydana gelen patojenik varyantlar, kalsiyum akış yanıtını farklı şekillerde etkileyerek immün hücre fonksiyonlarında değişikliklere yol açabilir. Bununla birlikte, farklı genetik defektlerin kalsiyum sinyal kinetiği üzerindeki fonksiyonel etkileri her zaman öngörülebilir değildir. Bu çalışmada, farklı genetik varyantlara sahip hastalarda kalsiyum akış yanıtının akım sitometrisi ile zamana bağlı olarak değerlendirilmesi ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Hastalardan ve sağlıklı kontrollerden elde edilen hücrelerde kalsiyum akış yanıtı akım sitometrisi kullanılarak değerlendirildi. Hücreler PMA ve iyonominin ile uyarıldı ve zamana bağlı kalsiyum akış kinetiği incelendi. Kalsiyum yanıtı, farklı zaman noktalarında ölçülen median floresan intensitesi (MFI) değerleri üzerinden analiz edilerek hasta grupları ile sağlıklı kontroller arasında karşılaştırıldı.

Bulgular: Zamana bağlı analizler sonucunda, farklı genetik varyantlara sahip hastalarda kalsiyum akış yanıtının heterojen paternler gösterdiği gözlemlendi. Bazı genetik varyantlarda (PLCg2) gain-of-function benzeri yanıt paternleri izlenmiş ve bu hastalarda kalsiyum akış yanıtının sağlıklı kontrollere kıyasla artmış olduğu saptanmıştır. Buna karşılık, STIM1 geninde loss-of-function mutasyonu taşıyan hastalarda, uyarım sonrası kalsiyum akış yanıtının belirgin şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Bazı genetik varyantlarda ise kalsiyum akış kinetiğinin sağlıklı kontroller ile benzer olduğu görülmüştür.

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen bulgular, farklı genetik defektlerin immün hücrelerde kalsiyum sinyal iletimini farklı şekillerde etkileyebileceğini göstermektedir. Gain-of-function benzeri varyantlarda artmış kalsiyum akış yanıtı gözlenirken, STIM1 loss-of-function mutasyonlarında belirgin azalma saptanmıştır. Kalsiyum akışının zamana bağlı kinetik değerlendirilmesi, genetik varyantların fonksiyonel etkilerinin ortaya konulmasında önemli bir yaklaşım sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Akım sitometrisi, kalsiyum sinyalleme, PLCg2, STIM1,

PB13 ÖZGÜN SALİSİLİK ASİT TÜREVLERİNİN GASTROİNTESTİNAL SİSTEM KANSERLERİ HÜCRE HATLARINDA ANTI-KANSER ETKİNLİĞİNİN IN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

Başak Aru¹, Tuğçe Özyazıcı², Ayşe Nur Çaldıran³, Meriç Köksal Akkoç⁴, Gülderen Yanikkaya Demirel¹

¹ Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

² Yeditepe Üniversitesi, Hamidiye Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul

³ Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul; Yeditepe Üniversitesi, Fen Bilimleri, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, İstanbul

⁴ Yeditepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul

Giriş ve Amaç: Gastrointestinal sistem kaynaklı maligniteler özelinde değerlendirildiğinde, literatürde non-steroidal anti-inflamatuar ilaçların (NSAİİ) hem karsinojenik etki gösterdikleri hem de kanser hücrelerinde apoptozu indükleyerek antiproliferatif ve antitümöral aktivite sergiledikleri bilinmektedir^{1,2}. Daha önce ekibimizce salisilik asit türevleri 5e, 4-OH 5e, 5h ve 4-OH 5h bileşiklerinin anti-inflamatuar etkileri değerlendirilmişti. Güncel çalışmamızda ise bileşiklerin mide (AGC ve HGC27), karaciğer (HEPG2 ve HEP3B), pankreas (PANC1 ve MIA-PaCa-2) ve kolorektal kanser (HCT116 ve SW480) hücre hatlarında anti-kanser etkinliklerini değerlendirmek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Bileşiklerin IC50 değerleri MTS yöntemi ile değerlendirilmiş, pozitif kontrol olarak ticari NSAİİ sülindak kullanılmıştır. Test edilen tüm hücre hatlarında en yüksek etkinliğin 4-OH 5h bileşiğinde izlenmesi sebebiyle çalışmalar ilgili bileşik ile devam etmiştir. Canlılık, apoptoz ve nekroz, Annexin V/Propidyum İyodid boyaması ile, hücre içi reaktif oksijen türevleri (ROS) birikimi ise dihidrorodamin123 (DHR123) boyaması ile, akan hücre ölçeği kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Test edilen dört bileşik arasında 4-OH 5h bileşiği, 62.1-110.3 µM konsantrasyon aralığında, ticari NSAİİ sülindak ile kıyaslanabilir (66.3-187 µM) IC50 değerleri sağlamıştır. 4-OH 5h, çalışmamızda kullanılan tüm hücre hatlarında canlılıkta anlamlı azalma sağlarken apoptozu tetiklerken hücre içi ROS birikiminin değerlendirilmesinde, PANC1 ve HEP3B hücreleri hariç tüm hücre hatlarında anlamlı ROS artışına yol açmıştır.

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen bulgular, 4-OH 5h bileşiğinin gastrointestinal sistem kanserlerinde apoptozun indüksiyonu ve oksidatif stres artışı başta olmak üzere çok yönlü mekanizmalar aracılığıyla anti-kanser etkinlik sağlama potansiyelini ortaya koymaktadır. Bu bağlamda bileşiğin sülindak ile kıyaslanabilir etkinlik profili, 4-OH 5h'nin yeni bir NSAİİ türevi ajan olarak onkoloji alanındaki potansiyelini destekler niteliktedir. Gelecek çalışmalarımız, bileşiğin ilgili hücre hatlarındaki inflammatuar yanıtlara etkisi ve piroptoz üzerine etkinliğinin değerlendirilmesini kapsamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Salisilik asit türevleri, non-steroidal antiinflammatuar ilaçlar, gastrointestinal kanser

PB14 TRİPLE-NEGATİF MEME KANSERİNDE MIF/CD74 EKSENİNİN TÜMÖR DERECEİ İLE İLİŞKİSİ VE İMMÜN PROFİL ANALİZİ

Ayşenur Kökoğlu¹, Esin Çetin¹, Neslihan Cabioğlu³, Baran Mollavelioğlu³, Selman Emiroğlu³, Semen Önder⁴, Aysel Bayram⁴, Mahmut Müslümanoğlu³, Sühendan Ekmekçioğlu⁵, Günnur Deniz¹

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

² İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

³ İstanbul Üniversitesi, Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü, İstanbul Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴ İstanbul Üniversitesi, Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁵ Teksas Üniversitesi MD Anderson Kanser Merkezi, Kanser Tıbbi Araştırma Bölümü, Melanom Medikal Onkoloji Anabilim Dalı, Houston, ABD

Giriş ve Amaç: Triple-negatif meme kanseri (TNBC), sınırlı tedavi seçenekleri ve olumsuz klinik seyri nedeniyle meme kanserinin en agresif alt tiplerinden biri olarak kabul edilmektedir. IFN- γ 'nın CD74 ekspresyonunu artırarak MIF/CD74/CXCR eksenini üzerinden tümör hücre sağkalımını destekleyebildiği ve immün kontrol noktası düzenlenmesinde rol oynayabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada, TNBC hastalarından elde edilen tümör infiltrate lenfositlerde (TIL) ve periferik kan mononükleer hücrelerinde (PKMH) IFN- γ reseptörü ve immün kontrol noktası reseptörlerinin ekspresyonu değerlendirilmiştir. Ayrıca tümör dokularında CD74, MIF ve HLA-DR ekspresyonları grade 2-3 tümörler arasında karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: TNBC tanılı hastalardan (n=12) tümör dokusu ve periferik kan örnekleri alınmıştır. Tümör dokularından TIL, periferik kandan ise PKMH izole edilmiştir. Elde edilen hücreler; CD3, CD4, CD8, CD19, CD56, PD-1, CTLA-4, LAG-3, TIGIT, TIM-3, IFN- γ R ve CD74'e özgü floresan işaretli monoklonal antikolar ile boyanmıştır. İmmün kontrol noktası belirteçleri ile IFN- γ R ekspresyon profilleri, spektral akan hücre ölçer yöntemi kullanılarak çok parametrelili olarak analiz edilmiştir. Ayrıca tümör doku örnekleri, yüksek boyutlu tek hücre analizine olanak sağlayan sitometri-of-flight time (CyTOF) teknolojisi ile incelenmek üzere MD Anderson Kanser Merkezi'ne gönderilmiştir. Bu kapsamda dokularda CD45, CD3, CD4, CD8, CD20, CD68, CD86, CD163, CD206, Arg1, CD74, MIF ve CD44 belirteçleri analiz edilmiştir. CyTOF verileri, hastalık derecesine göre (grade 2 ve grade 3) hasta grupları kendi içinde karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Ek olarak, immünohistokimya boyamaları ile CD74, MIF ve HLA-DR moleküllerinin doku düzeyindeki ekspresyonları incelenmiş ve bu moleküllerin ekspresyon profilleri grade 2 ve grade 3 tümör grupları arasında karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Akan hücre ölçer analizleri değerlendirildiğinde, IFN- γ R1 ekspresyonunun, NK hücreleri ve T hücrelerinde artmış olduğu, bu artışın özellikle CD4⁺ T, CD8⁺ T ve CD56dimCD16⁺ NK hücre alt popülasyonlarında daha belirgin olduğu saptanmıştır. İmmün kontrol noktası reseptörlerinden TIGIT ve PD-1, TIL kökenli T hücreleri ve CD56dimCD16⁺ NK hücrelerinde, PKMH'lere kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek eksprese edildiği saptanmıştır. Ayrıca CD74 ekspresyonunun TIL kökenli CD56dimCD16⁺ NK hücrelerinde anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir. CyTOF analizleri ve elde edilen görüntüleme verileri, grade 3 tümör grubunda MIF ve CD45 ekspresyonunun grade 2 grubuna kıyasla belirgin şekilde daha yüksek olduğunu göstermiştir. İmmünohistokimya sonuçlarına göre grade 3 grubunda CD74, MIF ve CD44 ekspresyon düzeyleri grade 2 grubuna göre daha yüksek olmakla birlikte, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. İmmünohistokimya analizlerinde, tümör örnekleri TIL skoruna göre %10'un altında ve %10'un üzerinde olacak şekilde gruplandırıldığında, TIL skoru %10'un üzerinde olan hasta grubunda, CD74 ve CD44 ekspresyon düzeylerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Tartışma ve Sonuç: Bulgularımız, TNBC hastalarında MIF ile ilişkili yolların özellikle yüksek dereceli tümörlerde daha belirgin olabileceğini göstermektedir. Grade 3 grubunda MIF ve CD45 ekspresyonunun artmış olması ve immünohistokimyasal analizlerde CD74, MIF ve CD44 düzeylerinin daha yüksek gözlenmesi, MIF/CD74 ekseninin tümör progresyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. TIL kökenli hücrelerde artmış CD74 ekspresyonu, bu eksenin tümör mikroçevresinde de aktif olduğunu desteklemektedir. Ayrıca TIL’lerde PD-1 ve TIGIT ekspresyonunun yüksek bulunması, MIF ile ilişkili sinyal ağlarının immün kontrol noktası düzenlenmesiyle bağlantılı olabileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP-TSA-2023-39677 ve TSA-2022-39189) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Üçlü negatif meme kanseri, makrofaj göçünü engelleyici faktör (MIF), CD74

PB15 PD-1/PD-L1 YOLAĞININ MODÜLASYONU ALTINDA MİKROGLİAL DEMİR YANITI: İNFLAMASYON VE MİTOKONDRIYAL KALİTE KONTROLÜN İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

Ayşe Nur Çaldıran¹, Başak Aru²

¹ İmmünoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi; Biyoteknoloji Doktora Programı, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yeditepe Üniversitesi

² İmmünoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi

Giriş ve Amaç: Merkezi sinir sisteminde mikrogliyal fonksiyonların sürdürülmesi için demir homeostazı kritik önem taşımaktadır. Bu çalışmada, ferröz (Fe^{2+}) ve ferrik (Fe^{3+}) demirin mikrogliyal inflamasyon, demir metabolizması ve mitokondriyal kalite kontrol mekanizmaları üzerindeki farklı etkilerini araştırmak amacıyla insan HMC3 mikrogliya hücre hattında PD-1 ile kombine Fe^{2+} veya Fe^{3+} uygulamalarının PD-L1 ekspresyonu ve PINK1–PARKIN aracılı mitofaji üzerindeki etkilerinin aydınlatılmasına yönelik ön veriler elde edilmesi hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntemler: HMC3 hücreleri, Fe^{2+} veya Fe^{3+} ile eşzamanlı olarak PD-1 varlığında veya yokluğunda kültürlenmiştir. Reaktif oksijen türevlerinin düzeyleri dihidrorodamin123 (DHR123) testi ile, otofaji ve mitofaji ilişkili proteinler aktif LC3B, PINK1 ve PARKIN ile PD-L1 ifadeleri akan hücre ölçer ile protein seviyesinde, pro-inflamatuar sitokinler IL-1 β , IL-6 ve IL-18 ile demir metabolizmasıyla ilişkili genler DMT1, FPN1 ve TRPML1 ifade seviyeleri ise gen düzeyinde gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR) analiz edilmiştir.

Bulgular: Fe^{2+} ve Fe^{3+} uygulamaları, sırası ile IL-6 ve IL-1 β ifadelerinde artış ile karakterize pro-inflamatuar yanıt oluşturmuştur. PD-1 ile eş zamanlı uygulama, ilgili gruplarda bu sitokinlerin ekspresyonunu azaltarak immün-düzenleyici bir etki göstermiştir. Demir homeostazı bağlamında değerlendirildiğinde, Fe^{2+} 'nin DMT1 ifadesini baskılaması adaptif demir alım düzenlemesine işaret ederken; Fe^{3+} 'ün FPN1 ve TRPML1 ifadelerini artırması, demirin hücre dışına atılımı ve lizozomal taşınma ile uyumlu bir profil ortaya koymaktadır. Fonksiyonel düzeyde Fe^{2+} uygulaması, PINK1–PARKIN yolağının aktivasyonu, MFN2 ifadesinde azalma ve aktif LC3B+ hücre popülasyonlarında düşüş ile karakterize bir mitofaji indüksiyonuna yol açmıştır. Fe^{3+} uygulamasında ise MFN2 ve aktif LC3B düzeylerindeki artış, mitokondri bütünlüğünün korunumunu ve LC3-aracılı otofajiye işaret etmektedir. Eşzamanlı PD-1 uygulaması, Fe^{2+} grubunda PINK1 ve PARKIN, Fe^{3+} grubunda ise yalnızca PINK1 düzeylerinde anlamlı azalmaya yol açmış olup bu bulgu, PD-1'in demir aracılı mitokondriyal stres ve mitofajideki düzenleyici rolünü desteklemektedir. Ayrıca Fe^{3+} , tek başına ve PD-1 ile kombine uygulandığında PD-L1+ HMC3 popülasyonunu anlamlı ölçüde artırmıştır.

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen veriler, Fe^{2+} uygulamasının inflamasyon ve buna bağlı olarak mitofaji aktivasyonunu tetiklerken, Fe^{3+} uygulamasının demirin hücre dışına atılımı ve lizozom merkezli adaptif yanıtları destekleyerek mitokondriyal ağ bütünlüğünü koruduğunu göstermektedir. Demirin redoks durumu ile PD-1/PD-L1 yolağı arasındaki etkileşim, mikrogliyal metabolizmada düzenleyici bir eksene işaret etmekte olup, nöroinflamatuvar ve nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinde potansiyel önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Mikrogliya, demir homeostazı, mitofaji

PB16 4T1 UYARIMI İLE İNDÜKLENEN CD4⁺ TRM-BENZERİ HAFIZA ÖNCÜL HÜCRELERİN ANTİTÜMÖR FONKSİYONU

Batuhan Yağcıoğlu¹, Onur Eteü¹, Haluk Barbaros Oral¹, Diğdem Yöyen Ermiş¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa

Giriş ve Amaç: Antitümör immün yanıtlar tanımlanırken çoğunlukla hücre alt tipleri üzerinden tanımlama yapılmakta olup, hücrelerin dinamik farklılaşma durumlarının fonksiyonel çıktılar üzerindeki rolü yeterince aydınlatılamamıştır. Hafıza T hücreler, çevre koşulları dinamik olarak hayat boyu şekillenen hücrelerdir. Hayat boyu bireysel maruz kalınan antijenlere göre kişilerin oluşturduğu hafıza T hücre havuzu da farklılık göstermektedir. Bu çalışmada antijen maruziyet çeşitliliği şekillenmiş farklı hafıza T hücrelerin üçlü negatif meme kanseri (TNBC) modelinde etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, temiz (steril) ve kirli kafes koşullarında yetiştirilen farelerde gelişen T hücre alt grupları, tümör gelişimi ve antitümör hafıza T hücre yanıtları karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada 6–8 haftalık BALB/c fareler kullanılmış; steril koşullarda yetiştirilenler temiz kafes (TK), konvansiyonel koşullarda yetiştirilenler kirli kafes (KK) olarak tanımlanmıştır. Bu koşullarda gelişen bazal ve meme kanseri ilişkili hafıza T hücreleri değerlendirilmiş, TNBC modeli için 4T1 sinjenik meme kanseri modeli kullanılmıştır. Hafıza T hücreleri in vitro farklılaşma deneyleri TK ve KK'daki kontrol veya meme kanserli hayvanlardan elde edilen splenositler ile gerçekleştirilmiştir. İn vitro farklılaşma koşullarında kontrol, 4T1 sekrete faktörler (conditioned medium, CM) (137 µg/mL) ve 4T1 hücreleri olmak üzere üç koşul; 8, 16 ve 24 gün olarak zaman aralığı denenmiştir. Farklı hafıza T hücreleri saflaştırılarak 4T1 hücreleri ile kültür edilmiştir (4gün). Bu deney ile ilgili hücrelerin in vitro killing kapasiteleri değerlendirilmiştir (mikroskopi ve flow sitometri). İn vivo anti-tümör etkinlik farklı kompatmanlardaki hafıza T hücre fenotipi (akciğer, dalak, tümör) ve tümör boyut ilişkisi değerlendirilmiştir. Hafıza T hücrelerinin fenotipini belirlemek için; anti-fare CD3, CD4, CD8, CD44, CD45.2, CD62L, CD69, CD103, CXCR3, CCR7 ve KLRG1 monoklonal antikorları kullanılarak akım sitometri analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: İn vitro kültürlerin 8. gününde, özellikle temiz kafes koşullarında yetiştirilen farelerin 4T1 CM grubunda, klasik TRM fenotipinden ayrılan ve KLRG1(düşük)CD62L(yüksek) fenotipi ile karakterize CD4⁺T hücre popülasyonunun belirgin şekilde arttığı (%58,1) saptanmıştır. Bu popülasyonun 16. ve 24. günlerde progresif olarak azalması, söz konusu hücrelerin stabil bir hafıza alt grubundan ziyade geçici bir “hafıza öncül benzeri” farklılaşma evresini temsil ettiğini düşündürmektedir. İn vitro killing deneylerinde, bu özgün hücre popülasyonunun 4T1 tümör hücrelerini %50–70 aralığında (ortalama ~%60) öldürdüğü, buna karşın TCM ve TEM benzeri olarak saflaştırılan alt-grupların anlamlı antitümör aktivite sergilemediği ortaya konmuştur. 4T1 CM gruplarda özellikle TK koşullarında yetiştirilen farelerde (TD), KLRG1(düşük)CD62L(yüksek) fenotipindeki hafıza CD4⁺öncül benzeri hücre popülasyonunun akciğer, dalak ve tümör/meme dokularında belirgin şekilde arttığı saptanmıştır. Bu artış, kontrol gruplarında gözlenen düşük bazal seviyelere kıyasla anlamlı olup, en belirgin genişleme tümör/meme dokusunda izlenmiştir. Buna karşılık, 4T1 tümörünün direk enjekte edildiği koşullarda bu popülasyonun indüksiyonunun sınırlı kaldığı ve bazı dokularda baskılandığı gözlenmiştir. Meme kanserinin cinsiyet bağımlı etkisi göz önünde bulundurularak erkek farelerdeki bazal seviye hafıza T hücreleri de değernedilmiş olup özellikle kirli kafeste yetiştirilmiş erkek fare gruplarında bu hücre popülasyon indüksiyonunun belirgin şekilde zayıfladığı görülmüştür.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, 4T1CM uyarım sonucu, klasik TRM fenotipinden farklı KLRG1(düşük)CD62L(yüksek) profiline sahip, yüksek antitümör aktivite gösteren CD4⁺hafıza öncül benzeri hücrelerin üretilebileceğini göstermektedir. Bu hücrelerin in vivo ortamda sınırlı gözlenmesine rağmen güçlü sitotoksik etkileri, adoptif hücre transferi için potansiyel bir immünoterapötik aday olduklarını düşündürmektedir. Elde edilen bulgular, klasik TRM tanımlarının ötesinde fonksiyonel olarak etkili ancak fenotipik olarak farklılaşmış CD4⁺hafıza T hücre alt gruplarının varlığını desteklemekte ve

tümör mikroçevresinin yanı sıra çevresel faktörler ve cinsiyetin immün sistemin programlanması üzerindeki belirleyici rolünü vurgulamaktadır.

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinasyon Ofisi tarafından TAY-2022-601 numaralı hibe kapsamında desteklenmiştir. Yazarlar, destekleri için BUU BAP Birimine teşekkür eder.

Anahtar Kelimeler: Hafıza T hücresi, üçlü negatif meme kanseri, antitümör immünite

PB17 ROMATOİD ARTRİTTE TH17.1 ARTIŞI VE TEDAVİ YANITI İLE İLİŞKİLİ T HÜCRE PROFİLİ

Burak Koltas¹, Osman Cüre², Merve Çebi³

¹ Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Rize

² Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Rize

³ Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Rize

Giriş ve Amaç: Romatoid artrit (RA), kronik inflamasyon ve otoimmün yanıtlarla eklemlerde kalıcı hasara yol açabilen sistemik bir hastalıktır. Hastalığın tedavisinde DMARD ve biyolojik ajanlar yaygın olarak kullanılmakta, ancak bazı hastalarda tedaviye yanıt alınamaması veya direnç gelişmesi klinik yönetimi zorlaştırmaktadır. Tedaviye yanıt ve direnç mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılmamış olup, hastalığa özgü immün belirteçlerin tanımlanması önem arz etmektedir. Yardımcı T hücre alt popülasyonları, özellikle yardımcı foliküler T (Tfh) ve yardımcı periferik T (Tph) hücreleri, B hücre aktivasyonunu destekleyerek otoantikor üretiminde, Th17 hücreleri ise RA'da kronik inflamasyonun sürmesi ve eklem hasarında önemli rol oynamaktadır. Ancak RA'da hangi T hücre alt gruplarının tedavi direnci ile ilişkili olduğu net olarak bilinmemektedir. Bu çalışma, RA hastalarında T hücre alt popülasyonları ve farklılaşma/hafıza fenotiplerinin dağılımını sistematik olarak değerlendirmeyi, ayrıca bu hücrelerin tedavi yanıtı ve direnç gelişimindeki olası rollerini ortaya koymayı hedeflemektedir.

Gereç ve Yöntemler: Çalışma grubu, ACPA pozitif romatoid artrit (RA) hastalarından oluşmaktadır ve farklı tedavi yanıtı ve direnç profillerine sahip alt kohortları kapsamaktadır. Bu kapsamda yeni tanı almış ve tedavi uygulanmamış hastalar (n=20), DMARD tedavisine yanıt veren (n=20) ve direnç gösteren hastalar (n=20) ile TNF inhibitörü tedavisine yanıt veren (n=19) ve direnç gösteren (n=10) hastalar dahil edilmiştir. Dirençli hasta örnekleri, bir üst tedavi basamağına geçilmeden önce toplanmıştır. Ayrıca yaş ve cinsiyet açısından uyumlu sağlıklı kontroller (n=28) karşılaştırmalı analizler için çalışmaya dahil edilmiştir. Periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH), Ficoll yoğunluk gradiyent santrifüjü ile izole edilmiştir. T hücre alt popülasyonları yüzey belirteçlerle işaretlenerek akım sitometrisi ile analiz edilmiştir. Değerlendirilen hücreler, Th1, Th2, Th17, Th17.1, Tfh ve Tph alt popülasyonlarını kapsamaktadır. T hücreleri ayrıca farklılaşma ve hafıza fenotiplerine göre naif, merkezi hafıza, efektör hafıza ve terminal efektör hafıza (TEMRA) hücreleri olarak sınıflandırılmıştır. Hastalık aktivitesi Clinical Disease Activity Index (CDAI) ve Simplified Disease Activity Index (SDAI) skorları ile değerlendirilmiş, gruplar arası farklar Kruskal-Wallis testi ile, T hücre alt popülasyonları ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkiler ise Spearman korelasyonu ile analiz edilmiş ve p<0,05 anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Yeni tanı RA hastalarında Tfh, Tph, Th17 ve Th17.1 hücreleri sağlıklı kontrollere göre artış gösterirken, Th1 hücreleri azalmıştı. DMARD ve TNF inhibitörlerine yanıt veren hastalarda Tfh, Tph, Th17 ve Th17.1 frekansları dirençli hastalara kıyasla daha düşüktü; tedavilere dirençli gruplarda ise özellikle Th17 ve Th17.1 hücrelerinin yüksekliği ve Th1 hücrelerinin düşüklüğü ön plana çıkmaktaydı. RA hastalarının Tfh ve Tph hücrelerinin de büyük çoğunluğunun Th17 fenotipinde olduğu gözlemlendi. T hücreleri farklılaşma ve hafıza fenotiplerine göre değerlendirildiğinde, RA hastalarında sadece TEMRA hücrelerinin yüksekliği görüldü. Tedaviler bu hücrelerin frekansını düşürse de tedavi yanıtı ve dirençli hasta gruplarının arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Hastalık aktivitesi CDAI ve SDAI skorları ile değerlendirildiğinde ise T hücre alt popülasyonları arasında yalnızca Tfh hücreleri pozitif korelasyon görüldü.

Tartışma ve Sonuç: Yeni tanı ve tedavi dirençli RA hastalarında Th1 hücrelerinin düşük, Th17 ve Th17.1 hücrelerinin yüksek olması, Th1'den Th17 yönüne kaymış bir T hücre plastisitesine işaret etmektedir; tedaviye yanıt veren hastalarda ise bu dengenin tersine dönmesi, plastisitenin tedavi ile modüle edilebilir olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, Th1/Th17 dengesini belirleyen mekanizmaların aydınlatılmasının, tedavi yanıtının öngörülmesi ve yeni hedeflerin belirlenmesi açısından önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışma, R.T.E.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje ID: 2201).

Anahtar Kelimeler: Romatoid-artrit, Th17.1, Tfh, Tph, tedavi direnci

PB18 CPG VE CPG/TAT ADJUVANLI İNTRANAZAL AŞILAMA SONRASI DOKUDA YERLEŞİK HAFIZA T HÜCRELERİ VE ANTİKOR YANITI

Buse Duru Aras², Dicle Çalışkan², İrem Evcili¹, Muzaffer Yıldırım¹, Müge Özkan¹, Bilgi Güngör², İhsan Gürsel¹, Mayda Gürsel¹

¹ İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye

² Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir, Türkiye

Giriş ve Amaç: Solunum yolu enfeksiyonları için geliştirilen mevcut aşılarda çoğu güçlü sistemik bağışıklık oluştursa da patojenlerin giriş noktası olan mukozal yüzeylerde yeterli lokal koruma sağlayamamaktadır. İntranazal aşılar, enfeksiyon başlangıç noktasında hem sistemik hem de lokal immün yanıt indüklemeye potansiyeline sahip bir strateji olarak öne çıkmaktadır (Lavelle & Ward, 2022). CpG oligodeoksitripleotidler (CpG ODN), TLR9 aracılığıyla güçlü Th1 ve CD8+ T hücre yanıtını indükleyen adjuvanlardır. CpG ODN'in Tat peptidi ile oluşturduğu Nano Halkalar (NR) tip I interferon yanıtını destekleyerek, antijene özgü immün yanıtı güçlendiren stabil komplekslerdir (Gungor et al., 2014). Bu çalışmada CpG ODN ve Nano Halka adjuvanlı intranazal aşılar sonrası gelişen sistemik ve mukozal humoral yanıtların uzun dönem kalıcılığı analiz edilmiştir. Ayrıca enfeksiyonun tekrarı durumunda hızlı ve lokal koruma sağlayan dokuda yerleşik hafıza (DYH) CD8+ T hücrelerinin solunum yollarındaki indüksiyonu ve sürekliliği değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntemler: Naif OT-I CD8+ T hücreleri konjenik alıcı farelere transfer edilmiş ve fareler OVA, OVA+CpG ODN veya OVA+NR formülasyonu ile intranazal prime-boost şeklinde immünize edilmiştir. OVA-spesifik antikor yanıtları serum, bronkoalveolar lavaj (BAL), nazal lavajdan ELISA ile değerlendirilmiştir. Akciğerde ve dalakta bulunan OT-I CD8+ T hücreleri ve DYH fenotipi akan hücre ölçer ile analiz edilmiştir. Aşı ile oluşan yanıtın kalıcılığı bir yıl boyunca serum antikor seviyeleri izlenerek takip edilmiştir.

Bulgular: Her iki adjuvan formülasyonu, yalnızca OVA uygulamasına kıyasla güçlü sistemik IgG1 ve IgG2c yanıtı oluşturmuştur. Serum antikor seviyeleri zaman içinde azalmış olmakla birlikte, antijene özgü antikor yanıtı bir yıl sonunda dahi tespit edilebilir düzeyde devam etmiştir. CpG ODN adjuvanı ile immünize edilen grupta yüksek antikor titrelerinin uzun süre korunduğu gözlemlenmiştir. İmmünizasyondan 120 gün sonra BAL ve nazal lavaj örneklerinde antijene özgü IgG ve IgA titreleri açısından iki adjuvan grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Hücresel yanıtlara değerlendirildiğinde, 120. gün sonunda CpG ODN ile immünize edilen farelerin dalak ve akciğerlerinde diğer gruplara kıyasla daha yüksek oranda OT-I hücresi tespit edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç: CpG bazlı intranazal aşılar güçlü ve uzun süreli sistemik ve lokal humoral yanıt oluştururken, CpG ODN adjuvanı hafıza hücre oluşumu açısından belirgin bir avantaj sağlamaktadır. Bu bulgular, solunum yolu patojenlerine yönelik mukozal aşı ve adjuvan geliştirme çalışmalarında yeni stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Mukozal immünite, dokuda yerleşik hafıza T hücresi, aşı adjuvanı, CpG ODN

PB19 MYASTENİA GRAVİS'TE PERİFERİK VE TİMİK CD4+ T HÜCRELERİNDE STAT-1 AKTİVASYONU VE DÜŞÜK İNTERFERON YANITI

Cemre Aktaş¹, Arman Çakar², Fikret Aysal⁵, Hacer Durmuş Tekçe², Ali Altay³, Salih Duman⁴, Gülçin Yegen³, Berker Özkan⁴, Yeşim Parman², Güher Saruhan Direskeneli¹

¹ İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul; İstanbul Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Genetik & Biyoteknoloji Doktora Programı, İstanbul; İstanbul Teknik Üniversitesi, Dr. Orhan Öcalgıray Moleküler Biyoloji, Biyoteknoloji & Genetik Araştırma Merkezi (İTÜ-MOBGAM), İstanbul

² İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

³ İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Patoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁴ İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahi Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁵ Özel Klinik, İstanbul

Giriş ve Amaç: Myastenia gravis (MG), nöromusküler kavşakta gelişen, otoantikor aracılı bir otoimmün hastalıktır. MG'nin temel patofizyolojik mekanizmasında, postsinaptik membranda yer alan asetilkolin reseptörü (AChR) veya kasa özgül kinaz (MuSK) moleküllerine karşı gelişen otoantikorlar rol oynamaktadır. MG, otoantikor profili ve timus patolojisine bağlı olarak AChR pozitif MG (AChR-MG), MuSK pozitif MG (MuSK-MG) ve timoma ile ilişkili MG (TAMG) olmak üzere farklı alt gruplara ayrılmaktadır. AChR-MG ve TAMG, timus patolojisi eşliğinde gelişirken, MuSK-MG'de timusun rolü gözlenmemektedir. Timik hiperplazi ile birlikte gözlenebilen AChR-MG'de, timusta interferon-beta (IFN- β)'nın otoreaktif T hücre gelişiminde etkili olduğu bildirilmiştir. Lenfosit aktivasyonunda, özellikle sitokin aracılı sinyal iletiminde rol oynayan sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) molekülleri, fosforilasyon yoluyla hücrel yanıtın düzenlenmesini sağlamaktadır. Önceki çalışmamızda, AChR-MG, MuSK-MG ve TAMG hasta gruplarının periferik CD20+ B hücrelerinde, sağlıklı donörlere kıyasla anlamlı derecede yüksek bazal STAT-1 fosforilasyonu (pSTAT-1) saptanmış; ancak in vitro tip I IFN (IFN-I) uyarısı sonrası pSTAT-1 düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu çalışmada, aynı hasta alt gruplarında periferik kan CD4+ T hücreleri sağlıklı donörlerle karşılaştırılarak, ilgili sinyal yollarının hastalık patogeneziindeki rolü T hücreleri düzeyinde incelenmiştir. Ayrıca, AChR-MG hastalarından elde edilen timik hücreler, IFN-I yanıtı açısından periferik kan T hücreleri ile karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya 27 AChR-MG, 12 TAMG, 5 MuSK-MG hastası ve 11 sağlıklı donör dahil edilmiştir. Ayrıca, AChR-MG grubundaki 10 hastadan timektomi ile timus dokusu elde edilmiştir. Donörlerin periferik kanından periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH), timus dokularından ise timositler izole edilmiştir. Ex vivo CD4+ T hücre aktivasyonu, hücre içi bazal pSTAT-1 (Y701) düzeylerinin ölçülmesiyle değerlendirilmiştir. Hücreler IFN-a2a ve IFN-b ile in vitro kısa süreli uyarılarak pSTAT-1 düzeylerindeki yüzdesel değişim karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Ex vivo analizlerde, TAMG grubunda bazal pSTAT-1 düzeyi sağlıklı donörlere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunurken (1,3 vs. 0,4; p = 0,05); AChR-MG ve MuSK-MG gruplarında bir değişiklik gözlemlenmemiştir. In vitro IFN-a2a uyarısı sonrası, AChR-MG ve MuSK-MG gruplarında pSTAT-1 yüzdesel değişimi sağlıklı donörlere kıyasla anlamlı olarak düşük bulunmuştur (sırasıyla 9,9 vs. 34,5; p = 0,05 ve 11,0 vs. 34,5; p = 0,02). IFN-b uyarısı ile anlamlı bir yanıt gözlenmemiştir. Timektomi uygulanan AChR-MG hastalarında, timik ve periferik kan T hücrelerinin karşılaştırılmasında, bazal pSTAT-1 düzeylerinin timik CD4+ hücrelerinde daha düşük olduğu saptanmıştır (0,6 vs. 0,9; p = 0,032). IFN-a2a uyarısı ile timik CD4+ hücrelerinde pSTAT-1 yanıtı gözlenmiş, ancak bu yanıt periferik kan CD4+ T hücrelerinden farklı bulunmamıştır. IFN-b uyarısı ise, periferik kanda olduğu gibi timik hücrelerde de STAT-1 fosforilasyonunu uyarmamıştır.

Tartışma ve Sonuç: Bu bulgular, periferik kanda T hücrelerinde IFN-a2a yanıtının MG alt grupları arasında farklı düzenlendiğini göstermektedir. TAMG'de artmış bazal pSTAT-1 düzeyleri, in vivo T hücre aktivasyonunun artmış olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşılık, AChR-MG ve MuSK-MG gruplarında in vitro IFN-a2a uyarısına yanıtın düşük olması, bu sinyal yolunun bu alt gruplarda farklı

şekilde regüle edildiğine işaret etmektedir. Timik CD4+ hücrelerinde gözlenen düşük bazal aktivasyon ise, timusta IFN-I sinyal yolunun AChR-MG’de etkin olduğu gözlemini desteklememektedir.

Bu çalışma, TÜBİTAK 1001 programı tarafından desteklenmiştir (Proje No: 123S090).

Anahtar Kelimeler: Myastenia gravis, otoimmünite, T hücreleri, interferon, STAT fosforilasyonu

PB20 HELICOBACTER PYLORİ DİŞ MEMBRAN VEZİKÜLLERİNİN DALAK HÜCRELERİNİN PROLİFERASYON, IL-6 VE IFN-GAMMA ÜRETİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Eliz Önbaş¹, Minel Horozlar¹, Pelin Gelmez¹, Zeynep Nur Şentürk¹, Ayşegül Ekmekçioğlu¹, Sümeyye Akçelik Deveci¹, Sinem Öktem Okullu², Ayça Sayı Yazgan^{1,3}

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

² Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³ Brunel University of London, Department of Biosciences, London, United Kingdom

Giriş ve Amaç: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), gram negatif ve sarmal şekilli bir bakteridir [1]. *H. pylori* enfeksiyonu kronik gastritis, ülser ve mide kanserine sebep olabilmektedir. Türk popülasyonunun %80'i *H. pylori* ile enfektidir. Dış membran vezikülleri (OMV), gram-negatif bakteriler tarafından salınan 20-400 nm boyutunda ve içerisinde bakteriyel proteinleri, lipopolisakkaritler, toksinleri ve nükleik asitleri taşıyan nano-parçacıklardır [2]. Bakteriyel iletişim, patogenez ve sağkalım mekanizmalarında temel aracı olan OMV'ler, sahip oldukları biyomoleküller ile immünizasyon stratejileri için çok yönlü bir platform sunmaktadır. OMV'lerin aşı adayı olarak kullanıldığı birçok çalışma olsa da klinik seviyede OMV temelli *H. pylori* aşısı bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda Türk hasta izolatlarından elde edilen çeşitli *H. pylori* suşları OMV eldesi için kullanılmış, bu veziküllerin splenosit proliferasyonu ile IL-6 ve IFN- γ sitokin sekresyonu üzerindeki immünomodülatör etkileri in vitro koşullarda araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: OMV'ler Türk hasta izolatlarından elde edilen *H. pylori* suşları kullanılarak ultrasantrifüj yöntemi ile izole edilmiştir. C57BL/6 IL-10-egfp farelerden alınan splenosit hücreleri izole edilen OMV'ler (0.4-2-10 μ g/ml) ile 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. Deney pozitif kontrolü olarak 10 μ g/ml LPS kullanılmıştır. OMV'lerin dalak hücrelerinin proliferasyonuna etkisinin incelenmesi için hücreler CFSE ile boyanmıştır. 48 saat inkübasyon sonrası OMV'lerin dalak hücrelerindeki proliferasyona etkileri akan hücre ölçer ile, IL-6 ve IFN- γ üretimine etkileri ile ELISA ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Deney sonuçlarımızda, LPS barındıran HP1 OMV'sinin 0.4 μ g/ml dozunda IL-6 üretimini ~200 pg/ml'e yükselttiği ve %20 oranında proliferasyon artışına sebep olduğu, 10 μ g/ml dozunda ise 1000 pg/ml'e varan bir IFN- γ artışı sağladığı bulunmuştur.

Tartışma ve Sonuç: *H. pylori* OMV'leri ile elde edilen bulgular, LPS bulunduran veya adjuvan ile güçlendirilmiş dış membran veziküllerinin *H. pylori*'ye karşı muhtemel bir terapötik araç olarak kullanılabileceğini öne sürmektedir; ancak bu data in vivo olarak desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter*, immün yanıt, dış membran vezikülleri

PB21 MULTİPL SKLEROZDA TRANSKRİPTOMİK VE DNA METİLASYON VERİLERİNİN ENTEGRASYONU İLE HÜCRE/DOKU TİPİNE ÖZGÜ GEN EKSPRESYONU–METİLASYON İLİŞKİLERİNİN ÇOK KATMANLI OMİK ANALİZİ

Özdeyiş Hülya İşgördü¹, Abdullah Alper Bülbül², Eda Tahir Turanlı³

¹ Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

² Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Biyoistatistik ve Biyoinformatik Ana Bilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

³ Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye; Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, İstanbul, Türkiye

Giriş ve Amaç: Multipl Skleroz (MS) patogenezinde rol oynayan immün hücre tiplerine özgü düzenleyici mekanizmaların aydınlatılması amacıyla, transkriptomik ve epigenomik veri katmanlarının çok katmanlı entegrasyonu gerçekleştirilerek DNA metilasyonu ile gen ekspresyonu arasındaki eşleşme örüntülerinin sistematik ve bütüncül biçimde incelenmesi hedeflenmektedir.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada 15 GEO veri setinden elde edilen 552 transkriptomik örnek (367 MS, 185 sağlıklı kontrol) ve 7 GEO veri setinden derlenen 585 DNA metilasyon örneği (273 MS, 312 sağlıklı kontrol) entegre edilmiştir. Analizler mikroarray ve RNA-seq platformlarını kapsamaktadır. Metilasyon verileri, Illumina 450K ve EPIC dizileri dahil edilerek 450K uyumlu ortak bir prob uzayında harmonize edilmiş; hücre/doku tipi ve tedavi durumuna göre tabakalandırılmıştır. Toplu etkiler, veri seti değişkeni sabit kovaryant olarak modellenerek kontrol altına alınmış; görselleştirmeye özgü düzeltmeler ayrıca uygulanmıştır. Diferansiyel ekspresyon ve metilasyon analizleri ampirik Bayes moderasyonlu doğrusal modelleme ile gerçekleştirilmiş, metilasyon M-değerleri üzerinden değerlendirilmiştir. Çoklu test düzeltmesi için Benjamini–Hochberg yöntemi kullanılmıştır (FDR < 0,05).

Bulgular: Toplam 1.316 gen anlamlı düzeyde diferansiyel eksprese edilmiş olup belirgin hücre tipi özgüllüğü saptanmıştır: T hücreleri (2.670 gen), B hücreleri (1.440), beyin/beyaz madde (1.027), tam kan (338) ve PBMC'ler (129). Öne çıkan genler arasında CTNNB1 (logFC = -0,25, adj.P = $5,6 \times 10^{-7}$), MAP3K3 (logFC = -0,23) ve PRIM1 (logFC = +0,27) yer almış; Wnt sinyal yolağı ve DNA replikasyon mekanizmaları etkilenmiştir. NONO geni dört farklı alt grupta yinelemeli anlamlılık göstermiştir. Metilasyon analizinde 15.258 diferansiyel metile CpG bölgesi ve 470 promotör bölgesi belirlenmiştir. Tam kan CpG düzeyi sinyallerinin büyük bölümünü oluştururken (15.199 bölge), beyin/beyaz madde en güçlü promotör düzeyi koordinasyonunu sergilemiştir (223 bölge). Öne çıkan promotör bölgeleri arasında ZIC4 (adj.P = $2,1 \times 10^{-12}$), ZNF471 (adj.P = $1,2 \times 10^{-6}$) ve DUSP22 yer almaktadır. Çapraz omik entegrasyonda 1.100 örtüşen gen tanımlanmış; ancak yalnızca altısı her iki katmanda da anlamlı bulunmuş ve beşi (HPS4, LAX1, MAFG, GLRX2, P2RX1) ters yönlü düzenleme sergilemiştir.

Tartışma ve Sonuç: Bu bulgular, MS patogenezinde hücre tipine özgü transkriptomik ve epigenomik değişimlerin ön plana çıktığına işaret etmektedir. Sonuçlar, MS immünopatogenezinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayabilecek potansiyel biyobelirteç adaylarına yönelik ileri çalışmalar için bilgi verici niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Multipl skleroz, transkriptomik, epigenomik, omik analiz

PB22 TÜRK KLİNİK HELICOBACTER PYLORİ İZOLATLARINDAN ELDE EDİLEN DIŞ MEMBRAN VEZİKÜLLERİNDE LİPOLİSAKKARİT DETOKSİFİKASYONU

Mehmet Karaçay^{1,2}, Sümeyye Akçelik Deveci¹, Pelin Su Gelmez³, Bahar Deniz³, Zeynep Nur Şentürk³, Banu Bayyurt Kocabaş⁴, Sinem Öktem Okullu⁵, Ayça Sayı Yazgan^{1,6}

¹ Istanbul Technical University, Faculty of Science and Letters, Department of Molecular Biology and Genetics, Istanbul, Türkiye

² Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medical Sciences, Division of Medical Genetics, Van, Türkiye

³ Istanbul Technical University, Graduate Program in Molecular Biology, Genetics and Biotechnology, Istanbul, Türkiye

⁴ Middle East Technical University, Faculty of Science and Letters, Department of Biological Sciences, Ankara, Türkiye

⁵ Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Türkiye

⁶ Brunel University London, Department of Life Sciences, Uxbridge, Ub8 3ph, London, United Kingdom

Giriş ve Amaç: Helicobacter pylori (H. pylori), gram-negatif ve mikraerofilik bir bakteri olup gastrit, peptik ülser ve mide kanseri gibi çeşitli gastrointestinal hastalıklarla ilişkilidir. Günümüzde H. pylori enfeksiyonuna karşı henüz onaylanmış bir aşı bulunmamaktadır. Gram-negatif bakteriler tarafından doğal olarak salınan dış membran vezikülleri (Outer Membrane Vesicles; OMV), bakterinin yüzey antijenlerini ve virülans faktörlerini içeren nano-boyutlu yapılardır ve konak-patojen etkileşiminde önemli rol oynarlar (1). OMV'ler bakterinin antijenik bileşenlerini taşıdıkları için güçlü immünojenik özellik gösterir ve ek bir adjuvana ihtiyaç duymadan bağışıklık yanıtını uyarabilirler. Bununla birlikte, gram-negatif bakterilerin dış zar yapısının temel bileşenlerinden biri olan lipopolisakkarit (LPS), OMV'lerde de yüksek miktarda bulunur ve güçlü bir inflamatuvar yanıtı tetikleyerek aşırı immün aktivasyon ve sepsise yol açabilir (2). Bu nedenle OMV'lerin güvenli bir aşı adayı olarak kullanılabilmesi için LPS'nin detoksifikasyonu büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, klinik olarak izole edilen iki H. pylori suşu ve fare adapte SS1 suşundan elde edilen OMV'lerde LPS'nin kimyasal yöntemle uzaklaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Türk hastalardan izole edilen iki farklı H. pylori suşu ve fare adapte SS1 suşu mikraerofilik koşullarda kültüre edildi. Kültür süpernatanı 0,22 µm filtreden geçirildi ve OMV'ler 100.000 × g'de, 4°C'de 2 saat ultrasantrifügasyon ile izole edildi. Elde edilen OMV'lerin yarısı %2 sodyum deoksikolat (SDC) ile 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Ardından SDC, Amicon Ultra-15 filtrasyon sistemi kullanılarak üç ardışık yıkama adımı ile uzaklaştırıldı. İşlem uygulanmayan OMV'ler kontrol grubu olarak değerlendirildi. OMV protein miktarları BCA yöntemi ile belirlendi. LPS aktivitesi, HEK-hTLR4 Blue reporter hücreleri kullanılarak değerlendirildi. OMV örnekleri 10 µg/mL başlangıç konsantrasyonundan itibaren ardışık seri dilüsyonlar hazırlanarak hücrelere uygulandı. Ticari LPS (pozitif kontrol) olarak kullanılırken, Staphylococcus aureus lizati (Gram-pozitif bakteri), distile su ve yalnızca hücre kültür mediumu negatif kontrol olarak kullanıldı. LPS aktivasyon düzeyleri QuantiBlue kiti kullanılarak 15. ve 30. dakikalarda kolorimetrik olarak ölçüldü.

Bulgular: HEK-hTLR4 Blue reporter hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen LPS aktivite analizlerinde, %2 sodyum deoksikolat (SDC) ile muamele edilen klinik izolatlara (Hp-2 ve Hp-4) ait OMV'lerde LPS aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Buna karşın fareye adapte SS1 suşundan elde edilen OMV'lerde SDC uygulaması sonrasında LPS aktivitesinde belirgin bir değişiklik saptanmamıştır.

Tartışma ve Sonuç: Bulgularımız, H. pylori OMV'lerinde LPS aktivitesinin sodyum deoksikolat aracılığıyla azaltılabileceğini göstermekte ve OMV temelli aşı geliştirme stratejileri için bu yaklaşımın uygulanabilirliğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*, dış membran vezikülleri, lipopolisakkarit detoksifikasyon, aşı geliştirme

PB23 FARE PERİTONEAL B HÜCRELERİNDEN KAYNAKLANAN IL-27 YANITI VE FARKLI MOG35-55 PEPTİT SEKANSLARIYLA İNDÜKLENEN EAE'DE KLİNİK SKORLAR İLE DEMİYELİNİZASYON PATERNLERİ

Sudenur Arsoy¹, Gözde Arslan^{1,2,3}, Zeynep Nur Şentürk¹, Mehmet Karaçay⁴, Müjdat Atılğan^{2,3,5}, Yağmur Aydın Atalay^{2,3,5}, Ezgi Yumuşak⁶, Ahmet Akkoç⁶, Salih Haldun Bal^{2,3,7}, Diğdem Yöyen Ermiş^{2,3,7}, Haluk Barbaros Oral^{2,3,7}, Ayça Sayı Yazgan^{1,8}

¹ Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul Teknik Üniversitesi, Maslak 34469, İstanbul, Türkiye

² Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Birimi, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa,

³ Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERIM), Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁴ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, 65080, Tuşba/Van, Türkiye

⁵ Tıp-İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa,

⁶ Patoloji Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁷ İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁸ Biyobilim Bölümü, Brunel Üniversitesi, Uxbridge, Ub8 3ph Londra, İngiltere

Giriş ve Amaç: Multiple skleroz (MS), merkezi sinir sisteminin kronik inflamatuvar ve demiyelinizan bir hastalığı olup mevcut tedavilere rağmen hastalık progresyonu ve relapsların tam olarak kontrol altına alınamadığı klinik bir tabloya yol açmaktadır. MS patogeneğinde bağışıklık sisteminin merkezi sinir sistemi üzerindeki etkisinin daha iyi anlaşılmasıyla, immün hücrelerin fonksiyonel olarak modüle edilmesine yönelik yaklaşımlar önem kazanmıştır. MS hastalarında serebrospinal sıvıda artmış IL-27 düzeylerinin lokal inflamasyonla ilişkili olduğu ve IL-27'nin santral sinir sistemi düzeyinde düzenleyici bir yanıtın parçası olabileceği bildirilmiştir. Deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) modellerinde IL-27'nin efektör T hücre yanıtını baskılayarak nöroenflamasyonu azalttığı gösterilmekte, ancak sitokin heterodimerik yapısı ve stabilite sorunları doğrudan terapötik kullanımını kısıtlamaktadır. Peritoneal kavitede yer alan ve IL-27 üreten düzenleyici B hücrelerinin (i27-Breg), EAE gibi santral sinir sistemi otoimmünite modellerinde hastalık şiddetini azalttığı ve nöroenflamasyonu baskıladığı ortaya konmuştur. Bu hücrelerin TLR veya BCR aracılı sinyallerle aktive olabildiği ve diğer B hücrelerinde düzenleyici fenotipin gelişimine katkı sağladığı bildirilmiştir. Bu çalışma, fare peritonundan izole edilen B hücrelerinin TLR uyarımı altında IL-27 üretim kapasitesini ortaya koymayı ve farklı MOG35-55 peptit sekansları ile oluşturulan EAE modellerinde klinik ve histopatolojik bulguları değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada VertX IL10egfp raportör farelerden peritoneal eksüda hücreleri ve splenositler izole edilmiştir. Hücreler LPS (5 µg/ml), Helicobacter felis (10 µg/ml), CpG(K3) (10 µg/ml) ve PAM3CSK4 (2,5 µg/ml) ile 72 saat süreyle kültüre edilmiştir. B hücreleri CD19 ve CD23 yüzey belirteçleri kullanılarak tanımlanmış; IL-27p28 üretimi hücre içi boyama ve akış sitometrisi ile değerlendirilmiş ve uyarılmış hücrelerden elde edilen protein ekstraktlarında western blot ile doğrulanmıştır. Ek olarak, CpG(K3) ile uyarılmış ve kontrol kültürlerinden eksozomlar ultrasantrifügasyonla izole edilerek fenotipik olarak karakterize edilmiştir. EAE modeli oluşturmak üzere 5–8 haftalık C57BL/6 fareler, Freund adjuvanı ile emülsifiye edilmiş MOG35-55 peptidi ve farklı MOG35-55 peptit sekansları ile immünize edilmiş; pertussis toksini immünizasyon günü ve 48 saat sonrasında intraperitoneal uygulanmıştır. Hayvanlar hastalık seyri boyunca klinik skorlar açısından izlenmiş; deney sonunda medulla spinalis ve beyin dokuları hematoksilen-eozin ile boyanarak demiyelinizasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu bakımından histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Peritoneal kavite B hücrelerinin tüm TLR uyarımları sonrasında IL-27p28 salgısını anlamlı düzeyde artırdığı, özellikle CpG(K3) uyarımı altında IL-27 içeren eksozomların başarıyla izole edilip karakterize edildiği gösterilmiştir. Farklı MOG35-55 sekansları ile indüklenen EAE modellerinde klinik skorların şiddetinin peptit dizisine bağlı olarak değiştiği; daha ağır klinik seyir gösteren gruplarda

medulla spinalis ve beyin dokularında daha yaygın demiyelinizasyon, yoğun inflamatuvar infiltrasyon bulunduğu ve klinik skorlar ile histopatolojik bulgular arasında belirgin paralellik olduğu saptanmıştır.

Tartışma ve Sonuç: Sonuç olarak bu çalışma, peritoneal kavite B hücrelerinin TLR aracılı uyarım altında güçlü bir IL-27 yanıtı oluşturabildiğini ve bu hücrelerden elde edilen IL-27 içeren eksozomların potansiyel bir immünmodülatör araç olabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca farklı MOG35-55 peptit sekanslarının EAE modelinde hastalık fenotipini anlamlı biçimde modüle ettiği ve deneysel model tasarımında peptit seçiminin kritik öneme sahip olduğu gösterilmektedir.

Bu çalışma, Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) (Proje No: 32714) ve İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (İTÜ-BAP) (Proje No: 44621) tarafından desteklenmiştir. Bursa Uludağ Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TAY-2022-601 numaralı proje kapsamında alınan demirbaşlar kullanılmıştır. Destekleri için TÜSEB, İTÜ BAP ve BUÜ BAP Birimine teşekkür ederiz.

Anahtar Kelimeler: Multiple skleroz, deneysel otoimmün ensefalomyelit, peritoneal B hücreleri, IL-27, eksozom, MOG35-55.

PB24 KLEBSIELLA PNEUMONIAE'YE KARŞI OMV TABANLI AŞI FORMÜLASYONLARININ İMMÜN YANIT VE KORUYUCU ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Gökçenaz Tülüoğlu², Dilara Güngör², Harun Önler², Muzaffer Yıldırım¹, Tuğçe Canavar Yıldırım¹, İsmail Cem Yılmaz¹, Aslı Balevi³, Zafer Sayın³, Beatriz Padron³, Oğuzhan Denizli³, E. Eda Toslak³, Ali Uslu³, Mayda Gürsel¹, Osman Erganiş³, İhsan Gürsel²

¹ İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye

² Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir, Türkiye

³ Selçuk Üniversitesi Aşı Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, Konya, Türkiye

Giriş ve Amaç: Klebsiella pneumoniae yoğun bakım ünitelerinde ve komorbid hastalarda nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olan gram-negatif, kapsüllü ve çoklu ilaç direncine sahip olan bir patojendir. Enfeksiyondan korunmada kullanılabilecek K. pneumoniae temelli ticari aşı mevcut değildir. Önceki çalışmalarda yalnızca türe özgü koruma sağlayabilen kapsüller polisakkarit tabanlı aşılar üzerinde durulmuş ve kapsüller polisakkarit çeşitliliğine sahip olan bu patojen için sınırlı bir koruma sağlanabilmiştir. Bu sebepler göz önüne alındığında adezyondan sorumlu mrkD gen bölgesi tarafından kodlanan tip 3 fimbria uç proteininin ve PhoE dış membran porininin immünojenik aşı antijeni olarak kullanılması hedeflenmiştir. Bu çalışmada, mrkD ve PhoE antijenlerinin Dış Membran vezikülü (OMV) platformunda sunulmasının ve farklı adjuvan kombinasyonlarının indüklediği sıvısal immün yanıtlar ile in vivo koruyucu etkilerin birlikte değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Rekombinant mrkD ve PhoE proteinleri Spytagli olarak Clear coli bakterisinden üretilerek saflaştırılmıştır. Ag-SpyTag/SpyCatcher-OMV sistemi aracılığıyla yine Clear Coliden üretilen ve saflaştırılan OMV'ler ile konjuge edilmiştir. Farklı aşı formülasyonları (OMV, OMV+Alum, OMV+Alum+K3 CpG ODN ile mrkD ile PhoE rekombinant protein antijen bazlı kombinasyonlar her grupta 5 hayvan olmak üzere toplam 9 grup) 6-8 haftalık dişi C57Bl6 farelere iki hafta ara ile subkutan yolla 200uL hacimde prime-boost stratejisiyle uygulanmıştır. Antijen-spesifik total IgG, IgG1 ve IgG2c end-point titreleri ELISA ile analiz edilmiştir. İmmünizasyon sonrası hayvanlar 10LD50 K. pneumoniae ile enfekte edilmiş ve sağkalım düzeyiyle elde edilen organlar makroskobik olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: OMV tabanlı formülasyonlar ve CpG içeren gruplarda antijen-spesifik antikor yanıtlarının arttığı gözlenmiştir. IgG alt sınıf analizlerinde, özellikle OMV ile kovalent bağlı olarak sunulan antijenlerin IgG2c yanıtını artırdığı belirlenmiştir. Bu artış CpG ODN içeren aşı gruplarında daha belirgin olarak elde edilmiştir. Makroskobik değerlendirmede, placebo grubunda tüm hayvanlarda belirgin patolojik bulgular (peritonit ve hemorajik akciğer) gözlenmiştir. OMV tabanlı düşük doz gruplarda benzer şekilde yaygın patoloji izlenirken, yüksek doz PhoE ve mrkD içeren OMV formülasyonları ile inaktif aşı ile bağışıklanan gruplarda sağda kalım %60-%80 düzeyinde elde edilmiştir. Normal makroskobik görünümün yanı sıra bazı hayvanlarda patolojik bulguların devam ettiği görülmüş aşıya bağlı koruyucu etkinliğin heterojen dağılım gösterdiğini önermektedir. OMV tabanlı protein aşı formülasyonları, özellikle CpG ODN ile kullanıldığında sıvısal immün yanıtı artırma potansiyeli göstermektedir. Bununla birlikte, makroskobik bulgular koruyucu etkinliğin formülasyon ve dozlara bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Tartışma ve Sonuç: Bu bulgular, OMV temelli aşı stratejilerinin umut verici olduğunu ancak daha tutarlı ve öngörülebilir koruma sağlanabilmesi için formülasyon optimizasyonuna ihtiyaç olacağını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Klebsiella pneumoniae, OMV (outer membrane vesicles/dış membran vezikülleri), Aşı geliştirme, rekombinant protein aşısı, mrkD, phoE, CpG ODN adjuvanı

PB25 CDC CROSSMATCH İLE TOTAL VE İZOLE T/B HÜCRE TEMELLİ FLOW CROSSMATCH YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Mert Karaca¹, Salih Haldun Bal², Abdurrahman Şimşek³, Muhammed Ali Kizmaz³, Onur Etgü¹, Ayşegül Oruç⁴, Abdülmecit Yıldız⁴, Alparslan Ersoy⁴, Ferah Budak⁵, Haluk Barbaros Oral²

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa - Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp İmmünoloji, Bursa - Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERIM), Bursa

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa - Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERIM), Bursa

³ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı - Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp İmmünoloji, Bursa

⁴ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı, Bursa

⁵ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa

Giriş ve Amaç: Alloantikörlerin transplantasyon öncesi değerlendirilmesinde crossmatch testleri kritik öneme sahiptir. Kompleman bağımlı sitotoksite (CDC) crossmatch testi, kompleman aracılı hücre lizisini temel alan klasik bir yöntem olup, özellikle kompleman bağlayan antikörlerin fonksiyonel etkisini göstermesi açısından klinik olarak önemlidir. Buna karşılık flow sitometrik crossmatch (FCXM), daha yüksek duyarlılığa sahip olup kompleman bağlamayan antikörleri de saptayabilmektedir. Bu nedenle CDC ve FCXM farklı immünolojik mekanizmaları yansıtır ve yöntemler arasında tam bir uyum beklenmemektedir. Flow crossmatch analizleri genellikle total hücre süspansiyonu üzerinden gerçekleştirilmekle birlikte, bazı merkezlerde hücre alt popülasyonlarının izole edilerek değerlendirilmesi tercih edilmektedir. Bu çalışmada CDC crossmatch ile total ve manyetik hücre ayırma (MACS) yöntemiyle izole edilmiş T ve B hücreleri kullanılarak yapılan flow crossmatch analizlerinin karşılaştırılması ve yöntemler arası uyum ile pozitiflik örüntülerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmada toplam 88 hasta-13 kadaverik donör eşleşmesinde CDC ve flow sitometrik crossmatch analizleri gerçekleştirildi. CDC crossmatch analizleri lenf ve dalak hücreleri kullanılarak hasta serumu ve tavşan komplemanı ile inkübasyon sonrası hücre canlılığının değerlendirilmesi esasına göre yapıldı ve sonuçlar genel pozitif/negatif olarak sınıflandırıldı. Flow crossmatch analizleri dalak hücrelerinden elde edilen total hücre süspansiyonu ve MACS yöntemi kullanılarak izole edilen T ve B hücreleri üzerinde gerçekleştirildi. Hücreler fluorokrom konjuge anti-human IgG antikörleri ile boyanarak akan hücre ölçerde analiz edildi. Sonuçlar her çalışmaya özgü negatif ve pozitif kontroller kullanılarak MFI değerleri üzerinden değerlendirildi. Yöntemler arası uyum Cohen's kappa katsayısı ile, eşleşmiş farklar McNemar testi ile analiz edildi ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Toplam 88 olguda CDC pozitiflik oranı %46.6 olarak saptandı. Flow crossmatch yöntemlerinde pozitiflik oranları total T için %23.8, total B için %33.3, izole T için %18.6 ve izole B için %28.6 idi. CDC ile yöntemler arası uyum total T flow crossmatch için orta düzeyde ($k=0.47$), total B flow crossmatch için daha yüksek düzeyde ($k=0.68$), izole T flow crossmatch için düşük-orta düzeyde ($k=0.31$) ve izole B flow crossmatch için orta düzeyde ($k=0.54$) bulundu. CDC ile tüm flow yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı uyumsuzluk saptandı ($p < 0.05$).

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışmada CDC ve flow crossmatch yöntemleri tanısal doğruluk temelinde değil, yöntemler arası uyum ve pozitiflik örüntüleri açısından karşılaştırılmıştır. Bulgular, özellikle B hücre temelli flow crossmatch analizlerinin CDC ile daha yüksek konkordans gösterdiğini ortaya koymaktadır. Flow crossmatch yöntemlerinin CDC'ye kıyasla daha düşük pozitiflik oranı göstermesi, bu yöntemlerin farklı immünolojik süreçleri yansıttığını desteklemektedir. Ayrıca CDC sonuçları genel pozitif/negatif sınıflandırma üzerinden değerlendirilmiş olup DTT uygulamaları, T ve B ayrımı, tarama ve detay sonuçları ayrı ayrı analiz kapsamına dahil edilmemiştir. Bu nedenle elde edilen bulgular, CDC'nin detaylarından bağımsız olarak yöntemler arası genel pozitif sonuç karşılaştırmasını

yansıtmaktadır. Yöntemler arası uyumsuzlukların, donör spesifik antikor (DSA) yükü, doku tipi uyumu ve klinik risk faktörleri ile birlikte bütüncül olarak yorumlanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Transplantasyon, flow crossmatch, CDC crossmatch, kompleman, T lenfositleri, B lenfositleri

PB26 ERİTROSİT SÜSPANSİYONLARININ DEPOLAMA SÜRESİ VE LÖKOREDÜKSİYON İŞLEMİNİN ETKİSİYLE SALINAN EKSOZOMLARIN T LENFOSİT PROLİFERASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Salih Haldun Bal^{1,2,3,7}, Gözde Arslan^{2,3,4}, Ceren Esen Kirez^{2,3}, Yağmur Aydın Atalay^{2,3,5}, Diğdem Yöyen Ermiş^{1,2,3}, Gizem Aytoğu⁶, Kadir Yeşilbağ⁶, Yasemin Heper^{7,8}, Haluk Barbaros Oral^{1,2,3}

¹ İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

² Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Birimi, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

³ Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERIM), Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁴ Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul Teknik Üniversitesi, Maslak, İstanbul, Türkiye

⁵ Tıp-İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁶ Viroloji Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁷ Dr. Raşit Durusoy Kan Merkezi, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁸ Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Tıp Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

Giriş ve Amaç: Transfüzyonla ilişkili immünmodülasyon (TRIM), eritrosit süspansiyonlarının (ES) alıcı immün yanıtını değiştirebildiği ancak mekanizması tam açıklanamamış bir transfüzyon olayıdır. ES depolama süresi uzadıkça TRIM ile ilişkili immün etkilerin arttığı bildirilmiştir; lökoredüksiyonun ise bu etkileri tamamen ortadan kaldırmadığı gösterilmiştir. Depolama boyunca ES süpernatantında biriken ve lökosit filtrelerinden geçebilen eksozomların, TRIM’de gözlenen T hücre proliferasyon baskılanmasına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, ES süpernatantından 0. 21. ve 42. depolama günlerinde (D0/D21/D42) izole edilen eksozomların CD4+/CD8+ T hücre proliferasyonu üzerindeki etkileri otolog ve allojeneik MNH kültürlerinde değerlendirilmiştir. NL-ES ve LR-ES örneklerinden D0/D21/D42 zaman noktalarında izole edilen eksozomların otolog ve allojeneik MNH kültürlerinde CD4+/CD8+ T hücre proliferasyonu üzerindeki etkisini değerlendirerek, eksozom aracılı TRIM mekanizmalarının depolama süresi ve lökoredüksiyon ile ilişkisini ortaya koymak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Gönüllü bağışçılardan elde edilen eritrosit süspansiyonları (n:12), lökoredüksiyon uygulanan (LR) veya lökoredüksiyon uygulanmayan (NR) olacak şekilde iki gruba ayrıldı. Her bir grup üç ayrı kan torbasına bölünerek +4 °C’de 0, 21 ve 42 gün süreyle depolandı. Depolama süresince biriken eksozomlar ultrasantrifüjasyon yöntemiyle izole edildi. Eksozomların protein konsantrasyonu, saflığı, boyut dağılımı ve tetraspanin ekspresyonu sırasıyla mikro-BCA analizi, Western blot, TRPS ve akım sitometrisi ile değerlendirildi. Her bir gruba ait eksozomlar eşit konsantrasyonlarda birleştirilerek havuzlar oluşturuldu (LR-D0, LR-D21, LR-D42 ve NR-D0, NR-D21, NR-D42 havuzları). Elde edilen havuzlar, sağlıklı donörlerden elde edilen PBMC’lerle, allojeneik ve otolog koşullarda CFSE temelli T hücre proliferasyon analizlerinde eksozomlar 0,2 µg, 1 µg ve 5 µg konsantrasyonlarında kullanıldı. Proliferasyon sonucunda CD3 ve CD4/CD8 hücre bazında ayrı ayrı analizler tamamlandı.

Bulgular: Pozitif kontrol kuyucuklarına göre normalize edilen CFSE-proliferasyon sonuçları, hem otolog hem de allojeneik koşullarda eksozomların T hücre proliferasyonunu genel olarak artırma eğiliminde olduğunu gösterdi. Otolog deneylerde, NR eksozomları artan dozlarla proliferasyonda artış eğilimi oluştururken; LR eksozomları düşük dozlarda artışa işaret etti ve doz yükseldikçe etki azalır yönde seyretti. Allojeneik deneylerde de benzer şekilde NR eksozomlarında doz artışıyla belirginleşen bir artış eğilimi izlenirken, LR eksozomlarında artan dozlarda düşük doza kıyasla azalma eğilimi gözlemlendi. Bununla birlikte, bu eğilimlerin hiçbirinde istatistiksel anlamlılık elde edilmedi. Depolama süresinin (D0/D21/D42) proliferasyon üzerine etkisi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Depolama günleri gözetilmeksizin yapılan eşleştirmeli analizde ise, eksozom maruziyeti altında CD4+

T hücre proliferasyonunun, diğer T hücre alt popülasyonlarına (CD3+/CD8+) kıyasla daha düşük düzeylerde kaldığı belirlendi.

Tartışma ve Sonuç: TRIM'e yönelik hipotezlerde lökoredüksiyonun TRIM'ı engellediğine dair olan bilgiyle çalışmamızda lökoredüksiyonun proliferasyonun baskıladığını göstermesi zıt bir sonuçtur. Bu nedenle çalışmanın devamında hangi hücre gruplarının proliferere olduğu ve hangi hücrelerin baskılandığını değerlendirmek önemli olacaktır.

Anahtar Kelimeler: TRIM, eksozom, proliferasyon, lökoredüksiyon

PB27 İNEK SÜTÜ PROTEİNİ ALERJİSİNDE SÜT ORAL İMMÜNOTERAPİSİ BAZOFİL AKTİVASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİSİ: DİREKT VE PASİF BAT ANALİZİ

Mehmet Tarık Çilingiroğlu¹, Cemre Naz Bülbüloğlu¹, Duygu Yazıcı², Özgür Albayrak¹, Elif Yayıcı³, Gizem Kuruoğlu⁴, İlayda Ataç⁴, Gamze Yaylak⁴, Betül Büyüktiryaki⁵, Cansın Saçkesen⁵

¹ Koç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi, İstanbul

² Rochester Üniversitesi Tıp ve Diş Hekimliği Fakültesi, Besin Alerjisi Merkezi, Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, Rochester

³ Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul

⁴ Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul

⁵ Koç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi, İstanbul; Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul; Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul

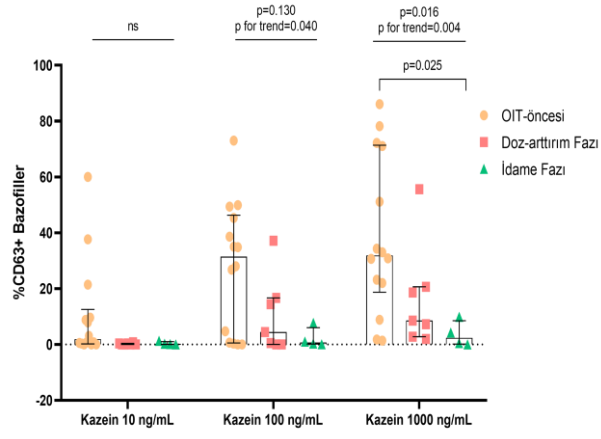
Giriş ve Amaç: Süt oral oral immunoterapisi (OİT) inek sütü protein alerjisine (İSPA) sahip hastaları süte karşı duyarsızlaştırmayı amaçlayan bir tedavi yöntemidir. Bu çalışma süt oral immunoterapinin bazofillerdeki etkisini direk bazofil aktivasyon testi (BAT) ve pasif BAT ile değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntemler: İSPA'lı hastaların tam kanı ile Direkt (d)BAT ve bu hastaların serumu ile sağlıklı bazofillerin uyarılması şeklinde pasif (p)BAT yapıldı. Direkt BAT OİT tedavisi öncesi, doz arttırım ve idame fazlarında gerçekleştirilirken pBAT sadece OİT öncesi ve OİT idame dozuna ulaşıldığında yapıldı. Akan hücre ölçerde negatif, anti-FcεRI, fMLP ve kazein (10, 100, ve 1000 ng/mL) uyarılarıyla bazofil yanıtı CD63 ifadesi ile ölçüldü.

Bulgular: İSPA'lı 45 katılımcıda direk BAT, 20 katılımcıda ise pasif BAT gerçekleştirildi, ancak 18 olguda direk BAT'da ve 2 olguda pasif BAT'da negatif kontrolde spontan aşırı aktivasyon görüldüğünden bu sonuçlar analizlere dahil edilmedi. OİT'nin üç farklı fazında hastalar arasında demografik ve laboratuvar verileri kıyaslandığında sadece eozinofil yüzdesi ve sayısında anlamlı farklılık gözlemlendi ($p=0.035$, $p=0.011$, sırasıyla). BAT sonuçları, negatif, fMLP ve FcεRI, 10 ng/mL kazein uyarımı koşullarında üç OİT fazı arasında anlamlı farklılıklar göstermedi. 100 ng/mL kazein ile uyarımın ardından, medyan bazofil CD63 ifadesi sırasıyla OİT öncesi:31.4 (çeyrekler arası aralık:5.8–46.4), OİT doz arttırımı:4.5 (0–16.6) ve OİT idame fazı:0.6 (0.1–6.1) idi ($p=0.130$; trend için $p=0.040$). 1000 ng/mL kazein ile uyarımdan sonra, CD63 ifadesi sırasıyla 31.9 (18.7–71.3), 8.6 (2.8–20.7) ve 2.4 (0.1–6.1) idi ($p=0.016$; trend için $p=0.004$). pBAT sonuçları OİT öncesi ($n=12$) ve OİT idame ($n=6$) fazları arasında kazeinin 3 dozuna karşı anlamlı farklılık gözlemlendi. 10 ng/mL kazein ile uyarımın ardından, medyan bazofil CD63 ifadesi sırasıyla OİT öncesi:1.5 (0.2–17.40), ve OİT idame fazı:0 (0–0.6) idi ($p=0.033$; trend için $p=0.026$). 100 ng/mL kazein ile uyarımdan sonra, CD63 ifadesi sırasıyla 41.9 (5.5–75.1) ve 0 (0 – 0.8) idi ($p=0.002$; trend için $p=0.005$). 1000 ng/mL kazein ile uyarımdan sonra CD63 ifadesi sırasıyla 63.1 (48.4–81.9) ve 0 (0–2.7) idi ($p=0.002$; trend için $p=0.007$).

Tartışma ve Sonuç: Direkt BAT ve pBAT sonuçlarında, negatif, fMLP ve FcεRI ile uyarım koşulları arasında OİT fazları açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu bulgu, OİT'nin bazofillerin genel reaktivitesini değil, esas olarak alerjene özgü yanıt modüle ettiğini düşündürmektedir. Elde edilen veriler, süt OİT'nin kazeine özgü bazofil aktivasyonunu azalttığını göstermektedir. Bu doğrultuda, direkt ve pasif BAT'ın birlikte veya ayrı ayrı kullanımının OİT sürecinin immünolojik izleminde potansiyel bir biyobelirteç olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Ayrıca, spontan aktivasyonun direkt BAT'ta daha sık gözlenmesine karşın, pasif BAT sonuçlarında spontan aktivasyon oranının belirgin şekilde daha düşük olması, pasif BAT'ın daha stabil ve özgül bir değerlendirme sağlayabileceğini düşündürmektedir. İleri analizlerde OİT'de alerjik reaksiyonları azaltmaya yönelik eklenen Omalizumab tedavisinin dBAT ve pBAT üzerindeki olası etkileri araştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Besin alerjisi, bazofil aktivasyon testi (BAT), inek sütü oral immunoterapisi (OİT)



Şekil 1. OİT fazlarına göre bazofil aktivasyon testi (BAT) sonuçları

PB28 İNAKTİF KOMBİNE AŞILAR İÇİN İMMUNOJENİTE DEĞERLENDİRMESİNDE YENİ BİR ALTERNATİF: RAT MODELİ

Mevlüt Yaşar¹, Nilay Tereci¹, Gizem Aytoğu¹, Kadir Yeşilbağ¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Giriş ve Amaç: Sığırların solunum yolu hastalık kompleksi, viral ve bakteriyel etkenlerin birlikte rol aldığı, hayvan sağlığı ve yetiştiriciliğinde ekonomik verimliliği önemli ölçüde etkileyen başlıca hastalıklardan biridir. Bu kompleksin gelişiminde, sekonder enfeksiyonlara predispozisyon oluşturan viral etkenler kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada, sığırların solunum yolu hastalık kompleksi ile ilişkili BoHV-1 (8640), PIV-3 (ET-81) ve BVDV (NADL) suşlarını içeren inaktif kombine aşı formülasyonlarının ratlarda parenteral uygulama sonrası antikor titresi oluşturma kapasitesi araştırılmış ve ratların alternatif bir immunojenite modeli olarak kullanılabilirliği değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada aynı viral antijen kombinasyonunu içeren ancak farklı adjuvan sistemleri ile hazırlanan üç ayrı inaktif kombine aşı formülasyonu kullanıldı. G1 formülasyonunda alüminyum hidroksit, G2 formülasyonunda Montanide ISA 206 ve G3 formülasyonunda Montanide ISA 50 adjuvanı kullanıldı (Tablo 1). Her formülasyon için 5'er rattan oluşan deney grupları ve kontrol grubu oluşturuldu. G1 grubu subkutan, G2 ve G3 grupları intramuskular yolla 0,3 ml dozda immünize edildi. Hayvanlara iki hafta arayla toplam dört immünizasyon uygulandı. Takiben 15., 30. ve 45. günlerde kan örnekleri alındı, 75. günde hatırlatma dozu uygulandı ve 112. günde son kan örnekleri toplandı. Serum örnekleri komplement inaktivasyonu sonrasında nötralizan antikor titresi belirlemek amacıyla MDBK hücre hattında Log 2 tabanında serum nötralizasyon 50 testine (SN50) tabi tutuldu.

Bulgular: SN50 testi sonuçları, inaktif kombine aşı formülasyonlarının ratlarda nötralizan antikor oluşturabildiğini göstermiştir (Tablo 1). PIV-3'e karşı nötralizan antikor yanıtı en belirgin olarak G2 ve G3 gruplarında saptanmıştır (Tablo 1). Özellikle ISA 206 ve ISA 50 adjuvanı içeren formülasyonlarda 30., 45. ve 112. günlerde daha yüksek titreler elde edildiği görülmüştür (Tablo 1). Alüminyum hidroksit içeren G1 grubunda da PIV-3'e karşı antikor yanıtı gözlenmekle birlikte yanıtın düzeyi ve sürekliliği diğer gruplara göre daha sınırlı kalmıştır (Tablo 1). BoHV-1'e karşı nötralizan antikor yanıtı tüm gruplarda daha düşük düzeyde seyretmiştir ve diğer viruslara kıyasla sınırlı bir antikor yanıtı oluşmuştur (Tablo 1). BVDV'ye karşı nötralizan antikor yanıtı ise en belirgin olarak G3 grubunda ortaya çıkmıştır ve özellikle geç dönemde daha yüksek titreler saptanmıştır (Tablo 1). Kontrol grubunda tüm viruslara karşı nötralizan antikor yanıtı gözlenmemiştir (Tablo 1).

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen bulgular, BoHV-1, PIV-3 ve BVDV içeren inaktif kombine aşı formülasyonlarının sıçanlarda nötralizan antikor yanıtı oluşturabildiğini göstermiştir. Antikor titresinin virus türüne ve kullanılan adjuvana bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Özellikle yağ bazlı adjuvan içeren formülasyonların bazı viral antijenlere karşı daha güçlü immunojenite sağladığı görülmüştür. Bu sonuçlar, kombine inaktif aşılarda hedef türde deneme aşamasına geçmeden önceki aşamada ratların alternatif bir immunojenite modeli olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Ancak çalışılan etkenlere göre değişen veriler elde edilmiş olması sebebiyle öncelikle etken bazında metot validasyonlarının yapılması gerektiği değerlendirilmiştir.

Bu çalışma, BUÜ-Güdümlü BAP Projesi: TSG-2022-845 kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: İmmunojenite, inaktif kombine aşı, BoHV-1, PIV-3, BVDV, rat modeli

Gruplar	PIV-3				BoHV-1				BVDV			
	15.gün	30.gün	45.gün	112.gün	15.gün	30.gün	45.gün	112.gün	15.gün	30.gün	45.gün	112.gün
G1	1/10 ↓	1/80	1/65	1/55	1/2	1/10 ↓	1/10	1/2,5	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓	1/7,5
G2	1/68	1/240,6	1/192,4	1/152,2	1/4	1/6	1/6	1/8	1/10 ↓	1/4	1/8	1/14
G3	1/42	1/152,2	1/208,4	1/224,4	1/16	1/10	1/20	1/20	1/10 ↓	1/16	1/108,2	1/184,4
Kontrol	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓	1/10 ↓

Tablo 1. Ratlarda immunizasyon sonrası elde edilen ortalama antikor titre değerleri

PB29 HELICOBACTER PYLORİ DİŞ MEMBRAN VEZİKÜLLERİNİN DALAK HÜCRELERİNİN CANLILIĞI VE IL-10 ÜRETİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Minel Horozlar¹, Eliz Önbaş¹, Pelin Gelmez¹, Zeynep Nur Şentürk¹, Ayşegül Ekmekçioğlu¹, Sümeyye Akçelik Deveci¹, Sinem Öktem Okullu², Ayça Sayı Yazgan^{1,3}

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

² Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³ Brunel Üniversitesi, Biyobilim Departmanı, Londra

Giriş ve Amaç: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), kronik gastrit, peptik ülser ve mide kanseri patogeneğinde kritik rol oynayan gram-negatif, spiral yapılı bir patojendir [1]. Türk popülasyonunda prevalansı %80'e ulaşan bu enfeksiyona karşı etkin bir klinik aşı henüz bulunmamaktadır. Gram-negatif bakteriler tarafından sekrete edilen 100-300 nm boyutundaki dış membran vezikülleri (OMV), protein, lipopolisakkarit ve nükleik asit gibi biyoaktif kargolar taşıyan doğal nanoparçacıklardır [2]. Bakteriyel iletişim, virülans ve stres adaptasyonunda temel aracı olan OMV'ler, immünostimulan özellikleri sayesinde aşı geliştirme çalışmaları için çok yönlü bir platform sunmaktadır [2]. OMV'lerin aşı adayı olarak kullanıldığı birçok çalışma olsa da klinik seviyede OMV temelli *H. pylori* aşısı bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Türk hasta izolatlarından elde edilen *H. pylori* suşundan OMV'ler saflaştırılmış; bu veziküllerin splenosit canlılığı ile IL-10 sitokin sekresyonu üzerindeki immünomodülatör etkileri in vitro koşullarda araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: OMV'ler Türk hasta izolatlarından elde edilen *H. pylori* suşu kullanılarak ultrasantrifüj yöntemi ile izole edilmiştir. C57BL/6 IL-10-egfp farelerden alınan splenosit hücreleri izole edilen OMV'ler (0.4-2-10 µg/ml) ile 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. Deney pozitif kontrolü olarak 10 µg/ml LPS kullanılmıştır. 48 saatlik inkübasyon sonrası hücre canlılığı ve IL-10 üretimi, akan hücre ölçer ile 7-AAD boyaması ve IL-10-GFP sinyali kullanılarak analiz edilmiştir. Bu hücrelerin OMV varlığı ve yokluğundaki IL-10 sitokin salınımları ise ELISA yöntemi ile belirlenmiştir.

Bulgular: Dalak hücreleri incelendiğinde, Hp1 OMV'si ile stimülasyon sonrasında hücre canlılığında yaklaşık olarak %24'lük belirgin bir artış gözlemlenmiştir. IL-10 sonuçları değerlendirildiğinde, akan hücre ölçer ve ELISA deneylerinde benzer sonuçlar elde edilmiştir. Hp1 uygulamasının IL-10 GFP üretimini yaklaşık olarak %10 arttırdığı görülmüştür.

Tartışma ve Sonuç: *H. pylori* OMV'leri ile deneyler sonucunda elde edilen bulgular, LPS bulunduran dış membran veziküllerinin *H. pylori*'ye karşı muhtemel bir terapötik araç olarak kullanılabileceğini öne sürmekte olup, bu data lar ileride in vivo olarak desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*, dış membran vesikülleri, IL-10

PB30 GEBELİKTE İMMÜN TOLERANSLA İLİŞKİLİ ADAY HEDEF GENLERİN BELİRLENMESİ: MULTİPL SKLEROZDA CD4+ T HÜCRE TRANSKRİPTOM YENİDEN ANALİZİ

Zeynep Melis Kaygun¹, Meziyet Dilara Reda¹, Abdullah Alper Bülbül², Eda Tahir Turanlı³

¹ Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik, İstanbul

² Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoistatistik ve Biyoinformatik, İstanbul

³ Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, İstanbul; Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik, İstanbul

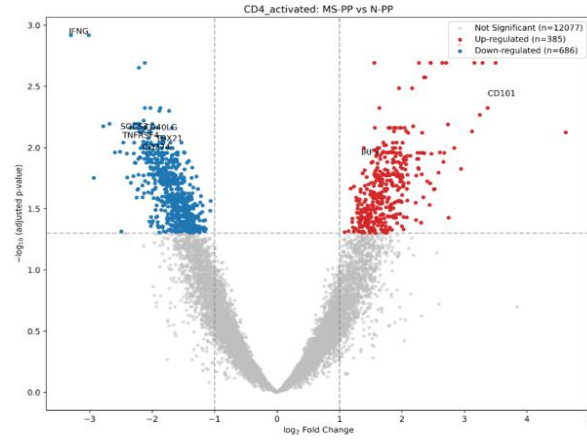
Giriş ve Amaç: Gebelik, maternal immün sistemin fetüse karşı toleransı sürdürebilmek için yeniden programlandığı fizyolojik ve geri dönüşümlü bir immün regülasyon modelidir. Multipl skleroz (MS) gibi immün aracılı hastalıklarda özellikle üçüncü trimesterde gözlenen klinik iyileşme ve postpartum dönemde yeniden artan hastalık aktivitesi, gebelikle ilişkili tolerojenik mekanizmaların moleküler düzeyde araştırılmasını anlamlı kılmaktadır. CD4+ T hücreleri, efektör ve baskılayıcı immün programlar arasındaki dengeyi yansıtmaları nedeniyle bu sürecin incelenmesi için uygun bir hücre model sunmaktadır. Bu çalışmada, gebelikte immün toleransla ilişkili aday hedef genlerin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler: Multipl skleroz hastalarının kamuya açık gebelik trimesterleri ve postpartum dönemi kapsayan CD4+ T hücre RNA-seq veri setleri yeniden analiz edildi. Analize, MS'li bireyler ve sağlıklı kontrollerden gebeliğin farklı trimesterleri ile postpartum dönemde elde edilen dinlenme halindeki (resting) ve in vitro aktive CD4+ T hücre örnekleri dahil edildi. Diferansiyel gen ekspresyon analizi ile özellikle üçüncü trimester-postpartum geçişi ve postpartum dönemde MS ile sağlıklı kontrol grupları arasındaki transkripsiyonel farklılıklar değerlendirildi. Aday genler, immün regülasyon, sitokin sinyalleme, T hücre yeniden programlanması ve toleransla ilişkili biyolojik bağlam temelinde önceliklendirildi.

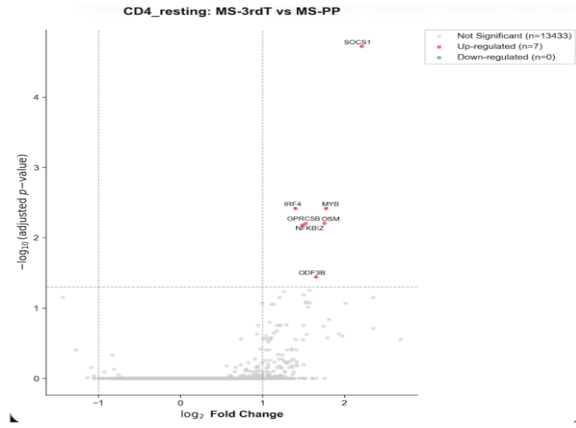
Bulgular: Resting CD4+ T hücrelerde, MS üçüncü trimester örneklerinde MS postpartum grubuna kıyasla, başlıca sitokin sinyalleşmesinin negatif düzenlenmesi ve immün yanıtın dengelenmesi ile ilişkili SOCS1 ve NFKBIZ ile T hücre farklılaşması ve transkripsiyonel yeniden programlanmada rol alan IRF4 genlerinde artmış ekspresyon saptandı. Postpartum dönemde MS ve sağlıklı kontroller arasındaki karşılaştırmalarda ise, erken yanıt/transkripsiyonel adaptasyon ile ilişkili ATF3, metabolik stres ve hücre büyüme yanıtları ile bağlantılı DDIT4 ve transkripsiyonel düzenleme ile hücre farklılaşma süreçlerinde görev alan MEF2D genlerinde farklılaşan ekspresyon paternleri gözlemlendi. İn vitro aktive CD4+ T hücre analizlerinde de özellikle IRF4 ve MEF2D ekseninde izlenen değişiklikler, gebelik ve postpartum geçişine eşlik eden transkripsiyonel yeniden yapılanmanın yalnızca zamansal değil, aynı zamanda T hücrenin aktivasyon durumuna bağlı bir düzenleme boyutu da taşıyabileceğini düşündürdü.

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen bulgular, gebelikte özellikle üçüncü trimesterde belirginleşen ve postpartum dönemde çözülme eğilimi gösteren immün düzenleyici bir transkripsiyonel programın varlığını desteklemektedir. Bu çerçevede, SOCS1 ve NFKBIZ sitokin aracılı yanıtların kontrolü ve immün homeostazın sürdürülmesi açısından; IRF4, ATF3 ve MEF2D T hücre fonksiyonlarının yeniden programlanması ve transkripsiyonel uyum süreçleri açısından; DDIT4 ise hücre stres ve metabolik adaptasyon bağlamında öne çıkmaktadır. Birlikte değerlendirildiğinde bu genler, gebelikte gelişen immün tolerans ortamının CD4+ T hücre düzeyindeki moleküler yansımalarını temsil eden adaylar olarak dikkat çekmektedir. Bu yeniden analiz, immün toleransla ilişkili hedef genlerin önceliklendirilmesine katkı sağlamakta ve ileri fonksiyonel ile epigenetik doğrulama çalışmaları için rasyonal bir aday panel oluşturmaktadır.

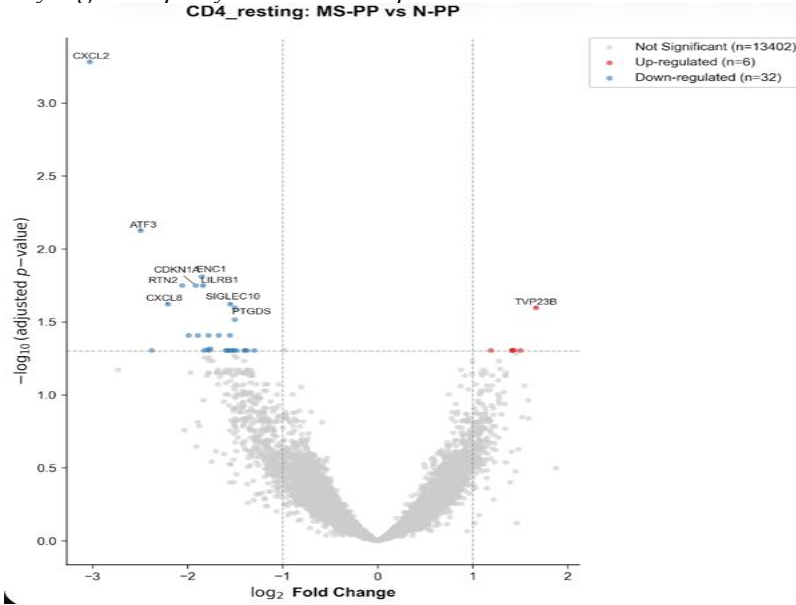
Anahtar Kelimeler: gebelik, immün tolerans, immün regülasyon, multipl skleroz, CD4+ T hücreleri, transkriptomik



Şekil 1. CD4+ aktive T hücrelerinde MS postpartum (MS-PP) ve sağlıklı postpartum (N-PP) grupları arasındaki diferansiyel gen ekspresyonunun DESeq2 analizi



Şekil 2. CD4+ dinlenme durumundaki T hücrelerinde 3. trimester (3rdT) ve postpartum (PP) dönemleri arasındaki diferansiyel gen ekspresyonunun DESeq2 analizi



Şekil 3. CD4+ dinlenme durumundaki T hücrelerinde MS postpartum (MS-PP) ve sağlıklı postpartum (N-PP) grupları arasındaki diferansiyel gen ekspresyonunun DESeq2 analizi

PB31 CXCL KEMOKİNLERİNDEN TÜREVLENEN KÜÇÜK PEPTİT DİZİLERİNİN MEME KANSERİ VE İLİŞKİLİ MONOSİTLER ÜZERİNE ETKİSİ

Müjdat Atılğan^{1,2,3}, Haluk Barbaros Oral^{1,2,3}, Güneş Esendağlı⁴, Diğdem Yöyen Ermiş^{1,2,3}

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

² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Birimi (DENHAB), Deneysel ve Moleküler İmmünoloji (EXPERIM) Araştırma Grubu, Bursa, Türkiye

³ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

⁴ Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Giriş ve Amaç: Kemokinler, immün hücrelerin yönlü göçünü düzenleyen ve tümör mikroçevresinin şekillenmesinde kritik rol oynayan küçük kemotaktik proteinlerdir. Klasik kemotaktik fonksiyonlarının yanı sıra, son yıllarda kemokinlerin proteolitik olarak parçalanmasıyla oluşan kısa peptit fragmentlerinin farklı immünomodülatör özellikler gösterebildiği ortaya konmuştur. Önceki çalışmamızda (Diğdem Yöyen Ermiş, Doktora Tezi, 2019), CXCL kemokin prekürsör dizileri sistematik olarak analiz edilmiş ve immün modülatör potansiyele sahip kısa peptitler tanımlanmıştır. Bu peptitler arasından Pep8, Pep14 ve Pep17-2, miyeloid hücrelerle güçlü etkileşim göstermeleri ve yüksek hücre alım kapasiteleri nedeniyle seçilmiştir. Bu peptitlerin CD11b⁺ miyeloid hücrelerde yüksek internalizasyon gösterdiği belirlenmiş olup, tümör ilişkili miyeloid hücrelerin hedeflenmesi açısından potansiyel taşıdığı düşünülmektedir.

Gereç ve Yöntemler: Aday peptitler, CXCL kemokin prekürsör dizilerinden in silico ve deneysel yaklaşımlar ile belirlenmiş ve N-terminali FITC ile işaretlenerek sentezlenmiştir. Hücre alım akış sitometrisi ile değerlendirilmiştir. Monosit benzeri model olarak THP-1 hücre hattı kullanılmış, tümör hücre etkileşimlerini incelemek amacıyla farklı moleküler alt tipleri temsil eden meme kanseri hücre hatları (MDA-MB-231, BT-474) çalışmaya dahil edilmiştir. Hücre alım analizleri erken (20 dk) ve geç (4 saat) zaman noktalarında gerçekleştirilmiştir. Peptitlerin seçiciliğini değerlendirmek için 48 saatlik ko-kültür sistemleri kurulmuş ve iki farklı strateji uygulanmıştır: (i) peptitlerin ko-kültür başlangıcında eklenmesi, (ii) ko-kültür sonrası (48 saat + 20 dk veya + 4 saat) eklenmesi. Peptitlerin fonksiyonel etkileri, hücrelere alındıktan sonra scratch assay ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: CXCL türevli peptitlerin hücre alımının hem peptit dizisine hem de hücre tipine bağlı olarak değiştiği gösterilmiştir. Ko-kültür koşullarında peptit alımı, kanser hücrelerinde THP-1 hücrelerine kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Peptitlerin tümör hücreleri arasındaki dağılımı peptit tipine bağlı farklılık göstermiştir: Pep-8'in MDA-MB-231 hücrelerinde daha yüksek alım gösterdiği, Pep17-2'nin her iki hücre tipinde benzer düzeyde olduğu ve Pep-14'ün düşük seviyede kaldığı belirlenmiştir. Genel olarak en yüksek alım Pep17-2 ile, en düşük alım ise Pep-14 ile gözlenmiştir. Scratch assay sonuçları, hücrelerin özellikle 48. saatte metastatik kapasitesinin peptit tipine bağlı olarak modüle olduğunu göstermiştir.

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen bulgular, CXCL türevli kısa peptitlerin hücre alımının sabit bir hücre tipine özgü olmadığını, hem hücre tipine hem de peptit dizisine bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ko-kültür koşullarında peptitlerin meme kanseri hücrelerinde daha yüksek düzeyde bulunması, bu sistemde monositik hücrelere seçici bir yönelim olmadığını düşündürmektedir. Bununla birlikte, farklı meme kanseri hücre hatları arasında gözlenen değişkenlik, peptit alımının tümör hücrelerinin biyolojik özelliklerinden etkilendiğini göstermektedir. Pep-8'in MDA-MB-231 hücrelerinde daha yüksek bulunması ve Pep17-2'nin benzer düzeylerde seyretmesi, peptit-hücre etkileşiminin hücre yüzeyi bileşenleri, membran dinamikleri veya endositoz mekanizmalarına bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Pep-14'ün düşük alım göstermesi ise daha sınırlı bir hücre girişi profiline işaret etmektedir. Bu bulgular, CXCL türevli peptitlerin bağlama bağımlı özellikler sergilediğini ve farklı hücre tiplerinde farklı alım profilleri gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TAY-2022-601 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir. Yazarlar, destekleri için BUÜ BAP Birimine teşekkür eder.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, küçük peptitler, CXCL kemokinler, kanser ilişkili miyeloid hücreler

PB32 FOLİKÜLER SİTOTOKSİK T HÜCRELERİNİN CD40L EKSPRESYONUNA BAĞLI FONKSİYONEL FARKLILIKLARININ İNCELENMESİ

Fatih Akboğa¹, Melis İrem Kuyaş², Fehmi Hindilerden³, İpek Yönel Hindilerden⁴, Emine Gültürk³, Yücel Erbilgin⁵, Müge Sayitoğlu⁵, Meliha Nalçacı⁴, Günnur Deniz², Metin Yusuf Gelmez²

¹ İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

² İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³ Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Dr. Sadi Konuk Suam Hematoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

⁴ İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁵ İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Giriş ve Amaç: Foliküler sitotoksik CD8⁺ T (TFC) hücrelerinin malign B hücrelerini lizis özelliklerinin yanı sıra CD40L aracılığıyla B hücrelerinde antikor yanıtının düzenlenmesinde rol alabileceği bildirilmektedir. Bu çalışmada sağlıklı bireylerde CD40L ekspresyonunun TFC hücrelerinde gen ekspresyon profilini nasıl farklılaştırdığı ve CD40L ekspresyonuna göre TFC hücre alt gruplarının B hücre fonksiyonu üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Sağlıklı bireylerden izole edilen periferik kan mononükleer hücreleri, PMA/Ionomisinle uyarımın ardından anti-CD3, CD8, CXCR5, CD40L ve CD19 antikorları ile işaretlendi. CD40L⁺ TFC, CD40L⁻ TFC, CD19⁺ B ve TFH hücreleri sort edildi. B hücreleri tek başına ya da TFC alt grupları ile 5 gün süreyle ko-kültüre edildi. Ko-kültür sonrası izotip dönüşümü ile ilişkili AID, UNG, APE, AKT2, IRF4 genlerinin mRNA ekspresyon düzeyleri qRT-PCR ile plazma hücre farklılaşması ise akan hücre ölçeği ile analiz edildi. Ayrıca CD40L⁺ TFC ve CD40L⁻ TFC hücrelerden RNA izolasyonu sonrası cDNA sentezi yapıldı. Ekspresyon array yöntemi ile transkriptom analizi gerçekleştirildi.

Bulgular: CD40L⁺ TFC ve CD40L⁻ TFC hücre alt gruplarının karşılaştırmalı analizlerinde ekspresyon farklılığı gösteren 367 gen tespit edilmiştir. Bu genlerden 160 tanesinin CD40L⁻ TFC hücrelerde, 207'sinin CD40L⁺ TFC hücrelerde ekspresyonunun arttığı saptanmıştır. Gen ontoloji analizlerinde sitokin aktivasyonu, immün globulin bağlanması, MHC kompleksi bağlanması yolları önceliklendirilmiştir. Yapılan gen seti analizlerinde CD40L⁺ TFC örneklerde 29 gen setinde, CD40L⁻ TFC örneklerinde ise 21 gen setinde artmış fenotip tespit edilmiştir. CD40L⁺ hücrelerde, CXCL13, LTA/LTB (lenfotoksinler), TNFRSF ailesi ve HLA-DRA gibi MHC-II genlerinin artmış ekspresyonu gözlenmiştir. Kültür koşulları değerlendirildiğinde, CD40L⁺ TFC, CD40L⁻ TFC, B ve TFH hücre alt gruplarında IRF4, APEX, UNG, AKT2, AICDA gen ekspresyon düzeyleri gruplar arasında anlamlı bir ekspresyon değişkenliği gözlenmemekle birlikte, TFH -B hücre koşulunda sadece B hücre koşuluna göre 1,8 kat artmış IRF4 ekspresyonu saptanmıştır. CD40L⁺ TFC'lerin B lenfositlerde plazma hücre (CD38⁺⁺CD138⁺), plazmablast (CD19⁺CD38⁺⁺) farklılaşmasını ve IgG üretimini CD40L⁻ TFC hücrelerine göre daha fazla indüklediği gözlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen bulgular, CD40L ekspresyonuna göre ayrılan TFC alt gruplarının hem fonksiyonel hem de moleküler düzeyde farklılaştığını göstermektedir. CD40L⁺ TFC hücrelerin, özellikle B hücre aktivasyonu ve farklılaşmasını destekleyen yardımcı fonksiyonlara sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sitotoksik T lenfosit (CD8), foliküler sitotoksik T hücre (TFC), CD40L

PB33 AKUT MYELOİD LÖSEMİDE CD11b/CD64 İMMÜNOFENOTİPİ VE GENETİK RİSK İLİŞKİSİ

Sanem Gökçen¹, Handan Kayhan¹, Ahmet Şeyhanlı¹, Zeynep Arzu Yeğin¹, Zübeyde Nur Özkurt¹, A. Münici Yağcı¹

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

Giriş ve Amaç: Akut myeloid lösemi (AML), prognostik açıdan önemli immünofenotipik, sitogenetik ve moleküler özelliklerle karakterize heterojen bir hematolojik malignitedir. Myeloid diferansiyasyonla ilişkili bir integrin olan CD11b (ITGAM) ekspresyonunun AML’de olumsuz klinik sonuçlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada AML hastalarında CD11b ekspresyonunun immünofenotipik ve genetik özelliklerle ilişkisini değerlendirmek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya AML tanısı almış 61 hasta retrospektif olarak dahil edilmiştir. CD11b, CD64, CD34, HLA-DR, CD117, CD33, CD13 ve MPO ekspresyonları akım sitometri yöntemi ile değerlendirilmiştir. t(15;17), inv(16), t(8;21) translokasyonları ve NPM1 mutasyonu real-time PCR yöntemi ile; FLT3-ITD ve FLT3-TKD mutasyonları PCR ve agaroz jel elektroforezi ile; 5q, 7q ve 11q anomalileri ile TP53 delesyonu ise FISH (floresan in situ hibridizasyon) yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Hastalar CD11b ekspresyon durumuna göre gruplandırılmış ve gruplar arası karşılaştırmalar uygun durumlarda ki-kare veya Fisher exact testi kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Toplam 61 hastanın 37’si CD11b pozitif, 24’ü CD11b negatif olarak saptanmıştır. İyi riskli sitogenetik anomaliler CD11b negatif hastaların tamamında görülürken, CD11b pozitif hastaların büyük çoğunluğunda saptanmamıştır ve CD11b pozitifliği ile olumsuz sitogenetik risk arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur ($p < 0.001$). CD11b pozitif hastalarda CD64 ekspresyonunun CD11b negatif hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür (%78.4’e karşı %45.8, $p < 0.05$). Ayrıca CD11b pozitif grupta HLA-DR ekspresyonunun daha sık olduğu saptanmıştır. Diğer immünofenotipik belirteçlerde anlamlı fark izlenmemiştir.

Tartışma ve Sonuç: AML’de CD11b ekspresyonu belirgin immünofenotipik özellikler ve sitogenetik risk ile güçlü ilişki göstermektedir. CD11b pozitifliği ve artmış CD64 ekspresyonu birlikte değerlendirildiğinde olumsuz genetik risk ile ilişkili bir biyolojik paterni işaret edebileceği düşünülmektedir. Bu bulguların daha geniş çalışmalarda doğrulanması, klinik ve prognostik öneminin netleştirilmesi açısından uygun olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Akut myeloid lösemi, CD11b, CD64, immünofenotip, genetik risk

PB34 NOD2 VARYANTLARININ OTOİNFLAMASYONUN ÖTESİNDEKİ ROLÜ: EPISTATİK ETKİLEŞİMLER, B-HÜCRE DİSREGÜLASYONU VE “NOD2-OPATİ” SPEKTRUMU

Fatma Çiğdem Selçuk¹, Tamer Dörmüş², Mecit Furkan Okutan², İsmail Yaz¹, Begüm Çiçek¹, Elif Soyak Aytekin², Saliha Esenboğa², Deniz Çağdaş²

¹ Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı, İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara

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

Giriş ve Amaç: NOD2, muramyl dipeptidi algılayan sitozolik bir patern tanıma reseptörü olup doğal ve adaptif immünite arasında kritik bir köprü görevi görür. Klasik olarak Crohn hastalığında fonksiyon kaybettirici ve Blau sendromunda fonksiyon kazandırıcı mutasyonları ile ilişkilendirilmiş olsa da, son yıllarda NOD2'nin NFκB, MAPK ve otofaji yollarını düzenleyen merkezi bir immün sinyal düğümü olduğu ve T-hücresi dahil adaptif immün yanıtın şekillenmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Bu bulgular, NOD2 varyantlarının yalnızca otoinflamatuvar hastalıklarla sınırlı olmadığını, daha geniş bir immün disregülasyon spektrumunda yer aldığını düşündürmektedir (Zhou ve ark., 2023; Huey ve ark., 2025). Bu çalışmada, NOD2 varyantı saptanan hastalarda klinik, immünolojik ve genetik özelliklerin kapsamlı analizi ile “NOD2-opati” kavramının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Merkezimizde izlenen ve tüm ekzom dizileme sonucunda NOD2 varyantı saptanan 12 hastanın retrospektif analizi yapıldı. Klinik fenotipler, immünolojik profiller ve eşlik eden genetik varyantlar sistematik olarak değerlendirildi.

Bulgular: Hastalar belirgin klinik ve immünolojik heterojenite sergilemiştir. Klinik spektrum; granülomatöz inflamasyon ve Blau-benzeri fenotiplerden, sistemik otoimmün hastalıklara (SLE-benzeri tablolar) ve makrofaj aktivasyon sendromuna, hipogammaglobulinemi ve CVID-benzeri fenotiplere kadar uzanmaktadır. Ayrıca bazı olgularda kompleman C1q eksikliği ile birlikte CYBB, IL21 ve SLC29A3 gen varyantları saptanmıştır. Bu genetik birliktelikler, NOD2'nin primer genetik defektin fenotipik yansımasını etkileyebileceğini düşündürmektedir. Söz konusu olgularda multigenik bir etyoloji olasılığı değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, bazı hastalarda NOD2 varyantları tek başına izlenmiş ve değişken klinik penetrans göstermiştir. Dikkat çekici olarak, kohort genelinde hipogammaglobulinemi, B hücre yokluğu veya bellek B hücre azalması gibi belirgin hümmoral immünite bozuklukları sık gözlenmiştir. Bu bulgular, NOD2 sinyalizasyonunun yalnızca inflamatuvar yanıtla sınırlı olmadığını; B hücre homeostazı ve hümmoral immün yanıtın sürdürülmesinde de rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Tartışma ve Sonuç: Bulgularımız, NOD2 ilişkili hastalıkların immün yetmezlik, otoimmünite ve granülomatöz inflamasyonun kesişiminde yer alan merkezi bir immün düzenleyici düğüm olarak işlev görebileceğini göstermektedir. NOD2 varyantlarının, monogenik bir hastalık nedeni olmanın ötesinde, poligenik bağlamda fenotipi şekillendiren güçlü epistatik modifiye edici olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu çalışma, genotip-fenotip ilişkilerinin yeniden yorumlanması ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından önemli çıkarımlar sunarken, “NOD2-opati” kavramını tartışmaya açmaktadır.

Kaynaklar: 1. Zhou Y, Yu S, Zhang W. NOD-like receptor signaling pathway in gastrointestinal inflammatory diseases and cancers. *Int J Mol Sci.*2023;24:14511.2. Huey LM, Rosenzweig HL, Napier RJ. Resolving the field: a role for Nod2 in T cells. *J Immunol.* 2025;214:3188-3198.

Anahtar Kelimeler: NOD2, immün yetmezlikler, B hücre disregülasyonu, epistatik etkileşimler

PB35 SİTOMEGALOVİRUS ÖN ÜVEİTİ PATOGENEZİNDE NK HÜCRELERİ VE İMMÜN KONTROL NOKTASI RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ

Sabire Pelin Kaya¹, Nilgün Akdeniz², Özlem Türkyılmaz¹, Günnur Deniz², Esin Aktaş Çetin², Fehim Esen¹

¹ İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

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

Giriş ve Amaç: Sitomegalovirüs (CMV) toplumun çoğunluğunda asemptomatik olarak bulunan, ancak bazı sağlıklı bireylerde ön üveite neden olabilen bir virüstür. Bu çalışmada CMV üveiti olan hastaların NK hücre alt gruplarında immün kontrol noktası reseptör ekspresyonlarının hastalık patogenezi olan etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda takip edilen 11 CMV ön üveiti, asemptomatik ancak CMV Ig-pozitif olan 11 sağlıklı birey ve 11 CMV Ig-negatif sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi. Tüm katılımcılardan alınan heparinize periferik kan örnekleri akan hücre ölçek ile analiz edildi. NK hücre alt grupları (CD56dimCD16⁺ ve CD56brightCD16⁻) ve bu hücrelerdeki PD-1, CTLA-4, LAG-3 ve TIGIT ekspresyonları akan hücre ölçek ile değerlendirildi. İstatistiksel analizler SPSS 27.0 yazılımı kullanılarak yapıldı.

Bulgular: Gruplar arasında total NK hücre oranları ve NK hücre alt grup dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Ancak hem CD56dimCD16⁺ hem de CD56brightCD16⁻ NK hücre alt gruplarında CTLA-4 ekspresyonu CMV ön üveiti hasta grubunda, diğer iki gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$). PD-1, LAG-3 ve TIGIT ekspresyonları açısından gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi.

Tartışma ve Sonuç: CMV ön üveiti olan hastalarda CTLA-4 ekspresyonu, asemptomatik CMV IgG-pozitif olan hastalar ve CMV enfeksiyonu geçirmemiş bireylerden anlamlı olarak daha yüksekti. Bu bulgular NK hücrelerinde CTLA-4 ekspresyonundaki artışın antiviral immüniteyi baskılayarak CMV'nin ön üveite neden olmasına katkı sağladığını düşündürmektedir. Hastalardaki CTLA-4 artışının viral patogenezi kaynaklı mı, hastaların bireysel genetik özellikleri ile mi ilişkili olduğunun araştırılması gerekmektedir. CTLA-4'ün CMV üveiti için bir biyomarker ve hedefe yönelik tedaviler için ise bir yolak olarak kullanılıp kullanılamayacağının detaylı incelenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sitomegalovirus, üveit, doğal öldürücü hücre, immün kontrol noktası

PB36 HEPATOSELLÜLER KARSİNOMDA TESTOSTERONUN ANTI-KANSER VE İMMÜN DÜZENLEYİCİ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Can Bora Tümerli¹, Furkan Aydın², Başak Aru²

¹ Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul

² Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Giriş ve Amaç: Bu çalışmada, iki farklı hepatoselüler karsinom (HCC) hücre hattında testosteronun potansiyel anti-kanser etkileri ile immün düzenleyici mekanizmalar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu bağlamda testosteronun, tek başına veya aromataz inhibitörü letrozol ile eşzamanlı uygulanmasının hücre canlılığı, hücre döngüsünün ilerleyişi, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve şok proteinleri HSP27 ile HSP70 düzeyleri ile PD-L1 ifadesinin düzenlenmesi üzerindeki etkilerini değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntemler: Testosteron ve letrozol+testosteron uygulamalarının apoptoz ve nekroz üzerine etkisi Annexin V/Propidyum İyodid boyaması ile, hücre döngüsünün ilerleyişi DNA içerik analizi ile, ROS düzeyleri dihidrorodamin123 (DHR123) ile akan hücre ölçeği kullanılarak değerlendirilmiştir. PD-L1 ifadesi hem gen seviyesinde gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR) ile, hem de akan hücre ölçeği kullanılarak protein seviyesinde değerlendirilmiştir. Androjen reseptörü, aromataz, HSP27 ve HSP70 gen ifadeleri ise GZ-PZR ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Her iki hücre hattında da testosteron, hücre döngüsünde birikime yol açmıştır, ancak HEP3B hücrelerinde testosteron ve letrozol+testosteron uygulamaları G0/G1 ve G2/M fazlarında artışa, S fazında azalmaya neden olurken HEPG2 hücrelerinde anlamlı G2/M birikimi gözlenmiştir. Apoptotik yanıt HEPG2 hücrelerine özgüdür. Benzer şekilde ROS birikimi de hücre hattı bağımlı olup testosteron HEP3B'de ROS artışını sağlarken bu etki letrozol kombinasyonu ile azalmıştır; HEPG2 hücrelerinde ise hem testosteron hem de letrozol+testosteron ROS seviyelerini anlamlı seviyede azaltmıştır. Gen ifadesi bağlamında değerlendirildiğinde Letrozol+testosteron uygulaması, HEP3B hücrelerinde PD-L1 ifadesini anlamlı derecede artırmaktadır, ancak HEPG2 hücrelerinde yalnızca testosteron uygulamasında PD-L1 ifadesinde artış izlenmiş, letrozol+testosteron uygulaması bu artışta azalma ile sonuçlanmıştır. PD-L1 gen ifadesi ile uyumlu bir şekilde HSP27 ve HSP70 gen ifadeleri de HEP3B hücrelerinde testosteron ve letrozol+testosteron uygulamalarında artış gösterirken HEPG2 hücrelerinde ilgili genlerde yalnızca testosteron uygulamasında anlamlı artış izlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen bulgular, HCC'de testosteronun hücre döngüsü ilerleyişi, oksidatif stres ve PD-L1 immün kontrol noktasının ifadesinin regülasyonu üzerinde hücre tipine özgü etkiler oluşturduğunu göstermektedir. Her iki hücre hattında da PD-L1 gen ifadesinde gözlenen değişikliklerin protein düzeyinde izlenmemesi, testosteronun PD-L1 regülasyonunda post-transkripsiyonel bir mekanizma aracılığıyla işlev gördüğüne işaret etmektedir. Her iki hücre hattında HSP27 ve HSP70 gen ifadelerinin PD-L1 gen ifadesiyle paralel değişim sergilemesi, PD-L1 regülasyonuna ısı şok proteinlerinin katkısını işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: hepatosellüler karsinom, testosteron, anti-kanser etki, immün kontrol noktaları

PB37 UZAY UÇUŞUNUN NÖTROFİLLERİN T LENFOSİTLER ÜZERİNDEKİ İMMÜN DÜZENLEYİCİ FONKSİYONLARINA ETKİSİ

Ece Tavukçuoğlu¹, Hamdullah Yanık¹, Hikmet Erhan Güven², Kerim Bora Yılmaz³, Güneş Esendağlı¹

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

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Etlik Şehir Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

³ Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: Uzay uçuşunun çoklu stres faktörleri aracılığıyla immün sistem üzerinde düzensizliklere yol açtığı bilinmektedir. Astronotlarda enfeksiyon yatkınlığında artış bildirilmiş olmakla birlikte, doğal ve adaptif bağışıklık hücreleri arasındaki etkileşimlerin nasıl değiştiği tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, 18 günlük Axiom Mission-3 (Ax-3) uzay görevi sonrasında astronotların periferik kan nötrofillerinin fenotipik ve fonksiyonel özelliklerindeki değişikliklerin incelenmesi ve bu hücrelerin T lenfosit yanıtları üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Ax-3 görevine katılan üç erkek astronottan fırlatmadan bir gün önce (L-1d) ve Dünya'ya dönüşten bir gün sonra (R+1d) periferik kan örnekleri alınmıştır. Yoğunluk ayırılması sonrası düşük yoğunluklu nötrofiller (LDN; <1.077 g/mL) ve normal yoğunluklu nötrofiller (NDN; >1.077 g/mL) ayrıştırılmıştır. Akım sitometri ile nötrofillerin aktivasyon ve farklılaşma ile ilişkili yüzey belirteçleri (CD11b, CD80, CD86, CD69, CD62L, CD33) analiz edilmiştir. Reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrik oksit (NO) üretim kapasiteleri floresan probalar kullanılarak ölçülmüştür. Fonksiyonel analizlerde, astronotlardan izole edilen LDN ve NDN hücreleri, sağlıklı yer kontrol bireylerinden elde edilen, anti-CD3/CD28 ile uyarılmış ve CFSE proliferasyon boyası işaretli T hücreleri ile ko-kültür edilmiştir. Ko-kültürlerin sonunda IL-2 ve IFN- γ düzeyleri akım sitometri temelli mikrobucuklu kit kullanılarak analiz edilmiştir. Bulgular ayrıca kısa süreli suborbital uçuş gerçekleştiren bir astronottan elde edilen örneklerle karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Uzay uçuşu sonrasında periferik kanda LDN fraksiyonunda belirgin artış saptanmıştır. Uçuş sonrası nötrofillerde aktivasyonla ilişkili fenotipik değişiklikler gözlenmiş; NDN popülasyonunda CD11b, CD80 ve CD86 ekspresyonu anlamlı şekilde artarken, LDN popülasyonunda CD11b ve CD69 düzeyleri yükselmiştir. LDN hücrelerinde ROS ve NO üretim kapasitesinde anlamlı artış izlenmiş, NDN'de ise özellikle NO üretiminde artış eğilimi saptanmıştır. Ko-kültür deneylerinde, uçuş sonrası nötrofillerin özellikle IL-2 sekresyonunu belirgin şekilde baskıladığı gösterilmiştir. LDN alt popülasyonu baskılayıcı etki açısından daha güçlü bulunmuştur. IFN- γ sekresyonunda da azalma eğilimi gözlenmiş, ancak T hücre proliferasyonunda anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Suborbital uçuş sonrasında ise nötrofillerde benzer düzeyde fenotipik veya fonksiyonel değişiklik gözlenmemiştir.

Tartışma ve Sonuç: Uzay uçuşu, periferik kandaki nötrofillerin aktivasyon durumunu ve immün düzenleyici özelliklerini değiştirerek T lenfosit sitokin yanıtlarını baskılayıcı yönde fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır. Özellikle artış gösteren düşük yoğunluklu nötrofil popülasyonu, adaptif bağışıklık yanıtının modülasyonunda belirleyici rol oynayabilmektedir. Elde edilen veriler, uzun süreli uzay görevlerinde immün sistemin takibinin önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Nötrofil, T lenfosit

PB38 BUFFY-COAT EKSOZOMLARININ NÖTROFİLLERİN ROS ÜRETİM KAPASİTESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Hilal Vardar¹, İrem Özveri¹, Yasemin Heper², Diğdem Yöyen Ermiş³, Salih Haldun Bal⁴, Haluk Barbaros Oral³

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Birimi, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERM), Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp-İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dr. Raşit Durusoy Kan Merkezi, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa

³ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Birimi, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERM), Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Birimi, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERM), Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dr. Raşit Durusoy Kan Merkezi, Bursa

Giriş ve Amaç: Aferez granülosit konsantresi bulunamadığında, febril nötropeni olan hastalara nötrofil desteği sağlamak için Buffy-Coat konsantreleri (BFC) transfüzyonu yapılabilir. Bu çalışmada BFC'lerden izole edilen eksozomların nötrofillerin ROS üretme kapasitesi üzerindeki etkisi; ışınlamanın, BFC'lerin elde edildikten sonra bekleme süresinin ve eksozom dozlarının etkinliği açısından değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntemler: BFC'ler (n=80) gönüllü kan bağışçılarının tam kanlarından ayrıştırıldı. Bu BFC'ler elde edilmişlerinin 1, 6, 12 ve 24. saatlerinde ışınlama işlemi yapılarak ve yapılmadan toplandı. Daha sonra plazmaları izole edilerek eşit hacimlerde birleştirildi. Bu havuzlardan ultrasantrifüjasyon (UC) ile eksozom izolasyonu gerçekleştirildi. Eksozomların karakterizasyonu için BCA (protein konsantrasyonu), Western Blot (TSG101, Flotillin-1 gibi eksozomal proteinler), Ayarlanabilir Dirençli Darbe Algılama (Tunable Resistive Pulse Sensing: TRPS, eksozom boyutu ve konsantrasyon analizi) ve Akan Hücre Ölçer (tetraspaninlerin analizi) yöntemleri kullanıldı. Eksozomların nötrofillerin ROS üretimi üzerindeki etkisi akan hücre ölçerle karboksi 2',7'-diklorodihidroflüoresin diasetat (cDCFH-DA) kullanılarak değerlendirildi (n=6). cDCFH-DA deneyleri için, nötrofiller periferik kandan 1.119 g/mL+1.077 g/mL ficoll ile ayrıldı ve CD66b+ manyetik hücre saflaştırma (Magnetic Activated Cell Sorter, MACS) yöntemiyle saflaştırıldı. Eksozomlar 3 farklı dozda (5 µl, 25 µl, 75 µl) 1x10⁶ nötrofil ile kültüre edildi. Negatif kontrol için PBS, pozitif kontrol için ise Forbol 12-miristat 13-asetat (PMA) kullanıldı.

Bulgular: Western Blot ile eksozomların TSG101 ve Flotillin-1 proteinlerini taşıdığı gösterilmiştir. TRPS ile, eksozom konsantrasyonunun 3,57E+10 partikül/mL ve ortalama boyutunun 128±45,2 nm olduğunu gösterilmiştir. Akan hücre ölçer ile eksozomların CD81 ve CD9 belirteçlerini taşıdığı gösterilmiştir. cDCFH-DA deneyleri sonucunda BFC'lere yapılan ışınlama işleminin nötrofillerin ROS indeksini azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca özellikle ışınlanmamış grupta eksozomların doza ve süreye bağlı olarak ROS indeksini azaltma eğiliminde olduğu belirlenmiştir.

Tartışma: Elde edilen sonuçlara göre BFC eksozomları nötrofillerin ROS indeksini azaltmaktadır. ROS indeks: PMA-uyarımli MFI/Kontrol MFI formülüyle hesaplanmaktadır. ROS indeksinin azalması kontrol MFI'ın PMA ile uyarımli koşula göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu da eksozom ile inkübe edilen nötrofillerin MFI düzeyinde değerlendirildiğinde ROS üretiminde bir artışa yol açtığını göstermektedir. Bu sonuçlar BFC eksozomlarının ROS üretimini artırması sebebiyle gelecekte febril nötropenili hastalara yapılan nötrofil desteğinin yerini BFC eksozomlarının alabilme olasılığını düşündürmektedir.

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TGA2-2025-2291 ve TAY-2022-601 numaralı projeler kapsamında desteklenmiştir. Yazarlar, destekleri için BUÜ BAP Birimine teşekkür eder.

Anahtar Kelimeler: Buffy-coat konsantresi, nötrofil, eksozom, ROS üretim kapasitesi

PB39 OVER KANSERİ HASTALARININ PERİFERİK KAN, ASİT SIVISI, LENF DÜĞÜMÜ VE TÜMÖR DOKUSUNDA HLA-DR+ T LENFOSİTLERİN FENOTİPİK KARAKTERİZASYONU

İşıl Akdağ Aras¹, Özhan Özdemir², Vildan Altahhan², Vefa Şakar², Kerim Bora Yılmaz³, Güneş Esendağlı¹

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

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.

³ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: MHC-II protein ailesinin bir üyesi olan HLA-DR, temel antijen sunum fonksiyonunun ötesinde, özellikle tümör mikroçevresindeki (TME) sitotoksik T lenfositleri (CTL) başta olmak üzere çeşitli T hücresi alt gruplarında kritik bir geç aktivasyon belirteci olarak tanımlanmaktadır. Güncel çalışmalar; meme kanseri ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (KHDAK) tümöre infiltrate olan CTL'lerdeki yüksek HLA-DR ekspresyonunun, gelişmiş sitotoksik kapasite ve anti-PD-1 tedavisine yönelik artmış yanıtla korelasyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular, HLA-DR'nin yalnızca bir hücrel aktivasyon göstergesi değil, aynı zamanda immünonkolojik süreçlerde potansiyel bir prognostik ve prediktif biyobelirteç niteliği taşıdığını vurgulamaktadır. Over kanserinde ise CD4⁺/CD8⁺ HLA-DR⁺ tümöre infiltrate lenfositler (TIL) hakkındaki veriler oldukça sınırlıdır ancak T lenfosit alt popülasyonlarının tümör dokusu, tümörü direne lenf nodu, asit sıvısı ve periferik kan gibi farklı anatomik kompartmanlarda belirgin fenotipik ve fonksiyonel farklılıklar gösterebildiği bilinmektedir. Bu heterojenitenin ortaya konması, tümör mikroçevresindeki immün dinamiklerin anlaşılması ve immünoterapötik yaklaşımların rasyonel biçimde yönlendirilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu çalışma, over kanserinde HLA-DR eksprese eden CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre popülasyonlarının farklı anatomik bölgelerde kapsamlı fenotipik karakterizasyonunu yaparak, gelecekteki fonksiyonel ve translasyonel analizler için güçlü ve klinik açıdan anlamlı bir ön veri zemini oluşturmayı amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntemler: Over kanseri hastalarından periferik kan ve asit sıvısı, sağlıklı donörlerden ise periferik kan örnekleri toplanarak PBMC izolasyonları gerçekleştirildi. TIL'lar ve tümöre drene lenf nodlarındaki T hücreleri, mekanik ve enzimatik sindirim yöntemleri kullanılarak elde edildi. HLA-DR eksprese eden CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre popülasyonlarının fenotipik özellikleri, hafıza alt kümeleri, regülatör T hücre (Treg) belirteçleri, immün kontrol noktası (ICI) molekülleri ve yorgunluk (exhaustion) ile ilişkili belirteçler kullanılarak değerlendirildi. Yüzey ve çekirdek boyama protokollerini takiben analizler çok parametrelili akım sitometri ile gerçekleştirildi.

Bulgular ve Tartışma: Sağlıklı donörlerle karşılaştırıldığında, kanser hastalarından elde edilen tüm örneklerde HLA-DR⁺ T hücre frekansının en az iki kat artmış olduğu belirlenirken; en yüksek ekspresyon oranı ise tümörde hem CD4⁺ hem de CD8⁺ T hücre alt gruplarında %50 olarak saptandı. Bu belirgin artış, HLA-DR⁺ T hücrelerin immünojenik olarak baskılanmış kabul edilen "soğuk" tümör mikroçevresinde potansiyel olarak aktif ve işlevsel bir rol üstlenebileceğini düşündürmektedir. Hafıza alt grup dağılımı literatürle uyumlu biçimde, CD4⁺ T hücrelerinde tüm hasta ve sağlıklı örneklerde efektör hafıza (Tem) fenotipinin baskın olduğunu gösterdi. Buna karşılık CD8⁺T hücre kompartmanında, periferik örneklerde ve asitte gözlenen Tem ağırlıklı dağılımın tümör mikroçevresinde dokuda yerleşik hafıza (Trm) hücrelerine kaydı saptandı. Nitekim HLA-DR⁺ T hücrelerin ortalama %53'ünün Trm fenotipinde olması, uzun ömürlü ve antijen-spesifik yanıt kapasitesine sahip bu hücrelerde aktivasyon belirtecinin yüksekliğinin biyolojik önemini desteklemektedir. İmmün kontrol noktası analizlerinde ise CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerde TIM-3 ve PD-1 ekspresyon oranları sırasıyla ortalama %20 ve %60'a ulaşmış ve her iki belirtecin HLA-DR ekspresyonu ile anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği ortaya konmuştur. Kan ve asit örnekleri benzer hücrel içerik sergilemekle birlikte, tümöre anatomik yakınlık arttıkça ICI ekspresyonlarının belirginleştiği gözlenmiştir. HLA-DR⁺ hücrelerin yalnızca %5'inin Treg fenotipinde olması, bu popülasyonun baskın olarak düzenleyici

karakter taşımadığını göstermektedir. TOX ekspresyonu tüm hasta örneklerinde TCF-1/7'ye kıyasla belirgin derecede yüksek olup, özellikle tümör mikroçevresinde daha yoğun sinyal vermiştir. HLA-DR+ T hücrelerde TOX düzeyi daha yüksek olmasına rağmen korelasyon analizinde istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: HLA-DR+T lenfositler, immünofenotip, biyobelirteç, over kanseri

PB40 SALMONELLA TYPHIMURIUM, İNFLAMAZOM İMMÜN YANITINDAN GASDERMİN B KONAK PROTEİNİNİ DÜZENLEYEREK KAÇMAKTADIR

Musa Çelik², Elif Eren¹

¹ Bahçeşehir Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İnflamazomlar ve Hücre Ölümü Laboratuvarı, Beşiktaş, İstanbul, Türkiye

² Bahçeşehir Üniversitesi, Biyomühendislik Doktora Programı, İnflamazomlar ve Hücre Ölümü Laboratuvarı, Beşiktaş, İstanbul, Türkiye

Giriş ve Amaç: Doğal bağışıklık sistemi, patojenleri tanımak ve bertaraf etmek amacıyla inflamazom olarak adlandırılan sitoplazmik protein komplekslerini aktive eder. Bu süreçte inflamazomlar, Gasdermin ailesi proteinlerini proteolitik olarak keserek piroptoz adı verilen programlı hücre ölümünü tetikler. Güncel çalışmalar, bu ailenin bir üyesi olan Gasdermin B'nin (GSDMB), doğrudan bakteri membranına bağlanarak Gram-negatif bakteriler üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Buna karşın Shigella flexneri IpaH7.8 übikitin ligazı aracılığıyla GSDMB'nin proteazomal yıkımını indükleyerek bu savunma mekanizmasından kaçabilmektedir. Ancak, benzer immün kaçış stratejilerinin diğer patojenler tarafından kullanılıp kullanılmadığı henüz tam olarak aydınlatılmamış bir araştırma konusudur.

Gereç ve Yöntemler: Çalışma kapsamında, Salmonella Typhimurium (STm) enfeksiyonu sırasında GSDMB ile bir bakteriyel aday übikitin ligaz arasındaki etkileşim detaylı bir şekilde incelenmiştir. STm enfeksiyonunu takiben GSDMB'nin ifade düzeyleri ve post-translasyonel modifikasyonu olan übikitinasyonu, Western blot (WB) yöntemiyle analiz edilmiştir. İnsan epitel hücre hatlarında GSDMB ve aday eş-ifade edilmiş ve bu etkileşimin bakteriyel sağkalım üzerindeki etkisi CFU (koloni oluşturan birim) analizi ile değerlendirilmiştir. Aday ve GSDMB arasındaki fiziksel etkileşim, immün çöktürme (IP) ve immün boyama (IF) teknikleriyle doğrulanmıştır.

Bulgular: Elde edilen bulgular, Salmonella Typhimurium'un konak epitel hücrelerindeki GSDMB temelli bağışıklık yanıtını, efektör protein aracılığıyla manipüle ettiğini göstermektedir. Analizler sonucunda, GSDMB'nin enfeksiyon sırasında kesilmediği, ancak übikitinlendiği tespit edilmiştir. Bulgular, übikitin ligaz varlığında STm sağkalımının anlamlı derecede azaldığını göstermiştir.

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen veriler, Salmonella Typhimurium'un konak epitel hücrelerindeki GSDMB temelli bağışıklık yanıtını, efektör protein aracılığıyla hedeflediğini ilk kez ortaya koymaktadır. Mevcut bulgular, STm'in epitelyal bariyerdeki Gasdermin kaynaklı savunma hattını aşmak için özgün bir immün kaçış mekanizması geliştirmiş olabileceğine işaret etmektedir. Bu stratejinin etkinliğini daha derinlemesine incelemek adına ileri düzey immün çöktürme ve eş-lokalizasyon boyama deneyleri planlanmaktadır. Sonuç olarak bu çalışma, konak-patojen arasındaki dinamik etkileşimin moleküler temellerini aydınlatırken, bakteriyel immün kaçıştan sorumlu yeni bir efektörün tanımlanmasıyla antimikrobiyal stratejilerin geliştirilmesine potansiyel bir temel sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: GSDMB, Salmonella Typhimurium, übikitin ligaz, immün kaçış

PB41 İN VİVO AKCİĞER TÜMÖR MİKROÇEVRESİNİ İNCELEMEK İÇİN TEKRARLANABİLİR YÖNTEM: ASPİRASYONLA OLUŞTURULAN ORTOTOPİK AKCİĞER KANSER MODELİ

Müge Özkan¹, Irem Evcili¹, Bilgi Güngör²

¹ İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir

² İzmir Biyotıp ve Genom Enstitüsü, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir

Giriş ve Amaç: Solid tümörler, kanserle ilişkili morbiditenin büyük kısmını oluşturur. Bunun nedenleri arasında immün baskılayıcı tümör mikroçevresi (TMÇ), hızlı tümör büyümesi ve tümör içine yetersiz immün hücre infiltrasyonu yer almaktadır. TMÇ, tedavi yanıtının belirleyici unsurlarından biridir. Ancak TMÇ'nin ayrıntılı biçimde incelenmesine olanak tanıyan optimize edilmiş prelinik ortotopik kanser modellerinin sınırlı olması, yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesini ve değerlendirilmesini kısıtlamaktadır.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmada, luciferaz eksprese eden Lewis akciğer karsinomu (LL2-luc2) hücrelerinin aspirasyon yoluyla inokülasyonuna dayanan non-invaziv bir ortotopik akciğer kanseri modeli oluşturduk. İnokülasyon sonrasında hayvan sağlığı rutin ağırlık ölçümleri ile izlenirken, tümör büyümesi in vivo biyoluminesans görüntüleme (BLI) yöntemiyle takip edildi. İnsani son noktaya ulaşan deney hayvanlarının akciğerleri toplanarak, H&E boyaması sonrasında tümör yükü dijital patoloji kullanılarak hesaplandı.

Bulgular: Aspirasyon yoluyla oluşturulan ortotopik akciğer kanseri modeli, hayvanların tamamında (%100) tutarlı tümör yerleşimi sağladı ve inokülasyondan 40 gün sonra tanımlı bir deneysel sonlanım noktası sundu. BLI ile ileri zaman noktalarında biyoluminesans sinyaller saptandı ve tümör ilerlemesinin, sonlanım noktasındaki histopatolojik tümör yükü ile yakın uyum gösterdiği belirlendi. Akciğerlerin immünfloresans analizi, immün hücrelerin ağırlıklı olarak tümör sınırlarında lokalize olduğunu ortaya koyarak, tümör içine sınırlı immün hücre infiltrasyonu ile karakterize bir TMÇ fenotipine işaret etti.

Tartışma ve Sonuç: Sonuç olarak, aspirasyona dayalı bu ortotopik akciğer kanseri modeli, immünolojik olarak “soğuk” solid tümörlerin temel özelliklerine uyan, tekrarlanabilir bir platform sunmakta ve tümör biyolojisinin yanı sıra klinikte tedaviye yanıt vermeyen tümörler için geliştirilen yeni yaklaşımların test edilebileceği prelinik çalışmalar açısından değerli bir araç oluşturmaktadır.

Acknowledgement: This publication was created by benefiting from the 2236-B Marie Skłodowska-Curie Actions (MSCA) Cofund Scholarship Programs Contribution Fund Program (TUBITAK Project ID: 123C460) and Horizon Europe MSCA Cofund Postdoctoral Program (EU project ID:101126492). Views and opinions expressed are, however, those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or TUBITAK. Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.

Anahtar Kelimeler: Ortotopik akciğer kanser modeli

PB42 VİROLOJİ VE İMMÜNOLOJİ ARAŞTIRMALARINDA TUNABLE RESİSTİVE PULSE SENSİNG (TRPS) İLE NANOPARTİKÜL ANALİZİ

Nilay Tereci¹, Kadir Yeşilbağ¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Ana Bilim Dalı

Giriş ve Amaç: İmmünolojik süreçlerde ve viroloji araştırmalarında viral partiküller, eksozomlar ve mikropartiküller gibi ekstraselüler veziküllerin miktar tayini ve fiziksel karakterizasyonu büyük önem taşımaktadır. Geleneksel yöntemler, partikül boyutu, morfolojisi, enfektif titre veya nükleik asit içeriği hakkında değerli bilgiler sağlamakla birlikte, toplam fiziksel partikül sayısının doğrudan belirlenmesi ve heterojen örneklerde partikül alt popülasyonlarının ayırt edilmesi açısından sınırlı kalabilmektedir. Bu çalışmanın amacı, tek nanopartikül düzeyinde ölçüm yapabilen Tunable Resistive Pulse Sensing (TRPS) yönteminin viral partiküller ve ekstraselüler veziküllerin fiziksel konsantrasyonu ile boyut dağılımının belirlenmesindeki potansiyelini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Nanopartikül analizleri, TRPS teknolojisine dayanan İzon Exoid sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Bu sistem, partiküllerin ayarlanabilir bir nanopordan tek tek geçişi sırasında oluşan direnç değişimlerini ölçerek partikül boyutu, konsantrasyonu ve zeta potansiyeli gibi parametreleri tek partikül düzeyinde analiz edebilmektedir. Uygulama örneği olarak Bovine viral diarrhoea virus non-sitopatojenik izolatı (BVDV-TR21; zarflı RNA virusu, 40-60nm) ve Bovine herpesvirus tip 1 izolatı (BoHV-1 8640; zarflı DNA virusu, 150-200nm) değerlendirildi.

Bulgular: TRPS analizinin viral süspansiyonlardaki virionların fiziksel olarak karakterize edilmesine olanak sağladığı görüldü. BVDV ncp izolatı TR21'de ortalama partikül çapı 88 nm ve partikül konsantrasyonu 1.63×10^8 partikül/mL olarak belirlendi. BoHV-1 izolatı 8640'ta ise ortalama partikül çapı 107 nm ve partikül konsantrasyonu 1.11×10^9 particles/mL olarak saptandı. Elde edilen veriler, farklı viral izolatların partikül boyutu dağılımı ve fiziksel konsantrasyon bakımından ayırt edilebilir profiller sergilediğini gösterdi. Bulgular, TRPS yönteminin yalnızca nanopartikül sayımı için değil, aynı zamanda viral preparatların heterojenitesinin değerlendirilmesinde de kullanışlı olabileceğini ortaya koydu.

Tartışma ve Sonuç: TRPS teknolojisi, viroloji ve immünoloji araştırmalarında viral partiküllerin ve ekstraselüler veziküllerin kantitatif karakterizasyonu için hızlı, güvenilir ve tekrarlanabilir bir yaklaşım sunmaktadır. İzon Exoid sistemi ile elde edilen veriler, yöntemin viral süspansiyonların fiziksel özelliklerinin ortaya konulması ve kalite değerlendirme süreçlerinde etkili biçimde kullanılabileceğini göstermektedir. Bu yaklaşımın aşı geliştirme, viral preparat standardizasyonu ve biyolojik ürün kalitesinin izlenmesi gibi alanlarda önemli katkılar sağlayabileceği düşünülmektedir. Ancak çalışılacak her bir virus için ön validasyon çalışması ve ölçüm aralığının belirlenmesine ihtiyaç duyulduğu anlaşılmaktadır.

Bu çalışma, BUÜ BAP Projesi: TSG-2022-845 kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tunable resistive pulse sensing (TRPS), nanopartikül analizi, viral partikül, ekstraselüler veziküller, izon exoid

PB43 ANTİ-MDA5 DERMATOMİYÖZİTLİ HASTALARDA OTOANTİKOR REAKTİVİTESİNİN VE HLA SINIF II ALLELLERİNİN KARAKTERİZASYONU

Pınar Şahin¹, Marina Galesic¹, Deniz Demirdal², Andrea Kemp¹, Leonid Padyukov¹, Ingrid Lundberg¹, Antonella Notarnicola², Begüm Horuluoğlu¹

¹ Division of Rheumatology, Department of Medicine, Karolinska Institutet and Center for Molecular Medicine, Karolinska University Hospital, Solna, Sweden

² Department of Gastroenterology, Dermatology and Rheumatology, Karolinska University Hospital And Center for Molecular Medicine, Solna, Sweden

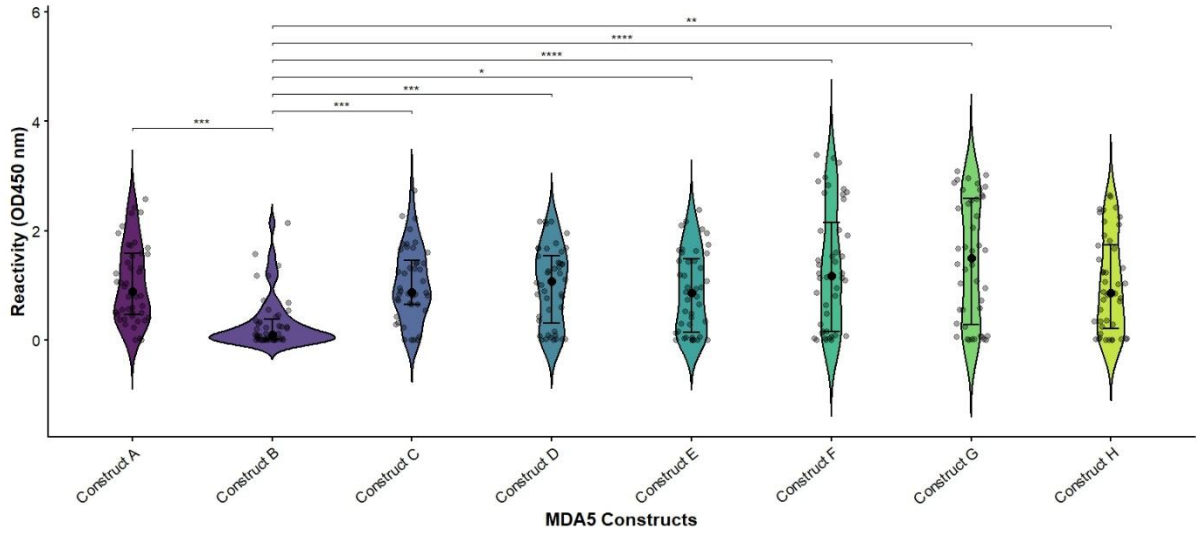
Giriş ve Amaç: Anti-melanom farklılaşması ile ilişkili protein 5 (anti-MDA5) pozitif dermatomiyozit (DM), doğuştan antiviral sinyal iletimi için elzem olan sitozolik bir RNA helikazı olan MDA5'e karşı gelişen otoantikorlarla karakterize, özgün bir miyozit alt grubudur. Anti-MDA5 otoantikorlarına sahip hastalarda sıklıkla mortalite artışına yol açabilen progresif interstisyel akciğer hastalığı gelişmektedir. Bu nedenle, progresif akciğer hastalığı riski taşıyan hastaların belirlenmesi tedavi stratejilerini iyileştirebilir. Bu çalışmada, bir İsveç kohortunda MDA5 proteininin farklı domainlerine karşı gelişen otoantikor reaktivitesini karakterize etmeyi ve HLA sınıf II allellerini analiz etmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya 44 anti-MDA5 pozitif dermatomiyozit hastası dahil edildi. Serum ve DNA örnekleri Karolinska Üniversite Hastanesi bünyesinde toplandı. Tam uzunluktaki MDA5 proteini, CARD domain, helikaz subdomainleri ve C-terminal domain (CTD) yapılarını kapsayan rekombinant konstrüktlere karşı serum reaktivitesini değerlendirmek amacıyla kurum içi (in-house) bir ELISA yöntemi kullanıldı (*Van Gompel, Eveline et al., Rheumatology (Oxford, England), 2024, PMID: 37572295*). Reaktivite, optik dansite (OD) olarak nicelleştirildi. Arbitrer ünitelerin interpolasyonu için bir anti-MDA5 hastasından alınan plazma standart eğri olarak kullanıldı. Domain-spesifik farklılıklar Kruskal–Wallis testi ve sonrasında çoklu karşılaştırmalar için Dunn's post-hoc testi ile analiz edildi. Bir grup hastada (n = 15), Olerup SSP DRB1 kiti kullanılarak düşük çözünürlüklü (low-resolution) HLA-DRB1 tiplemesi yapıldı.

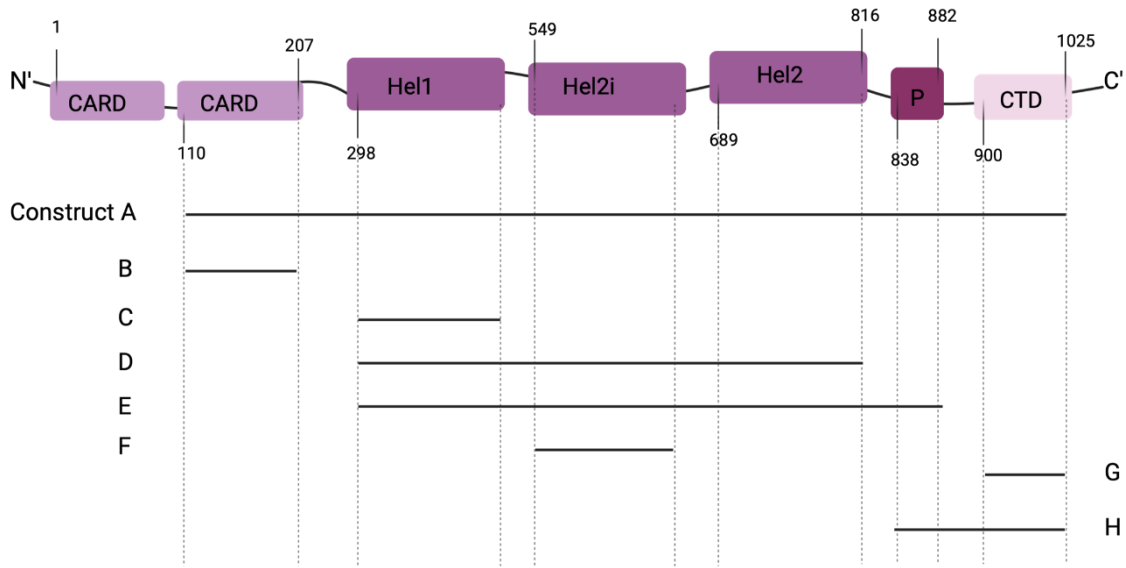
Bulgular: Daha önce daha küçük bir kohortta bildirilmiş olan bulgularla benzer şekilde (*Van Gompel et al., Rheumatology (Oxford, England), 2024; PMID: 37572295*), helikaz domainlerinin ana reaktif bölgeleri oluşturduğu domain-spesifik bir reaktivite paterni gözlemledik. Domain-spesifik reaktivitede istatistiksel olarak anlamlı farklar saptandı (p < 0.05); bu durum, yapılandırılmış bir immünodominant hedeflemenin varlığına işaret etmektedir. CARD domain (Construct B), diğer konstrüktlerle kıyaslandığında anlamlı derecede düşük reaktivite (Medyan=0.1014) gösterdi. Buna karşın, CTD (Construct G) (Medyan=1.502) ve helikaz domainlerini (Constructs C, D, E, F) (Medyan=0.983) kapsayan konstrüktlerde anlamlı derecede yüksek reaktivite saptandı. Ayrıca CTD ve Hel2i (Construct F) subdomain konstrüktleri, otoimmün yanıtların karakteristik bir özelliği olan hastalar arası heterojenite (inter-patient heterogeneity) ile uyumlu olarak daha geniş çeyrekler arası aralıklar (IQR sırasıyla 2.30 ve 1.99) sergiledi. HLA-DRB1 tiplemesi sonucunda, bu kohortta en sık görülen allellerin *HLA-DRB1*13* (%30) ve **04* (%27) olduğu belirlendi.

Tartışma ve Sonuç: İncelenen bu İsveç kohortundaki anti-MDA5 otoantikorları; CARD domainini hedef almazken, enzimatik olarak aktif helikaz çekirdeği (helicase core) ve CTD'yi öncelikli olarak hedefleyen net bir domain-spesifik reaktivite sergilemektedir. *HLA-DRB1*13* ve **04* en sık saptanan alleller olup, bu allel tipleri ile hasta reaktivite paternleri arasındaki muhtemel ilişki henüz keşfedilmeyi beklemektedir. Bu bulgular, helikaz çekirdeği ve CTD'nin öncelikli tanınma (preferential recognition) sergilediğini ortaya koymakta ve anti-MDA5 pozitif dermatomiyozitte otoantikor epitop spesifitesi ile genetik yatkınlığın entegre edilmesine yönelik bir temel oluşturmaktadır.

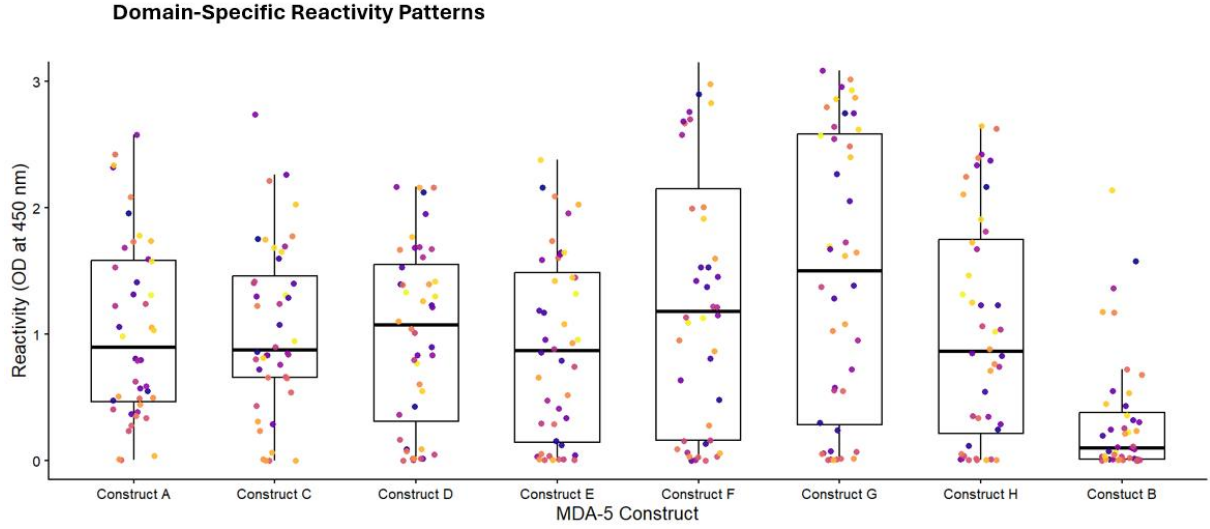
Anahtar Kelimeler: Anti-MDA5 Dermatomiyozit, Epitop Haritalama, HLA-DRB1 Allelleri, İnterstisyel Akciğer Hastalığı



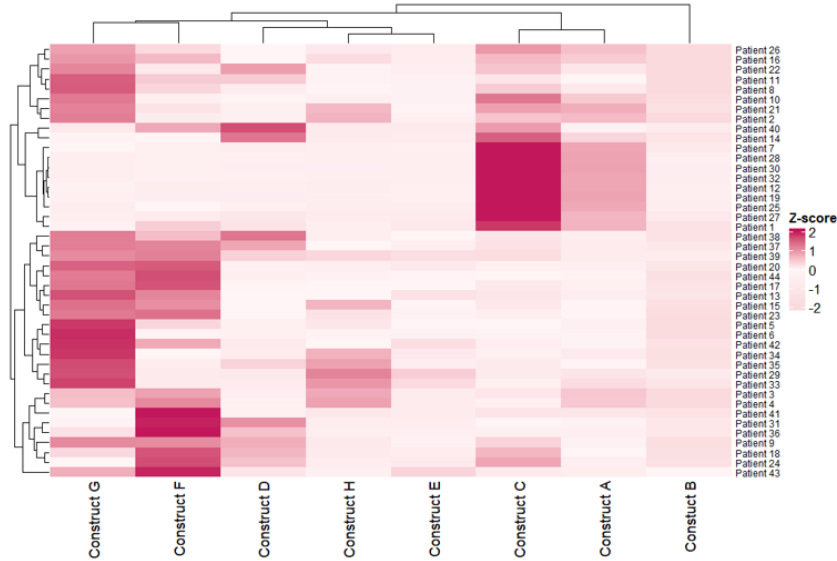
Şekil 1. MDA5 domainlerine karşı reaktivitenin dağılımı: Violin grafiği her bir konstrükt için OD450 değerlerinin dağılımını göstermektedir. Noktalar bireysel hastaları temsil etmektedir. Merkezi çizgi medyana, hata çubukları çeyrekler arası aralığı göstermektedir. Domainler arası farklılıklar Kruskal–Wallis testi ve Dunn çoklu karşılaştırma testi ile analiz edilmiştir. Helikaz ve C-terminal domain konstrüktlerinde CARD domainine kıyasla anlamlı derecede yüksek reaktivite saptanmıştır.



Şekil 2. MDA-5 rekombinant konstrüksiyonları



Şekil 3. MDA5 konstrüktlerine karşı domain-spesifik otoantikor reaktivitesi: Anti-MDA5 pozitif dermatomiyozit hastalarına ($n = 44$) ait serum örneklerinde, farklı MDA5 konstrüktlerine (A–H) karşı ölçülen ELISA reaktivitesi (OD 450 nm) gösterilmektedir. Her bir nokta bireysel bir hastayı temsil etmektedir. Kutular medyan ve çeyrekler arası aralığı (IQR), whisker'lar ise minimum–maksimum değerleri göstermektedir. Helikaz domainlerini (Construct C–F) ve C-terminal domaini (Construct G) içeren konstrüktlerde daha yüksek reaktivite gözlenirken, CARD domaini (Construct B) düşük reaktivite göstermiştir.



Şekil 4. Domain-spesifik reaktivitenin hiyerarşik kümeleme analizi: Isı haritası, hastaların antikor profillerine göre gruplandığını ve MDA5 bölgelerine verdikleri ortak yanıtları görselleştirmektedir. Renk dağılımında kırmızı tonlar yüksek reaktiviteyi simgelerken, sol taraftaki dendrogram benzer profildeki hastaları kümeleyerek Construct G (CTD) veya C (Hel1) odaklı farklı reaktivite paternlerini ortaya koymaktadır. Özellikle G, F (Hel2i) ve C sütunlarındaki renk yoğunluğu, bu bölgelerin immünodominant karakterini ve öncelikli hedef olduğunu desteklemektedir.

PB44 STAT3 MUTASYONLARINDA DOMAIN-SPEŞİİK FOSFORİLYON YANITLARI

Rabia Ema Kara¹, Kevser Yılmaz¹, Ayşe Dölen¹, İsmail Yaz¹, Begüm Çiçek¹, Emel İsiyel², Saliha Emenboğa², Elif Soyak Aytekin², Deniz İlğün Gürel², Büşra Hotaman², Çiğdem Ertuğrul², Ceren Üstün², Alp Kazancıoğlu², Deniz Çağdaş Ayvaz², Sevil Oskay Halaçlı¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler Ana Bilim Dalı, Ankara

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

Giriş ve Amaç: STAT3, sitokin aracılı sinyal iletiminde ve immün yanıtın düzenlenmesinde merkezirol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. STAT3 geninde meydana gelen patojenikvaryantlar, immün sistemde farklı klinik fenotiplere yol açabilen loss-of-function (LoF) ve gain-of-function (GoF) tablolarına neden olabilmektedir. Bununla birlikte, STAT3 proteinindeki farklı fonksiyonel domainlerde yer alan mutasyonların sinyal iletim dinamikleriüzerindeki etkileri henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu çalışmada, STAT3 loss-of-function, gain-of-function ve DNA bağlanma domaini mutasyonuna sahip hastalarda, IL-6 ile uyarım sonrası STAT3 fosforilasyon yanıtının fosfo-akım sitometrisi ile değerlendirilmesi vesonuçların sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya STAT3 LoF, STAT3 GoF ve DNA bağlanma domaini mutasyonuna sahip hastalar ile yaş uyumlu sağlıklıkontroller dahil edilmiştir.

Gereç ve Yöntemler: Hastalardan ve kontrollerden elde edilenperiferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) IL-6 ile uyarılarak STAT3 fosforilasyonu(pSTAT3) fosfo-akım sitometrisi yöntemi ile değerlendirilmiştir. STAT3 aktivasyonkinetiğini belirlemek amacıyla farklı zaman noktalarında uyarım yapılarak zaman bağımlıanalizler gerçekleştirilmiştir. Ön deneylerde yapılan optimizasyon sonucunda IL-6 uyarımından sonraki 15. dakika, fosforilasyon yanıtının en belirgin şekilde gözleendiği zaman noktası olarak belirlenmiştir. STAT3 fosforilasyon düzeyleri median floresan intensitesi (MFI) kullanılarak değerlendirilmiş ve hasta grupları ile sağlıklı kontroller arasındaki karşılaştırılmıştır.

Bulgular: IL-6 ile uyarım sonrası sağlıklı kontrol hücrelerinde belirginSTAT3 fosforilasyonu gözlenmiştir. Buna karşılık, STAT3 mutasyonu taşıyan hastalardafosforilasyon yanıtının mutasyon tipine göre farklılık gösterdiği saptanmıştır. Loss-of-functionvaryantlarına sahip hastalarda, IL-6 uyarımına yanıt olarak STAT3 fosforilasyonunun azaldığıgözlenirken; gain-of-function varyantlarında kontrol grubundan farklı fosforilasyon patemleriizlenmiştir. Özellikle DNA bağlanma domaininde yer alan mutasyonların, klasik LoF ve GoFvaryantlarından farklı fosforilasyon profilleri gösterdiği dikkat çekmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, STAT3 genindeki farklı fonksiyonel domainlerde yer alan mutasyonların STAT3fosforilasyon yanıtını farklı şekillerde etkileyebildiğini göstermektedir. Elde edilen bulgular, STAT3 varyantlarının yorumlanmasında domain-spesifik fonksiyonel değerlendirmelerinönemini ortaya koymakta ve fosfo-akım sitometrisinin immün disregülasyon hastalıklarındahızlı ve etkili bir fonksiyonel analiz yöntemi olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Stat3

PB45 TİMOMA-İLİŞKİLİ MYASTHENİA GRAVİS'TE ÇİFT-NEGATİF B HÜCRELERİNİN KEMOKİN RESEPTÖR PROFİLİ: PERİFER VE TİMUSTAĞILIMLARI

Recep Burak Mert¹

¹ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Giriş ve Amaç: Myasthenia gravis (MG), nöromüsküler kavşaktaki iletiyi bozan otoimmün bir hastalıktır. Kavşak iletişinde kasta yer alan asetilkolin reseptörü (AChR) veya kasa özgül kinaz (MuSK) moleküllerine karşı gelişen antikorlar rol oynamaktadır. MG, otoantikor profili ve timus patolojisine bağlı olarak AChR pozitif MG (AChR-MG), MuSK pozitif MG (MuSK-MG) ve timoma ile ilişkili MG (TAMG) gibi alt gruplara ayrılmaktadır. AChR-MG ve TAMG altgruplarında timus patolojisi de gelişmektedir. Son yıllarda, B hücrelerinin yaş ile ilişki gösteren, özellikle çift-negatif (IgD⁺ CD27⁻) olarak tanımlanan alt gruplarının MG patogenezinde oynadığı potansiyel rol dikkat çekmektedir. Bu hücrelerin kemokin reseptör profilleri, hücrelerin doku mikroçevrelerindeki dağılımını ve otoimmün süreçlerdeki rollerini belirleyebilir. Bu çalışmada, AChR-MG, MuSK-MG ve TAMG hasta gruplarının periferik kan hücrelerinde, sağlıklı donörlere kıyasla çift-negatif B hücrelerinin kemokin reseptör profillerini inceleyerek, periferdeki potansiyel farklılıkları ortaya koymak ve timus ile perifer farklarını incelemek amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya 14 AChR-MG, 13 TAMG, 9 MuSK-MG hastası ve 15 sağlıklı donör dahil edildi. Ayrıca, TAMG grubundan 6 hastada timektomi ile timus dokusu elde edildi. Donörlerin kanından periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH), timus dokularından ise timositler izole edildi. Tüm örneklerde CD19+IgD⁺CD27⁻ çift-negatif B hücreleri ölçüldü ve bu hücreler içerisinde CXCR3 ve CXCR5 reseptör dağılımı incelendi.

Bulgular: İncelenen tüm gruplardan sadece TAMG hastalarının periferik kanında çift-negatif (IgD⁺ CD27⁻) B hücre oranı sağlıklı kontrollere göre yüksek bulundu (%62,1 vs. 37,7, p = 0,001). Bu B hücre grubu içinde ise toplam CXCR3⁺ ve CXCR3⁺CXCR5⁺ alt gruplarının, TAMG hastalarında anlamlı şekilde düşük kaldığı saptandı (%61,7 vs. 83,1, p = 0,018 ve %46,1 vs. 71,4, p = 0,006). AChR-MG ve MuSK-MG gruplarında çift-negatif B hücre dağılımı kontrollerden farklı değildi. Bu hastalardan timus örneği bulunan örneklerde yapılan karşılaştırmada, TAMG hasta grubunda ise timus dokusunda hem çift-negatif B hücrelerinin, hem de bu gruptaki CXCR3⁺CXCR5⁺ alt grubunun aynı hastaların periferik kanına göre daha yüksek olduğu saptandı (%51,6 vs. 29,4, p = 0.013; %17,1 vs. 10,2, p = 0,046).

Tartışma ve Sonuç: Bu bulgular, TAMG'de çift-negatif B hücrelerinin kemokin reseptör profili değişiklikleriyle timik mikroçevrede birikim gösterebileceğine işaret etmektedir. Timusun, TAMG patogenezinde B hücreleri için bir odak işlevi görebileceği ve bu durumun hastalığın seyrini etkileyebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Myasthenia gravis, otoimmünite, B hücreleri, çift negatif

PB46 IL-9'UN BİLİNMEYEN İMMÜNOMETABOLİK ROLÜ: İMMÜNSÜPRESİF T HÜCRE YANITLARI

Muhammed Ali Kızmaz¹, Abdurrahman Şimşek¹, Tuğçe Bozkurt¹, Ali Eren Işkın¹, Ferah Budak Şener¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa

Giriş ve Amaç: Hücresel enerji döngüsünün önemli bir parçası olan adenosin trifosfat (ATP), aynı zamanda doku hasarı ve enflamasyon gibi durumlarda önemli bir sinyal molekülü olarak görev yapar. ATP'nin hücre dışına salınımı ve CD39 ile CD73 gibi ektonükleotidazlar aracılığıyla adenosine dönüştürülmesi, immün yanıtların düzenlenmesinde kritik metabolik yolak oluşturur. Çalışmamızda, IL-9'un ATP-adenosin metabolizması üzerindeki düzenleyici potansiyeli ve bu etkinin özellikle T hücre yanıtları üzerindeki yansımalarının sistematik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Sağlıklı bireylerden (n=12) izole edilen periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH), IL-9'un neden olduğu fenotipik, fonksiyonel ve metabolik değişiklikleri karakterize etmek ve altta yatan mekanizmaları araştırmak amacıyla rekombinant IL-9 veya anti-IL-9 ile kültüre alındı, T hücre yanıtlarındaki değişiklikler, Akan Hücre Ölçer (AHÖ) ve Enzim Bağımlı İmmünoresin Yöntem (ELISA) teknikleriyle analiz edildi. IL-9'un T hücre yanıtları üzerindeki etkilerinde CD39/CD73 ektonükleotidazların rolünü test edebilmek için ek olarak bu enzimlerin farmakolojik inhibitörleri eklendi.

Bulgular: IL-9'un ana T hücre popülasyonlarının frekansını değiştirmezken, CD39 ve CD73 ekspresyonunu artırarak ATP'nin adenosine dönüşümünü hızlandırdı. Kültür ortamındaki ATP düzeyleri IL-9 ile azalırken, adenosin artış eğilimi gösterdi. Bu mekanizma, özellikle regülatör T (Treg) hücrelerde immünoresin bir mikroçevre oluşumunu destekledi. IL-9 uyarımıyla IL-4 ve IL-10 üretimi artarken IL-17A, perforin ve granzim-B üretimi azaldı. Bununla birlikte T hücre proliferasyonu baskılandı. IL-9 aracılı T hücre yanıtlarının immünometabolik regülasyonu, CD39/CD73 ektonükleotidaz aktivitelerinin inhibisyonuyla tersine döndü.

Tartışma ve Sonuç: Verilerimiz, bildiğimiz kadarıyla literatürde daha önce araştırılmamış olan "IL-9–CD39/CD73–ATP/adenosin–immünoresin T hücre yanıtları" eksenini ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgular, IL-9 aracılı immünometabolik regülasyonun özellikle kronik enflamasyon, otoimmün hastalıklar ve kanser gibi patolojilerde, immünoterapötik yaklaşımların geliştirilmesi açısından hedeflenebilecek potansiyel bir mekanizma sunduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: ATP-Adenosin metabolizması, CD39, CD73, IL-9, immünometabolizma, pürinerjik sinyalizasyon

PB47 IN VİTRO BİR HEPATOSELÜLER KARSİNOM MODELİNDE CD47 ARACILI İMMÜN KAÇIŞIN DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN FAGOSİTOZ TEMELLİ KO-KÜLTÜR SİSTEMİNİN OPTİMİZASYONU

Yaren Nohut¹, Müjdat Atılğan², H. Barbaros Oral³, Diğdem Yöyen Ermiş³

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü; Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Grubu (EXPERIM)

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Yetiştirim ve Araştırma Birimi (DENHAB), Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Grubu (EXPERIM)

³ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Yetiştirim ve Araştırma Birimi (DENHAB), Deneysel Ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Grubu (EXPERIM); Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp-İmmünoloji Anabilim Dalı

Giriş ve Amaç: Hepatoselüler karsinom (HCC), immün kontrol noktası tedavilerine sınırlı yanıt veren ve immüno-supresif tümör mikro çevresi ile karakterize bir malignitedir. CD47-SIRPα eksenini, tümör hücrelerinin makrofaj aracılı fagositozdan kaçışında rol oynayan temel “beni yeme” sinyallerinden biridir. Bunun yanı sıra son yıllarda SLAMF6 ve SLAMF7 moleküllerinin de pozitif/negatif etkileri ile bu sinyalizasyonda etkili olabileceği ile ilgili literatürde öncül çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmamızda, CD47/SLAMF6/SLAMF7 aksını anlayabilmek için, HEPG2 ve THP-1 hücreleri kullanılarak in vitro ko-kültür modeli oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu kapsamda en önemli basamak olan CD47 aracılı immün kaçışın değerlendirilmesine yönelik fagositoz analiz koşullarının optimizasyonu için en doğru deney kurgusunun oluşturulması ve standardizasyonu amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada HCC modeli olarak HEPG2, efektör hücre modeli olarak THP-1 hücre hattı kullanıldı. THP-1 hücreleri hem süspansiyon halinde hem de PMA ile farklılaştırılmış makrofaj benzeri fenotipte değerlendirildi. HEPG2 ve THP-1 hücrelerinde bazal CD47, SLAMF6 ve SLAMF7 yüzey ekspresyonları akış sitometrisi ile analiz edildi. HEPG2 hücrelerinde hücre kaldırma yöntemi (accutase/trypsin) ve ekim yoğunluğunun yüzey belirteçlerine etkisi karşılaştırıldı. Fagositoz deneylerinde HEPG2 hücreleri floresan membran boyası 1,1'-Diocetadecyl-3,3,3'-tetramethylindotricarbocyanine iodide (DIR) ile işaretlendi ve THP-1 hücreleri ile ko-kültüre alındı. Fagositoz, CD11b⁺ hücre popülasyonu içinde DIR pozitifliğinin değerlendirilmesiyle analiz edildi. Farklı deney serilerinde hücre oranı (1:20 ve 1:3), hücre sayıları ve ko-kültür süreleri (30 dk, 2 saat, 6 saat) optimize edildi. CD47 blokajı için CD47-PE ve CD47-BV421 konjugatları karşılaştırıldı. Ayrıca blokajın eş zamanlı uygulanması ile HEPG2 hücrelerine ön inkübasyon sonrası uygulanması karşılaştırılarak en uygun deney koşulları belirlendi.

Bulgular: Kurulan ko-kültür sisteminde fagositoz ölçümünün deneysel parametrelere güçlü bir şekilde bağımlı olduğu saptandı. HEPG2 hücrelerinde CD47 ekspresyonu yüksek ve stabil izlenirken, SLAMF6 ve SLAMF7 ekspresyonlarının düşük ve hücre kaldırma yönteminden etkilenebilir olduğu gözlemlendi. PMA ile muamele edilmiş THP-1 hücrelerinde ise yüzey fenotipinin inkübasyon süresi ve accutase/trypsin kullanımına göre değiştiği saptandı. Fagositoz deneylerinde 1:3 hücre oranı, özellikle 20.000 HEPG2/60.000 THP-1 koşulunda, daha tutarlı ve yorumlanabilir sinyal verdi. İki saatlik ko-kültür, 30 dakikalık kısa inkübasyona göre daha kararlı sonuçlar sağladı. CD47 blokajının THP-1 eklenmeden önce uygulanıp ön inkübasyon yapılması, eş zamanlı eklemeye kıyasla daha uygun bir deneysel yaklaşım olarak öne çıktı. Buna karşılık, farklı parametrelerin aynı anda değiştirildiği erken deney serilerinde belirgin varyasyon izlendi.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, HEPG2-THP-1 temelli in vitro HCC fagositoz modelinde biyolojik yorum yapılabilmesi için öncelikle deneysel sistemin ayrıntılı şekilde standardize edilmesi gerektiğini göstermektedir. Özellikle hücre oranı, inkübasyon süresi, hücre kaldırma yöntemi, floresan boyama protokolü ve CD47 blokaj zamanlaması fagositoz çıktısını belirgin biçimde etkilemektedir. Ayrıca, CD47 tespiti için kullanılan floresan konjugatların performansı karşılaştırıldığında, CD47-PE

antikorumun BV421 konjugatına kıyasla daha yüksek sinyal gücü ve daha iyi ayırım sağladığı gözlenmiştir. Elde edilen optimizasyon verileri, CD47 ekseninin ve proje kapsamında hedeflenen SLAMF6/SLAMF7 aracılı immün düzenleyici etkilerin gelecekte daha güvenilir biçimde test edilebilmesi için sağlam bir deneysel altyapı oluşturmuştur. Bu yönüyle çalışma, HCC’de makrofaj aracılı immün kaçış mekanizmalarının çözümüne yönelik metodolojik olarak değerli bir ön basamak niteliğindedir.

Bu çalışma, TÜBİTAK 2209-A Lisans Öğrencileri Araştırma Projelerini Destekleme Projeleri Kapsamında Desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hepatoselüler karsinom (HCC), CD47, fagositoz, SLAMF6/SLAMF7

PB48 HOMOZİGOT RHOH VARYANTI VE KOMBİNE İMMÜN YETMEZLİK

İsmail Yaz¹, Keyi Liu², Deji Ye², Canberk İpşir¹, Dilan İnan¹, Saliha Esenboğa³, Barış Ulum⁴, Sevil Oskay Halaçlı¹, Yikun Yao², Deniz Çağdaş³

¹ Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı, İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara

² Çin Bilimler Akademisi, Şanghay Beslenme ve Sağlık Enstitüsü, Şanghay

³ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara

⁴ Hacettepe Üniversitesi, İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi, Çocuk İmmünoloji Laboratuvarı, Ankara

Giriş ve Amaç: Rho GTPaz ailesinin bir üyesi olan RHOH, hücre iskeleti organizasyonu ve hücre migrasyonuna aracılık etmektedir. Ancak bugüne kadar kombine immün yetmezliğe (KİY) neden olan RHOH eksikliği saptanan sadece üç hasta bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı RHOH eksikliğinin özelliklerini araştırmaktır.

Hasta ve Yöntemler: Yeni bir homozigot RHOH varyantının (c.451T>C; p.Cys151Arg) neden olduğu kombine immün yetmezlik tanısı olan 34 yaşındaki erkek hastada, mTOR sinyal yolağı, lenfosit aktivasyonu ile proliferasyonunu analiz edilmiştir. RHOH nakavt (knockout), aşırı eksprese eden (overexpressing) ve mutant (C151R) Jurkat hücre hatlarında kalsiyum sinyalizasyonu, aktivasyon belirteci ifadesi, RHOH protein stabilitesinin profilleri değerlendirilmiştir.

Bulgular: El ve ayaklarda siğiller, üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları ve bronşektazi ile başvuran hastanın periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) anti-CD3/CD28 ve PHA ile uyarıma defektif proliferasyon yanıtı gösterirken, PMA/Ionomisin yanıtının korunduğu görüldü. Anti-CD3/CD28 ile uyarılan T hücrelerinde fosfo-mTOR düzeyleri azalmıştı. RHOH nakavt ve mutant (C151R) Jurkat hücre hatlarında; kalsiyum sinyalinde defekt, aktivasyonda ve RHOH protein stabilitesinde azalma olduğu saptanmıştır.

Tartışma ve Sonuç: RHOH eksikliği olan T hücrelerinde proliferatif özellikteki bozukluk ZAP70 eksikliği ile benzer olup, ayrıca bu hücrelerde mTOR fosforilasyonunda azalma ve kalsiyum sinyalizasyonunda defekt gözlenmektedir.

Anahtar Kelimeler: RHOH, ZAP70, T hücre aktivasyonu, T hücre proliferasyonu, mTOR fosforilasyonu, siğil, bronşektazi, kombine immünyetmezlik.

PB49 LÖKOSİTİ AZALTIKMIŞ ERİTROSİT SÜSPANSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN EKSOZOM VE MİKROPARTİKÜLLERİN HEMOSTAZ ÜZERİNE ETKİLERİ

Sueda Özkaya¹, İrem Özveri², Hilal Vardar², Engin Sağdilek¹, Salih Haldun Bal³

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Bursa

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Birimi, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERIM), Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp-İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa

³ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Birimi, Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deneysel ve Moleküler İmmünoloji Araştırma Laboratuvarı (EXPERIM), Bursa; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dr. Raşit Durusoy Kan Merkezi, Bursa

Giriş ve Amaç: Ekstraselüler veziküller (EV; eksozom ve mikropartikül); eritrosit, lökosit ve trombosit gibi çeşitli hücrelerden aktivasyon, hücrel stres veya apoptoz süreçlerine yanıt olarak salınan, membran yapılı veziküllerdir. Fizyolojik ve patolojik süreçlerde hücrel haberleşmeyi sağlayan bu yapılar, eritrosit süspansiyonlarının (ES) veya tam kanın depolanması sırasında birikerek prokoagülan bir etki yaratmakta ve pıhtı oluşum mekanizmalarını aktive etmektedir. Bu çalışmanın amacı, lökosit azaltılmış eritrosit süspansiyonlarının (LR-ES) farklı depolama günlerinde (0, 21 ve 42. gün) izole edilen EV'lerin hemostaz ve trombosit agregasyonu üzerindeki etkilerinin incelenmesidir.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmada, ARh(+) kan grubuna sahip, sağlıklı, kan hücrelerini etkileyecek ilaçlar kullanmamış 5 gönüllüden tam kan bağıışı alınmış, LR-ES'ler hazırlanmış ve ultrasantrifügasyon ile mikropartikül ve eksozomlar belirlenen depolama günlerinde (0, 21 ve 42. gün) izole edilmiştir. İzole edilen EV'ler; BCA Assay, Western Blot, TRPS (Tunable Resistive Pulse Sensing) ve akan hücre ölçer yöntemleriyle karakterize edilmiştir. Elde edilen mikropartikül ve eksozomlar, farklı konsantrasyonlarda [1x (kandaki fizyolojik konsantrasyon), 3x, 9x], optik agregometrede değerlendirilmek üzere trombosit zengin plazma (TZP) ile 5 dakika; tromboelastogramda değerlendirilmek üzere ise tam kan ile 15 dakika inkübe edilmiştir. Hemostaz üzerindeki etkiler; allojenik kan örneklerinde, optik agregometre ile trombosit agregasyonu, tromboelastogram (TEG) ile de tüm hemostaz süreci analiz edilerek değerlendirilmiştir. Verilerin analizinde; bağımlı gruplar olan konsantrasyon (1x, 3x, 9x) ve depolama günleri (0, 21, 42) arasındaki farklar eşleştirilmiş t-testi ile, mikropartikül-eksozom grupları arasındaki karşılaştırmalar ise Bonferroni düzeltmeli tekrarlı ölçümler varyans analizi ile değerlendirilerek $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Optik agregometre analizlerinde; mikropartikül ve eksozomların, farklı konsantrasyon ve depolama günlerinde trombosit agregasyonu üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadığı saptanmıştır ($p>0,05$). Tromboelastogram deneylerinde, konsantrasyon optimizasyonu amacıyla yapılan analizlerde; 3X konsantrasyonun pıhtılaşma ve hemostaz üzerinde en tutarlı ve istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) yanıtı verdiği saptanmıştır. Gün bazlı karşılaştırmalar incelendiğinde; R süresinin, LR-MP ve LR-Exo gruplarında 42. günde 0. güne oranla anlamlı düzeyde kısaldığı ($p<0,05$) belirlenmiştir. K süresinde kısalma ve α açısında artış parametreleri, özellikle LR-Exo grubunda 42. günde 0. güne kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunmuştur. LR-MP grubunda günlere bağılı değişimlerin dalgalı bir seyir izlediği, LR-Exo grubunda ise ileri depolama günlerinde prokoagülan parametrelerin daha stabil bir artış eğilimi gösterdiği gözlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Eritrosit süspansiyonlarından izole edilen EV'lerin; trombosit agregasyonu üzerinde anlamlı bir değişim yaratmadığı saptanmıştır. Bu durum, doğrudan trombositler üzerinde etkili olabilecek moleküler yolların uyarılmaması ile açıklanabilir. Buna karşılık, tüm hemostaz sürecinin analiz edildiği TEG bulguları; EV'lerin genel hiperkoagülan etkisinin mikropartiküllerde (LR-MP) daha yüksek bir seviyede olduğunu, ancak depolama süresine bağılı (özellikle 42. gün) prokoagülan artışın eksozom (LR-Exo) gruplarında çok daha belirgin hale geldiğini göstermiştir. Sonuç olarak,

EV'lerin hemostazın enzimatik fazı üzerinde prokoagülan bir rol oynadığı ve bu etkinin depolama süresiyle birlikte dinamik olarak arttığı sonucuna varılmıştır.

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından “Eritrosit Süspansiyonlarından İzole Edilen Ekstrasellüler Veziküllerin Hemostaz Üzerine Etkileri” başlıklı TYL-2025-2135 ve TAY-2022-601 numaralı hibe projeleri kapsamında desteklenmiştir. Yazarlar, değerli destekleri için BUÜ BAP Birimi'ne teşekkür eder.

Anahtar Kelimeler: Eritrosit süspansiyonu, ekstrasellüler veziküller, hemostaz

PB50 KOLOREKTAL VE MEME TUMÖRLERİNİ İNFİLTRE EDEN MAKROFAJ VE NÖTROFİLLERDE CD14/HLA-DR DÜZEYİ YENİ HÜCRE ALT-POPÜLASYONLARINA İŞARET EDEBİLİR Mİ?

Saba Khoshtakht¹, Hamdullah Yanık¹, Sinem Saraç¹, Ece Tavukcuoğlu¹, Kerim Bora Yılmaz², Güneş Esendağlı¹

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

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: Tümör mikroçevresi, özellikle tümör ilişkili makrofajlar (TAM) ve tümör ilişkili nötrofiller (TAN) gibi miyeloid hücreler tarafından şekillendirilir. Bu hücreler belirgin bir fenotipik plastisite gösterir ve hem tümör gelişimini destekleyici hem de baskılayıcı roller üstlenebilir. İnsan tümörlerinde bulunan CD11b⁺ miyeloid hücreler oldukça heterojen bir popülasyon olup, fenotipik ve fonksiyonel karakterizasyona yönelik çalışmalar tutarlılık göstermemektedir. Bu çalışmada, tümörde ve tümör dokusunun yakınındaki histopatolojik olarak normal doku örneklerinde miyeloid hücre dağılımlarının analiz edilmesi ve alt-popülasyonların belirlenmesi için potansiyele sahip belirteçlerin seçilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Herhangi bir tedavi almamış kolorektal kanseri veya meme kanseri hastalarından cerrahi rezeksiyon sırasında taze tümör ve histopatolojik olarak normal doku örnekleri toplanmıştır. Dokular küçük parçalara ayrılmış, kolajenaz içeren enzim karışımı ile sindirilmiş ve süzme işlemi sonrasında tek hücre süspansiyonu elde edilmiştir. Dokulardaki makrofaj ve nötrofillerin immünofenotip analizleri için hücreler, anti-insan CD45, CD11b, CD206, CD66b, CD14, HLA-DR, PD-L1, PD-1, CD80, TLR4 ve CD63 antikorları ile işaretlenmiş ve akım sitometri cihazında analiz edilmiştir.

Bulgular: CD11b⁺ miyeloid hücreler ana popülasyon olarak belirlenmiş, bu popülasyon içerisinde makrofaj ve nötrofil yüzdeleri belirlenmiş ve her iki doku tipinde karşılaştırılmıştır. CD206⁺ makrofaj ve CD66b⁺ nötrofil hücre yüzdelerinin tümör ve tümör dokusunun yakınındaki sağlıklı doku örnekleri arasında farklılık gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, makrofaj ve nötrofillerde CD14, HLA-DR, PD-L1, PD-1, CD80, TLR4 ve CD63 ekspresyonları tümör ve tümör dokusunun yakınındaki sağlıklı dokuda analiz edilmiştir. Ardından, makrofaj ve nötrofiller, CD14 ve HLA-DR ekspresyonuna göre belirgin şekilde dört alt gruba ayrılabilmiştir (CD14⁺HLA-DR⁺, CD14⁺HLA-DR⁻, CD14⁻HLA-DR⁺ ve CD14⁻HLA-DR⁻). Bu alt gruplarda PD-L1, PD-1, CD80, TLR4 ve CD63 ekspresyonlarının farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, insan tümör örneklerinde CD14/HLA-DR kapılama stratejisi kullanılarak tümör infiltre eden makrofaj ve nötrofillerin eş zamanlı ve çok boyutlu karakterizasyonu için yeni bir yaklaşım sunmaktadır. Tümör mikroçevresindeki bu miyeloid hücrelerin CD14 ve HLA-DR dağılımına göre alt-popülasyonlara saflaştırılarak fonksiyonel çalışmalar gerçekleştirilmesi planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Nötrofil, makrofaj, tümör mikroçevresi

PB51 YAŞ TİP YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONUNDA BEVACİZUMAB TEDAVİSİNİN LOKAL VE SİSTEMİK İMMÜN YANITLARA ETKİLERİ

Ali Eren Işkın¹, Abdurrahman Şimşek¹, Muhammed Ali Kızmaz¹, Elif Kaçmaz², Tuğçe Bozkurt¹, Gamze Uçan Gündüz², Mehmet Baykara², Ferah Budak Şener¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa

² Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Cerrahi Bilimler, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa

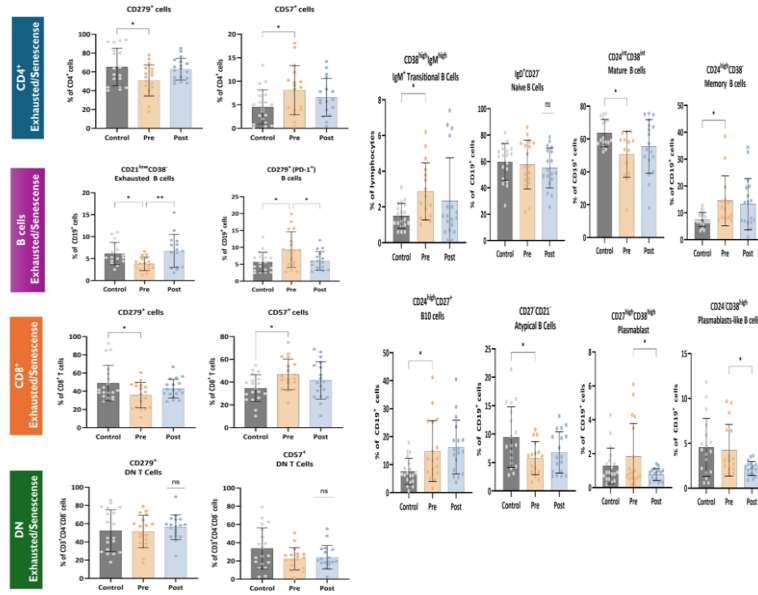
Giriş ve Amaç: Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD), kronik enflamasyon ve patolojik anjiyogenezle ilişkili bir retinal hastalıktır. Neovasküler formunda (nYBMD) intravitreal bevacizumab (IVB) temel tedavi yaklaşımını oluşturmaktadır. Bu çalışmada, IVB tedavisinin nYBMD hastalarında periferik doğal ve edinsel immün hücre profilleri ile serum ve aköz hümördeki seçilmiş enflamatuvar belirteçler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya IVB tedavisi alacak nYBMD hastaları (n=18) ve kontrol grubu katarakt cerrahisi planlanan bireyler (n=21) dahil edildi. nYBMD 'de periferik kan örnekleri tedavi öncesinde (0. ay) ve üç aylık IVB tedavisi sonrasında alındı. Periferik kandaki immün hücre popülasyonları Akan hücre ölçeği ile analiz edildi. Serum ve aköz hümör örneklerinde enflamatuvar protein düzeyleri sandwich ve multiplex ELISA (Luminex) yöntemleri ile değerlendirildi.

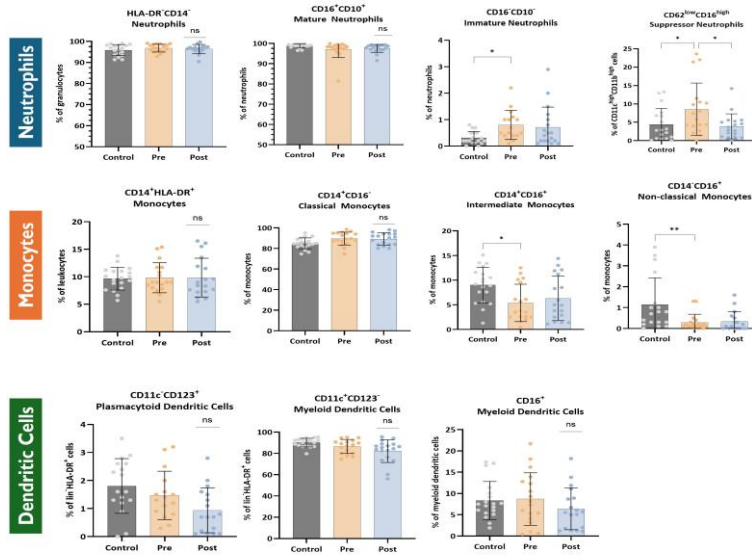
Bulgular: nYBMD hastalarında immatür ve baskılayıcı nötrofil alt gruplarında anlamlı artış, intermediate ve non-klasik monositlerde ise azalma saptandı. IVB tedavisi sonrasında bu hücrelerde kontrol grubuna doğru normalleşme eğilimi izlendi. Edinsel immün yanıtta efektör hafıza (EM) T hücre alt gruplarında belirgin değişiklikler gözlemlendi; EM3 ve EM4 T hücre gruplarında artış, EM1 T hücre grubunda ise azalma saptandı. IVB tedavisi sonrası özellikle CD8⁺ EM T hücre alt gruplarında bu dengenin tersine döndüğü belirlendi. B hücre analizinde hafıza B hücreleri, PD-1⁺ B hücreleri, plazmablastlar ve B10 düzenleyici B hücrelerinde artış gözlemlenmiştir. IVB tedavisi sonrasında çoğu alt grupta normalleşme eğilimi izlenirken, B10 hücrelerinin yüksek seviyelerini koruduğu dikkat çekmektedir.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma, nYBMD'nin kronik enflamasyon ve immün yaşlanma ile ilişkili doğal ve edinsel bağışıklık değişiklikleri ile karakterize olduğunu göstermektedir. IVB tedavisi sonrası gözlenen immün modülasyon, lokal anti-VEGF tedavisinin sistemik immün yanıt üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, bazı hücre alt gruplarının potansiyel biyobelirteç adayları olabileceği değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Yaşa bağlı makula dejenerasyonu, neovasküler AMD, bevacizumab, intravitreal tedavi, akım sitometrisi



Şekil 1. nYBMD Hastalarında ve IVB Tedavisi sonrasında T Hücre Tükenmesi ve B Hücre Alt Grup Analizi



Şekil 2. nYBMD Hastalarında ve IVB Tedavisi Sonrasında Doğal İmmün Sistem Hücre Alt Gruplarının Analizi

PB52 JUVENİLE DERMATOMİYOZİTTE İMMÜN REGÜLASYON: LRBA-CTLA4 EKSENİNİN ARAŞTIRILMASI

Yağmur Aydın Atalay¹, Hatice Kübra Zora³, Yasin Karalır³, Diğdem Yöyen Ermiş², Sara Şebnem Kılıç Gültekin³, Haluk Barbaros Oral²

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa, Türkiye; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp-İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Birimi, Bursa, Türkiye

² Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Bursa, Türkiye; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Birimi, Bursa, Türkiye

³ Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Bursa, Türkiye; Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk İmmünoloji-Romatoloji Bilim Dalı, Bursa, Türkiye

Giriş ve Amaç: Juvenile Dermatomyozit (JDM), kas ve deri tutulumuyla karakterize, kompleks immünolojik mekanizmaların rol oynadığı nadir bir otoimmün/otoenflamatuar hastalıktır. Hastalığın patogeneğinde T hücre alt gruplarındaki dengesizlikler ve immün düzenleyici mekanizmalardaki bozukluklar önemli rol oynamaktadır. Lipopolysaccharide-responsive beige-like anchor protein (LRBA), endo-lizozomal yolda görev alan ve özellikle Sitotoksik T-Lenfosit İlişkili Protein 4 (CTLA4) proteininin hücre içi taşınması ve stabilizasyonunda rol oynayan bir proteindir. LRBA eksikliğinin çeşitli otoimmün fenotiplerle ilişkili olduğu bilinmektedir. Ancak JDM hastalarında LRBA ve CTLA4 protein ifade düzeylerinin değerlendirilmesine yönelik çalışmalar bulunmamaktadır. Bu çalışmada 10 JDM hastasında düzenleyici T hücreleri (Treg) ve foliküler T helper (Tfh) hücreleri araştırılmış, bununla beraber LRBA ve CTLA4 protein ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi ve sağlıklı kontroller ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya 10 JDM hastası ayrıca karşılaştırma amacıyla 1 homozigot ve 1 heterozigot LRBA eksikliği bulunan iki farklı hasta ile sağlıklı kontroller dahil edildi. Periferik kan örneklerinden mononükleer hücreleri (PBMC'ler) yoğunluk gradyan santrifügasyon ile izole edildi. Hücreler 37°C'de %5 CO₂ altında 5 saat boyunca Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)/ Ionomisin (50 ng/mL ve 500 ng/mL) ile uyarıldı; monensin eklendi; uyarımsız bırakılan kontroller oluşturuldu. Akım sitometrisi için üç panel kullanıldı. Treg hücreleri CD3⁺CD8⁻CD25⁺CD127Dim, Tfh hücreleri CD3⁺CD8⁻CXCR5⁺PD1⁺ olarak tanımlandı; CD16, CD14, CD56 ve CD19 ile negatif hücreler dışlandı. Üçüncü panelde CD3⁺CD8⁻CD45RO⁻ üzerinden hücre içi IFN- γ üretimi değerlendirildi. Yüzey boyamalar sonrası hücreler fikse edilip permeabilize edildi; CTLA4 ve LRBA primer/sekonder antikorlar kullanılarak hücre içi boyama ile analiz edildi.

Bulgular: Akım sitometrisi analizlerinde JDM hastalarından elde edilen Treg ve Tfh hücre popülasyonlarının yüzey belirteç profilleri sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmıştır. Hastaların büyük çoğunluğunda LRBA protein ekspresyonu sağlıklı kontrol grubu ile benzer düzeylerde bulunmuştur. Ancak incelenen 10 hastadan 2'sinde LRBA protein düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla az ifade edildiği görülmüştür. Bu hastalardan birinde klinik olarak devam eden hastalık aktivitesi ve belirgin kutanöz tutulum bulgularının mevcut olduğu belirlenmiştir. CTLA4 protein ekspresyonu ise hasta ve kontrol grupları arasında genel olarak benzer düzeylerde saptanmış, LRBA-CTLA4 korelasyon analizleri yapılmıştır. Hastalardan birinde IFN- γ üretim seviyesi kontrole kıyasla yüksek olarak tespit edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Bu çalışma JDM hastalarında immün düzenleyici proteinlerden LRBA ve CTLA4 ekspresyonlarının, Treg ve Tfh hücre alt gruplarının değerlendirilmesine yönelik öncü veriler sunmaktadır. Bulgular, bazı JDM hastalarında LRBA protein ekspresyonunda azalma olabileceğini ve bunun hastalık aktivitesi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. LRBA'nın CTLA4 stabilitesi ve immün regülasyon üzerindeki bilinen etkileri göz önüne alındığında, bu proteinlerin JDM patogeneğinde potansiyel rol oynayabileceği değerlendirilmektedir. Daha geniş kohortlarda yapılacak çalışmalar bu ilişkinin netleştirilmesini sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Otoimmün, otoenflamatuar, LRBA, CTLA4, immün düzenleme

PB53 OTOİMMÜN HİPOFİZİT: PATOFİZYOLOJİK MEKANİZMALARIN AYDINLATILMASINDA YENİ BİR DENEYSEL MODEL STRATEJİSİ

Banu İskender¹, Kenan İzgi²

¹ Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Protein Araştırma ve Proteomik Laboratuvarı, Umuttepe, 41001, İzmit, Kocaeli

² Bir Ortak Sağlık ve Güvenlik Birimi, 34660, Üsküdar, İstanbul; Önceki Adres: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Bölümü, 38039, Melikgazi, Kayseri

Giriş ve Amaç: Otoimmün hipofizit (lenfositik hipofizit), hipofiz bezinin lenfosit, makrofaj ve plazma hücresi infiltrasyonu ile karakterize, nadir görülen organa özgü bir inflamatuvar hastalıktır (Caturegli, 2005). Klinik olarak adenomları taklit eden kitle etkisi semptomları (baş ağrısı, görme bozuklukları) ve hipopitüitarizm, diabetes insipidus ve hiperprolaktinemi ile kendini gösterir (Caturegli, 2005). Tanıda altın standart biyopsi olsa da, invaziv olmayan yöntemlerin eksikliği ve hastalığın nadirliği araştırma olanaklarını kısıtlamaktadır. Mevcut hayvan modelleri ise organ spesifikliğin düşük olması, yüksek maliyet ve aşırı invaziv prosedürler gibi dezavantajlar barındırmaktadır (Rotondo, 2010; Tzou, 2008). Bu çalışmanın amacı, mevcut modellerin sınırlamalarını aşan, hedef organa (hipofiz) özgü ve daha etkin bir otoimmün yanıt indüklemeye stratejisi geliştirmektir.

Gereç ve Yöntemler: Önerdiğimiz strateji şu aşamalardan oluşmaktadır: Antijen seçimi: Sadece hipofiz dokusunda eksprese olan, immünoreaktif potansiyeli yüksek spesifik antijenler belirlendi. İlk planda BALB/c-H2d cinsi fareler için olası imünojenik peptid /MHC motif dizileri belirlemek için hipofiz spesifik proteinlerin amino asit sekansı online T-hücre yada B-hücre epitop tahmin programına (syfpeithi, IEDB...vs) yerleştirilerek tespit edildi. Bu programa göre hipofizde olası imünojen olduğu tespit edilen neuroendocrine protein 7b2 precursor [Mus musculus] derive peptit, adjuvan (CFA) kullanılarak BALB/c-H2d farelerde immün cevap test edildi. Aşılanan farelerden alınan dalak hücreleri hücre kültüründe seçili peptidler ile reaktif edilerek BrdU proliferasyon deneyi ve büyüme hormonu (GH) seviyeleri GH Mouse ELISA Kit 080416 yöntemiyle ölçüldü.

Bulgular: Aday peptit ile yapılan aşılama, fare hücre kültürlerinde peptit antijenine karşı bağışıklık hücrelerinin çoğalmasında artışa neden oldu. Hipofiz hasarıyla ilgili hormonal değişiklikler, peptit antijenine karşı olası otoimmün yanıtla ilişkili olarak ölçüldü. Hipofiz bezinden salınan büyüme hormonu (GH) seviyeleri ELISA yöntemiyle ölçüldü ve kontrol grubuna göre düşük bulundu.

Tartışma ve Sonuç: Geleneksel modellerde yüzlerce hayvanın doku ekstraktına ihtiyaç duyulması ve sistemik otoimmünitenin gelişmesi önemli bir engeldir. Geliştirilecek bu yeni otoimmün strateji, otoimmün hipofizitin patofizyolojisini anlamak ve gelecekteki non-invaziv tanı yöntemleri ile tedavi protokollerini test etmek için sürdürülebilir bir platform sunacaktır. Hedefe yönelik bu yaklaşım, nadir hastalıklar literatüründe önemli bir boşluğu doldurma potansiyeline sahiptir.

Kaynaklar: Caturegli P., Newschaffer C., Olivi A., Pomper M. G., Burger P. C. and Rose N. R., Autoimmune hypophysitis, Endocr Rev, 26(5), 599-614, (2005). Rotondo F., Quintanar-Stephano A., Asa S. L., Lombardero M., Berczi I., Scheithauer B. W., Horvath E. and Kovacs K., Adenohypophysitis in rat pituitary allografts, Int J Exp Pathol, 91(5), 445-50, (2010). Tzou S. C., Lupi I., Landek M., Gutenberg A., Tzou Y. M., Kimura H., Pinna G., Rose N. R. and Caturegli P., Autoimmune hypophysitis of SJL mice: clinical insights from a new animal model, Endocrinology, 149(7), 3461-9, (2008).

Anahtar Kelimeler: Otoimmün hipofizit, fare modeli, peptit

PB54 İMMÜN YETMEZLİK VE HLA-B27 TARAMASINDA LONGCYTE VE NAVİOS AKIŞ SİTOMETRİ CİHAZLARININ KARŞILAŞTIRMALI ANALİZİ

Tamay Seda Taşçı¹, Nilgün Işıksağan¹,

¹ Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Biyokimya ve İmmünoloji Bölümü, İstanbul

Giriş ve Amaç: Akış sitometrisi, klinik immünoloji laboratuvarlarında immün yetmezlik takibi ve HLA-B27 taraması gibi kritik testlerin gerçekleştirilmesinde temel yöntemdir. Bu çalışmada, yeni nesil Longcyte akış sitometri cihazının teknik performansını ve sonuç tutarlılığını, rutin laboratuvar pratiğinde altın standart olarak kullanılan Navios platformu ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Ocak 2026-Şubat 2026 tarihleri arasında Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran hastalardan randomize seçilen örnekler üzerinden iki ayrı panel çalışılmıştır: HLA-B27 (FITC)/HLA-B7 (PE)/CD3 (PB)/CD45 (KrO) (n=126) ve CD3 (PC5)/CD4 (PE)/CD8 (ECD)/CD45 (FITC) (n=132). EDTA'lı tam kan örneklerinden testlere ait spesifik antikorlar kullanılarak yüzey boyaması yapılmıştır. Analizlerde lenfosit kapısı esas alınmış; Beckman Coulter Navios akış sitometri cihazı ana cihaz kabul edilerek Longcyte cihazı ile paralel ölçümler gerçekleştirilmiştir. Veriler Wilcoxon signed-rank testi, Spearman korelasyon analizi ve Bland-Altman uyum analizi ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: İstatistiksel analizlerde cihazlar arasında çok güçlü bir korelasyon saptanmıştır. Özellikle CD4/CD8 panelinde CD4+ (r=0.993) ve CD8+ (r=0.992) alt grupları için mükemmel düzeyde pozitif ilişki izlenmiştir (p<0.001). HLA-B27 panelinde ana lenfosit popülasyonunu temsil eden CD45+CD3+ parametresinde r=0.870 olarak bulunmuştur. Bland-Altman analizinde tüm parametreler için ortalama farkın (bias) sıfıra yakın olduğu (CD4-CD8+ için bias: 0.00426) ve gözlemlerin %95 uyum sınırları içerisinde yer aldığı görülmüştür. Wilcoxon testinde saptanan minimal istatistiksel farkların, klinik karar verme sürecini etkilemeyecek düzeyde olduğu saptanmıştır.

Tartışma ve Sonuç: Çalışmamızın sonuçları, Longcyte akış sitometri cihazının Navios sistemi ile istatistiksel olarak yüksek düzeyde uyum sağladığını ve klinik olarak eşdeğer sonuçlar sunduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle immün yetmezlik panellerindeki yüksek tutarlılık ve cihazın entegre analiz yazılımı, Longcyte'in rutin klinik immünoloji laboratuvarlarında güvenilir ve güçlü bir alternatif olduğunu doğrulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Akış sitometrisi, immünofenotiplendirme, karşılaştırmalı analiz, teknik performans

Parametre	LONGCYTE (Ortalama ± SS)	NAVIOS (Ortalama ± SS)	p (Wilcoxon)	Spearman r	p (Korelasyon)
CD4-CD8+	0.5071 ± 0.1349	0.5029 ± 0.1361	0.001	0.992	0.001
CD4+CD8+	0.0123 ± 0.0147	0.0079 ± 0.0134	0.001	0.791	0.001
CD4-CD8-	0.0514 ± 0.0284	0.0562 ± 0.0297	0.001	0.927	0.001
CD4+CD8-	0.4293 ± 0.1381	0.4330 ± 0.1404	0.003	0.993	0.001

Parametre	LONGCYTE (Ortalama ± SS)	NAVIOS (Ortalama ± SS)	p (Wilcoxon)	Spearman r	p (Korelasyon)
CD45+CD3+	0.7780 ± 0.0643	0.7483 ± 0.0617	0.001	0.870	0.001
HLA B27-/HLA B7+	0.0011 ± 0.0029	0.0048 ± 0.0098	0.001	0.217	0.015
HLA B27+/HLA B7+	0.0017 ± 0.0077	0.0028 ± 0.0097	0.001	0.431	0.001
HLA B27-/HLA B7-	0.9014 ± 0.2488	0.8863 ± 0.2613	0.001	0.620	0.001
HLA B27+/HLA B7-	0.0957 ± 0.2461	0.1062 ± 0.2591	0.001	0.693	0.001

Panel	Parametre	Bias (Mean Difference)	SD (Standard Sapma)	Lower LoA (%95 Alt Sınır)	Upper LoA (%95 Üst Sınır)
CD4/CD8	CD4-CD8+	0.00426	0.01479	-0.02474	0.03325
CD4/CD8	CD4+CD8+	0.00431	0.00556	-0.00655	0.01517
CD4/CD8	CD4-CD8-	-0.00476	0.00906	-0.02254	0.01301
CD4/CD8	CD4+CD8-	-0.00371	0.01523	-0.03362	0.02619
HLA	CD45+CD3+	0.02969	0.03699	-0.04280	0.10218
HLA	B27-/B7+	-0.00371	0.01037	-0.02388	0.01646
HLA	B27+/B7+	-0.00105	0.00467	-0.01038	0.00827
HLA	B27-/B7-	0.01515	0.03771	-0.05877	0.08908
HLA	B27+/B7-	-0.01043	0.03360	-0.07626	0.05540

PB55 CAR-T HÜCRE SİTOTOKSİSİTE ANALİZLERİ İÇİN PLEGO-CASPER3-PURO PLAZMİDİNİN TASARLANMASI VE CASPER3⁺ RAJİ HÜCRE HATTININ OLUŞTURULMASI

Yasemin Polat¹, Büşra Şimşek¹, Fatma Sude Albayrak¹, Mehmet Batu Erman²

¹ Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

² Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul; Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

Giriş ve Amaç: Kimerik antijen reseptörlü T hücreleri (CAR-T), kanser tedavisinde kullanılan ve genetik mühendisliği ile yeniden programlanmış T lenfositleridir. Bu hücreler, tümör hücrelerinin yüzeyinde bulunan tümör ilişkili antijenleri tanıyabilen yapay reseptörler taşır. Doğal T hücrelerinden farklı olarak CAR-T hücreleri antijen tanıma sürecinde majör histouyumluluk kompleksi (MHC) moleküllerine bağımlı değildir, bu sayede tümör hücrelerini doğrudan ve yüksek özgüllükle tanıyabilirler. Hedef antijene bağlanmaları sonucunda aktive olan CAR-T hücreleri güçlü sitotoksik yanıt oluşturarak kanser hücrelerinin ortadan kaldırılmasını sağlar. CAR yapısı genel olarak üç bölümden oluşur: antijen tanıma bölgesi, transmembran bölgesi ve hücre içi sinyal alanı. Antijen tanıma bölgesi genellikle monoklonal antikordardan türetilmiş tek zincirli değişken fragmanlardan (scFv) oluşur ve hedef antijenleri tanıtmaktan sorumludur. Hücre içi sinyal alanı CD3 ζ ile CD28 veya 4-1BB gibi ko-stimülatör bölgeler içererek T hücre aktivasyonu ve proliferasyonunu düzenler. CAR-T hücreleri zaman içinde farklı nesiller halinde geliştirilmiştir. Birinci nesil CAR'lar yalnızca CD3 ζ aktivasyon bölgesini içerirken sınırlı etkinlik göstermiştir. İkinci nesil CAR'larda CD28 veya 4-1BB gibi ko-stimülatör bölgelerin eklenmesiyle hücre aktivasyonu ve proliferasyonu artırılmıştır. Daha sonraki nesil CAR yapıları, ek ko-stimülatör bölgeler veya sitokin ekspresyonu sağlayan genetik düzenlemeler ile geliştirilmiştir. Hücrel immünoterapilerin gelişmesiyle terapötik adayların etkinliğinin değerlendirilmesi için güvenilir sitotoksiste analizlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, laboratuvarımızda geliştirilen CAR-T hücrelerinin sitotoksik etkisini değerlendirmek amacıyla caspase-3 aktivitesine dayalı floresan sistem içeren yeni bir plazmit konstrüksiyonu geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: pCasper3-GR, Casper3-GR floresan sensörünü kodlayan memeli ekspresyon vektörüdür. Casper3-GR kodlayıcı dizisinin önüne transkripsiyon verimliliğini artırmak amacıyla Kozak konsensüs dizisi yerleştirilmiştir. Vektörde bulunan restriksiyon bölgeleri, Casper3-GR sekansının çıkarılmasına ve farklı ekspresyon vektörlerine klonlanmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca Casper3-GR kodlayıcı dizisi PCR ile çoğaltılabilmektedir. Laboratuvarımızda daha önce CD19 antijenini spesifik olarak tanıyabilen antikor (nanokor) tabanlı bağlanma bölgesine sahip ikinci nesil CAR reseptörleri tasarlanmıştır. Bu CAR konstrüksiyonları T hücrelerine transdüksiyon yoluyla aktarılmış, CD19 ifade eden hücreleri öldüren yeni CAR-T hücreleri oluşturulmuştur. Çalışmamızda bu hücre ölümünü raporlayan bir vektör tasarlanmıştır. CD19, EGFP ve puromisin direnç genlerini içeren CD19-Lego-IgG2-Puro plazmidi kullanılmış ve bu plazmitten EGFP geni çıkarılmıştır. pCasper3-GR vektöründe bulunan, caspase-3 kesim bölgesi ile ayrılmış TagRFP ve TagGFP floresan proteinlerini içeren raporlayıcı sistem, bir lentiviral vektöre klonlanmıştır. Böylece apoptoz sırasında caspase-3 aktivitesini raporlayabilen pCasper3-GR-IRES-Puro plazmidi oluşturulmuştur. Elde edilen yeni vektör ile üretilen lentivirüsler CD19 proteinini ifade eden Raji B-lenfoma hücrelerine lentiviral transdüksiyon yoluyla aktarılmış ve yeni bir hücre hattı oluşturulmuştur. Bu hücre hattı, laboratuvarımızda geliştirilen CAR-T hücreleri ile kültür edilerek sitotoksiste deneylerinde kullanılmıştır.

Bulgular: Geliştirilen sistemde hücre canlı olduğunda TagRFP ve TagGFP proteinleri birlikte bulunduğundan 488 nm uyarımı altında oluşan FRET sonucunda hem kırmızı hem de yeşil floresans sinyali gözlenmektedir. Hücre apoptoza girdiğinde ise aktive olan caspase-3 aracılığıyla TagRFP ve TagGFP proteinleri arasında kesim gerçekleşmekte, FRET olmamakta ve yalnızca yeşil floresans sinyali tespit edilmektedir. Raporlayıcı sisteminin fonksiyonelliği K562 CML hücre hattında gerçekleştirilen ön validasyon deneyleri ile doğrulanmış ve apoptoz sırasında beklenen floresan değişimi gözlenmiştir. Bu

yaklaşım, apoptoz temelli fonksiyonel analizlerde kullanılabilir seçilebilir hücresel modellerin geliştirilmesi için bir genetik araç altyapısı sağlamayı hedeflemektedir.

Tartışma ve Sonuç: Geliştirilen floresan tabanlı sistem, caspase-3 aracılı apoptozun güvenilir şekilde izlenmesine olanak sağlamıştır. Bu yaklaşımın, CAR-T hücrelerinin sitotoksik etkisinin değerlendirilmesinde kullanılabilir fonksiyonel bir model sistem sunabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma, TÜBİTAK 20AG006 numaralı proje ile fonlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: CAR-T hücreleri, CD19 hedefli immünoterapi, sitotoksikite analizi, caspase-3 raportör sistemi, FRET, floresan mikroskopu

PB56 ANTİBİYOTİK DİRENÇLİ ENTEROBAKTERİLER POR OLUŞTURAN KONAK DOĞAL BAĞIŞIKLIK PROTEİNİ TARAFINDAN ÖLDÜRÜLMEKTEDİR

Sude Melek Çağınlı¹, Betül Ceyda Ateşer¹, Alaa Alkalouti¹, Elif Eren¹

¹ Bahçeşehir Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İnflamazomlar ve Hücre Ölümü Laboratuvarı, Beşiktaş, İstanbul, Türkiye.

Giriş ve Amaç: Bakterilerin geliştirdiği antibiyotik direnci, antibiyotik tedavi süreçlerini sekteye uğratan, sepsis gibi ciddi hastalıkların morbidite ve mortalite oranlarını yükselten bir durumdur. Antibiyotik dirençli bakterilerin varlığı, bilim insanlarını yeni tedavi yöntemleri geliştirmeye zorlamaktadır. Konak ve patojenler birbirini etkileyen dinamik bir ilişkiye sahip olduklarından, sadece doğal tipe değil, antibiyotik dirençli bakterilere karşı konak doğal bağışıklık yanıtının anlaşılması önem taşımaktadır. Enfeksiyon sırasında konak doğal bağışıklık sistemi, Gasdermin (GSDM) adı verilen proteinleri aktive eder ve bu proteinler por oluşturarak hem enfekte konak hücresinin hem de hücre içindeki bakterilerin öldürülmesini sağlarlar. Bugüne kadar yapılan hiçbir çalışmada, por oluşturan GSDM proteininin antibiyotik dirençli bakteriler üzerindeki etkisi araştırılmamıştır. Projemizin amacı, GSDMB'nin bu antibiyotik dirençli bakterileri öldürme kapasitesinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntemler: Bunun için, ampisilin ve kanamisin dirençli Salmonella enterica serovar Typhimurium (STm), Shigella flexneri ve Escherichia coli bakterilerinde elektroporasyon aracılı gen aktarımı yapılmıştır. Farklı antibiyotik içeren besi yerlerinde optik dansite ölçülerek bakterilerin direnci gösterilmiştir. İnsan epitel hücre hatlarında kalsiyum fosfat transfeksiyonu ile GSDMB proteini ifade edilmiştir. GSDMB içeren lizatlar ile antibiyotik dirençli ve doğal tip bakteriler inkübe edilmiş ve bakterilerin hayatta kalımı kinetik analiz ve koloni-oluşturan-ünite (CFU) sayımı ile belirlenmiştir.

Bulgular: Ampisilin ve kanamisin dirençli bakterilerin başarıyla üretildiğini göstermektedir. Inkübasyon sonrasında, GSDMB doğal tip ve kanamisin dirençli bakterilere etki etmezken, ampisilin dirençli bakterileri anlamlı şekilde öldürdüğü ortaya konmuştur. Bu sonuçlar, konak GSDMB proteininin, ampisilin direncinin zayıflattığı bakteri membranında daha kolay por oluşturduğunu ve antibiyotik direncini konağın lehine çevirdiğini göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç: Bu veriler, ilk kez konak doğal bağışıklık proteini olan Gasdermin proteinlerinin antibiyotik dirençli bakteriler üzerindeki etkisini göstermektedir. Sonuç olarak, bu bulgular, antibiyotiğe dirençli bakterilerin öldürülmesinde kullanışlı yeni bir stratejiyi ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Gasdermin, antibiyotik direnci, por, piroptoz

PB57 FOSFOİNOSİTİD-3-KİNAZ (PI3K) SİNYAL YOLAĞINDA YAŞA ÖZGÜ FOSFO-AKIM SİTOMETRİ REFERANS DEĞERLERİ

Kevser Yılmaz¹, Rabia Esmâ Kara¹, İsmail Yaz¹, Emel Isıyel², Saliha Esenboğa², Elif Soyak Aytekin², Çiğdem Ertuğrul², Ceren Üstün², Alp Kazancıoğlu², Deniz Çağdaş Ayvaz², Sevil Oskay Halaçlı¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimler Ana Bilim Dalı, Ankara

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

Giriş ve Amaç: Doğuştan immün yetmezlik kusurları (DİYK), immün sistemde farklı hücreler ve moleküler mekanizmaların etkilenmesi ile ortaya çıkan heterojen hastalıklardır. PI3K/AKT/mTOR (PAM) sinyal yolağı, lenfosit aktivasyonu, hücre proliferasyonu ve metabolik düzenlenmede kritik rol oynar. Fosfo-akım sitometrisi, hücre içi sinyal yollarının aktivasyonunu değerlendirmede hızlı ve pratik bir yöntemdir. Ancak bu testlerin yorumlanabilmesi için yaşa göre referans değerler henüz yeterince tanımlanmamıştır. Bu çalışmada PI3K sinyal yolağı moleküllerine ait fosforilasyon yanıtlarının sağlıklı bireylerde yaşa göre referans değerlerinin belirlenmesi ve DİYK hastaları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya farklı yaş gruplarından 42 sağlıklı birey ve PIK3CD / PIK3R1 defekti veya PI3K sinyal yolağı ilişkili hastalığı bulunan 9 hasta dahil edilmiştir. Periferik kan mononükleer hücreleri IL-4, PMA ve ionomisin kombinasyonu veya CD40 ile 15 dakika süreyle uyarılmıştır. T (CD3⁺) ve B (CD19⁺) lenfositlerinde p-AKT (S473) ve p-mTOR (S2448) düzeyleri fosfo-akım sitometrisi ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: Sağlıklı bireylerde bazal pAKT düzeyinin 3–6 yaş grubunda 0–2 yaş grubuna göre daha yüksek olduğu saptandı (p=0,004). CD40 ile uyarılan hücrelerde p-mTOR düzeyinin 0–10 yaş grubunda 11–17 yaş grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi (p=0,019). Sağlıklı ve hasta bireyler karşılaştırıldığında bazal p-mTOR, B hücrelerindeki bazal p-AKT ve uyarı sonrası p-mTOR düzeylerinde anlamlı farklılıklar saptandı.

Tartışma ve Sonuç: PI3K sinyal yolağına ait fosforilasyon yanıtlarının yaş grupları arasında farklılık gösterdiği görülmüştür. Bu nedenle fosfo-akım sitometrik analizlerin yorumlanmasında yaş uyumlu kontrol gruplarının kullanılması önemlidir. Yaşa özgü referans değerlerin belirlenmesi, DİYK hastalarında PI3K sinyal yolağı bozukluklarının fonksiyonel değerlendirilmesine katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Fosfo-akım sitometrik fonksiyonel analizler, PI3K sinyal yolağı, doğuştan immün yetmezlik kusurları, referans değerlerin belirlenmesi

PB58 KORONAVİRÜS PROTEİNİ KONAK DOĞAL BAĞIŞIKLIK YANITINI PİROPTOZ VE APOPTOZ HÜCRE ÖLÜM YOLAKLARI ÜZERİNDEN DÜZENLEMEDİR

Kaya Ülgür¹, Elif Eren¹

¹ Bahçeşehir Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İnflamazomlar ve Hücre Ölümü Laboratuvarı, Beşiktaş, İstanbul, Türkiye

Giriş ve Amaç: Şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüsü 2 (SARS-CoV-2), COVID-19 hastalığına sebep olan patojen bir betakoronavirüs türüdür. Doğal bağışıklığın parçası olan ve hücre sitoplazmasında bulunan inflamazom protein kompleksleri bazı viral proteinleri algılayarak inflamasyon yanıtını ve Gasdermin protein aracılı inflamatuvar bir hücre ölümü olan piroptozu tetikler. Yapılan çalışmalarda, SARS-CoV-2 ORF6 proteininin çekirdek por-proteinleri ile etkileşerek, mRNA ve proteinlerin hücre ve sitoplazma arasındaki hareketlerini düzenlediği belirlenmiştir. Fakat bu viral proteininin, inflamazom kompleksleri üzerindeki etkisi ve hangi hücre ölüm yollarını düzenlediği henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada, ORF6/inflamazom ilişkisi ve ORF6'nın piroptoz ve apoptoz gibi patojen savunması için önemli hücre ölüm yollarını nasıl regüle ettiğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Bunun için, ORF6 proteinini A549 ve HeLa insan epitel hücre hatlarına lentiviral transdüksiyon ile aktarılmıştır. İnflamazom aktivasyonu, HEK293FT-ASC-GFP ve kararlı şekilde ORF6 ifade eden A549 ve HeLa hücre hatlarında ASC zerrecik oluşumunun ölçümü ile belirlenmiştir. İmmüno Floresans boyama ile ORF6 proteinin hücre içindeki ve inflamazom proteinleri ile eş lokalizasyonu araştırılmıştır. ORF6'nın tetiklediği piroptotik cevap, laktat dehidrogenaz (LDH) salınım ELISA testi ve propidyum iyodür (PI) alımı ile, apoptoz ise Kaspaz-3 kesiminin Western blot analizi ile tespit edilmiştir.

Bulgular: Vahşi tipte karşılaştırıldığında, ORF6 ifade eden hücre hatlarında piroptoz hücre ölümünün istatistiksel olarak arttığı ve Kaspaz-3'e bağlı apoptoz cevabını daha fazla tetiklediği belirlenmiştir. ORF6 proteininin, test edilen hatlarda belirgin olarak endoplazmik retikulumda lokalize olduğu görülmüş, fakat oligomerize olmuş inflamazom kompleksi ile etkileşmediği tespit edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Sonuç olarak, ORF6 proteininin, konak hücresi içerisinde hem piroptoz hem de apoptoz hücre ölüm yollarını düzenlediği gösterilmiştir. ORF6'nın SARS-CoV-2 genomundaki diğer proteinlere kıyasla evrimsel olarak yüksek derecede korunduğu göz önüne alındığında, bu proteinin aşı ve ilaç geliştirme çalışmalarında hedef olma potansiyeli yüksektir. Bu bağlamda, ORF6 proteininin hücre ölüm mekanizmaları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi kritik öneme sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Doğal bağışıklık, SARS-CoV-2, piroptoz, apoptoz

PB59 ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİ MODELİNDE ANTİJEN DEKORE EDİLMİŞ OMV TABANLI AŞI PLATFORMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Harun Önler¹, İbrahim Tokmak¹, Dicle Çalışkan¹, Sevgi Demirci², Muzaffer Yıldırım¹, İsmail Cem Yılmaz¹, Sevgi Bağışlar Bremang³, İhsan Gürsel¹

¹ İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, DEÜ-İBG, İzmir, Türkiye

² İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir

³ Imperial College London, Tıp Fakültesi, Kanser İmmünolojisi-İmmünoterapi Bölümü, Londra,

Giriş ve Amaç: Üçlü negatif meme kanseri (TNBC), sınırlı tedavi seçenekleri ve yüksek metastatik kapasitesi nedeniyle önemli bir klinik sorun olmaya devam etmektedir. Burada, etkin tedavi ve korunma stratejileri çok sınırlı olan bu tümör modelinde koruyucu bir aşı tasarımı denenmiştir. Bakteriyel dış membran vezikülleri (OMV'ler), güçlü immünojenik özellikleri ve nanoboyutlu yapıları sayesinde kanser aşıları için uygun bir platform sunmaktadır. Kliniğe translasyon potansiyeli yüksek, endotoksin içeriği azaltılmış ve modüler antijen yükleme/bağlama kabiliyetine sahip OMV tabanlı aşı platformu, bu projede farelerde oluşturulan TNBC modelindeki koruyucu etkinliği değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, GMP süreçlerine uyarlanabilir *ClearColi* suşundan SpyCatcher proteini ifade eden OMV'ler üretilmiş ve saflaştırılmıştır. 4T1-Luc hücre hattında yüksek düzeyde ifade edildiği belirlenen Liv-1 (SLC39A6/ZIP6) ve Mesothelin (MSLN) antijenleri ucunda SpyTag ifade edecek şekilde *Clear coli* sisteminde rekombinant olarak üretilmiş ve saflaştırılmıştır. OMVler, SpyTag/SpyCatcher sistemi kullanılarak bu antijenlerle dekore edilmiştir. BALB/c fareler, iki hafta arayla subkutan yolla (200 µL/fare) bağışıklanmış ve primer ile sekonder anti-MSLN ve anti-Liv-1 antikor yanıtları ELISA ile değerlendirilmiştir. Deney grupları "Placebo", "OMV-Liv1 + OMV-MSLN (OMV+Ag)", "(OMV+Ag) + CpG", "(OMV+Ag) + R848" ve "(OMV+Ag) + CpG + R848" olarak belirlenmiştir. OMV+Ag formülasyonları, 15 µg OMV yüzeyine 2 µg antijen dekore edilecek şekilde hazırlanmıştır. İkinci bağışıklamadan iki hafta sonra, 2×10⁵ 4T1-Luc hücresi 50 µL Matrigel içerisinde meme yağ dokusuna ortotopik olarak enjekte edilmiştir. Tümör gelişimi haftada üç kez dijital kaliper ile ölçülmüş, biyoluminesans sinyal ise haftalık olarak in vivo görüntüleme sistemiyle analiz edilmiş, tümör inokülasyonundan dört hafta sonra deney sonlandırılmıştır. Dalak, serum ve tümör dokuları izole edilmiştir. Dalaktan elde edilen hücrelerle antijen geri çağırım deneyi gerçekleştirilmiş ve sitokin düzeyleri ELISA ile analiz edilmiştir. Serum örneklerinde sitokin profili belirlenmiş, tümör dokularında ise tümör infiltrate lenfosit (TIL) analizleri yapılmıştır.

Bulgular: En yüksek anti-Liv-1 ve anti-MSLN antikor titreleri, OMV-antijen formülasyonuna CpG ve R848'in birlikte eklendiği çift adjuvanlı grupta elde edilmiştir. Aynı grup, end-point ELISA sonuçlarına göre Th1 yanıtına yakın bir immün profil göstermiştir.

Tümör challenge deneyi sonuçları, tümör gelişiminin en belirgin şekilde baskılandığı grubun da OMV-antijen + CpG + R848 kombinasyonu olduğunu ortaya koymuştur. Bu grupta, plasebo grubuna kıyasla hayvanların %40'ında tümör gelişimi tamamen engellenmiş, gelişen tümörlerde ise ortalama %50 boyut azalması gözlenmiştir. Ayrıca, tümör dokularının kütleleri karşılaştırıldığında, bu grubun plasebo grubuna göre yaklaşık %60 daha düşük tümör kütlesine sahip olduğu belirlenmiştir.

Tümör infiltrate lenfosit (TIL) analizleri ve antijen geri çağırım (recall) sonrası sitokin ELISA sonuçları, gözlenen bu koruyucu etkinliği destekler niteliktedir. Tümör gelişiminin tamamen engellendiği tek grup, OMV-antijen ve çift adjuvan (CpG + R848) içeren formülasyon ile aşılanan hayvanlar olmuştur.

Tartışma ve Sonuç: Bu bulgular, OMV tabanlı kanser aşılarında etkin bir anti-tümör yanıt için yalnızca antijen sunumunun yeterli olmadığını, uygun adjuvan kombinasyonlarının kritik rol oynadığını göstermektedir. Özellikle TLR agonistlerinin birlikte kullanımı, daha güçlü ve fonksiyonel bir immün yanıt ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, SpyTag/SpyCatcher sisteminin sağladığı modülerlik ve *ClearColi* kaynaklı düşük endotoksisite, bu platformun translasyonel uygulamalar açısından potansiyelini desteklemektedir. Sonuç olarak, elde edilen veriler OMV-antijen ve çift TLR ligandı (CpG + R848) içeren aşı formülasyonunun, TNBC modelinde koruyucu bir yaklaşım olarak geliştirilmesini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: OMV, TNBC, kanser aşısı, SpyTag/SpyCatcher

PB60 YAŞLILARDA PRİMER SARKOPENİ VE DOĞAL İMMÜN YANIT DİNAMİKLERİ: SARC-F, SERUM TLR-4, TLR-9 VE RESOLVİN DÜZEYLERİ

Seyda Bilgin¹, Seyda Bilgin³, Veysel Suzan¹, Suna Avcı¹, Hakan Yavuzer¹, İbrahim Murat Bolayırh², Alper Döventaş¹, Deniz Suna Erdinçler¹

¹ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Geriatri Bilim Dalı, İstanbul.

² İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul.

³ İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

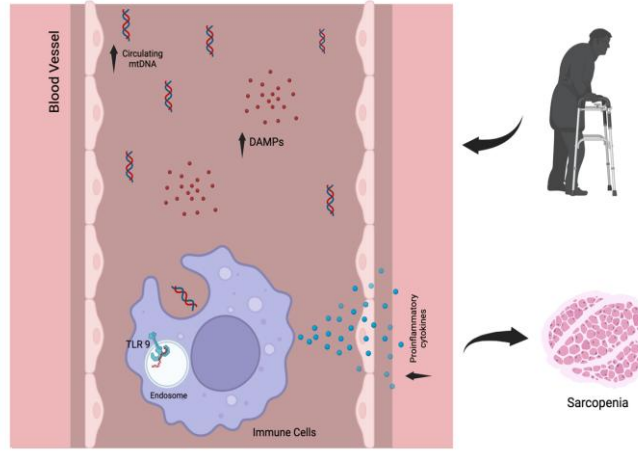
Giriş ve Amaç: Bu çalışmanın temel amacı, geriatric hastalarda serum Toll-Benzeri Reseptör (TLR) 4, 9 ve Resolvin-E1 düzeyleri ile primer sarkopeni arasındaki ilişkiyi değerlendirmek ve bu biyobelirteçlerin tanısal doğruluğunu SARC-F skoru ile karşılaştırmaktır. Çalışma, özellikle ikincil nedenlere bağlı olmayan primer sarkopeninin patofizyolojisinde doğal bağışıklık sistemi dinamiklerinin rolünü incelemeyi hedeflemektedir.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi geriatri polikliniğinde rutin tıbbi bakım alan 65 yaş ve üzeri, 44 primer sarkopenik ve 44 kontrol grubu katılımcısıyla yürütülmüştür. Malignite, ileri evre organ yetmezliği, malnütrisyon ve kronik enfeksiyonlar gibi sekonder sarkopeni nedenleri olan bireyler çalışma dışı bırakılmıştır. Tanı kriteri olarak EWGSOP2 önerileri benimsenmiş; tarama aşamasında SARC-F anketi uygulanmıştır. Kas gücü, el dinamometresiyle ölçümler yapılarak değerlendirilmiş; erkeklerde <27 kg, kadınlarda <16 kg değerleri düşük güç olarak kaydedilmiştir. Kas kütlesi ölçümünde Tanita TBF-300 biyoelektriksel impedans analizi (BIA) cihazı kullanılarak İskelet Kas Kütlesi İndeksi (SMMI) hesaplanmış; eşik değerler erkeklerde <7.0 kg/m², kadınlarda <5.5 kg/m² olarak belirlenmiştir. Ayrıca 6 metrelik yürüme testiyle fiziksel performans ölçülmüştür. 10-12 saatlik gece açlığı sonrası alınan kan örneklerinde serum TLR-4, 9 ve Resolvin-E1 düzeyleri ELISA yöntemiyle analiz edilmiştir.

Bulgular: Çalışma kapsamında incelenen sarkopeni ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Sarkopeni grubunda kavrama gücü, kas kütlesi, yürüme hızı ve vücut kitle indeksi (BMI) kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p < 0.001). Biyobelirteç analizlerinde, serum TLR-9 ve Resolvin E1 seviyelerinin sarkopeni grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (sırasıyla p < 0.001 ve p = 0.040). TLR-4 seviyeleri de sarkopeni grubunda daha yüksek izlenmiş, ancak bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (p = 0.742). Çok değişkenli lojistik regresyon analizi, TLR-9 (OR: 3145) ve SARC-F skorunun (OR: 4.788) sarkopeni varlığı ile bağımsız ve güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu doğrulamıştır. ROC eğrisi analizi sonuçlarına göre, TLR-9 için AUC değeri 0.896, SARC-F için ise 0.943 olarak hesaplanmıştır; bu veriler her iki parametrenin de yüksek tanısal doğruluğa sahip olduğunu göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç: Sarkopeni patofizyolojisinde düşük dereceli kronik inflamasyonun protein katabolizmasını hızlandırarak kas kaybına yol açtığı düşünülmektedir. Yüksek serum TLR-9 seviyeleri, hücre stresi veya hasarı sonucu dolaşıma salınan mitokondriyal DNA'nın (mtDNA) inflamatuvar süreçleri tetiklemesiyle açıklanabilir. Hayvan modellerinde TLR-9 ekspresyonunun artışının kas fibrozisi ile ilişkili olduğu ve TLR 9'un engellenmesinin kas fonksiyonlarını iyileştirebileceği gösterilmiştir. Resolvin-E1 (RvE1) düzeylerindeki artış ise, vücudun mevcut inflamasyonu çözmeye ve doku hasarını sınırlamaya yönelik "ters yönlü bir yanıtı" olarak yorumlanabilir. Omega-3 türevi bir mediyatör olan RvE1, inflamasyonun rezolüsyonunda kritik rol oynamaktadır. Özetle, klinik uygulama açısından, SARC-F anketi ucuz ve hızlı bir tarama aracı olarak EWGSOP2 tarafından önerilse de, hastanın öz-bildirimine dayanması ve fiziksel/zihinsel kısıtlılığı olan bireylerde uygulanmasının zorluğu bir dezavantajdır. Çalışma verileri, serum TLR-9 düzeylerinin SARC-F ile benzer tanısal güce sahip olduğunu ve özellikle anketin uygulanmadığı durumlarda objektif bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, TLR 9'un sarkopeni patogenezindeki rolünün anlaşılması, gelecekte yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Sarkopeni, yaşlanma, TLR9, doğal bağışıklık, SARCF



Şekil 1. Sarkopeni ve TLR 9. DAMPs damage associated molecular pattern, TLR toll like reseptör, mtDNA mitokondrial DNA (Created with BioRender.com)

	Sarkopeni (+)	Sarkopeni (-)	p
Hasta Sayısı	44	44	
Cinsiyet Kadın/Erkek**	29/15	29/15	1.000
Yaş*	74.93±6.31	74.40±4.42	0.654
Kas gücü*	18.5±5.05	27.25±6.11	<0.001
Kas kütlesi*	15.51±2.05	19.20±2.30	<0.001
Yürüme hızı (m/sn)*	0.77±0.21	1.13±0.19	<0.001
SARC-F**	3 (3-4)	0 (0-1)	<0.001
FRAİL*	2.54±0.81	1.61±0.65	<0.001
MNA-SF*	12.70±1.09	13.52±0.66	<0.001
MNA-total*	26.42±1.69	28.21±1.19	<0.001
BMI*	25.18±4.01	30.58±4.94	<0.001
Charlson Komorbidite İndeksi**	1 (0-1)	0 (0-1)	0.360
İlaç Sayısı*	2.06±1.61	2.36±1.80	0.421
Kronik Hastalık Sayısı*	1.52±1.08	1.84±1.31	0.219
Koroner Arter Hastalığı***	3 (%6.8)	1 (%2.2)	0.616
Diyabetes Mellitus***	9 (%20.4)	13 (%29.5)	0.325
Hipertansiyon***	22 (%50)	29 (%65.9)	0.131
Kalp Yetmezliği***	0 (%0)	0 (%0)	1.000
Hipotiroidi***	4 (%9)	8 (%18)	0.214
Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı***	1 (%2.2)	1 (%2.2)	1.000
Benign Prostat Hiperplazisi***	3 (%6.8)	5 (%11.3)	0.713
Atriyal Fibrilasyon***	16 (%36.3)	7 (%15.9)	0.029
Hiperlipidemi***	6 (%13.6)	12 (%27.2)	0.113
İnkontinans***	0 (%0)	2 (%4.5)	0.494
Astım***	2 (%4.5)	2 (%4.5)	1.000

	Sarkopeni (+)	Sarkopeni (-)	p
Nötrofil* (10 ³ /mL)	2.39±1.30	1.95±1.00	0.084
Monosit* (mL)	581.39±217.40	545.45±164.88	0.387
Trombosit* (mL)	256604.65±68735.21	250022.72±61574.86	0.639
Lenfosit* (mL)	1976.74±963.58	2122.72±712.95	0.423
NLO**	2.33 (1.55 – 2.66)	1.87 (1.40 – 2.30)	0.024
PLO*	151.53±68.16	130.07±52.54	0.103
Sİİ*	608.46±380.70	489.21±271.91	0.096
Hemoglobin* (g/dl)	12.59±1.25	13.30±1.22	0.010
Kreatinin* (mg/dl)	0.81±0.19	0.87±0.27	0.230
Vit-D* (pg/L)	25.81±11.97	25.07±12.10	0.777
B12* (ng/L)	454.92±330.77	420.72±199.99	0.560
Folik Asit* (ng/ml)	7.96±3.43	8.33±4.14	0.657
CRP* (mg/L)	3.92±4.92	4.64±6.74	0.574
Sedimentasyon* (mm)	15.93±9.29	17.00±10.45	0.616
Glukoz* (mg/dl)	96.55±19.46	99.84±23.80	0.484
HbA-1c* (%)	6.03±1.33	5.96±0.72	0.741
Ferritin* (ug/L)	74.20±49.21	80.28±56.74	0.595
Transferrin saturasyonu* (%)	20.56±8.11	23.73±9.33	0.095
	SARKOPENİ (+)	SARKOPENİ (-)	P
TLR-9 (ng/ml) *	0.95 (0.83 – 1.35)	0.60 (0.52 – 0.79)	<0.001
TLR-4 (pg/ml)*	130.45 (89.60 -169.95)	121.35 (87.23 -173.97)	0.742
Resolvin-E1 (ng/l)*	159.21 (137.1 – 176.97)	148.60 (125.27 – 166.80)	0.040

	Odds Oranı(95% CI)	p
TLR-9	3145 (5.9-1652888.3)	0.012
Resolvin-E1	1.000 (0.996-1.004)	0.964
Hemoglobin	0.801 (0.383 – 1.673)	0.555
Atriyal Fibrilasyon	0.488 (0.064-3.709)	0.488
SARC-F	4.788 (2.148 – 10.672)	<0.001

	Sensitivite (%)	Spesifite(%)	AUC	Cutoff	P
TLR-9	79.5	84.1	0.896	0.815	<0.001
Resolvin-E1	61.4	59.1	0.627	153.0	0.040
SARC-F	70.5	97.7	0.943	4	<0.001

PB61 SELAGINELLACEAE POLİFENOLLERİYLE İLİŞKİLİ POLİ-ARİLENMİŞ FLOREN TÜREVLERİNİN ADAM17, TNF-A VE NO/İNOS EKSENLERİNDEKİ EŞZAMANLI MODÜLASYONU

Seda Savranoglu Kulabaş¹, Dominik Kunák², Ringaile Lapinskaite², Hazal Nazlıcan Atalay³, Eren Metiner³, Zeynep Çapraz³, Erol Kestek³, Harun Efe Bozaslan³, Orçun Yıldırım³, Lukas Rycek², Tuğba Boyuneğmez Tümer⁴

¹ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, İmmünoloji Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

² Charles Üniversitesi, Fen Fakültesi, Organik Kimya Bölümü, Prag, Çek Cumhuriyeti

³ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

⁴ Jagiellonian Üniversitesi, Biyokimya, Biyofizik ve Biyoteknoloji Fakültesi, Medikal Biyoteknoloji Bölümü, Kraków, Polonya, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Çanakkale, Türkiye

Giriş ve Amaç: Makrofaj inflamasyonunda ADAM17 (TACE), TNF- α ve NO/iNOS birbirini besleyen kritik bir eksen oluşturmaktadır. İnflamatuvar uyarılar TNF- α üretimini artırırken, membrana bağlı pro-TNF'nin ADAM17 aracılı ayrılmasını ve TNF- α salınımını artırarak erken faz inflamatuvar amplifikasyonu güçlendirmektedir. Salınan TNF- α 'nın TNFR üzerinden aktivasyonu NF- κ B/MAPK yollarını aktive ederek, geç efektör yanıtının temel bileşeni olan iNOS indüksiyonunu desteklemektedir. Artan iNOS aktivitesiyle yükselen NO, oksidatif stres koşullarında reaktif türlerle doku hasarı bileşenlerini artırarak inflamasyonun sürekliliğine katkı sağlayan bir mekanizmadır. Bu nedenle, ADAM17'ye bağlı TNF- α salınımı ile iNOS/NO efektör kolunun birlikte baskılanması, inflamatuvar yanıtın hem amplifikatör hem de efektör bileşenlerinin eşzamanlı zayıflatıldığını düşündüren daha bütüncül bir anti-inflamatuvar profil sunmaktadır (1-3). Bu eksenin kontrollü şekilde hedeflemek, daha dengeli bir anti-inflamatuvar profil sağlayarak tek hedefe yönelik stratejilere kıyasla inflamasyonun farklı evrelerinde etkinlik potansiyelini artırıcı yönde bir yaklaşım sunmaktadır.

Gereç ve Yöntemler: Selaginellaceae polifenollerinden türevlendirilmiş poli-arillenmiş floren bileşiklerinin (RL136 ve NDK38) LPS ile indüklenen RAW264.7 makrofajlarında TNF- α ve NO salınımı, iNOS protein seviyesi iNOS ve TNF- α gen ekspresyon seviyelerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Mekanistik etkileri desteklemek amacıyla, YASARA'nın AutoDock GPU modülü kullanılarak iNOS heme/substrat bağlanma cebi (PDB: 3E7G), ADAM17/TACE katalitik domainine (PDB: 3L0V) ve TNF- α trimerik yapısının protein-protein etkileşim (PPI) arayüzü (PDB: 2AZ5) karşı moleküler docking simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Protein ve ligandlar docking öncesinde enerji minimizasyonuna tabi tutularak yapısal tutarlılıkları değerlendirilmiştir.

Bulgular: İn vitro çalışmalarda, RL136 ve NDK38 bileşikleri 1–30 μ M doz aralığında TNF- α salınımını doza bağlı şekilde %20–74 oranlarında baskılamıştır ($p < 0.05$). Öncesinde yapılan NO analizinde RL-136 IC₅₀: 9.48 μ M, NDK-38 IC₅₀: 5.28 μ M olarak bulunmuştur. Bu sonuçları destekleyici şekilde, bileşik uygulamaları iNOS protein seviyesinde doza bağımlı anlamlı düşüşler meydana getirmiştir ($p < 0.05$). iNOS ve TNF- α mRNA düzeylerinin yalnızca 30 μ M dozlarında değişmesi (1.3-1.5 kat), özellikle düşük dozlarda post-transkripsiyonel kontrolün olduğunu ve TNF- α üretimini proteolitik shedding üzerinden düzenleyebileceğini düşündürmüştür. İn silico analizler, RL136 ve NDK38'in iNOS aktif bölgesinde heme cebine uygun konformasyonlarla yerleştiğini göstermiştir. RL136, daha düşük bağlanma enerjisiyle (–11.218 kcal/mol) NDK38'e (–10.480 kcal/mol) kıyasla daha yüksek afinite sergileyerek heme mikroçevresindeki katalitik kalıntılarla daha geniş etkileşim ağı kurmuştur. ADAM17'de NDK38 katalitik Zn²⁺ ve aktif bölge kalıntılarını koordine ederken (–7.970 kcal/mol), RL136 Zn²⁺ şelasyonuna ek olarak S1' cebini (Leu348, Val402, Ala439) kapatmış ve daha güçlü bağlanma göstermiştir (–9.390 kcal/mol). Bu durum, TNF- α sekresyonundaki azalmanın ADAM17'ye bağlı shedding'in baskılanması ile açıklanabileceğini desteklemektedir. TNF- α dimer arayüzünde de RL136 (–10.450 kcal/mol) NDK38'e (–8.660 kcal/mol) üstün olup, aktif kompleks oluşumunu bozma potansiyeli göstermiştir.

Tartışma ve Sonuç: RL136 ve NDK38 bileşiklerinin etkisiyle TNF- α salınımı ile iNOS proteininin birlikte modülasyonu, inflamasyonun hem amplifikatör hem de efektör kolunun eşzamanlı zayıflatıldığını düşündürmektedir. TNF- α mRNA düzeyi ile salınımının paralel olmaması, post-transkripsiyonel kontrolde ADAM17 aracılı shedding olabileceğine işaret etmektedir. İn silico veriler, özellikle RL136'nın ADAM17/TNF- α arayüzü ve iNOS hedeflerinde daha güçlü bağlanma profiline sahip olduğunu desteklemektedir. RL136 ve NDK38 bileşiklerinin anti-inflamatuvar potansiyellerine dair mekanistik ve in vivo validasyon çalışmalarımız devam etmektedir.

Bu çalışma, ÇOMÜ BAP tarafından TKB-2024-4706 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Kaynaklar: 1. da Silva MC, Dos Santos VM, da Silva MVB, et al. Front Mol Biosci. 2022;9:1032177.2.Chanthaphavong RS, Loughran PA, Lee TY, et al. J Biol Chem. 2012;287(43):35887–35898.3.Li C, Gu H, Yu M, et al. Cell Death Dis. 2019;10:586.

Anahtar Kelimeler: İnflamasyon, TNF- α salınımı, NO/iNOS, ADAM17, poli-arillenmiş flörenler, in silico

PB62 İMMÜNOMODÜLATÖR AJANLARIN DEĞERLENDİRİLMESİNE YÖNELİK CHECKPOINT BİYOANALİZİNDE T HÜCRE ARACILI SİTOTOKSİSİTENİN DİNAMİK ARALIĞIN BELİRLENMESİ

Seda Savranoğlu Kulabaş¹, Orçun Yıldırım², Harun Efe Bozaslan², Eren Hacıoğlu³, Tuğba Boyuneğmez Tümer⁴

¹ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, İmmünoloji Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

² Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

³ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,

⁴ Jagiellonian Üniversitesi, Biyokimya, Biyofizik ve Biyoteknoloji Fakültesi, Medikal Biyoteknoloji Bölümü, Kraków, Polonya, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Çanakkale, Türkiye

Giriş ve Amaç: İmmün kontrol noktası biyoanalizleri, T hücre–tümör hücresi etkileşimini fonksiyonel olarak değerlendirilmesine, checkpoint inhibitörleri ve küçük moleküller gibi immünomodülatör ajanların taranmasına olanak sağlamaktadır. Bu tip taramalarda en kritik gerekliliklerden biri, T hücre aracılı anti-tümör etkinin ölçülebilir ve modüle edilebilir bir dinamik aralıkta yakalanmasıdır. Çok düşük ölüm sinyal-gürültü oranını düşürürken, aşırı öldürme “tavan etkisi” (ceiling effect) yaratarak bileşiklerin artırıcı/azaltıcı etkilerini ayırt etmeyi güçleştirir. Bu çalışmada, DU145 prostat kanseri hücreleri ile Jurkat T hücreleri arasında T hücre aracılı anti-tümör etkiyi kantitatif olarak izleyebilen ve immünomodülatör bileşik taramalarında kullanılabilecek checkpoint biyoanalizinde, T hücre aktivasyonunun (PHA/PMA) optimize edilmesi ve uygun bir tarama analizi oluşturulması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: DU145 (ATCC, HTB-81) hücreleri ve Jurkat T hücrelerinin (ATCC, Clone E6-1) ortak kültürü için öncelikle literatür taramalarına göre belirlenen 4 farklı efektör-hedef (E:T) oranı seçilerek (10:1, 5:1, 3:1, 1:1), sabit PHA (1 µg/mL) oranı, iki farklı PMA konsantrasyonunda (10 ve 50 ng/mL) 24 saat aktivasyon süresi ile deneyler yapılmıştır. Elde edilen yüksek ölüm oranları nedeniyle, Jurkat aktivasyonu için farklı PHA (0.25–0.5 µg/mL) ve PMA (5–10 ng/mL) kombinasyonları kullanılarak, Jurkat T hücrelerinin ortak kültür öncesindeki aktivasyon süreleri 6 saate düşürülerek analiz gerçekleştirilmiştir. Tümör hücre canlılığı/metabolik aktivitesi MTT tabanlı ölçümlerle değerlendirilerek, sonuçlar yalnız DU145 kontrolüne göre % canlılık olarak normalize edilmiştir. PMA ile aktivasyonun Jurkat T hücrelerinde morfolojik değişiklik ve adezyon artışı oluşturabileceği ve absorbans değerlerini artırabileceği dikkate alınmıştır. Bu nedenle, her aktivasyon koşulu için “yalnız Jurkat” grupları oluşturularak Jurkat’a ait arka plan sinyali ölçülmüş, ortak kültür verilerinin yorumlanmasında kontrol olarak kullanılmıştır.

Bulgular: İlk deney setinde (PHA 1 µg/mL sabit), PMA 10 ng/mL ile ko-kültürde DU145 canlılığı %22,50–28,60 aralığında belirlenmiştir (1:1–1:10). PMA 50 ng/mL grubunda ise, bu oranlar %34,77–43,46 aralığında belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre, E:T oranı ve PMA dozu değiştirilerek öldürme düzeyinin ayarlanabildiği, dolayısıyla immünomodülatör bileşik taramalarında gerekli olan optimal öldürme seviyesinin deneysel olarak kurulabildiği görülmüştür. Ancak T hücre aracılı ölüm oranlarının “ceiling effect” yarattığı düşünüldüğü için daha dinamik bir aralık belirlenmesi için aktivasyon süresi ve PHA/PMA oranlarının düşürülerek deneylere devam edilmiştir. Jurkat sinyali düşük olmakla birlikte bazı koşullarda yükselme eğilimi gösterdiğinden (%3,98–24,49 ve %9,69–21,43) efektör-hedef hücre oranı 1:1 olarak devam edilmiştir. Sonrasında yapılan optimizasyon çalışmasında, PHA/PMA kombinasyon taramasında (E:T=1:1) DU145 canlılığı koşula bağlı değişmiştir. En belirgin ve optimum azalma (0.5 µg/mL PHA + 5 ng/mL PMA (%53,05) ve 0.25 µg/mL PHA + 5 ng/mL PMA (%67,70) koşullarında izlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç: DU145–Jurkat ortak kültür sistemi, T hücre aktivasyonuna duyarlı bir tümör canlılığı readout’u sağlayarak checkpoint biyoanaliz formatında fonksiyonel taramaya uygun bir model

sunmaktadır. Sistem, PHA/PMA aktivasyonu ve E:T oranı ayarlanarak T hücre aracılı anti-tümör etkinin optimal aralıkta tutulmasına izin vermekte; immünomodülatör bileşiklerin artırıcı/azaltıcı etkilerinin değerlendirilmesine olanak sunmaktadır. Elde edilen veriler, T hücre aracılı anti-tümör etkinin ortaya koyulabildiğini ve aynı zamanda modülasyona açık bir dinamik aralığın bulunduğunu düşündürmüştür. Gelecek çalışmalarda, sistemin checkpoint inhibitörü (anti-PD-1/PD-L1) ve yeni küçük moleküllerle doğrulanması ve hedef hücreye özgü sitotoksosite doğrulaması (Annexin V/PI, kaspaz aktivitesi, hedef hücre etiketleme ile akım sitometri) planlanmaktadır.

Bu çalışma, ÇOMÜ BAP tarafından TSA-2025-5132 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İmmünomodülasyon, checkpoint biyoanalizi, PHA/PMA optimizasyonu, T hücresi aracılı anti-tümör etki

PB63 FARKLI LENTİVİRAL PAKETLEME SİSTEMLERİ İLE VİRÜS BENZERİ PARÇACIK (VLP) ÜRETİMİ VE TRANSDÜKSİYON VERİMLİLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Gizem Yolalan¹, Sümeyra Nur Fuerkaiti¹, Buket Yıldırım², Doğa Yaren Çalkan³, Merve Yavuz¹, Süleyman Can Öztürk⁵, Serkan Yaman⁴

¹ Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı, Türkiye Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara

² Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı, Türkiye Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara; Bartın Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bartın

³ Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı, Türkiye Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara; Kırıkkale Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Kırıkkale

⁴ Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı, Türkiye Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara; Gümüşhane Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Gümüşhane

⁵ Hacettepe Üniversitesi, Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ankara

Giriş ve Amaç: Virüs benzeri parçacıklar (VLP'ler), enfeksiyon riski taşımadan terapötik yük iletebilen virüs türevli nanoyapılardır [1,2]. VLP'lerin fonksiyonel başarısı, yapısal proteinlerin kargo materyali ile kurduğu moleküler etkileşime ve paketleme sisteminin nükleer trafik üzerindeki hakimiyetine bağlıdır. Bu çalışmada, MS2 bakteriyofajı "kabuk proteini" ile mRNA 5'UTR bölgesindeki "stem-loop" sekanslarının etkileşimine dayalı paketleme sisteminin etkinliği araştırılmıştır. Üretilen VLP'lerin GFP model mRNA dizisini paketleyebilme, fonksiyonel titre üretebilme ve T hücre transdüksiyon kabiliyetleri gag/pol ve rev kodlayan 2. ve 3. nesil paketleme sistemleri ile karşılaştırmalı olarak akış sitometri ve SDS-PAGE yöntemleri ile analiz edilmiştir.

Gereç ve Yöntemler: Model mRNA olarak kullanılacak GFP geni, çift restriksiyon kesimi yöntemi ile pCMV-2NLS-Cas9-6XMS2 vektörüne klonlanarak dizileme yöntemi ile doğrulandı. Bakteriyofaj coat protein içeren pMS2M-PH-gagpol-D64V paketleme ve stemloop içeren pCMV-GFP-6XMS2 transfer plazmidleri, 2. nesil paketleme sistemi (psPAX2, VSV-G) ve 3. nesil lentiviral paketleme sistemi (pLP1, pLP2, pLP/VSV-G) ile lipozomal transfeksiyon yöntemi kullanılarak Lenti-X hücrelerine aktarıldı. Tablo 1'de kullanılan plazmid sistemleri ve miktarlarını içeren üretim parametreleri özetlenmiştir. Transfeksiyon sonrasındaki 48. ve 72. saatlerde toplanan VLP'ler ultrafiltrasyonla saflaştırıldı. VLP'lerin TU/mL değerleri, Lenti-X hücrelerinde GFP yanıtı ile akış sitometrisi kullanılarak ölçüldü. Üretilen VLP'lerin viral bileşenleri SDS-PAGE ile gösterildi. Son olarak, periferik kandan elde edilen mononükleer hücreler (PBMC'ler) üzerinde transdüksiyon verimliliği akış sitometrisi ile analiz edildi.

Bulgular: Şekil 1'de, GFP gen bölgesinin 2NLS vektörüne klonlama haritası sunulmaktadır. Şekil 2'de; 3. nesil paketleme sistemiyle üretilen GFP mRNA taşıyıcı VLP bileşenleri, SDS-PAGE (p24, gagpol, VSV-G) ile gösterilmiştir. Akış sitometrisi ile gerçekleştirilen titrasyon sonuçlarına göre; 2. nesil sistem yaklaşık 2×10^5 TU/mL üretim sağlarken (Şekil 3a ve 3b), mRNA paketleme plazmitlerinin 3. nesil plazmitler ile kombinasyonu fonksiyonel titreleri 4×10^6 TU/mL seviyesine kadar yükseltmiştir (Şekil 3c ve 3d). 3. nesil paketleme sisteminden elde edilen yüksek verim doğrultusunda, PBMC transdüksiyon deneylerine bu sistemle üretilen VLP'ler ile devam edilmiştir. Şekil 4c'de, hücre popülasyonunun yaklaşık %95'inin CD3⁺ T lenfositlerinden oluştuğu; Şekil 5c'de ise bu hücrelerin %40'ının GFP mRNA taşıyıcı VLP'ler ile başarıyla transdükte edildiği saptanmıştır.

Tartışma ve Sonuç: Sonuç olarak, 3. nesil paketleme plazmidleri ile gerçekleştirilen VLP üretimi, viral titrasyon ve transdüksiyon verimliliğini belirgin şekilde artırmıştır. 3. nesil plazmid sistemlerinde gag/pol ve rev elementleri ayrı bir plazmid sistemi ve promotör tarafından eksprese edilmesi dolayısıyla yapısal proteinlerin yüksek verimde üretilmesini ve mRNA'nın nükleer eksportunun daha verimli hale gelmesini sağladığı düşünülmektedir. Ayrıca sistem üretilen mRNA'nın stabilitesini artırarak daha yüksek verimli protein üretimini desteklemiştir. Bunun yanı sıra, pMS2M ve 6×MS2 dizileri aracılığıyla gerçekleşen MS2 kılıf proteini–stem loop etkileşimi, RNA'nın VLP'ler içerisine daha özgül ve etkin bir şekilde paketlenmesine katkı sağlamıştır. Bu optimizasyonların birlikte uygulanması fonksiyonel aktivitenin yükselmesine yol açmıştır. Sonuç olarak; optimize edilmiş 3. nesil sistem; mRNA iletimi,

gen tedavisi ve yeni nesil hücre tabanlı terapötik uygulamalar için uygun, yüksek verimli ve fonksiyonel açıdan aktif VLP'lerin üretilmesinde sağlam ve modüler bir platform sunmaktadır.

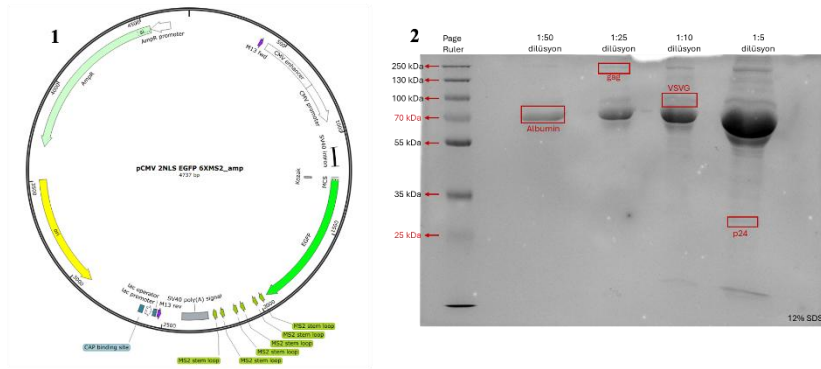
Kaynaklar:

1. Grgacic, E. V. L., & Anderson, D. A. (2006). *Virus-like particles: Passport to immune recognition*. Methods, 40(1), 60–65.
2. Ling S, Yang S, Li Z, et al. Lentiviral delivery of co-packaged Cas9 mRNA and a *Vegfa*-targeting guide RNA prevents wet age-related macular degeneration in mice. *Nature Biomedical Engineering*. 2021;5:144–156.

Anahtar Kelimeler: Virüs benzeri parçacık (VLP), lentiviral paketleme sistemleri, immünoterapi

Plazmid	2.Nesil Paketleme Sistemi	3.Nesil Paketleme Sistemi
PMS2M (gag-pol)	8 µg	6.3 µg
VSV-G	4 µg	3.6 µg
PLP1 (RRE)	-	6.3 µg
PLP2 (Rev)	-	3 µg
GFP-pCMV	2.4 µg	12.6 µg

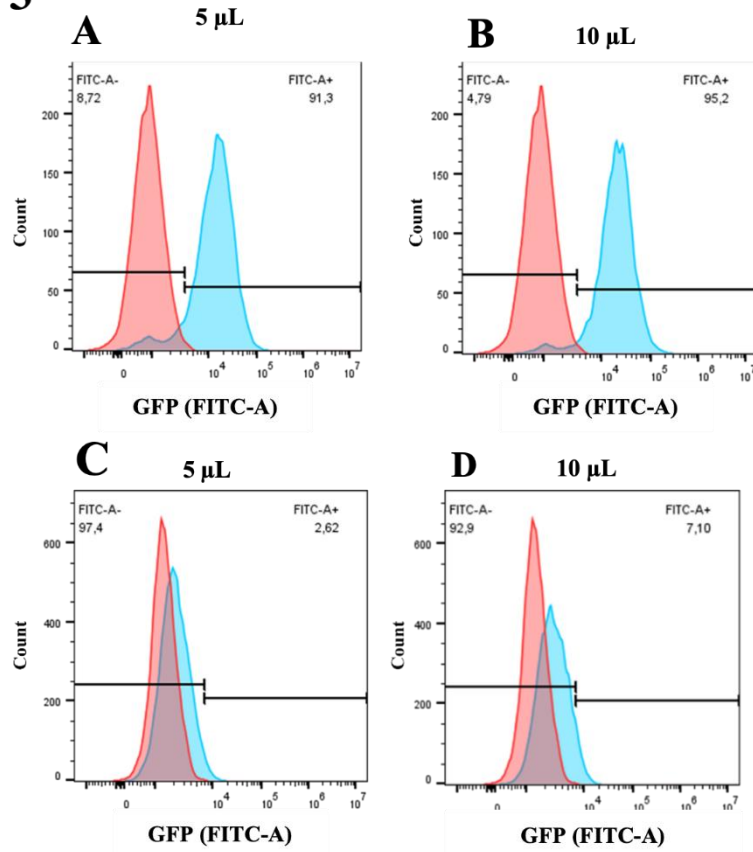
Tablo 1. İkinci ve Üçüncü Nesil Paketleme Sistemleri & Plazmid Miktarları (10 cm dish)



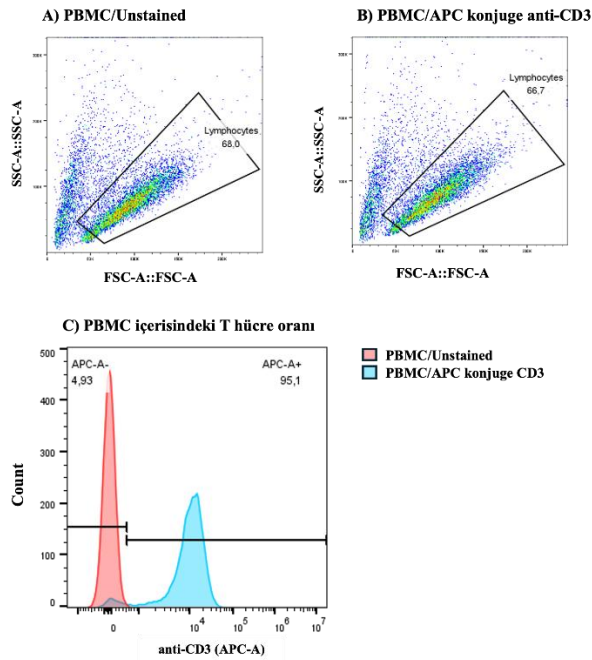
Şekil 1. pCMV-2NLS-EGFP-6XMS2 klonlamasına ait genetik devre

Şekil 2. GFP VLP'nin komponentlerinin SDS-PAGE analizi ile gösterimi

3

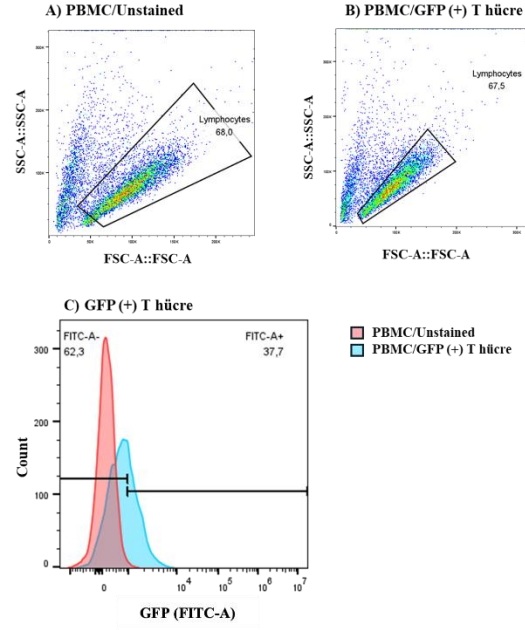


Şekil 3. İkinci ve üçüncü nesil sistemler kullanılarak VLP üretiminin etkinlik karşılaştırması. Şekil 3A ve 3B’de, üçüncü nesil sistem ile üretilen VLP’lerin 5 µL ve 10 µL hacimleri ile transdükte edilen Lenti-X hücrelerindeki GFP ekspresyon düzeylerini gösterilmiştir. Şekil 3C ve 3D’de, ikinci nesil sistem kullanılarak üretilmiş VLP’lerin 5 µL ve 10 µL hacimleri ile transdükte edilen Lenti-X hücrelerindeki GFP ekspresyon düzeylerini gösterilmiştir.



Şekil 4. GFP VLP ile transdükte edilen PBMC hücrelerinin içerisindeki T hücre popülasyonunu gösteren akış sitometrisi analiz sonuçları A) Boyanmamış PBMC hücrelerinin kaplanması B) APC konjuge anti-

CD3 ile boyanmış PBMC hücrelerinin kapılanması C) Popülasyondaki T hücre oranının histogram grafiğinde gösterimi.



Şekil 5. GFP VLP ile transdükte edilen T hücrelerinin transdüksiyon oranını gösteren akış sitometrisi analiz sonuçları A) Boyanmamış PBMC hücrelerinin kapılanması B) GFP-VLP ile transdükte edilmiş PBMC hücrelerinin FITC kanalında kapılanması C) GFP (+) T hücrelerinin ve boyanmamış hücrelerin FITC kanalındaki histogram grafiklerinin gösterimi.

PB64 YENİ BİR *ITGB2* SPLİCE-BÖLGE VARYANTI TAŞIYAN LAD-1 OLGUSUNDA CD18 KAYBI VE LENFOİD KOMPARTIMAN DİSFONKSİYONU

Şerife Erdem¹, Betül Karaatmaca², Perihan Kader Kendirli³, Ayşe Demirçubuk⁴, Ekrem Ünal⁵, Ayşe Metin⁶, Ahmet Eken⁷

¹ Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Kırşehir

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara

³ Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Enstitüsü, Kayseri

⁴ Medical Point Hastanesi, Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi Kliniği, Gaziantep

⁵ Hasan Kalyoncu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Gaziantep

⁶ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, Çocuk İmmünoloji ve Alerji Kliniği, Ankara

⁷ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Giriş ve Amaç: Lökosit Adezyon Eksikliği Tip-1 (LAD-1), *ITGB2* genindeki mutasyonlara bağlı olarak CD18 ekspresyon kaybı ile karakterize, lökosit adezyonu ve dokuya migrasyonunda bozulma ile seyreden nadir bir primer immün yetmezliktir. Bu çalışmada *ITGB2* geninde homozigot c.1878-1G>A splice-bölge varyantı saptanan infant bir olguda immünfenotipik özelliklerin ve lenfoid hücre fonksiyonlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Hastanın klinik ve laboratuvar verileri geriye dönük olarak incelendi. *ITGB2* gen varyantı yeni nesil dizileme (NGS) yöntemi ile saptandı. Akım sitometri ile CD11b/CD18 ekspresyonu rutin immünoloji laboratuvarında değerlendirildi. Ayrıca T hücre alt grupları (CD4⁺ T hücreleri ve CD25⁺FOXP3⁺ düzenleyici T hücreleri) ile doğuştan lenfoid hücre (ILC) alt grupları (ILC1, ILC2 ve ILC3) analiz edildi. Periferik kan mononükleer hücrelerinde (PBMC) uyarı sonrası apoptoz, transwell migrasyon kapasitesi ve proliferatif yanıt; CD3/CD28, fitohemaglutinin (PHA) ve PMA/iyonomisin ile stimülasyon sonrası değerlendirildi.

Bulgular: Olguda belirgin hiperlökositoz ve nötrofili ile birlikte tekrarlayan enfeksiyon öyküsü mevcuttu. Akım sitometrik analizde CD11b⁺CD18⁺ hücre oranı %0,27 olarak saptandı ve bu değer ileri derecede düşük ekspresyon ile uyumlu bulundu. Lenfoid alt grup analizinde CD4⁺ T hücreleri ile düzenleyici T hücre (CD25⁺FOXP3⁺) frekansında azalma gözlemlendi. ILC alt grup dağılımı incelendiğinde ILC1 oranında azalma saptanırken ILC2 ve ILC3 oranlarında anlamlı bir değişiklik izlenmedi. Fonksiyonel analizlerde hücre migrasyon kapasitesinin benzer olduğu görülmekle birlikte, proliferatif yanıt özellikle PHA ve PMA/iyonomisin ile uyarım sonrası belirgin derecede azalmıştı. Ayrıca CD3/CD28 uyarımı sonrasında lenfosit apoptoz yüzdesinde azalma gözlemlendi.

Tartışma ve Sonuç: CD18 ekspresyonunun belirgin kaybı ile uyumlu olan bu olguda saptanan *ITGB2* splice-bölge varyantı LAD-1 fenotipini desteklemektedir. Kamusal varyant veri tabanlarında aynı HGVS tanımı ile doğrulanmış bir kayıt bulunmaması, söz konusu varyantın muhtemelen yeni (novel) bir varyant olabileceğini düşündürmektedir. Bulgularımız, LAD-1’de klasik nötrofil adezyon ve migrasyon kusurunun yanı sıra lenfoid kompartımanında da ölçülebilir fonksiyonel değişikliklerin ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Lökosit adezyon eksikliği tip-1, *ITGB2*, CD18, lenfoid disfonksiyon

PB65 ARTMIŞ TCR YANITI VE DİSREGÜLE AKTİVASYON İLE İLİŞKİLİ OLASI DİĞENİK ETKİLEŞİM: *CARD11* VE *MEFV* VARYANTLARI

Şerife Erdem¹, Perihan Kader Kendirli², Şekibe Zehra Doğan³, Mutlu Karkucak⁴, Muhsin Elmas⁵, Ekrem Ünal⁶, Ahmet Eken⁷

¹ Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Kırşehir

² Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Enstitüsü (GENKÖK), Kayseri

³ Liv Gaziantep Hastanesi, Çocuk Kliniği, Gaziantep

⁴ İstinye Üniversitesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

⁵ Medipol Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

⁶ Hasan Kalyoncu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Gaziantep

⁷ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Giriş ve Amaç: *CARD11* proteini, T hücre reseptörü (TCR) uyarımı sonrasında oluşan *CARD11*–*BCL10*–*MALT1* (CBM) sinyal kompleksi aracılığıyla NF- κ B yolak aktivasyonunda merkezi bir rol üstlenmektedir ve T hücre aktivasyonu ile immün yanıtın düzenlenmesinde kritik öneme sahiptir. Bu gende tanımlanan varyantların, immün disregülasyon, atopik bulgular ve değişken klinik fenotiplerle ilişkili olabileceği bildirilmektedir. *MEFV* geni ise pirin proteini aracılığıyla inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde görev almakta olup özellikle inflamazom aktivasyonu ve sitokin üretimi üzerinde etkilidir. Alerjik rinit, astım ve tekrarlayan ateş atakları öyküsü bulunan 8 yaşındaki erkek hastada gerçekleştirilen otoinflamatuvar gen paneli analizinde *CARD11* (NM_001324281.2:c.1492C>T; p.Arg498Cys, heterozigot) ve *MEFV* (ekzon 2, c.442G>C; p.Glu148Gln, heterozigot) varyantları saptanmıştır. Aynı *CARD11* varyantını taşıyan asemptomatik baba ile birlikte değerlendirildiğinde, bu varyantların olası fonksiyonel etkilerinin ve değişken klinik penetransının aydınlatılması önem kazanmaktadır. Bu çalışmada proband ve baba bireylerinde T hücre aracılı immün yanıtın fonksiyonel özelliklerinin değerlendirilmesi ve saptanan genetik varyantların immünolojik etkilerinin karakterize edilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Proband (PT), baba (FAT) ve yaş uyumlu sağlıklı kontrollerde lenfosit alt grupları, aktivasyon belirteçleri ve proliferasyon kapasitesi akım sitometrisi ile değerlendirildi. T hücre proliferatif yanıtı CD3/CD28 kostimülasyonu, fitohemaglutinin (PHA) ve PMA/ionomisin (PI) uyarımı ile analiz edildi. İnterlökin-2 (IL-2) üretimi hücre içi boyama yöntemi kullanılarak ölçüldü.

Bulgular: Proband ve babada CD4/CD8 oranında artış gözlemlendi. B hücre alt tip frekanslarında kontrole göre değişkenlik gözlemlendi. Proliferatif yanıtın hem fitohemaglutinin (PHA) hem de PMA/ionomisin (PI) uyarımı altında kontrole kıyasla artmış olduğu saptandı. Aktivasyon paterni, yüksek CD25 ve IL-2 ekspresyonu ile düşük CD69 ekspresyonu ile karakterizeydi. Aynı heterozigot *CARD11* varyantını taşıyan babada da benzer fonksiyonel değişikliklerin gözlenmesi, varyantın değişken penetrans gösterebileceğini desteklemektedir.

Tartışma ve Sonuç: *CARD11* p.Arg498Cys varyantı, artmış T hücre reseptörü (TCR) yanıtı ile uyumlu bir fonksiyonel profil sergilemektedir. Eşlik eden heterozigot *MEFV* p.Glu148Gln varyantının ise gözlenen inflamatuvar fenotipe katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bu olgu, çift heterozigot varyant taşıyan bireylerde fonksiyonel immün analizlerin genetik bulguların klinik yorumunda kritik önem taşıdığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *CARD11*, *MEFV*, edinsel bağışıklık, digenik kalıtım

PB66 KRONİK ITP İLE SEYREDEN BİR OLGUDA *ELF4* GENİNDE YENİ BİR VARYANT

Perihan Kader Kendirli¹, Şerife Erdem², Ayşenur Paç Kısaarslan³, Veysel Gök⁴, Eda Kayhan³, Alper Özcan⁴, Christoph Klein⁵, Ekrem Ünal⁶, Ahmet Eken⁷

¹ Erciyes Üniversitesi, Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Enstitüsü (GENKÖK), Kayseri

² Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Kırşehir

³ Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Romatoloji Anabilim Dalı, Kayseri

⁴ Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Anabilim Dalı, Kayseri

⁵ Ludwig-Maximilians-Universität, Dr. Von Hauner Çocuk Hastanesi, Pediatri Bölümü, Münih

⁶ Hasan Kalyoncu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Gaziantep

⁷ Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Giriş ve Amaç: *ELF4* geni, hematopoietik hücre gelişimi ve bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde rol oynayan ETS ailesi transkripsiyon faktörlerinden biridir. Son yıllarda *ELF4* genindeki varyantların immün disregülasyon, enfeksiyonlara yatkınlık ve çeşitli hematolojik bulgularla ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte, farklı *ELF4* varyantlarının klinik ve immünolojik etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, kronik immün trombositopeni (ITP) ile seyreden bir olguda saptanan *ELF4* genine ait yeni p.Gly608Arg varyantının klinik yansımalarının ve immünolojik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Hastanın periferik kan örneklerinden T ve doğal öldürücü (NK) hücreler izole edilerek immünolojik özellikleri değerlendirilmiştir. Lenfosit alt grupları ve aktivasyon belirteçleri akım sitometrisi kullanılarak analiz edilirken, NK hücre fonksiyonu NK sitotoksikite testleri ile incelenmiştir. T hücreleri CD3/CD28 aracılı uyarım sonrasında proliferasyon kapasiteleri ve aktivasyon belirteçleri açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca, sitotoksik fonksiyonun göstergesi olarak granzim B ve perforin düzeyleri ölçülmüş ve elde edilen bulgular literatürde bildirilen verilerle karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Hastada CD8⁺ T hücre sayısında artış ve CD4/CD8 oranında değişiklik saptanmıştır. Ayrıca CD45RA⁻ bellek fenotipine sahip CD4⁺ ve CD8⁺ T hücrelerinde aktivasyon belirteçlerinin ekspresyonunda farklılaşma gözlemlenmiştir. NK hücrelerinde granzim B ve perforin üretim düzeylerinin düşük olduğu belirlenmiş ve K562 hücrelerine karşı sitotoksik aktivitede belirgin azalma saptanmıştır. Bununla birlikte, uyarı sonrası T hücre proliferasyonunun belirgin şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgular, tanımlanan *ELF4* varyantının fonksiyon kaybı ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen bulgular, p.Gly608Arg varyantının *ELF4* proteininin fonksiyonunda kayba yol açabileceğini ve bunun T hücre aktivasyonu ile NK hücre sitotoksitesinde belirgin immünolojik değişikliklerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Klinik açıdan değerlendirildiğinde, söz konusu varyantın literatürde bildirilen diğer *ELF4* varyantlarından bazı yönleriyle farklı bir fenotip sergilediği gözlenmiştir. Bu tür özgün varyantların tanımlanması, otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıkların patofizyolojik mekanizmalarının anlaşılmasına katkı sağlayarak altta yatan genetik ve immünolojik süreçlerin daha iyi aydınlatılmasına olanak tanımaktadır.

Anahtar Kelimeler: *ELF4*, otoinflamasyon, T hücre aktivasyonu, doğal öldürücü hücre fonksiyonu

PB67 CDC42 MUTASYONLU NOCARH SENDROMUNDA ILC2–ILC3 EKSİKLİĞİ VE TREG FONKSİYONEL YENİDEN PROGRAMLANMASI

Ayşenur Paç Kısaarslan¹, Şerife Erdem², Sümeyra Özdemir Çiçek¹, Yeşim Haliloğlu³, Mine Aşan⁴, Meino Rohlf⁵, Christoph Klein⁵, Halit Canatan⁶, Ekrem Ünal⁷, Ahmet Eken⁶

¹ Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Romatoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

² Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye

³ Erciyes Üniversitesi, Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Enstitüsü (GENKÖK), Kayseri, Türkiye

⁴ Erciyes Üniversitesi, Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

⁵ Ludwig-Maximilians-Üniversitesi, Dr. Von Hauner Çocuk Hastanesi, Pediatri Bölümü, Münih, Almanya

⁶ Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

⁷ Hasan Kalyoncu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Gaziantep

Giriş ve Amaç: *CDC42* genindeki heterozigot mutasyonlarla ilişkili NOCARH sendromu; neonatal başlangıçlı pansitopeni, otoinflamasyon ve tekrarlayan hemofagositik lenfohistiyositoz (HLH) atakları ile karakterize nadir bir immün disregülasyon tablosudur. *CDC42*, hücre polaritesi, sitoskeleton organizasyonu ve immün hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde kritik rol oynayan bir Rho GTPazdır. Bu çalışmada *CDC42* mutasyonunun hem adaptif hem de doğuştan gelen immün hücre alt grupları üzerindeki etkilerinin fonksiyonel düzeyde değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: *CDC42* mutasyonu (c.556C>T; p.R186C) taşıyan bir hastadan elde edilen periferik kan örnekleri sağlıklı kontroller ile karşılaştırılmıştır. Akım sitometri ile FOXP3⁺ düzenleyici T hücreleri (Treg), Helios ekspresyonu, CD4⁺ T hücre proliferasyonu ve sitokin üretimi analiz edilmiştir. PMA/ionomisin ve CD3/CD28 stimülasyonları altında IFN- γ , TNF- α , IL-17A ve IL-10 üretimi değerlendirilmiştir. Ayrıca periferik kanda doğal lenfoid hücre (ILC) alt grupları analiz edilmiştir.

Bulgular: *CDC42* mutasyonu taşıyan hastada FOXP3⁺ Treg hücre yüzdesi ve FOXP3 ekspresyon düzeyi anlamlı olarak azalmış bulunmuştur. Buna karşın Helios⁺ Treg oranı ve Helios ekspresyon yoğunluğu belirgin şekilde artmıştır, bu durum Treg popülasyonunda fonksiyonel yeniden programlanmayı düşündürmektedir. Fonksiyonel analizlerde CD4⁺ T hücre proliferasyonunun hem bazal hem de CD3/CD28 ve IL-2 stimülasyonu altında anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir. Buna karşılık sitokin analizlerinde IL-17A ve IL-10 üretiminin belirgin şekilde arttığı, IFN- γ üretiminde ise göreceli artış eğilimi olduğu saptanmıştır. Bu bulgular *CDC42* mutasyonunun klasik Th1/Th17 dengesini değiştirmekten ziyade, immün yanıtı daha kompleks bir şekilde yeniden şekillendirdiğini düşündürmektedir. Doğuştan gelen immün sistem analizlerinde periferik kanda ILC2 ve ILC3 alt gruplarında belirgin azalma tespit edilmiştir. Bu durum *CDC42* mutasyonunun yalnızca adaptif immün yanıtı değil, aynı zamanda innate lenfoid hücre gelişimi ve homeostazını da etkilediğini göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç: *CDC42* mutasyonu, NOCARH sendromunda hem adaptif hem de doğuştan gelen immün sistem üzerinde çok katmanlı bir etkiye yol açmaktadır. Treg popülasyonunda FOXP3 azalması ile birlikte Helios artışı, bu hücrelerde fonksiyonel yeniden programlanmaya işaret ederken, CD4⁺ T hücre proliferasyonundaki azalma ve IL-17A/IL-10 üretimindeki artış immün yanıtın dengeden sapmış olduğunu göstermektedir. Ayrıca ILC2 ve ILC3 alt gruplarındaki azalma, *CDC42*'nin innate lenfoid hücre biyolojisinde kritik bir düzenleyici olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular *CDC42* mutasyonlarının immün disregülasyonu yalnızca tek bir hücre hattı üzerinden değil, çoklu immün hücre popülasyonlarını etkileyerek oluşturduğunu göstermekte ve hastalığın patogeneze yönelik yeni terapötik hedeflerin tanımlanmasına katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: CDC42, NOCARH sendromu, Treg, helios, ILC, immün disregülasyon

PB68 UNDERLYING IMMUNODEFICIENCIES IN CHILDREN PRESENTING WITH INVASIVE PNEUMOCOCCAL DISEASE: A RETROSPECTIVE COHORT STUDY

Nurefşan Turkoğlu¹, Deniz Nazire Çağdaş Ayvaz², Saliha Esenboğa², Ali Bülent Cengiz¹, Yasemin Özsürekcı¹, Kübra Aykaç¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

² Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik İmmünoloji Ve Allerji Bilim Dalı, Ankara

Giriş ve Amaç: İnvasiv pnömokok hastalığı (IPD), pnömokok konjuge aşılarının yaygın olarak kullanılmasına rağmen çocuklarda morbidite ve mortalitenin önemli bir nedeni olmaya devam etmektedir. Artan kanıtlar, altta yatan immün yetmezliklerin konak duyarlılığına katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Bu çalışma, üçüncü basamak bir pediatrik merkezde IPD ile başvuran çocuklarda altta yatan immün yetmezliklerin prevalansını ve özelliklerini değerlendirmeyi amaçlamıştır.

Gereç ve Yöntemler: Ocak 2010–Ocak 2024 tarihleri arasında steril vücut sıvılarından kültür ve/veya polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile *Streptococcus pneumoniae* izole edilen 18 yaş altı çocukların dahil edildiği retrospektif bir kohort çalışma yürütüldü. Daha önce bilinen primer veya sekonder immün yetmezliği olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. İmmün yetmezlik varlığı, klinik özellikler, aşılama durumu, komplikasyonlar, yoğun bakım ünitesi (YBÜ) yatışı ve klinik sonuçlar değerlendirildi.

Bulgular: Toplam 55 invaziv pnömokok hastalığı (IPD) tanılı çocuk çalışmaya dahil edildi (medyan yaş 3.6 yıl, IQR 0.9–5.1); hastaların %56.4'ü erkekti. Pnömoni en sık klinik tabloydu (%69.1), bunu menenjit (%23.6) izledi. Elli beş hastanın 40'ında immünolojik değerlendirme yapıldı. Dört çocukta altta yatan immün yetmezlik saptandı (tüm kohortun %7.3'ü; değerlendirilenlerin %10'u); bunlar arasında parsiyel IgA eksikliği (n=2), geçici hipogamaglobulinemi (n=1) ve C3 eksikliği (n=1) yer aldı. Tüm immün yetmezlikler IPD'nin ilk atağından sonra tanı aldı ve bu hastaların hiçbirinde önceden bilinen kronik bir hastalık yoktu. Genel mortalite oranı %7.2 idi ve immün yetmezlik saptanan çocuklar arasında ölüm görülmedi.

Tartışma ve Sonuç: Pnömokok aşısı kapsayıcılığının yüksek olmasına rağmen invaziv pnömokok hastalığı (IPD) görülmeye devam etmekte ve daha önce tanınmamış immün yetmezlikleri ortaya çıkarabilmektedir. Bulgularımız, IPD ile başvuran çocuklarda, ilk ataktan sonra bile, erken tanı ve uygun uzun dönem yönetim için hedefe yönelik immünolojik değerlendirmenin düşünülmesi gerektiğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: İnvasiv pnömokok hastalığı, İmmün yetmezlik, Pediatrik hastalar

