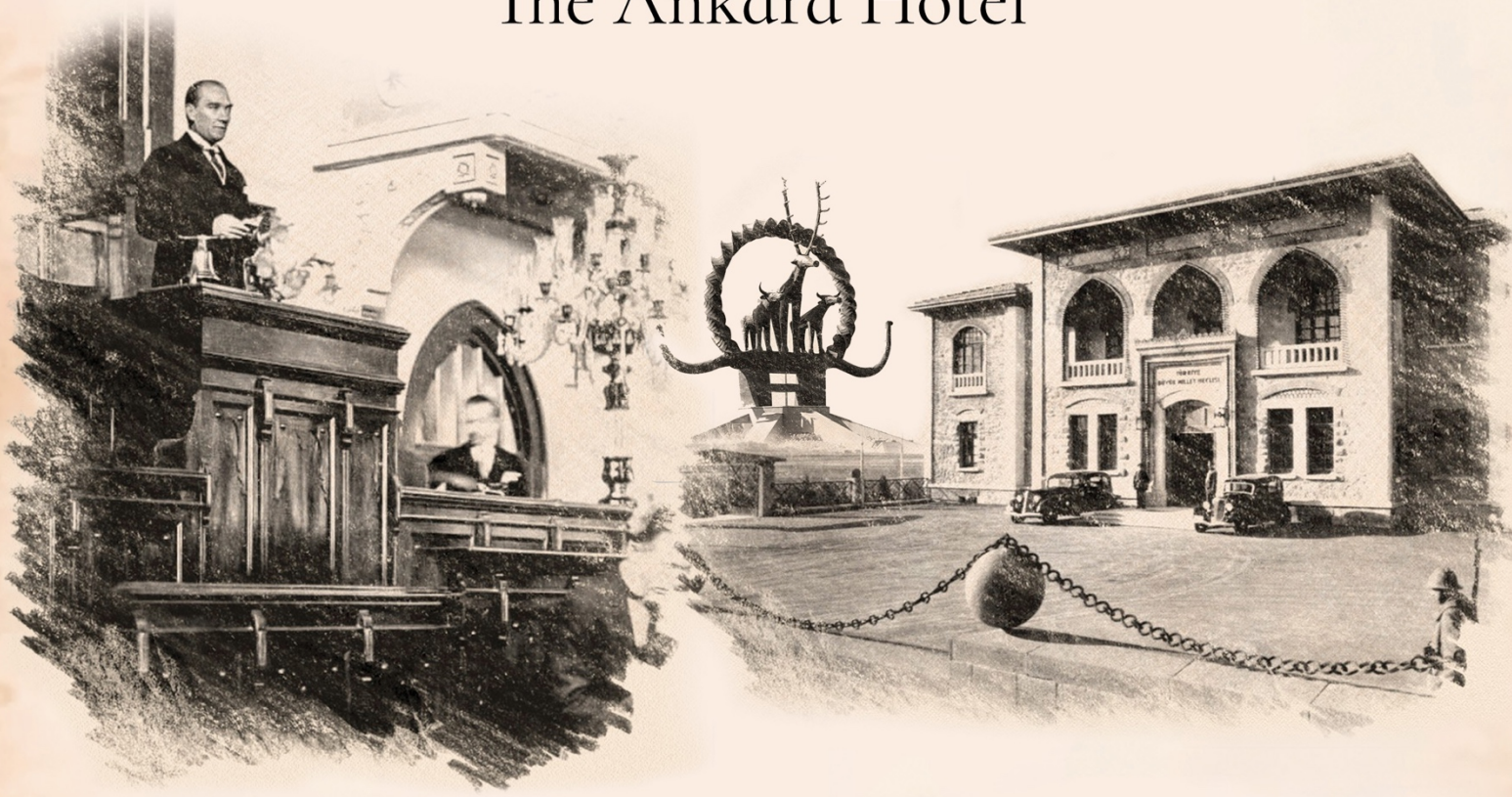
TÜRK İMMÜNOLOJİ DERNEĞİ

1974

XXVI. ULUSAL İMMÜNOLOJİ KONGRESİ

11-13 Kasım 2023, Ankara
The Ankara Hotel



BİLDİRİ ÖZETLERİ

TÜRK İMMÜNOLOJİ DERNEĞİ

XXVI. ULUSAL İMMÜNOLOJİ KONGRESİ

11-13 Kasım 2023, Ankara
The Ankara Otel

SÖZEL BİLDİRİLER



MAKROFAJ LEİSHMANİA PARAZİTEMİSİNDE CGAS-STING-TBK1 SİNYAL YOLAĞININ KRİTİK ROLÜ

İSMAİL CEM YILMAZ[1], MAYDA GURSEL[1]

[1]*İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR*

Özet:

Leishmania parazitleri, kinetoplast DNA (kDNA) olarak bilinen benzersiz bir dairesel DNA ağı barındırır. Leishmania enfeksiyonlarında kDNAnın rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmada, Leishmania major ile enfekte THP-1 makrofajlarının sitozolüne kDNA verilmesinin, verilmemiş hücrelere kıyasla parazit yüklerinin artmasına neden olduğunu ve parazitin bağışıklık sisteminden kaçışını kolaylaştırmada sitozolik DNA sensörlerinin rolüne işaret ettiğini gözlemliyoruz. Parazit proliferasyonu, cGAS- STING- ve TBK-1 nakavt THP-1 makrofajlarında vahşi tip hücrelere kıyasla önemli ölçüde engellenmiştir. L. major ile enfekte yabanıl tip ve nakavt hücreler üzerinde yapılan nanostring nCounter gen ifadesi analizi, Granulysin (GNLY), Chitotriosidase-1 (CHIT1), Sialomucin core protein 24 (CD164), SLAM Family Member 7 (SLAMF7), insülin benzeri büyüme faktörü reseptörü 2 (IGF2R) ve apolipoprotein E (APOE) dahil olmak üzere en çok ifadesi artan genlerden bazılarının enfekte cGAS ve TBK1 nakavt hücrelerinde aynı olduğunu ortaya koymuştur. L. major ile enfekte yabanıl tip hücrelerin Amlexanox ile muamelesi (bir pTBK1 inhibitörü) enfekte THP-1 hücrelerinin hem yüzdesini hem de parazit yükünü azaltmış ve parazitle enfekte farelerde ayak tabanının şişmesini geciktirmiştir. Toplu olarak, bu sonuçlar leishmania parazitlerinin cGAS-STING-TBK1 sinyal yolunu kendi avantajlarına kullanabileceğini ve TBK1 inhibitörü amlexanoxun kutanöz leishmaniasis tedavisinde aday bir ilaç olarak ilgi çekebileceğini göstermektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK proje no: 115S073 ve proje no: 219S678



KANATLI ENDÜSTRİSİ İÇİN IBV'YE KARŞI YENİ AŞI ADJUVAN FORMÜLASYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ

MUSTAFA AKIN [1], BÜŞRA ÇAKIR [1], H. BORA ÜNLÜ [2], FURKAN OZAN ÇÖVEN [3], GÖKSEL GÖKTAŞ [3], SEVDA ZEİNALİ [4], ANNA KOLLáR [5], MİKLóS TENK [1], FETHİYE ÇÖVEN [6], AYŞE NALBANTSOY [7]

[1] *PETRO YAĞ VE KİMYASALLAR SAN. VE TİC. A.Ş, KOCAELİ*
[2] *EGE UNİVERSİTESİ,ZİRAAT FAKÜLTESİ, ZOOTEKNİ BÖLÜMÜ, , BORNOVA, İZMİR*
[3] *EGE ÜNİVERSİTESİ, FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİYOMÜHENDİSLİK BÖLÜMÜ, BORNOVA, IZMİR*
[4] *EGE ÜNİVERSİTESİ, FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI, BORNOVA, IZMİR*
[5] *VETERİNER ÜNİVERSİTESİ, EPİDEMİYOLOJİ VE MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI, BUDAPEŞTE, MACARİSTAN*
[6] *KANATLI HASTALIKLARI TEŞHİS LABORATUVARI, BORNOVA VETERİNER KONTROL ENSTİTÜSÜ, İZMİR*
[7] *EGE ÜNİVERSİTESİ, MÜHENDİSLİK FAKÜLTESİ, BİYOMÜHENDİSLİK BÖLÜMÜ, BORNOVA, İZMİR*

Amaç: Proje kapsamında yağ bazlı (W/O) glikozit molekülleri içeren yeni adjuvan adayları geliştirilerek kanatlılarda IBVye karşı ilk kez incelenerek yeni aşıların geliştirilmesi hedeflenmektedir. Materyal ve Metot: IBV H120 suşu üretildi. Coral Biyoteknoloji San. ve Tic. A.Ş. tarafından geliştirilen Coralvac RZ528 adjuvanlarının aşı formülasyonlarında kullanılarak stabilite ve immün yanıtları ticari adjuvana karşı incelendi. Aşılama etkinliği, serum antikoru (IgY), mukozal antikor (IgA) yanıtları ve sitokin seviyelerindeki değişiklikler açısından ELISA ile değerlendirildi. Hücresel yanıt, CD4+/CD8+ akış sitometrisi ve M41 virüs suşu ile spesifik patojen içermeyen (SPF) oküler-nazal yolla yapılan virüs yükleme testi kullanılarak belirlendi.

Bulgular: Proje kapsamında yeni geliştirilen adjuvanların (CORALVAC) fiziksel ve kimyasal analiz değerleri sınır değerler arasında yer alıyor. CORALVAC adjuvanlarının düşük emülsiyon viskoziteleri enjekte edilebilirliklerini kolaylaştırır. Anti-IBV antikorlarının yanıtları incelendiğinde ticari adjuvanlara göre daha hızlı ve daha yüksek antikor yanıtları elde edildi. Challenge testi sonrasında aşının koruyuculuğu incelendiğinde ticari adjuvanlara göre daha yüksek IgA antikor yanıtı elde edildi. Aşılamadan sonraki 14. ve 28. Günlerdeki IL-1β, IL-2, IL-4 ve IFN-y sitokin seviyeleri incelendi. 28. günde splenosit T lenfosit alt grupları (CD4+ ve CD8+) akış sitometri analiziyle incelendi. Elde edilen bulgulara bakıldığında CORALVAC adjuvanlarının CD4+ ve CD8+ yanıtlarının dengeli olduğu belirlendi. Aşı formülasyonlarının koruyucu etkinliğinin değerlendirilmesi, aşının koruyuculuğunun ve enfeksiyon sonrası virüs yayılımının belirlenmesi amacıyla trakea, çekal bademcik, akciğer ve böbrekten alınan doku örnekleri RT-qPCR ile incelendi ve ticari örneklerle karşılaştırıldığında olumlu sonuçlar elde edildi. adjuvanlar.

Sonuç: Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar incelendiğinde proje kapsamında geliştirilen CORALVAC adjuvanlarının ticari aşılarda kullanıma uygun olduğu görüldü.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK – NRDIO (Macaristan) İkili İş birliği çağrısı ile 121N542 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.



YAŞA ÖZGÜ ADJUVANLAR KULLANILARAK ROTAVİRÜSE KARŞI AŞI TASARIMI

BANU BAYYURT KOCABAŞ, HAVVA HOMAK

ORTA DOĞU TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, HOST-MİCROBE ETKİLEŞİM LABORATUVARI, BİYOLOJİK BİLİMLER BÖLÜMÜ, ANKARA

Amaç: Rotavirüs, dünya genelinde 5 yaş altı çocuklarda ishalle ilgili ölümün önde gelen nedenlerinden biridir ve yıllık olarak 200.000'den fazla çocuk ölümüne neden olmaktadır. Virüs genellikle fekal-oral yolla bulaşır ve ishal, kusma, halsizlik, ateş gibi ciddi semptomlara neden olarak tedaviyi zorlaştırır. Virüsün etkisi yenidoğan ve bebeklerde daha yüksektir. Erken yaşlarda aşılara karşı bağışıklık yanıtı üretilebilse de kontrol mekanizmalarındaki farklılıklardan ötürü aşılarda kullanılan adjuvanlar yetişkinlerde çalıştığı etkinlikte yenidoğan ve çocuklarda çalışmamaktadır. Bu amaçla, çoklu PRR ligandlarını kullanarak geliştirilecek bir PRR-nano tanecik tabanlı aşı, yenidoğan ve bebeklerde virüsle savaşmak için gerekli Th1 bağışıklık yanıtını arttırmak için kullanılacaktır.

Metot: Yenidoğan (5-7 gün) ve yetişkin BALB/c (6-8 hafta) farelerden elde edilen dalak hücreleri tekli ve çoklu PRR agonistleriyle stimüle edilmiştir. IFN-γ ve IFNα/β seviyeleri ELISA yöntemiyle ve B16 IFNα/β raportör hücreleri kullanılarak ölçülmüştür. Stimüle edilmiş dalak hücrelerinin kositmulan molekül (CD80, CD83 ve CD86) miktarı akım sitometresi ile tayin edilmiştir.

Bulgular: Yenidoğan farelerde tekli PRR'ın çalışmadığı dozlarda kombine TLR3, TLR9 ve STING agonistlerinin IFN-γ ve IFNα/β seviyelerini arttırabildiği ayrıca kostimulan molekülleri aktive ettiği bulunmuştur. Bunun yanında en etkili tekli immunostimülan agonistin TLR7/8 ligantı olan R848 olduğu gösterilmiştir. cGAS/STING yolağını aktive eden agonistlerin interferon miktarını kombinasyonlarla arttırmasına rağmen MHC-II$^+$ CD86$^+$ dalak hücrelerinin miktarını yetişkinlere göre arttırmadığı anlaşılmıştır.

Sonuç: İlerleyen çalışmalarda, etkili olduğu görülen kombine PRR'lar nano-lipozomlara yüklenecektir. Etkisi hem yetişkin hem de yenidoğan farelerde incelenecek ve ebeveyn aşılanması sonucu virüse özgü bağışıklığın oluşumu incelenecektir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK 121C122-2232-B Uluslararası Genç Araştırmacılar



ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİNDE PROGESTERONUN MPRA ARACILI SİNYAL İLETİMİNE VE MPRA/NPR ARACILI İMMÜN YANITLARA ETKİSİ

DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ [1,2,3], ŞAHİKA CINGIR KÖKER [6], KÜBRA PASPAL [6], ONUR ETGÜ [2,3], SILA ULUTÜRK [5], ÇİSEL AYDIN MERİÇÖZ [4], GÜNEŞ ESENDAĞLI [5], İREM DOĞAN TURAÇLI [6,7]

[1] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İMMÜNOLOJİ AD, BURSA
[2] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA
[3] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ TIP-İMMÜNOLOJİ AD, BURSA
[4] KOÇ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ PATOLOJİ AD, İSTANBUL
[5] HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ AD, ANKARA
[6] UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOLOJİ AD, ANKARA
[7] UNİVERSİTY OF ZURİCH, INSTITUTE OF EXPERIMENTAL IMMUNOLOGY, CANCER IMMUNOBİOLOGY, İSVİÇRE

Amaç: Progesteron, nükleer (nPR) ve membran progesteron (mPRa) olmak üzere iki tip reseptör üzerinden hücresel etki göstermektedir. Amacımız; ÜNMKde nPR ifadesi çok az olduğundan, progesteronun özellikle mPR aracılı in vitro ve in vivo etki mekanizmasını ortaya çıkarmak, ko-kültürlerde immün yanıt regülasyonunu belirlemek, sinjenik tümör modelinde proliferatif, metastatik ve immün regülatör etkilerini değerlendirmektir.

Materyal ve Metot: 4T1 ve EMT6 hücrelerinde lentiviral transdüksiyon ile mPRa ifadesi susturuldu. Proliferasyonun belirlenmesi amacıyla MTT testi, in vitro ve in vivo proliferatif, apoptotik, metastatik sinyal yolaklarının değerlendirilmesi amacıyla qPCR ve Western Blot analizleri yapıldı. ÜNMK hücreleri ile oluşturulan ko-kültürlerde kemik iliği ve dalak miyeloid ve T hücre yanıtları belirlendi. 4T1 sinjenik ÜNMK tümör modeli oluşturulup, tümör gelişimi ve immün yanıtlar değerlendirildi. Metaztaz ve tümöre infiltre olmuş immün hücrelerin karakterizasyonu histopatolojik, immünohistokimyasal ve immünfloresans yöntemlerle incelendi.

Bulgular: Progesteronun mPRa ifadesi kapatılan ÜNMK hücrelerinde proliferasyonu desteklediği belirlendi. Hücre içi pekçok farklı sinyal mekanizmasına ait RNA ve protein ifade analizlerinde; ÜNMK'de progesteronun mPRa aracılığı ile MET aktivasyonunu azaltıp, STAT üzerinden S6 sinyali ile proliferasyonu, CyclinD1 ve c-myc üzerinden ise hücre döngüsü etkilediğini belirlendi. ÜNMK hücreleri ve miyeloid hücre alt grupları ile yapılan ko-kültürlerde progesteronun hücre canlılığını anlamlı şekilde etkilediğini belirlendi. 4T1 ko-kültürlerinde progesteron T hücre proliferasyonunu arttırmış, 4T1 proliferasyonunu azaltmış, makrofaj polarizasyonunu etkilemiştir. In vivoda yüksek doz progesteron, nPR antagonisti ile birlikte verildiğinde tümör büyümesini olumsuz etkilemiştir.

Sonuç: *İn vitro/ex-vivo* analizler, yüksek doz progesteronun tümör destekleyici etkisi olduğunu gösterdi. Ko-kültürler yüksek doz progesteronun kanser hücre canlılığını azalttığını, bazı miyeloid gruplar ile CD8+ T hücre proliferasyonunu arttırdığını, mPRa üzerinden anti-tümör immün yanıtları desteklediğini gösterdi. *İn vivo* analizlerde progesteronun yalnızca nPR antagonisti ile birlikte verildiğinde anti-tümörijenik etkisinin olması, ÜNMKda nPR ifadesi olmadığından, ancak immün hücrelerdeki nPR kapatıldığında etkili olabileceğini göstermektedir. Bu durum ÜNMK/nPR/mPRa aksisinde immun regülasyonun en önemli düzenleyici olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu proje TÜBİTAK 1001, SBAG kapsamında desteklenmiştir (proje no: 219S666).



AKCİĞER KANSERİNDE MYELOİD KÖKENLİ BASKILAYICI HÜCRELERİN VE PROİNFLAMATUAR SİTOKİNLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

AYÇA CEYLAN [1], FİKRET AKYÜREK [2], MEHMET ARTAÇ [3], HÜSAMETTİN VATANSEV [2], HASİBE ARTAÇ [1]

[1] SELÇUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI, ÇOCUK İMMÜNOLOJİSİ VE ALLERJİSİ BİLİM DALI, KONYA
[2] SELÇUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI, KONYA
[3] NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ MERAM TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, KONYA

Amaç: Akciğer kanserli hastalarda myeloid kökenli baskılayıcı hücreler (MDSC)'in anti-tümör immün yanıtlardaki rolü ve MDSC düzeylerinin klinik sonuçlarla ilişkisi araştırılmaya devam edilmektedir. Bu çalışmada, küçük hücreli dışı akciğer kanserli (KHDAK) hastalarda; periferik kanda MDSC düzeylerinin ve proinflamatuar sitokinler "IL-1β ve TNF-α" ile birlikte değerlendirilmesi amaçlandı.

Materyal-Metot: KHDAK'li yeni tanı almış ve tedavi başlanmamış 30 hasta (ortanca yaş [IQR]: 62 yıl [12,3]) ve 20 sağlıklı kontrol (62 yıl [14,8]) çalışmaya dahil edildi. Periferik kan numunelerinde MDSC'ler ficol-histopaque yöntemiyle izole edildi ve akım sitometrik immünfenotiplemeyle $CD66b^{+}CD11b^{+}HLA\ DR^{-}$ olarak belirlendi; $CD15^{+}$ PMN-MDSC, $CD14^{+}$ M-MDSC olarak sınıflandırıldı. Serum numunelerinde IL-1β ve TNF-α düzeyleri ELISA yöntemiyle saptandı.

Bulgular: KHDAK'li hastalarda MDSC ve PMN-MDSC hücre oranlarında kontrole göre artış saptandı (sırasıyla hasta ve kontrol ortanca [IQR]; MDSC: %14,72 [27,75]; %1,17[5,83]; p<0,01 ve PMN-MDSC: %14,42[27,56]; %0,14[5,75]; p<0,01). M-MDSC hücre oranı KHDAK'li hastalarda %0,01(0,02) olup; kontrol grubunda saptanmadı.TNF-α düzeyi KHDAK'li hastalarda kontrole göre düşüktü (hasta grubu;54,95 pg/ml[7,81] ve kontrol grubu;66,27 pg/ml[8,89],p<0,01). KHDAK'li hastaların lenfosit oranı normal sınırın altındaydı (% 20,5 – 55,5). PMN-MDSC ve lenfosit oranları arasında negatif korelasyon saptandı (r=-0,363, p=0,04). IL-1β düzeyinde KHDAK'li hasta ve kontrol arasında fark yoktu(p=0,81); bununla birlikte IL-1β düzeyi, TNF-α düzeyi ile pozitif köreleydi (r=0,419, p=0,029).

Sonuç: MDSC ve PMN-MDSC alt grubu, T hücre aracılı immün yanıtları baskılayarak kanser gelişiminde rol oynar. Bu çalışmayla KHDAK'li hastalarda artmış MDSC ve PMN-MDSC'ler ile PMN-MDSC'lerin lenfositlerle negatif korelasyonu, bu hücrelerin lenfositleri baskılayarak akciğer kanserinde rol oynadığını düşündürmektedir. TNF sinyalizasyon yolağının MDSC'lerin kemik iliğinden uyarımında ve hayatta kalmasında rol oynadığı bildirilmiştir. KHDAK'li hastalarda MDSC ve serumda biyomarker olarak sitokinlerin ilişkisinin ortaya konması erken tanı ve tedaviye yanıtın takibine katkı sağlayacaktır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komitesi tarafından desteklenmiştir (21401110).



NF-KB YOLAK UYARIMI PAN-GRANÜLOSİT BELİRTECİ CD66B'Yİ TAŞIYAN YENİ BİR MONOSİT ALT-POPÜLASYONUN GELİŞİMİNİ TETİKLER

HAMDULLAH YANIK [1], KERİM BORA YILMAZ [2], TİMUÇİN EROL [3], GÜNEŞ ESENDAĞLI [1]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[2] *SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ, GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[3] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI, ANKARA*

Genel Bilgi ve Amaç: CD66b granülositleri diğer miyeloid hücrelerden ayırt etmek için kullanılan bir belirteçtir. Daha önce gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmalarda CD66b'nin kanser hastalarının dolaşımında bulunan monositler üzerinde de rastlanabildiği ve bu hücrelerin yüksek inflamatuvar kapasiteye sahip bir alt-popülasyon oluşturduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın amacı, dolaşımdaki monositlerin CD66b ifade etmesine neden olan faktörlerin belirlenmesi ve bu hücrelerin tümör mikroçevresindeki varlığın inflamatuvar faktörlerle ilişkilendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Sağlıklı donörlerden izole edilen $CD14^{+}HLA\text{-}DR^{+}$ monositler tümör mikroçevresinde sıklıkla rastlanan TNF-α ve IL-1β proinflamatuvar rekombinant sitokinler ile farklı konsantrasyon ve sürelerde uyarıldı. Pozitif kontrol olarak LPS ile uyarım gerçekleştirildi. Uyarım sonunda CD14, HLA-DR, CD80, CD86, CD66b, LOX-1, CCRL2 yüzey belirteçlerine akım sitometri ile bakıldı. Sonrasında bu koşullara ek olarak izole edilen monositler meme ve kolorektal kanser hastalarından alınan tümörler ve bu tümörlerden toplanan süpernatantlar eşliğinde kültüre edilmiştir. Son olarak, NF-κB yolağı BMS-345541 kimyasal blokaj ajanı ve IL-1β reseptör antagonisti (ANAKINRA) ile susturularak doğrulama deneyleri gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Sağlıklı kişilerden izole edilen $CD14^{+}HLA\text{-}DR^{+}$ monositlerin in vitro ve kanser hasta tümör dokuları ile ko-kültür uyarımı sonucunda CD66b, LOX-1, CCRL2 gibi proinflamatuvar monosit alt-popülasyonunda spesifik artışı olduğunu belirlenen yüzey belirteçlerinin miktarlarında, uyarım yapılmayan kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artış olduğu gözlenmiştir. IL-1β uyarımı bu popülasyonun steril inflamasyonda artışına neden olan faktör olarak saplanmıştır. NF-κB yolağının ve IL-1β reseptör etkileşiminin bloklanması bu uyarımlar sonucunda oluşan CD66b ifadesini engellemiştir.

Sonuç: Tümör mikroçevresinden kaynaklanan NF-kB yolağının uyarılmasına neden olan faktörler, özellikle IL-1β, monositlerde CD66b ifadesi ile karakterize edilebilen proinflamatuvar alt-popülasyonun gelişimine neden olur.



DÜŞÜK DOZ İN VİTRO IL-2 İLE T HÜCRE MODÜLASYONU: MYASTHENİA GRAVİS HASTALIĞINDA ETKİSİ

MERVE ÇEBİ [1], ARMAN ÇAKAR [2], HACER DURMUŞ TEKÇE [2], YEŞİM PARMAN [2], GÜHER SARUHAN DİRESKENELİ [1]

[1] *İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ, FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL*
[2] *İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ, NÖROLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL*

Özet:

Myastenia gravis (MG), nöromüsküler bileşkeye karşı otoantikorlarla gelişen otoimmün bir hastalıktır. MG patogenezinde, T foliküler yardımcı (Tfh), T periferik yardımcı (Tph) ve düzenleyici T (Treg) hücrelerinin olası rolü gösterilmiştir. Bu hücrelerin IL-2 gibi sitokinlerle modülasyonu, MG tedavisinde yeni yaklaşımlar sağlayabilir. Bu çalışmanın amacı, düşük doz IL-2nin MG hastalarının Tfh, Tph ve Treg hücreleri üzerindeki etkisini *in vitro* araştırmaktır.

Asetilkolin reseptör antikoru pozitif MG (AChR-MG) (n=31), kasa özgü kinaz antikoru pozitif MG (MuSK-MG) (n=12) hastaları ve sağlıklı kontroller (SK, n=28) çalışmaya dahil edildi. Donörlerin periferik kan mononükleer hücreleri IL-2 (10 IU/ml) varlığında veya yokluğunda 5 gün kültüre edildi. Kültür sonrası, Tfh, Tph ve Treg hücre popülasyonları incelenerek uyarının etkisi incelendi. Ayrıca, uyarısız ve IL-2 uyarılı kültürlerdeki hücre alt gruplarının oranları, "IL-2 etki oranı" olarak gruplar arasında karşılaştırıldı.

AChR-MG ve MuSK-MG hastalarında, kültürde, $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Treg hücreleri SK grubuna göre düşük iken, $PD\text{-}1^+$ veya $ICOS^+$ Tfh ($CD4^+CXCR5^+$) ve $PD\text{-}1^+$ veya $ICOS^+$ Tph ($CD4^+CXCR5^-$) hücreleri yüksekti. *İn vitro* IL-2 uyarısı, tüm gruplarda, Treg hücrelerini arttırırken, $PD\text{-}1^+$ veya $ICOS^+$ Tfh ve $PD\text{-}1^+$ veya $ICOS^+$ Tph popülasyonlarını azalttı. AChR-MG ve MuSK-MG hastalarında *in vitro* IL-2 uyarısı, Treg hücrelerini SK'ya göre daha yüksek oranda arttırırken, $PD\text{-}1^+$ veya $ICOS^+$ Tfh ve $ICOS^+$ Tph hücrelerini de daha fazla düşürdü.

Düşük doz IL-2 tedavisi, MG patogenezinde rol oynayan Tfh ve Tph gruplarını baskılarken, Treg hücre popülasyonunun etkinliğini artırarak hastalığın gelişiminde T hücrelerine yönelik bir tedavi seçeneği olabilir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma İ.Ü. BAP (37847) ve TÜBİTAK (222S650) tarafından desteklemiştir.



MİKROGLİAL NLRP3 İNFLAMAZOM AKTİVASYON REGÜLASYONUNDA UZUN-KODLAMA YAPMAYAN RNA NEAT1'İN ROLÜ

BORA TAŞTAN [1], AYŞEN ÇOTUK [1], BURAK İ. ARIÖZ [1], BEYZA TÜRE [1], NİLSU TAŞTAN [2], BİLGE KARAÇİÇEK [2], ŞERMİN GENÇ [3]

[1] İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR / İZMİR ULUSLARARASI BİYOTIP VE GENOM ENSTİTÜSÜ, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, İZMİR
[2] İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR
[3] İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR / SİNİRBİLİMLER ANABİLİM DALI, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, İZMİR

Özet:

Miyeloid kökenli mikroglia, merkezi sinir sisteminde homeostazın korunmasında görevli, immün yanıt verebilen hücrelerdir. Regüle edilmeyen mikroglial aktivasyon ve nöroinflamasyon merkezi sinir sistemi hastalıklarının patogenezinde rol almaktadır. Nöroinflamasyonu yönlendiren kilit mekanizmalar arasında, çeşitli moleküler motiflere yanıt olarak aktive olan NLRP3 inflamazom kompleksi yer almaktadır. Mikroglial NLRP3 inflamazom aktivasyonu otoimmün ve nörodejeneratif hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle NLRP3 aktivasyonunun regüle edilmesi önemlidir. Bu regülasyonda uzun kodlamayan RNAların (lncRNAlar) da rol alabileceği düşünülmektedir.

LncRNAlar, transkripsiyonel, epigenetik modifikasyonlar ya da translasyonel olarak gen ekspresyonunu düzenleyen kodlamayan RNAlardır. Bir lncRNA olan Nuclear Enriched Abundant Transcript 1 (NEAT1), nükleusta NONO, SFPQ vb. proteinlerle paraspeckle denilen yapılar oluşturarak mRNAların sitoplazmaya geçişini engellemekte ve böylece gen ekspresyonunun regülasyonunda görev almaktadır. Literatürde nörodejeneratif hastalıklarda NEAT1 ekspresyonun arttığı gösterilmiştir.

Bu çalışmada, NEAT1in mikroglial NLRP3 inflamazom aktivasyonundaki rolünün *in vitro* ve *in vivo* modeller kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, NEAT1 ekspresyon değişimi, paraspeckle yapısının oluşumu, NLRP3 inflamazom parametreleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. İlk olarak, N9 mikroglia hücrelerinde NLRP3 inflamazom aktivasyonunda NEAT1 ekspresyonunun arttığı belirlenmiş ve paraspeckle yapılarının oluşumu gösterilmiştir. Daha sonra, NEAT1 ekspresyonu NEAT1-spesifik siRNA kullanılarak baskılanmış ve mikroglial NLRP3 inflamazomu üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmanın *in vivo* kısmında ise NEAT1 KO farelere LPS enjeksiyonu yapılarak NLRP3 inflamazom aktivasyonu sağlanmıştır. Devamında ise NEAT1in mikroglial NLRP3 inflamazom aktivasyonundaki rolü davranış testleri ve moleküler biyolojik testler ile incelenmiştir. Çalışmamızın sonuçları NEAT1'ın mikroglial NLRP3 inflamazom aktivasyonunun regülasyonuna katıldığını göstermiştir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK-219S939 numaralı 1001 projesi



X'E BAĞLI AGAMAGLOBULİNEMİ (XLA)'DE LENTİVİRAL GEN TERAPİNİN PREKLİNİK UYGULAMALARI

İLAYDA ŞAHİN [1], AYÇA KIYKIM [2], SÜHEYLA OCAK [3], YUNUS EKEN [4], GİZEM ÖNDER [5], MERVE GÜNDOĞDU[6], ALPER AKKUŞ [7], KORAY YALÇIN [8], MÜGE SAYİTOĞLU [9], DERYA DİLEK KANÇAĞI [10], UĞUR ÖZBEK [11], ERCÜMENT OVALI [12], ÖZDEN HATIRNAZ NG [13], YUK YİN NG [14]

[1] ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ NADİR HASTALIKLAR VE YETİM İLAÇLAR *UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ (ACURARE), İSTANBUL / ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, MEDİKAL BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI, İSTANBUL*
[2] İSTANBUL CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI, İSTANBUL
[3] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK HEMATOLOJİ VE ONKOLOJİ BİLİM DALI, İSTANBUL
[4] İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ, FEN EDEBİYAT FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, MALATYA
[5] ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ NADİR HASTALIKLAR VE YETİM İLAÇLAR UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ (ACURARE), İSTANBUL / ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, BİYOKİMYA VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI, İSTANBUL
[6] ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, MEDİKAL BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI, İSTANBUL
[7] ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ NADİR HASTALIKLAR VE YETİM İLAÇLAR UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ (ACURARE), İSTANBUL, TÜRKİYE / ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, GENOM ÇALIŞMALARI ANA BİLİM DALI, İSTANBUL
[8] ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, MEDİKAL BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI, İSTANBUL / BAHÇEŞEHİR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI, İSTANBUL
[9] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, GENETİK ANA BİLİM DALI, İSTANBUL
[10] ACIBADEM LABCELL HÜCRESEL TEDAVİ LABORATUVARI, İSTANBUL, TÜRKİYE / FENERBAHÇE ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI, İSTANBUL
[11] ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ NADİR HASTALIKLAR VE YETİM İLAÇLAR UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ (ACURARE), İSTANBUL, TÜRKİYE / ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ GENETİK ANA BİLİM DALI, İSTANBUL / İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, NADİR VE TANISIZ HASTALIKLAR PLATFORMU, İZMİR
[12] ACIBADEM LABCELL HÜCRESEL TEDAVİ LABORATUVARI, İSTANBUL
[13] ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ NADİR HASTALIKLAR VE YETİM İLAÇLAR UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ (ACURARE), İSTANBUL, TÜRKİYE / ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, GENOM ÇALIŞMALARI ANA BİLİM DALI, İSTANBUL / ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ GENETİK ANA BİLİM DALI, İSTANBUL / ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI, İSTANBUL
[14] İSTANBUL BİLGİ ÜNİVERSİTESİ, MÜHENDİSLİK VE DOĞA BİLİMLERİ FAKÜLTESİ, GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL / UNİVERSİTY OF APPLİED SCİENCES UTRECHT, INSTİTUTE FOR LIFE SCIENCES AND CHEMISTRY, UTRECHT, THE NETHERLANDS

Özet:

XLA, insanda en sık gözlenen immün yetersizliktir ve Bruton tirozin kinaz (BTK) genindeki mutasyonlarla ortaya çıkmaktadır. XLA, hematopoetik kök hücreye (HKH) dayalı gen terapisi için ideal bir adaydır; B-lenfoid ve miyeloid eksikliğinin düzeltilmesiyle tedaviyi sağlayabilir. Önceki çalışmamızda lentiviral vektörlerle BTK geni düzeltilmiş HKH'leriyle, BTK geni silinmiş farelerde immün hasarların in vivo düzeldiğini göstermiştik. Bu çalışmada aynı vektörün insan hücresi üretimi için daha uygun olan NOD/SCID/IL2Rgamma-/- (NSG) farelerde uygulanması ve lentiviral tabanlı gen terapinin preklinik uygulanabilirliğinin kanıtlanması hedeflenmiştir.

Hasta kemik iliği örneklerinden ayrıştırılan CD34+ hücreleri, in vitro koşullarda coBTK geni taşıyan lentiviral tabanlı vektörlerle transforme edilerek NSG farelere transplante edilmiş ve insan hücrelerinin gelişimi akım sitometrisi ve qPCR ile değerlendirilmiştir.

Kemik iliğinde transdükte edilmiş kök hücre nakledilen farelerde CD19+ insan hücrelerinde artış saptanmıştır. Hasta1 ile transdükte edilmiş ve edilmemiş farelerde kıyasla yüksek CD19+ gözlemlenmiştir (sırasıyla 2,48/1,12-1,07/0,68). Ayrıca Hasta2 hücreleri nakledilen farelerde, transdükte edilmiş ve edilmemiş fareler arasında CD19+ artışı gözlemlenmiştir (sırasıyla 0,38/0,24-0,59/0,94). En yüksek fark gözlenen doku dalak olmuştur. Hasta2 ile transdükte edilmiş hücrelerin nakledildiği bir farede yüksek CD19+(21.26%) gözlemlenmiştir. Periferik kanda, Hasta2'yle transdükte edilmiş kök hücreleri nakledilen bir farede yüksek miktarda CD19+(%1,42) gözlemlenmiştir. BTK ifadesinin henüz protein düzeyinde saptanamayacağı düşünülerek coBTK ifadesi değerlendirilmiş ve tüm doku örneklerinde arttığı, kan ve dalakta anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir.



Sonuçlar, kök hücrelerin transdükte edildiğini, ilgili dokularda ifadesinin başladığını göstermiştir. Bulgularımız, engrafman süresinin yeni genlerin transkripsiyonu, translasyonu ve akım sitometriyle tespit edilebilen fonksiyonel proteinlere dönüştürülmesi için kısa olduğunu düşündürmektedir. Ancak gen terapi uygulamasının dokularda etkin olduğu ve yeterli süre verildiğinde B-hücre hasarını düzeltebileceği gösterilmiştir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Çalışma, Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) tarafından desteklenmiştir (Proje No: 11549). İlayda Şahin, TÜBİTAK-BİDEB bünyesinde yürütülmekte olan 2244 Üniversite-Sanayi Doktora Programı kapsamında 118C082 numaralı proje ile desteklenmektedir.



PREVENTING GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE BY REDIRECTING TREG SPECIFICITY WITH TCR RETROVIRAL TRANSDUCTION

ELİF YILDIZ[1], NİCK JONES[1], JİAMİN ZUO[1]

[1]*INSTITUTE OF IMMUNOLOGY AND IMMUNOTHERAPY, UNIVERSITY OF BIRMINGHAM, UK*

Purpose: Redirecting the specificity of Foxp3^{+} regulatory T cells (Treg) to alloantigen may enhance their therapeutic potential, however, the persistent presence of alloantigen may lead to Treg exhaustion/deletion. Therefore, we propose that generating Treg that recognise exogenous molecules may limit the timeframe and site of activation which may limit the aforementioned caveats of this approach.

Methods: Treg were isolated and expanded with anti-CD3/CD28 beads in the presence IL-2 and TGFβ *in vitro*. A viral vector containing the rearranged Vα14 and Vβ7 chains of an iNKT T cell TCR was generated and used to retrovirally transduce expanded Treg, the transduction efficiency was determined by flow cytometry and the suppressive capacity of such Treg was evaluated using a mixed lymphocyte reaction (MLR) *in vitro*.

Results: Treg cultured with beads and IL-2/TGFβ underwent significant expansion with limited contaminant cells. Additionally, expanded Treg were receptive to transduction as 60% expressed a functional iNKT TCR compared to mock transduced Treg after 7 days. Moreover, purified transduced Treg were able to suppress alloreactive T cell proliferation and expansion in the presence of αGalCer-CD1d.

Conclusion: We have shown Treg can be retrovirally-transduced with an iNKT TCR that re-directs specificity to glycolipid/CD1d and increases suppression. Therefore, this study suggests that redirecting the specificity of Treg to known antigens may enhance the ability of such cells to control allograft rejection, and GVHD.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Supported by the Ministry of National Education of the Republic of Turkey



PTPN22 İNHİBİSYONU, SİSTEMİK LUPUS ERİTEMATOZUSTA OTOREAKTİF B HÜCRELERİNİN ÜRETİMİNİ ÖNLER

F. NAZ CEMRE KALAYCI [1,2], ADRİEN MİROUSE [4], YANN LE GUEN [4], ESEN SEFİK [1], FABİEN R. DELMOTTE [1], JEFF W. CHEN [1], JENNİFER BARNAS [3], RİCHARD FLAVELL [1], JENNİFER H. ANOLİK [1,4], ERIC MEFFRE [1,4]

[1] *YALE UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE, USA*
[2] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, ANKARA*
[3] *ROCHESTER UNIVERSITY ALLERGY, IMMUNOLOGY, & RHEUMATOLOGY, USA*
[4] *STANFORD UNIVERSITY MEDICINE-IMMUNOLOGY & RHEUMATOLOGY, USA*

Amaç: Anti-B hücresi tedavileri otoimmünite tedavisinde etkinlik gösterirken, sistemik lupus eritematozuslu (SLE) hastalarda kusurlu erken B hücresi tolerans kontrol noktalarını düzelterek otoreaktif B hücresi üretimini spesifik olarak önleyecek alternatif bir terapötik strateji keşfetmeyi amaçladık. Bir PTPN22 fonksiyon kaybı polimorfizminin SLE a karşı koruma sağladığı bildirildiğinden, amacımız PTPN22 inhibisyonunun otoreaktif B hücresi üretimi üzerindeki etkisini değerlendirmekti.

Metot: MISTRG6 hümanize fareler, 3 sağlıklı donörden (HD) ve 5 SLEli hastadan toplanan hematopoetik kök hücreler (HSCler) ile allografttan sonra üretildi ve daha sonra LTV-1 veya A1907001 PTPN22 inhibitörüne veya kontrol DMSO enjeksiyonlarına tabi tutuldu. Rekombinant antikorlar, insanlaştırılmış farelerden ve deneklerden izole edilen tek transit B hücrelerinden klonlandı ve bunların reaktiviteleri, ELISA'yla test edildi. scRNA analizi, kemik iliğinden izole edilmiş CD19+ ile zenginleştirilmiş B hücresi öncüleriyle yapıldı.

Bulgular: SLE hastalarından izole edilen HSClerle aşılanmış MISTRG6 farelerinde otoreaktif B hücre frekansları (%36), hastanın kanındaki benzerlerine benzer (%24) olarak yükseldi. Buna karşılık, PTPN22 blokajı, ortalama %8 ($p<0,0001$) olan otoreaktif B hücresi oranlarını önemli ölçüde azalttı ve HDden HSCler nakledilen MISTRG6 farelerindeki oranlara benzerdi. scRNA sıralama analizi, PTPN22 inhibisyonunun interferon imzasını azalttığını ve BCR sinyalini güçlendirdiğini ortaya çıkardı.

Sonuç: PTPN22 inhibisyonu, sağlıklı transit B hücresi popülasyonunun oluşumunu destekler ve SLEde bozulmuş merkezi B hücresi merkezi toleransını onarır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Lupus Research Alliance, AbbVie, U.S. Department of Defense



S100A9 AND HMGB1 REGULATE MDSC-MEDIATED IMMUNOSUPPRESSION IN MELANOMA

[1]FEYZA GÜL ÖZBAY KURT, [1]VİKTOR UMANSKY

[1]SKIN CANCER UNIT, GERMAN CANCER RESEARCH CENTER (DKFZ), HEIDELBERG, GERMANY / DEPARTMENT OF DERMATOLOGY, VENEREOLOGY AND ALLERGOLOGY, UNIVERSITY MEDICAL CENTER MANNHEIM, RUPRECHT-KARL UNIVERSITY OF HEIDELBERG, MANNHEIM, GERMANY

Özet:

Immunotherapy for malignant melanoma faces challenges due to resistance developed by some patients. Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) accumulate in melanoma, inhibit anti-tumor T-cell responses and promote immunosuppression, thereby promoting tumor progression and therapy resistance. This study investigates the role of TLR4 signaling in MDSC-mediated immune suppression in melanoma, focusing on the TLR4 ligands S100A9 and HMGB1. Healthy donor-derived monocytes were stimulated with recombinant S100A9 and HMGB1. The immunosuppressive capacity of stimulated monocytes and melanoma patient-derived MDSC were assessed in the functional assays with T cells with or without TLR4 and RAGE inhibitors. Expression of MDSC-related markers were assessed via flow cytometry, western blotting, gene profiling, and TCGA data analysis. Plasma S100A8/9 and HMGB1 levels in melanoma patients were measured with ELISA. Monocyte clusters in melanoma patients and healthy donors were compared using single-cell RNA sequencing. Increased plasma levels of S100A8/9 predict poor PFS in melanoma. Elevated S100A8/9 and HMGB1 in melanoma patients correlated with immunosuppressive markers on MDSCs. S100A9 and HMGB1 stimulated monocytes suppressed T cells with increased ROS, NO, PD-L1 and IDO expression. Blocking TLR4 signaling abrogated T cell suppression. This study highlights the role of TLR4 and, to a lesser extent, RAGE, together with S100A9 and HMGB1, in MDSC-mediated immunosuppression in melanoma. Targeting TLR4 pathway holds promise for improving melanoma immunotherapy.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): This work was supported by the German Federal Ministry of Education and Research–SERPENTINE project in the ERA PerMed network (01KU2017), the German Research Foundation (project number 259332240/RTG 2099 and the German Academic Exchange Service (DAAD).

TÜRK İMMÜNOLOJİ DERNEĞİ

XXVI. ULUSAL İMMÜNOLOJİ KONGRESİ

11-13 Kasım 2023, Ankara
The Ankara Otel

POSTER BİLDİRİLER



TOLL BENZERİ RESEPTÖR AGONİSTLERİ İLE EPİGENETİK İNHİBİTÖRLERİNİN KOMBİNASYONUNUN KANSER İMMÜNOTERAPİDE KULLANILMASI

[1]HAVVA HOMAK, [1]BANU BAYYURT KOCABAŞ

[1]ORTA DOĞU TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, HOST-MİCROBE ETKİLEŞİM LABORATUVARI, BİYOLOJİK BİLİMLER BÖLÜMÜ, ANKARA

Özet:

Kanser immünoterapisi, kanserle mücadelede hastanın bağışıklık sistemini uyaran başarılı bir tedavidir. Bununla birlikte, bazı hastalarda immünoterapi direnci veya kanserin hızlı ilerlemesine (hyperprogression) sebebiyet verebilir. Bu yüzden immünoterapi, kompleks yapılı kanserleri tedavi etmek için kombinasyon halinde kullanılmaktadır. Bir başka yeni kanser tedavisi, kanser hücrelerinin anormal gen ekspresyonunu epigenetik modifikasyonlar açısından çözen epigenetik tedavidir. Ek olarak, bu tedavinin bağışıklık hücrelerinin üzerinde de tümörün baskılayıcı ortamı çözmesine yardımcı etkileri bulunmuştur. Çalışmadaki amacımız, DNA metilasyonu veya histon asetilasyonu gibi epigenetik modifikasyonları hedef alan inhibitörlerle Toll benzeri reseptörlerin ligantları olan nükleik asit bazlı adjuvanları birlikte kullanarak kansere karşı kombinasyon tedavisi yapmaktır. İzole edilen dalak hücreleri, tekli halde veya epigenetik inhibitörlerle (DNMTi veya HDACi) kombine edilen adjuvanlarla 42 saat stimüle edildi. Stimülasyondan sonra hücre canlılığı CCK-8 kitiyle ölçüldü. Tip I ve II interferon seviyesi, sırasıyla B16-Blue IFN a/B raportör hücreleri kullanılarak ve ELISA teknikleriyle tespit edildi. Hücrelerin, kostimülatör (CD40, CD80 ve CD86) ve inhibitör (PD-L1/2) moleküllerinin seviyesi akış sitometrisinde tespit edildi. Splenositlerin K-ODN ve zebularin kombinasyonu ile uyarılması, tekli veya diğer epigenetik inhibitörlere kıyasla, tip I ve II interferon seviyelerini arttırdı. Benzer şekilde K-ODN ve düşük dozda zebularin kombinasyonu MHC-II$^+$ CD86$^+$/CD80$^+$ yüzdelerini yükseltti. İnhibitör moleküllerinde ise belirgin bir değişiklik gözlemlenmedi. İlerleyen çalışmalarımızda, K-ODN ve zebularin kombinasyonunun, kanser immünoterapisinde in vivo melanom fare modelinde kullanılabilirliği araştırılacaktır.



POSTMENOPOZAL DÖNEMİN ENDOSERVİKAL GAMMA DELTA T HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

BURCU YAĞMUR ARAS [1], SELEN DOĞAN [1], MÜNEVVER KAHRAMAN [2], ENDER TERZİOĞLU [3]

[1] *AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI, ANTALYA*
[2] *AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ, ANTALYA*
[3] *AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, ROMATOLOJİ ANABİLİM DALI, ANTALYA*

Amaç: Postmenopozal dönemde kadınlarda seks hormon seviyelerinin periodik dalgalanması azalmaktadır,düşük ve sabit düzeyde kalmaktadır.Bu durum enfeksiyon ve maligniteye karşı artan duyarlılığa ve aşılamada azalan yanıtlara yol açarak immün sistemin progresif düzensizliğine sebep olmaktadır.Gamma-delta (GDT) T hücreleri epitelyal bariyer korumasında ilk savunma görevi görmektedir ve immün sistemdeki görevleri araştırılmaya devam etmektedir.Bu çalışma, premenopozal ve postmenopozal dönemde sağlıklı kadın uterin serviksindeki intraepitelyal GDT hücre popülasyonlarının fenotipik özelliklerinin,sayısal ve fonksiyonel durumunun,ilişkili biyomarkerlarının değerlendirilmesini amaçlamaktadır.

Yöntem: Çalışmaya 5 yıl içerisinde HPV/smear taraması normal, servikal prekanseröz lezyon ve malignite öyküsü olmayan,16 premenopoz ve 13 postmenopoz kadın katılmıştır. Endoservikal sitobrush örnekleri flow sitometri cihazında immünfenotiplendirme analizi yapıldıktan sonra lenfosit yüzdeleri, fenotipleri ve GDT ilişkili CD3,CD4,CD8,NKG2D,HLADR,CD107a,CD45RA,CD27,CD69 biyomarkerları karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Endoservikal kanalda premenopozal ve postmenopozal dönemde, hücrelerin GDT1+ yüzdesi GDT2+ yüzdesinden fazla bulunmuştur (sırayla (p.0,07), (p.0,01)). GDT+CD107a+ ve GDT2+CD107a+ hücre yüzdelerinde postmenopozal azalma(sırayla (p.0,020),(p.0,020)) izlenmiştir.GDT+NKG2D+ ve GDT+HLADR+ hücre yüzdeleri postmenopozal artış(sırayla (p.0,019),(p.0,023)) göstermektedir.

Sonuç: Postmenopozal dönemde endoservikal GDT+CD107a grubundaki azalma, hücresel sitotoksisitesindeki ve immünitedeki azalmanın önemli bir göstergesidir.GDT+NKG2D+,GDT+HLADR+ hücrelerindeki artış yaşlanmayla servikste artan immün stimülasyonu göstermektedir ancak yaşla artan NK hücrelerinin sitotoksisitesinin azaldığı bilinmektedir.İleri yaşta immün remodelling amacıyla yapılacak terapötik müdahalelerin geliştirilmesi için GDT hücreleri oldukça önemlidir,çalışmamızın sonuçlarıyla bu duruma katkı sağlamayı hedeflemekteyiz.

Anahtar Kelimeler: T lenfosit, servikal karsinogenez, gamma-delta T hücresi

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Akdeniz Üniversitesi BAP Kurulu, TTU-2022-6058 proje numarası ile desteklenmiştir.



NK HÜCRE TEMELLİ BCL-2-SHRNA TAŞIYAN EKSOZOMLARIN KSENOGRAFT MEME KANSER MODELİNDE ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

SÜLEYMAN CAN ÖZTÜRK [1], SAADET ALAN [2], HALİN BAREKE [3], KÜBRA KABAN [4], HAMDULLAH YANIK [5], GÜNEŞ ESENDAĞLI [1,5], GÜLTEN KANTARCI [6], EMİNE ŞALVA [7]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ, ANKARA*
[2] *İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ PATOLOJİ BÖLÜMÜ, MALATYA*
[3] *LA PAZ HASTANESİ SAĞLIK ARAŞTIRMALARI ENSTİTÜSÜ, İSPANYA*
[4] *MARMARA ÜNİVERSİTESİ FARMASÖTİK BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL*
[5] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[6] *EGE ÜNİVERSİTESİ FARMASOTİK BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI, İZMİR*
[7] *İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ FARMASÖTİK BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI, MALATYA*

Amaç: Kanserde apoptozis direnci tedaviye zorlaştırabilmektedir. Tümörde Bcl-2 gibi anti-apoptotik genlerin susturulması etkili bir gen terapisi stratejisi olabilir. Doğal Öldürücü (NK) türevli eksozomların, FasL, TRAIL gibi pro-apoptotik moleküller içerdiği bilinmektedir. NK türevli eksozomların apoptozu indükleyici özelliğiyle apoptotik tepkiyi tetikleyecek gen taşıma kapasiteleri birleştirilebilir. Daha önce Bcl-2 shRNA ile lentiviral olarak transdüksiyon yapılmış NK92MI hücrelerinden türetilen eksozomları izole edildi ve karakterize edildi. Ayrıca bu eksozomların shRNAyı *in vitro* insan meme kanseri hücre hatlarına başarılı bir şekilde taşıyabildiği ve apoptozun indüklenmesine yol açtığı gözlemlendi. Bu çalışmada ise eksozomların anti-tümör etkilerini *in vivo* ortamlarda test ettik.

Materyal ve Metot: Bcl-2-shRNA ile lentiviral olarak transdüksiyona yapılmış NK92MI hücrelerinden eksozomlar izole edildi. Atimik farelerde MDA-MB-231 ksenograft meme kanseri modelinde, Bcl-2 shRNA içeren NK eksozomları haftada 2 kez intratumoral uygulandı. Bcl-2 tümör dokusundan immünohistokimya ve q-PCR ile çalışıldı. TUNEL ile apoptoz izlendi.

Bulgular: Özgün olmayan GFP-shRNA transdükte edilen NK kaynaklı eksozomların uygulandığı grupta tümörler %50 büyürken, Bcl-2-shRNA taşıyan NK eksozomlarının verildiği tedavi grubunda tümörler %65 küçüldü. Tümörlerde Bcl-2nin susturulması qRT-PCR ve immünohistokimya yöntemleriyle; apoptoz indüksiyonu TUNEL yöntemiyle gösterilmiştir. NK hücrelerindeki shBcl-2lerin eksozomlara yüklenebildiği ve eksozomların *in vivo* etkili shRNA taşıyıcısı olduğu ilk kez gösterilmiştir.

Sonuç: NK kaynaklı eksozomların anti-tümöral etkisinin gen tedavisi yaklaşımıyla arttırılmasına yönelik bu *in vivo* çalışma, kanser tedavisi için ümit verici bir yaklaşım sunmaktadır.

Referans: Kaban, K.; Hinterleitner, C.; Zhou, Y.; Salva, E.; Kantarci, A.G.; Salih, H.R.; Märklin, M. Therapeutic Silencing of BCL-2 Using NK Cell-Derived Exosomes as a Novel Therapeutic Approach in Breast Cancer. *Cancers* 2021, *13*, 2397.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma TÜBİTAK-SBAG-1001 (217S455) tarafından desteklenmiştir.



PANKREAS KANSERİ HASTALARINDA NEKTİN-2 VE İMMÜN KONTROL NOKTASI MOLEKÜLLERİNİN EKSPRESYON İLİŞKİSİ

MUALLA İLKNUR GÜNDÜZ [1], RUKİYE ABONOZ [1], BERKAY YAHŞİ [1], MELEK GÜNİNDİ KORKUT [1], NALAN AKYÜREK [2], FÜSUN ÖZMEN [1]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[2] *GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*

Özet:

Nektin-2, immün hücrelerin kontrol noktası moleküllerinden TIGIT, PVRIG ve DNAM-1 için ligand görevi gören bir moleküldür ve pankreas kanserindeki rolü ve hedeflenebilirliği tam olarak bilinmemektedir. Bu araştırmanın amacı; Nektin-2 ekspresyonu ile reseptörlerinin ve diğer bazı kontrol noktası moleküllerinin ekspresyonu arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Çalışmaya 2009-2015 yılları arasında pankreas kanseri tanısı almış 131 hasta (77 E) dahil edildi. Hastaların patoloji slaytlarında immünohistokimya yöntemi kullanılarak Nektin-2 ile reseptörlerinin ve immün kontrol noktası moleküllerinin ekspresyon düzeylerine bakıldı. Hastaların %30.5' inde Nektin-2 ekspresyonunun pozitif olduğu, %69.5 'inde ise negatif ekspresyon olduğu görüldü. Bu hastaların normal pankreas dokularında Nektin-2 ekspresyonu bulunmamaktaydı. Buna karşın olguların hiçbirisinde PD-1 ve PD-L1 ekspresyonu tespit edilemedi. Nektin-2'nin pozitif ekspresyonunun görüldüğü olgularda reseptörleri TIGIT, PVRIG ve DNAM-1 ekspresyonları sırasıyla %57.5, %35, %37.5 olarak saptandı. Nektin-2 ekspresyonunun pozitif olduğu durumda LAG3 ekspresyonu ile anlamlı bir ilişki saptanamazken, Nektin-2 ekspresyonu olmayan hastalarda, LAG3 ekspresyonunun da olmadığı ve istatiksel olarak anlamlı olduğu saptandı *($p<0.0137$)*. Nektin-2' nin pozitif ekspresyon gösterdiği olgularda önemli immün kontrol noktası molekülleri olan LAG3, TIM3 ve VISTA' nın ekspresyonları sırasıyla %45, %40, %67.5' inde pozitif olarak saptandı. Nektin-2 ekspresyonu ile pankreas kanseri hastalarının klinikopatolojik özellikleri arasında bir ilişki saptanamadı. Buna karşın LAG3 ekspresyonunun hastalarda anjiyolenfatik invazyon ve lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu görüldü. LAG3 molekülünün ekspresyonunun olmadığı olgularda diğer immün kontrol noktası moleküllerinden TIM3 ve VISTA nın da ifade edilmediği saptandı(*$P<0.0001$*). Yeni araştırmalarla pankreas kanserinde Nektin-2 ekspresyonunun immün hücreler üzerine etkisinin tam olarak anlaşılması tedavi açısından öneminin belirlenmesine yardımcı olacaktır.



KRİSİNİN MCF-7 VE MDA-MB-231 MEME KANSERİ HÜCRELERİNE OLAN İMMÜN SİSTEM ARACILI SİTOTOKSİK YANIT ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

EZGİ DURMUŞ[1,2], ZEYNEP ÖZMAN[1,2], İBRAHİM HALİL CEYRAN [3], ABDÜRRAHİM KOÇYİĞİT [2]

[1] BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI, İSTANBUL
[2] BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI, İSTANBUL
[3] YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL

Amaç ve Kapsam: Meme kanseri, dünyada 2 milyon kadında görülen, mevcut tedavilerin sınırlı etkililiği nedeniyle tedavisinde alternatif yöntem arayışları devam eden bir hastalıktır. Son yıllarda doğal bileşenlerle bağışıklık sistemi elemanlarının anti-kanser etkilerini düzenleme konusu sıkça araştırılmaktadır. Bu çalışmayla; fitokimyasal bir flavon olan krisinin, MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri üzerindeki anti-tümoral etkileri, RAW makrofaj ve doğal öldürücü NK-92 hücreleri aracılı sitotoksik yanıtı nasıl değiştirdiği ve meme kanseri hücrelerindeki PD-L1 protein ekspresyonuna olan etkisi ilk kez araştırılmıştır.

Materyal ve Metod: Krisinin meme kanseri hücrelerinin büyümesi, hücre içi reaktif oksijen türü (ROS) üretimi ve apoptozis üzerindeki etkisi sırasıyla MTT testi, DCFDA flüoresan boyaması ve AnneksinV/PI kullanılarak akış sitometrisi analizleri ile araştırıldı. EGF tarafından uyarılan PD-L1 ifadesi ve Akt aktivasyonu kanser hücrelerinde immünoblot analiziyle değerlendirildi. Krisinin, kanser hücreleriyle ko-kültüre edilen NK-92 ve makrofaj hücreleri aracılı sitotoksik yanıta olan etkileri; hücre viabilitesi, immunfloresan boyama ile caspase-3 tayini, nitrik oksit (NO) ölçümü ve sitokin salınımı ölçümleriyle analiz edildi.

Bulgular: Krisin meme kanseri hücrelerinde büyümeyi baskılayıcı, ROS artırıcı ve apoptozu indükleyici etkiler gösterdi. EGF ile uyarılan meme kanseri hücrelerine uygulanan krisin PD-L1 ekspresyonu önemli ölçüde engellendi. Krisinin MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerine karşı NK-92 ve RAW 264.7 hücrelerinin sitotoksik etkilerini indüklediği, en anlamlı etkininse MCF-7 hücrelerine karşı olduğu görüldü. NK-92 hücrelerinin ve makrofaj hücrelerinin kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivasyon etkisi TNF-α, IL-10, Granzim-B ve NO üretiminin düzenlenmesiyle ilişkilendirildi.

Sonuç: Krisin, meme kanseri hücrelerinin büyümesini, PD-L1 ifadesinin baskılanması ve anti-kanser bağışıklık yanıtı değiştirmesiyle sınırladı. Bulgularımız, krisinin kanser karşıtı etkilerine ilişkin yeni perspektifler sunmakta olup klinikte kullanabilme potansiyelini güçlendirmiştir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bezmialem Vakıf Üniversitesi BAP birimi (Proje Numarası: 20220406). TUBİTAK 1002-A projesi (Proje Numarası: 222S161)



ALERJİK ÇOCUKLARDA DERİ BARİYER BÜTÜNLÜĞÜNÜN DİKKAT EKSİKLİĞİ VE HİPERAKTİVİTE BOZUKLUĞU (DEHB) VE OTİZM SPEKTRUM BOZUKLUĞU (OSB) BELİRTİLERİ İLE İLİŞKİSİ

CEMRE NAZ BÜLBÜLOĞLU [1], ELİF YAYCI [2], BELİZ SU GÜNDOĞDU [2], IŞIL EZELSOY [2], HERDEM ASLAN GENÇ [3], TUBA MUTLUER [3], BETÜL BÜYÜKTİRYAKİ [4], CANSIN SAÇKESEN [4]

[1] *KOÇ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, İSTANBUL*
[2] *KOÇ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, İSTANBUL*
[3] *KOÇ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, PSİKİYATRİ ANABİLİM DALI, ÇOCUK VE ERGEN PSİKİYATRİ BİRİMİ, İSTANBUL*
[4] *KOÇ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK ALERJİ VE İMMÜNOLOJİ BİLİM DALI, İSTANBUL*

Amaç: Alerjik ve sağlıklı çocuklarda elektrik impedans spektroskopi (EİS) yöntemi ile deri bütünlüğünün değerlendirilmesi, OSB ve DEHB belirtileri ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal Metot: Alerjik hastalığı olan ve sağlıklı çocuklarda EİS ile sol ön kol ve antekübitalde deri geçirgenliği ölçülmüş, Z1 ve MİKS skorları elde edilmiştir. Katılımcılarda Otizm Sprektrum Tarama Ölçeği (OSTÖ) ile OSB ve SNAP-IV ölçeği ile DEHB belirtileri değerlendirilmiştir. OSTÖ sonucuna göre toplam skorun 16'dan büyük olması otizm riski için kesme değer kabul edilmektedir.

Bulgular: Yaş ortalaması 109 (84-163) ve 154 (102-185) ay olan 61 alerjik çocuk ve 10 sağlıklı çocuk çalışmaya katıldı. Alerjik çocuklarda DEHB toplam, OSTÖ sosyal skorları [DEHB:10 (5-16), OSTÖ Sosyal:2 (0-3)] sağlıklı çocuklara [DEHB:5 (0-12), OSTÖ Sosyal:1 (0-2)] kıyasla daha yüksek saptandı (p_{DEHB}=0.002, $p_{OSTÖSosyal}$=0.035). Otizm riski yüksek (OSTÖ Toplam Skoru>=16) olan olgular alerjik hastalıklı grupta (%16,8) sağlıklılara (%0) göre daha yüksek sıklıkta bulundu (p=0.044). Antekübital bölgede yapılan EİS ölçümlerinde Z1 ve MİKS skorları alerjik çocuklarda [Z1:64.9 (43.9-97.6), MİKS:7.7 (6.4-8.9)] sağlıklılara [Z1:83.6 (62.8-180.2), MIX:8.8 (7.1-9.7)] göre daha düşük bulundu (p_{Z1}=0.010, $p_{MİKS}$=0.040). Kol antekübital EİS Z1 ile DEHB anket skorları arasında anlamlı negatif korelasyon gözlendi (r=-0.3, p<0.001).

Sonuç: EİS yöntemi ile elde edilen Z1 ve MİKS skorlarının alerjik çocuklarda sağlıklı çocuklara göre düşük bulunması deri epitel bütünlüğünün alerjide azaldığına işaret etmektedir. Sağlıklı çocuklara kıyasla alerjik çocuklarda DEHB ve OSB belirti skorlarının daha yüksek olması yanında Z1 ve MİKS skorlarının DEHB anket skorları ile anlamlı negatif korelasyon göstermesi deri geçirgenliği parametrelerinin, DEHB ve OSB açısından riskli çocukları belirlemeye yönelik bir biyobelirteç olarak işlev görme potansiyelinin olabileceğini düşündürmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma, T.C Kalkınma Bakanlığı tarafından desteklenen, Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM)'nin hizmet ve altyapısı kullanılarak yürütülmüştür. Yazının içeriğinden tümüyle yazarlar sorumludur ve Kalkınma Bakanlığı'nın resmi görüşünü yansıtmamaktadır.



GRANÜLOSİTİK MİYELOİD KÖKENLİ İMMÜN BASKILAYICI HÜCRELERİN PD-1 BLOKAJI ALTINDA CD4+ EFEKTÖR HAFIZA T HÜCRELER ÜZERİNDEKİ FONKSİYONEL ETKİSİ

ECE TAVUKÇUOĞLU [1,2], FEYZA GÜL ÖZBAY KURT [2], IHOR ARKHYPOV [2], SAMANTHA LASSER [2], KERİM BORA YILMAZ [3], JOCHEN UTİKAL [2], VIKTOR UMANSKY [2], GÜNEŞ ESENDAĞLI [1]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[2] *ALMAN KANSER ARAŞTIRMA MERKEZİ, HEİDELBERG/HEİDELBERG ÜNİVERSİTESİ, MANNHEİM TIP FAKÜLTESİ, MANNHEİM, ALMANYA*
[3] *SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ, GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI, ANKARA*

Amaç: Kanser gibi kronik inflamasyon durumunda miyeloid kökenli baskılayıcı hücrelerin (MKBH) arttığı ve anti-tümör immün yanıtları olumsuz etkilediği bilinmektedir. Ancak, MKBH'lerin hangi T hücre alt-tipini daha çok baskıladığı ve immünoterapilere karşı oluşan yanıtlar konusunda bilgi eksikliği vardır. Bu çalışmada, granülositik MKBH'lerin (gMKBH) PD-1$^+$ veya PD-1$^-$ CD4$^+$ efektör hafıza T hücrelerini baskılama kapasitesi ve PD-1 blokaj başarısının incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Sekiz melanom, 9 kolorektal kanser hastasının ve 6 sağlıklı donörün periferik kan örnekleri toplanmıştır. Yoğunluk ayrımlamasına göre periferik kan mononükleer hücreleri toplanmış ve anti-insan -CD11b, -CD33, -CD14, -CD66b, -PD-L1, -HLA-DR, -CD3, -CD4, -CD8, -PD-1, -CCR7, -CD45RA ve -CD45RO antikorları ile işaretlenmiştir. Mononükleer fazdaki CD11b$^+$CD33^{dim}CD66b$^+$HLA-DR$^-$ hücreler, CD4$^+$CD45RA$^-$CCR7$^-$PD-1$^-$ ve CD4$^+$CD45RA$^-$CCR7$^-$PD-1$^+$ hücreler MACS ve devamında FACS ile saflaştırılmıştır. PD-1$^+$ veya PD-1$^-$ efektör hafıza CD4$^+$ T hücreler proliferasyon boyası ile işaretlenmiş, anti-CD3/28 boncukları ile uyarılmıştır. T hücreler, anti-PD-1 blokaj antikoru varlığında ve yokluğunda gMKBH'ler ile 72 saat ko-kültür edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda T hücre proliferasyonu akım sitometri ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Granülositik MKBH (gMKBH) ve monositik MKBH (mMKBH)'lerin kanser hastalarının kanında yüzdesinin arttığı ve bu hücrelerin bir kısmının PD-L1 ifade ettiği bulunmuştur. Hastalarda, CD4$^+$CD45RA$^-$CCR7$^-$ efektör hafıza T hücrelerinin sağlıklılara kıyasla yüzdesinin arttığı ve yüzeyinde PD-1 ekspresyonu olduğu bulunmuştur. Anti-CD3/28 boncukları ile uyarılan PD-1$^+$CD4$^+$ efektör hafıza T hücrelerin PD-1$^-$CD4$^+$ efektör hafıza T hücrelere göre daha az çoğaldığı ve gMKBH'ler tarafından daha fazla baskılandığı bulunmuştur. Bu baskılamanın, anti-PD-1 antikorunun eklendiği koşullarda azaldığı gözlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışma, PD-1$^+$ CD4$^+$ efektör hafıza T hücrelerinin gMKBH'ler tarafından baskılanmaya daha yatkın olduğunu ve baskılamanın PD-1'in bloklanması ile azaltılabildiğini göstermektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu projede, Ece Tavukçuoğlu ''EFIS Short-term Fellowship kapsamında desteklenmiştir.



KANSER VE AKUT DOKU HASARINDA DALAKTA BİRİKEN DÜŞÜK YOĞUNLUKTAKİ NÖTROFİLLERİN FENOTİPİK VE FONKSİYONEL AÇIDAN KARŞILAŞTIRILMASI

ECE TAVUKÇUOĞLU [1], KERİM BORA YILMAZ [2], DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ [1], UTKU HORZUM [1], AYŞEGÜL ÜNER [3], GÜNEŞ ESENDAĞLI [1]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[2] *SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ DIŞKAPI EĞİTİM ARAŞTIRMA HASTANESİ, GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[3] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*

Amaç: Bu çalışmada, kronik inflamasyonda arttığı bilinen baskılayıcı düşük yoğunluktaki nötrofillerin akut inflamasyona neden olan doku hasarlanması varlığındaki fenotipik ve fonksiyonel karakterizasyonunun yapılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Travma sebebiyle dalak hasarı oluşmuş ve splenektomi yapılmış 25 kişiden ve onkolojik cerrahi kapsamında splenektomi olmuş 13 mide, 7 pankreas kanseri hastasının dalak örneği toplanmıştır. Splenositler 1.077 g/mL ve 1.119 g/mL yoğunluktaki iki faz üzerine yayılmıştır. Düşük yoğunluktaki $CD66b^{+}HLA\text{-}DR^{-/düşük}$ nötrofiller MACS ve FACS kullanılarak saflaştırılmıştır. Sağlıklı donörlerden periferik kan mononükleer hücreleri izole edilmiş, proliferasyon boyası ile işaretlenmiş, anti-CD3 antikoru ile uyarılmış ve düşük yoğunluktaki nötrofiller ile 72 saat ko-kültür edilmiştir. Dalak dokularından immünmodülatör genlerin ekspresyonuna qPCR ile, immünmodülatör proteinlerin ekspresyonuna ise western blot ile bakılmıştır. *In vivo* deneyler için, BALB/c farelerde 4T1 meme tümör modeli oluşturulmuştur. Travma modeli için ise insandakine benzer şekilde farelerin dalaklarında insizyonel rüptür hasarı oluşturulmuştur. Farelerden periferik kan ve dalak örnekleri toplanmıştır. Hücreler anti-fare-CD45, -CD11b, -Ly6G, -Ly6C antikorları ile işaretlenmiştir. T hücre baskılama deneyleri için, $CD11b^{+}Ly6G^{+}$ nötrofiller saflaştırılmış ve sağlıklı fareden izole edilmiş, anti-CD3 ile uyarılmış splenositler ile ko-kültür edilmiştir.

Bulgular: Kanserde artış gösteren immünmodülatör genlerin travma durumunda da arttığı bulunmuştur. Travma hastalarının dalak dokusunda kanserli hastalardan daha yüksek düzeyde düşük yoğunluklu $CD66b^{+}HLA\text{-}DR^{-/düşük}$ nötrofiller bulunmaktadır. Kanserde baskılayıcı olan bu hücrelerin, travma hastalarında baskılayıcı olmadığı görülmüştür. Aynı şekilde, travma oluşturulan farelerin dalak dokusunda biriken $CD11b^{+}Ly6G^{+}$ nötrofillerin baskılayıcı olmadığı ancak tümörlü farelerde bu hücrelerin baskılayıcı olduğu bulunmuştur.

Sonuç: Hastaların yaralanma ciddiyet skoru arttıkça dalaklarında biriken düşük yoğunluktaki nötrofillerin yüzdesinin anlamlı düzeyde arttığı bulunmuştur. Akut inflamasyonda düşük yoğunluktaki nötrofiller artsa bile kronik inflamasyondakinin aksine baskılayıcı özellik taşımadıkları bulunmuştur.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No:220S701 ve 216S264).



KOLOREKTAL KANSERDE FARKLI YOĞUNLUKTAKİ NÖTROFİL ALT-POPÜLASYONLARININ MOLEKÜLER VE FONKSİYONEL ANALİZİ

ECE TAVUKÇUOĞLU [1], HAMDULLAH YANIK [1], TİMUÇİN EROL [2], KERİM BORA YILMAZ [3], GÜNEŞ ESENDAĞLI [1]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[2] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[3] *SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ, GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI, ANKARA*

Amaç: Kanserin ilerleyişi, yaygınlığı ve biyolojik özelliklerine göre nötrofillerin miktarı ve fonksiyonunda değişimler saptanmaktadır. Bu çalışmada, kolorektal kanser hastalarının periferik kan nötrofil alt-popülasyonlarının incelenmesi ve sağlıklı donörler ile kıyaslanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Yirmi beş kolorektal kanseri hastasının ve 16 sağlıklı donörün periferik kan örnekleri toplanmış ve 1.077 g/mL ve 1.119 g/mL yoğunluğa sahip iki farklı solüsyon üzerine yayılmıştır. Ardından, düşük (LD), normal (ND) ve yüksek yoğunluktaki (HD) hücreler anti-insan-CD15, -HLA-DR, -CXCR1, -CXCR2, -CD16, -CD11B, -CD13, -CD33, -CD10, -CD35, -CD62L, -CD71, -CD63, -CD177, -CD14, -LOX-1, -Siglec-8, -PD-L1, -PD-L2, -CD49d, -CD38, -CD40, -CD117 ve -CD54 monoklonal antikorları ile işaretlenmiştir. Farklı yoğunluktaki $CD15^{+}HLA\text{-}DR^{-/düşük}$ nötrofiller MACS ve FACS ile saflaştırılmıştır. Morfolojik analizler için May-Grünwald Giemsa boyaması yapılmıştır. Reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrik oksit (NO) üretim ve fagositoz kapasiteleri akım sitometride analiz edilmiştir. Nötrofillerin T hücre yanıtları üzerine etkisini incelemek için sağlıklı donörlerin periferik kanından $CD3^{+}$ T hücreler izole edilmiştir. T hücreler proliferasyon boyası ile işaretlenmiş, anti-CD3/28 boncuklar ile uyarılmış, nötrofiller ile farklı oranlarda 72 saat ko-kültür edilmiştir.

Bulgular: LD nötrofillerin immatür morfolojiye sahip olduğu, ND ve HD nötrofillerin ise matür morfolojiye sahip oldukları doğrulanmıştır. LOX-1 düşük yoğunluktaki nötrofillerde yüksek düzeyde bulunurken, CD16 ve CD10 ise yüksek yoğunluktaki nötrofillerde yüksek düzeyde bulunmuştur. Hastaların LD nötrofillerinin T hücreleri baskıladığı gösterilmiştir.

Sonuç: Kolorektal kanserli hastaların düşük yoğunluktaki nötrofillerinin immatür morfolojide ve baskılayıcı olduğu, normal ve yüksek yoğunluktaki nötrofillerinin ise matür baskılayıcı olmadığı doğrulanmıştır. Farklı heterojen nötrofil gruplarının fonksiyonlarına dair analizlerimiz devam etmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu proje Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: TSA-2020-18770).



"RODS AND RİNGS" (RR) SİTOPLAZMİK ANTİ-NÜKLEER ANTİKOR (ANA) PATERNİ SAPTANAN OLGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

[1]GÜLŞAH KAYGISIZ, SERVER YAĞCI, BUKET ARIDOĞAN

[1]SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI, ISPARTA

Amaç: "Rods and rings" (RR) paterni; indirekt immunfloresan antikor (IIFA) yöntemiyle tanımlanan sitoplazmik ANA paternidir. Daha önceki çalışmalarda HCV enfeksiyonu ve ribavirin/*IFN-α* tedavisiyle RR paterni arasında güçlü bir ilişki olduğu belirtilmesine rağmen nadiren çeşitli romatolojik hastalıklar, pnömoni, nefropati, multiple skleroz (MS), venöz tromboz, poliartralji, nöropati hastalarında ve sağlıklı bireylerde de görülebilmesi nedeniyle RR paterninin klinik önemi tam olarak anlaşılamamıştır. Çalışmamızda; RR paterni görülen hastaların klinik ve laboratuvar bulgularının incelenmesi; bu paternin tanı ve tedaviyle ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Mart 2022-Ekim 2023 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na, ANA çalışılması amacıyla gönderilen hasta serumları; Hep-20-10 / Karaciğer (Maymun) Mozaiği (Euroimmun, Almanya) IIFA kiti ile, 1/100 dilüsyonda çalışıldı. Floresan mikroskopta (EurostarIII plus) semi-kantitatif olarak değerlendirildi. RR paterni saptanan hastaların eş zamanlı hastane kayıtları incelenerek; tanıları ve laboratuvar bulguları kaydedildi.

Bulgular ve Sonuç: Çalışılan 8401 örneğin 1431'inde ANA pozitif saptanmış; 5'inde (%0.34) RR paterni tespit edilmiştir. RR paterni pozitif hastaların yaş ortalaması 53,6 olup 3'ü (%60) kadın, 2'si (%40) erkektir. RR paterni pozitif hastaların tamamında Anti-HCV ve HBsAg negatiftir. Değerlendirdiğimiz 5 hastadan 4'ü sırasıyla MS, pnömoni, venöz tromboz, nöropatik ağrı tanısı almıştır. Diğerine karın ağrısı nedeniyle endoskopi yapılmış ve kolonda adenom saptanmıştır. Hastalardan 2'sinin (%40) antiepileptik ve 1'inin (%20) immünomodülatör ilaç kullanımı dikkat çekmektedir. Hastaların demografik verileri, laboratuvar ve klinik bilgileri Tablo 1'de gösterilmiştir. Çalışmamıza göre HCV ve HBV gibi kronik karaciğer hastalıkları dışındaki hastalıklarda ve çeşitli ilaçların kullanımına bağlı olarak da RR paterni görülebileceği düşünülmüştür. Bu paternin oluşum mekanizmasının ve klinik ilişkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için büyük gruplarda çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: rods and rings, indirekt immunfloresan antikor (IIFA), anti-nükleer antikor

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



KANSER HÜCRESİNİN AŞIRI ÇOĞALMASININ YARATTIĞI STRES ALTINDA YARDIMCI T HÜCRE YORULMASININ İNCELENMESİ

SAKİNE ULUSOY[1], GÜNEŞ ESENDAĞLI[1]

[1]*HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*

Amaç: T hücresi yorulması sürekli uyarımla ilişkilendirilmiştir; ancak metabolik değişikliklerin hücre dışı ortamın bileşimi tarafından düzenlenmesi de önemlidir. Sürekli büyüyen kanser hücrelerinin metabolitlerinin Th1 hücre fonksiyonları üzerindeki etkisinin immünofenotipik ve fonksiyonel açılan incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) sağlıklı donörlerden Ficoll ayrımlama yöntemi ile izole edildi ve CD4+ T hücreleri MACS ile zenginleştirildi. CD45RA+CCR7+ naïf hücreler FACS ile ayrıştırıldı. Naïve Th hücreler; THP-1 lösemi hücre hattı, sağlıklı bireylerden izole edilen monositler veya dendritik hücreler ile farklı oranlarda ko-kültüre edildi. Ko-kültürler her 24 saatte bir THP-1 hücrelerinin koşullu besiyeri ve/veya aCD3 antikoru ile ortam tazelemesi ile 120 saat boyunca sürdürüldü. Beş günlük inkübasyon sonrasında proliferasyon CFSE dilüsyon yöntemi ile, canlılık Annexin V-PI boyaması ile değerlendirildi. Ayrıca PD-1, CTLA-4, LAG3, TIM-3 inhibitör reseptör seviyeleri akım sitometri ile analiz edildi.

Bulgular: Ko-kültürlerde, THP-1 oranının artışı ile CD4+ T hücrelerin 120 saat inkübasyon sonunda proliferasyonunun ve canlılığın azaldığı, inhibitör reseptör moleküllerinin ve özellikle LAG3 düzeyinin arttığı gözlemlenmiştir. Monositlerle kurulan ko-kültürlerde ve aCD3/28 uyarımı yapılan Th hücre kültürlerinde, koşullu besiyeri ile tazeleme yapıldığında 120 saat sonunda LAG3 düzeylerinin, taze besiyeri ile tazeleme yapılan kültürlere göre daha yüksek olduğu tespit edildi.

Sonuç: Tüm bu ön veriler ışığında, T hücre yorulmasında antijen uyarımı ve ko-stimülasyona ek olarak metabolik uyaranların da etkili olduğu ve fonksiyonel bir role sahip olduğunu öngörmekteyiz. Özellikle LAG3 inhibitör reseptör artışının kanser hücrelerinin yarattığı metabolik stres ile ilişkilendirilebileceği yönünde veriler elde edilmiştir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmektedir.



ENDOTEL HÜCRENİN FARKLI DİYABET TİPLERİNDE MONONÜKLEER HÜCRELERİ BAĞLAMA VE KORUYUCU GENLERİ İFADELEME YANITLARI

NEŞE AKIŞ[1], DİLEK ÇELİK[1]

[1]TRAKYA ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ İMMÜNOLOJİ AD, EDİRNE

Amaç: Endotel hücrelerinin farklı diyabet modellerinde mononükleer lökositleri bağlamasında ve Bcl2A1a, A20 ve HO-1 endotel koruyucu genlerin mRNA ifadelenmelerinde varsa farklılıklarının saptanmasıdır.

Materyal ve Metot: Hücre kültürü: GENC, RAW 264.7 ve EL-4 hücreler %10 DMEM besiyerinde uygun kültür şartlarında kültürlendi. 3 gün sonra GENC endotel hücrelerin besiyerleri deney modellerinin besiyerleriyle değiştirilerek kültürlendi. Lökosit ve monosit adezyonu: Beher diyabet modeli için GENC hücreler, mononükleer hücrelerle kokültüre edildi. Yapışan mononükleer hücreler invert mikroskopta (10X) sayıldı. Koruyucu gen mRNA ifadeleri: GENC hücre diyabet modelleri zaman serilerinde koruyucu gen ifadeleri RT-PCR ile yarı kantitatif incelendi. Sonuçlara göre hücrelerin koruyucu gen ifade seviyeleri RT-qPCR ile belirlendi.

Bulgular: Tip-2 DM'de endotel hücreler monosit ve T lenfositleri Tip-1 DM'e göre daha fazla bağlamaktadır, monositler/T lenfosit oranı 1,4±1'tür. IGT'de mononükleer bağlanma iki modelin arasındadır ve monosit, lenfosit bağlanmaları denktir. HO-1 ifadesi Tip-1 DM'de 74, Tip-2 DM'de 169, IGT'de 103 kat; A20 ifadesi Tip-1 DM'de 22, Tip-2'de 22, IGT'de 8 kat; Bcl2A1a ifadesi Tip-1 DM'de 2,4; IGT'de 1,4 kat artmaktadır. Bcl2A1a ifadesi Tip-2 DM'de 0,7 kat azalmaktadır.

Sonuç: Glomerüler endotel hücrelerin diyabet tipine özgü olarak mononükleer lökositleri bağladığıve koruyucu genleri ifade ettikleri bulunmuştur.

Referanslar:

1-Wang Y et. al. Reprint of "Induction of heme oxygenase-1 ameliorates vascular dysfunction in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats". Vas Pharmacol 2014; 62:123-131.
2-Galkina E, Ley K. Leukocyte recruitment and vascular injuryin diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol 2006; 17:368-377

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBAP- 2012/72



ASPİRİN VARLIĞINDA IFN-GAMMA İLE UYARILMIŞ PD-L1 EKSPRESYONUNA SAHİP KÜÇÜK HÜCRELİ OLMAYAN AKCİĞER KANSERİ HÜCRE SEKROTOMUNUN MAKROFAJ POLARİZASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

SILA ULUTÜRK[1], ONURCAN SEZGİNER[1], GÜNEŞ ESENDAĞLI[1], NEŞE ÜNVER[1]

[1]HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA

Amaç: İmmünoprevansiyon, monoklonal antikorlar ve immün modülatörler, akciğer kanserinin önlenmesinde ve anti-tömoral yanıtın eldesinde kullanılan stratejilerdendir. Aspirin, immün kaçış mekanizmalarında baskılayıcı bir rol almakla birlikte, terapötik potansiyele de sahiptir. Bu çalışmanın amacı, düşük ve yüksek PD-L1 ekspresyon düzeyine sahip küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde, aspirin uygulaması sonucu elde edilen sekretomların polarize makrofajlar üzerine etkisinin immünfenotipik modellenmesidir.

Gereç ve yöntem: Akciğer kanseri hücre hatlarında, endojen ve IFN-g uyarımı ile indüklenmiş PD-L1 ekspresyonu, western blot ve ELISA yöntemleri ile doğrulandı. Sağlıklı donör-kaynaklı periferik kan mononükleer hücrelerinden MACS yöntemi ile $CD14^+$ monosit seleksiyonu gerçekleştirildi. Monositlerin uyarımı sonucunda M1 ve M2 polarize makrofajlar, aspirin uygulaması yapılan akciğer kanseri hücre kaynaklı sekretomlar varlığında 48 saat kültüre edildikten sonra akım sitometride immünfenotiplendirildi. Ayrıca hem PD-L1 ilişkili hem de aspirinin hedef molekülleri *in silico* analiz edildi.

Bulgular: Endojen olarak yüksek PD-L1 ekspresyonuna sahip aspirin uygulanan HCC827 hücrelerinin sekretomu ile kültürü yapılan M2 makrofajlarda, $CD38^-CD209^+$ ve $CD38^+CD209^+$ hücre popülasyonları ele alındığında; M2 belirteci CD209 MFI değerlerinin azalış paterni gösterdiği saptandı. IFN-g uyarımı ile PD-L1 ekspresyonu indüklenen aspirin varlığında H838 hücrelerinden elde edilen sekretomların kullanıldığı koşulda ise; $CD38^+CD209^+$ M2 makrofaj hücre popülasyonuna ait CD209 MFI değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edildi.

Sonuç: M2 polarize makrofajların akciğer kanseri hücre sekretomu aracılı immünfenotipik modülasyonu, M1 makrofaj belirteci, CD38 ve M2 makrofaj belirteci CD209 ko-ekspresyonu gösteren hücre popülasyonu ile ilişkilidir. Aspirin uygulaması ile modüle edilen PD-L1 ekspresyonunun da makrofaj polarizasyonunu etkileyebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (Proje no: TSA-2021-19475).



PSÖRİATİK ARTRİT (PSA) HASTALARINDA T HÜCRE AKTİVASYON BELİRTEÇLERİ VE SİTOKİN SALIM PROFİLLERİ TEDAVİ ALGORİTMASINA ETKİ EDEBİLİR Mİ?

SİBEL GÖKŞEN [1], GİZEM AYAN [2], GÜNEŞ ESENDAĞLI [3], UMUT KALYONCU [2]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ DAHİLİ VE CERRAHİ ARAŞTIRMALAR ANABİLİM DALI*
[2] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ DAHİLİ TIP BİLİMLERİ İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI*
[3] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI*

Amaç: Psoriatik artrit (PsA) tedavi kararında periferik kandaki T hücre profillerinin yardımcı olabileceğine dair güncel kanıtlar bulunmaktadır. Bu sebeple çalışmada T hücre spesifik sitokin salım testi kullanılarak yeni bir tedavi algoritması geliştirmesi ve kişiselleştirilmiş yaklaşımla tedavi kararlarının verilmesi amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot: Çalışmaya PsA tanısı yeni konulmuş 19 hasta dahil edilmiştir. Hastalar geleneksel sentetik ve biyolojik olmak üzere hastalığı modifiye-edici anti-romatolojik ilaçların verildiği iki farklı tedavi grubundan oluşmaktadır. Hastalardan elde edilen periferik kandaki T hücre alt tiplerine spesifik sitokin düzeylerinin akım sitometri temelli sitokin salınım analizi testine göre tedavi kararı alınmıştır. CD4 ve CD8 T lenfosit spesifik olarak IFN-γ, TNF-α, IL-22, IL-17 ve IL-10 sitokin düzeyleri ve CD40L, CD38, ICOS ifade düzeyleri değerlendirilmiştir. Geleneksel ve biyolojik olmak üzere hastalığı-modifiye eden anti-romatolojik ilaç gruplarında elde edilen sonuçlara göre özellikle biyolojik tedavi grubunda sitokin salınım analizleri temel alınarak tedavi kararı başlangıçta bireysel değerlendirme ile karar verilmiştir. Tüm hastaların sonuçları değerlendirilerek tedavi kararı alımında bir algoritma önerilmiştir.

Bulgular: Klinik değerlendirmenin yanı sıra akım sitometri temelli T hücre spesifik sitokin salım analizinin bireysel olarak değerlendirildiğinde biyolojik tedavi grubuna dahil olan 10 hastaya TNF-a inhibitörü certolizumab, 1 hastaya IL-12/23 inhibitörü ustekinumab tedavisi tercih edilmiştir. Tüm hastaların sonuçları değerlendirilerek oluşturulan algoritma ile biyolojik gruptaki 5 hastanın certolizumab, 5 hastanın IL-17 inhibitörü secukimab ve 1 hastanın ustekinumab almasının alternatif seçenekler olabileceği değerlendirilmiştir.

Sonuç: T hücrelere spesifik olarak efektör kapasitelerinin test edilmesi daha etkin bir tedavi seçeneği sunabilir. Farklı PsA alt fenotiplerinde bu tedavi algoritmasının değerlendirebilmek ve inflamasyon alanı spesifik doğrulamanın yapılabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Çalışmamız Hacettepe Romatoloji Derneği tarafından desteklenmiştir.



ANKİLOZAN SPONDİLİT HASTALARINDA VE SAĞLIKLI TÜRK POPÜLASYONUNDA HLA ALLEL SIKLIKLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

ÇİSEM OKUR MADEN [1], GİZEM AYAN [2], BUĞU BULAT [2], FÜSUN ÖZMEN [3], MELEK GÜNİNDİ KORKUT [3], ERDEM KARABULUT [4], UMUT KALYONCU [2], LEVENT KILIÇ [2]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ, İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI, ANKARA*
[2] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ, İÇ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI, ROMATOLOJİ BİLİM DALI, ANKARA*
[3] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ, KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ BİLİM DALI, ANKARA*
[4] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ, BİYOİSTATİSTİK ANA BİLİM DALI, ANKARA*

Özet:

Amaç: Ankilozan spondilit (AS) hastalarında HLA-B*27 (insan lökosit antijeni B*27) gösterilmiş en önemli genetik risk faktörlerindendir. Diğer HLA allellerinin sıklığı ve klinikle ilişkisi konusunda bilgiler kısıtlı ve heterojendir. Bu çalışmada amaçlarımız; Türk toplumundaki AS hastalarında HLA allellerinin sıklıklarının karşılaştırılması, klinik özelliklerle ilişkisinin incelenmesidir.

Materyal ve Metod: Aralık 2022-Haziran 2023 tarihleri arasında ayaktan poliklinik başvurusu olan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil etme kriterleri; a-) Semptom süresi 10 yılın üzerinde olan, b-) radyografik olarak modifiye New York kriterlerini (mNY) karşılayan sakroiliiti olan hastalar (iki deneyimli romatoloji doktoru tarafından mNY kriterleri karşılayan hastalar). Spondiloartrit sorgulaması; demografik veriler, aile öyküsü, ekstra-artiküler bulgular, komorbiditeler, hastalık aktivite (BASDAI (Bath ankilozan spondilit hastalık aktivite indeksi), akut faz reaktanı) ve fonksiyonel ölçümleri (BASFI (Bath ankilozan spondilit fonksiyonel indeksi), HAQ-DI (Sağlık değerlendirme anketi- engellilik indeksi)) kaydedilmiştir. HLA tiplendirmesi sekans spesifik oligonükleotid polimeraz zincir reaksiyonu (SSO-PCR) düşük çözünürlük yöntemi kullanılarak yapılmıştır. HLA-A *(01, 02, 03, 11, 13, 23, 24, 26, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 66, 68, 69), HLA- B *(07, 08, 13, 14, 15, 18, 27, 35, 37, 38, 39, 40, 41, 44, 47, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 73), HLA-C* (01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 12, 14, 15), HLA-DRB1* (01, 03, 04, 07, 08, 09, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16), HLA-DQB1* (02, 03, 04, 05, 06) allelleri hasta grubunda tespit edilmiştir. Heterozigot ve homozigot pozitiflikler ayrıca not edilmiştir. Kontrol grubunu oluşturmak üzere Onkoloji Hastanesi Doku tipleme laboratuvarına 2010-2015 yılları arasında donör olarak başvurmuş sağlıklı 100 kişinin HLA tiplendirme test sonuçları çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalıklı ve sağlıklı gruptaki anlamlılık false discovery rate (FDR)-(Benjamini- Hochberg) yöntemine göre düzeltilerek verilmiştir.

Bulgular: Çalışmaya alınan 100 AS hastasının %62'si erkek, ortalama yaşları 49,4 ±9,4 yıl, ortalama semptom süresi 21,1 ± 9,0 yıldı. Hastaların %55'inde spondiloartrit (SpA) açısından pozitif aile öyküsü vardı (Tablo 1). AS ve sağlıklı popülasyonda HLA- A, B, C, DRB1 ve DQB1 dağılımları tablo 2 'de gösterilmiştir. AS hastalarında kontrol grubuna göre sık ve daha az saptanan HLA allelleri tablo 3'te gösterilmiştir. HLA-B*27 (29.5 kat), HLA-C*02 (12.3 kat) ve HLA-A*02 (3.4 kat) AS hastalarında öne çıkan HLA allelleri iken HLA-B*35 (0.32 kat) ve HLA-C*04 (0.30 kat) HLA allelleri daha az sıklıkta saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışmada Türk toplumunda AS hastalarında bilinen HLA- B*27 alleline ek olarak HLA-A*02, C*02 allellerinin daha sık olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda bazı HLA A-B-C allelleri arasında pozitif ya da negatif LD olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda da HLA-A*02 ve HLA-C*02 allellerinin HLA-B*27 ile arasında pozitif bağlantı eşitsizliği (linkage disequilibrium- LD) bulunduğu düşünülmektedir. Bu durum allel sıklıkları değerlendirilirken mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından kapsamlı araştırma projesi olarak TSA-20154 proje numarasıyla desteklenmektedir.



STUDY OF THE ROLE OF INNATE LYMPHOID CELL GROUP 2 (ILC2) ON CD4+ T CELLS IN THE MICROENVİRONMENT OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER (NSCLC)

ILHAM BAHHAR [1], ZEYNEP EŞ [1], OĞUZHAN KÖSE [1], AKİF TURNA [2], MEHMET ZEKİ GÜNLÜOĞLU [3], ASLI ÇAKIR [4], DENİZ DURALİ [5], FAY CELESTE MAGNUSSON [5]

[1] CANCER RESEARCH CENTER, RESEARCH INSTITUTE FOR HEALTH SCIENCES AND TECHNOLOGIES (SABITA), ISTANBUL MEDIPOL UNIVERSITY, ISTANBUL
[2] DEPARTMENT OF THORACIC SURGERY, CERRAHPASA MEDICAL SCHOOL, ISTANBUL UNIVERSITY-CERRAHPASA, FATİH, ISTANBUL
[3] DEPARTMENT OF THORACIC SURGERY, FACULTY OF MEDICINE, ISTANBUL MEDIPOL UNİVERSITY, ISTANBUL
[4] DEPARTMENT OF PATHOLOGY, FACULTY OF MEDICINE, ISTANBUL MEDIPOL UNIVERSITY, ISTANBUL
[5] CANCER RESEARCH CENTER, RESEARCH INSTITUTE FOR HEALTH SCIENCES AND TECHNOLOGIES (SABITA), ISTANBUL MEDIPOL UNIVERSITY, ISTANBUL, TURKEY / DEPARTMENT OF MEDICAL MICROBIOLOGY, INTERNATIONAL SCHOOL OF MEDICINE, ISTANBUL MEDIPOL UNIVERSITY, ISTANBUL

Background: Group 2 innate lymphoid cells (ILC2) can be activated by interleukin (IL)-33 or IL-25. IL-25-activated ILC2 cells help protect the host against helminth infection while exacerbating allergic-like inflammation and tissue damage in the lung. In the context of cancer, IL-33-activated ILC2 cells were found to bear anti-tumoral functions in lung cancer while IL-25-activated ILC2 cells promoted tumorigenesis in colorectal cancer. The role of IL-25-activated ILC2 cells in lung cancer remains to be addressed.

Methods: We examined the overall survival of human non-small cell lung cancer (NSCLC) patients according to IL25 expression in tumors as well as the distribution of ILC2 cells and regulatory T cells (Tregs) in various NSCLC patient tissues and peripheral blood (PB) of healthy donors (HDs). We analyzed the effect of adoptive transfer of IL-25-activated ILC2 cells on tumor growth, metastasis and survival in a heterotopic murine model of lung cancer.

Results: We report that human NSCLC patients with high IL-25 expression in tumors have reduced overall survival. Moreover, NSCLC patients bear increased frequencies of ILC2s in tumors, normal lung tissue and PB as compared to PB from HDs. Frequencies of Tregs were also increased in NSCLC patients, concomitantly with ILC2s. In mice bearing heterotopic lung cancer, adoptive transfer of IL-25-activated ILC2s led to increased tumor growth, increased metastasis and reduced survival. The frequencies of monocytic myeloid-derived suppressor cells (M-MDSCs) were found to be increased in the tumors of mice that received ILC2s as compared to controls.

Conclusions: Overall, our results indicate that the IL-25/ILC2 axis promotes lung cancer potentially by recruiting immune-suppressive cells to the tumors both in humans and in mice, and that it may therefore represent a suitable novel target for NSCLC immunotherapeutic development.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): This work was supported by two grants awarded by the Scientific and Technological Research council of Turkey (TÜBITAK) with grant numbers 119S136 and 217S770.



VALPROİK ASİTİN EOZİNOFİL HÜCRELERİNİN CANLILIĞI VE DEGRANÜLASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN FOTOAKUSTİK TOMOGRAFİ SİSTEMİ İLE ANALİZİ

ELİF YAPRAK SARAÇ [1], ZÜLAL ÇELİK [1], ALİ CAN ŞAHİN [2], SILA KÖKSAL [3], GÖKSU ÜZEL [4], EDANUR BARUTCU [1], YAĞMUR ÖZÇELEBİ [1], ÖZGÜR ÖZDEMİR [3], CEREN ÇIRACI [1]

[1] *İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL*
[2] *İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, ELEKTRİK ELEKTRONİK FAKÜLTESİ, ELEKTRİK MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ, İSTANBUL*
[3] *İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, ELEKTRİK ELEKTRONİK FAKÜLTESİ, ELEKTRONİK VE HABERLEŞME MÜHENDİSLİĞİ BÖLÜMÜ, İSTANBUL*
[4] *WOMENS HEALTH RESEARCH 58 WOOD LANE, LONDON, W12 7RZ, UK*

Amaç: Epilepsi ve kanser tedavisinde kullanılan ve bir epigenetik regülatör olan Valproik asit (VPA)'in, astım ve alerji gibi hastalıkların tedavisinde potansiyeli olmakla beraber daha önce kullanılmamıştır. Eozinofiller moleküler immünoloji bağlamında nispeten az çalışılmakta beraber daha önce fotoakustik tomografi ile görüntülemenin kullanıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çerçevede biyomedikal incelemelerde birçok farklı uygulama alanına sahip farklı biyolojik sistemlerde kullanılmış olan fotoakustik görüntüleme, çalışmamızda ilk kez VPA'nın eozinofiller üzerindeki etkisini belirlemek için kullanılmıştır.

Materyal ve Metot: Bu amaçla VPA'nın dört farklı dozu (1 mM, 2,5 mM, 5 mM ve 10 mM) EoL-1 hücreleriyle oluşturulan in vitro modele uygulanmış ve ilaçların etkisiyle meydana gelen hücre canlılığındaki ve degranülasyondaki değişimler 18 MHz merkez frekanslı lineer ultrason prob, Verasonics ultrasonik veri toplama ve işleme ünitesi ve 532 nm darbeli Nd:Yag lazer kullanılan fotoakustik tomografi sistem ile incelenmiştir.

Bulgular: Tripan mavisi testi ile hücre canlılıkları incelendiğinde VPA'nın doz artışıyla sitotoksisitesinin anlamlı derecede arttığı ve hücre canlılıklarının anlamlı düzeyde azaldığı belirlendi ($p<0.05$). Eozinofillerdeki VPA'nın neden olduğu degranülasyon, akış sitometrisi kullanılarak CD63 yüzey molekülünün ekspresyonunun diferansiyel değiştiği belirlendi. Fotoakustik tomografi sistemi ile elde edilen verilere göre artan dozlarda VPA'nın hücrelerden ölçülen fotoakustik sinyal yoğunluğunu anlamlı düzeyde değiştirdiği izlendi.

Sonuç: Eozinofil hücrelerinin granüler yapıları nedeniyle kendilerine özgü fotoakustik işaretler ürettiğini ve degranülasyonlarının fotoakustik görüntüleme ile ayırt edilmelerinin mümkün olduğunu gösterdik. Fotoakustik tomografi sistemi ile görüntüleme, farklı hücre tiplerinin tanımlanması, ayırt edilmesi ve tek hücre düzeyinde değişikliklerin tespit edilmesinin geleceği konusunda umut vadetmektedir. Gelecekteki çalışmalarda uygulanacak moleküler immünolojik analizlerin sonuçları, fotoakustik görüntüleme yöntemine paralel olarak yürütülerek verilerin korelasyonları belirlenebilecektir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK 1002 proje no: 121Z028



FLNA GENİNDE HEMİZİGOT MUTASYON İLE İLİŞKİLİ YENİ BİR AKTİNOPATİNİN KARAKTERİZASYONU

ŞERİFE ERDEM [1], AYŞENUR PAÇ KISAARSLAN [2], MUHAMMED ENSAR DOĞAN [3], SÜMEYRA ÖZDEMİR ÇİÇEK [2], ALPER ÖZCAN [4], ŞULE HASKALOĞLU [5], BENHUR ŞİRVAN ÇETİN [6], MEHMET KÖSE [7], BUKET DALDABAN SARICA [8], SERKAN BELKAYA [9], FİGEN DOĞU [5], KAMİLE AYDAN İKİNCİOĞULLARI [5], EKREM ÜNAL [10], AHMET EKEN [1]

[1] *ERCİYES ÜNİVERSİTESİ TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI/ GENOM VE KÖK HÜCRE MERKEZİ, KAYSERİ*
[2] *ERCİYES ÜNİVERSİTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI HASTALIKLARI, PEDİATRİK ROMATOLOJİ BİLİM DALI, KAYSERİ*
[3] *KAYSERİ ŞEHİR HASTANESİ TIBBİ GENETİK, KAYSERİ*
[4] *ERCİYES ÜNİVERSİTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI HASTALIKLARI, PEDİATRİK HEMATOLOJİ VE ONKOLOJİ BİLİM DALI/ KANKA ÇOCUK HEMATOLOJİ/ONKOLOJİ VE KEMİK İLİĞİ NAKLİ HASTANESİ, KAYSERİ*
[5] *ANKARA ÜNİVERSİTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI HASTALIKLARI, PEDİATRİK İMMÜNOLOJİ, ANKARA*
[6] *ERCİYES ÜNİVERSİTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI HASTALIKLARI, PEDİATRİK ENFEKSİYON, KAYSERİ*
[7] *ERCİYES ÜNİVERSİTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI, KAYSERİ*
[8] *KAYSERİ ŞEHİR HASTANESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI, PEDİATRİK GASTROENTEROLOJİ ,KAYSERİ*
[9] *BİLKENT ÜNİVERSİTESİ MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BİLİM DALI, ANKARA*
[10] *HASAN KALYONCU ÜNİVERSİTESİ MEDİKALPOİNT HASTANESİ, GAZİANTEP*

Giriş: FLNA geni aktin filamentlerini üç boyutlu ağlara çapraz bağlayan ve hücre zarıyla bağlantı sağlayan yaygın olarak eksprese edilen 280 kDlik bir sitoiskelet proteini kodlar. Farelerde T hücre sinyal yolağı, veya Treg hücre gelişimindeki rolleri tanımlanmakla birlikte FLNA mutasyonunun insanda T hücre fenotipleri üzerine etkileri araştırılmamıştır.

Amaç: FLNA mutasyonu tespit edilen bir hastanın T ve NK hücrelerinin fenotip ve fonksiyonlarının araştırılmasıdır.

Metot: Tam ekzom dizileme analizi ile FLNA geninde c.7405C>T (p.Pro2469Ser) hemizigot mutasyon saptanan ve sanger sekanslama ile doğrulanan hastanın T ve NK hücrelerindeki değişiklikler flow sitometri ve moleküler biyoloji teknikleriyle incelendi.

Bulgular: Hastanın T hücrelerinde α-CD3/CD28 ve IL-2 uyarımına bağlı olarak proliferasyon ve aktivasyon (CD25 ve CD69) bozukluğu gözelnmiştir. PHA ile kültür sonrası CD4+ T hücrelerinin IFN-γ, TNFa, IL-2 üretimleri azalmıştır. Hastanın basal fosfoSTAT5 seviyeleri kontrollere göre yüksek iken, IL-2 aracılı STAT5 fosforilasyonu, CD3/CD28 aracılı TCR proksimal sinyal aktivasyonu (p38, pZAP70, pLCK) bozulmuştur. Hastanın hem periferik kanındaki hem de naif CD4+ T hücrelerinde ex vivo koşullarda üretilen Treg hücre frekansı ve FOXP3 ifadesi (MFI) anlamlı ölçüde azalmıştır. Hastanın NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesi, aktivasyon belirteçleri olan CD25 ve CD69 ifadeleri azalmıştır. Hastanın CD4+ ve CD8+ ve NK hücrelerini uyarıma bağlı apoptoza tepkileri artmıştır. Ayrıca hastanın kan plazma ve kolon biyopsilerinde otoinflamatuvar sitokinler artmıştır. Benzer olarak kolon biyopsilerinde IL12 and IL18 mRNA ifadeleri yüksek, ZO-1 ve FLNA ifadeleri düşük bulunmuştur.

Sonuç: Verilerimiz, FLNA c.7405C>T (p.Pro2469Ser) mutasyonun Treg, CD3 hücre sinyal iletimi ve NK hücre fonksiyonlarında bozukluğa, tanımlanamayan bir mekanizma yoluyla otoinflamasyona neden olabileceğine işaret etmekte ve bu mutasyonun patojenik olabileceğini göstermektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Erciyes Üniversitesi BAP



MİKROGLİA HÜCRELERİ ÜZERİNDE ÇİNKO TOKSİSİTESİ VE MİTOKONDRİYAL STRES İLE İMMÜNGLOBULİN G'NİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

KATARİNA ŽİVANčEVİć [1], BAŞAK ARU [2], ABDULLAH DEMİR [3], LİDİJA RADENOVİć [1], PAVLE ANDJUS [1], GÜLDEREN YANIKKAYA DEMİREL [3]

[1] *BELGRAD ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ, SIRBİSTAN*
[2] *YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL*
[3] *YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI/YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ İHTİSAS HASTANESİ, İSTANBUL*

Amaç: Bu çalışmada; İmmünglobulin G'nin (IgG), HMC3 mikroglia hücrelerinde sıfır değerlikli çinko (Zn0) ile oluşturulan oksidatif stres üzerindeki in vitro nöroprotektif etkilerilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Nörodejeneratif hastalıklar ve Zn maruziyeti ile ilgili temel biyolojik süreçler CTD, GeneMANIA ve ToppGeneSuite Veritabanları ile incelenmiştir. İn vitro çalışmalar için HMC3 insan mikroglia hücre hattı kullanılmış olup, hücre canlılıkları 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksi fenil)-2-(4-sülfonat fenil)-2H-tetrazol-3-yum (MTS) testi ile değerlendirilmiştir. Mikroglialar üzerindeki reaktif oksijen türleri (ROS) Dihidrorhodamin-123 (DHR123) boyaması ile incelenmiştir. Mitofaji ile ilişkili intrasellüler protein seviyeleri akan hücre ölçer kullanılarak tespit edilmiştir.

Bulgular: In silico taramalarda, Zn0 sitotoksisitesi ile apoptoz arasında anlamlı bir ilişki bulunmuş ve Znnin Ig ağır zincirinin sabit bölgesi ile etkileşebilme potansiyeli bulunmuştur. İn vitro analizler, mikroglialarda ROS birikimini artıran ve canlılığı azaltan en uygun Zn0 uygulama koşulunun 24 saat ve 2,5 µg/mL olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, Zn0 24 saat sonra ROS birikimini arttırırken, 6,25-100 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda eş zamanlı IgG uygulaması sonucunda ROS miktarının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (*p<0,05). Zn0 uygulaması ile azalan Parkin ve TRIM21 protein seviyeleri eş zamanlı IgG uygulaması ile artmış olup, Zn0 uygulaması ile artan PINK1'in eş zamanlı IgG uygulaması ile azaldığı saptanmıştır (*p<0,05).

Sonuç: In silico analizler, IgGnin Zn0 kaynaklı sitotoksisiteyi hafifletebilme potansiyeline dikkat çekmiştir. IgG, Zn0 kaynaklı mitokondriyal stresi doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde azalttığından, deneysel bulgularımız bu hipotezi desteklemiştir. Bu bulgular, akut Zn0 maruziyetinin olumsuz etkilerini hafifletmede intravenöz immünglobulinin (IVIG) kullanılabilme potansiyelini destekler niteliktedir. Bu çalışma, H2020 MSCA RISE AUTOIGG Projesi ile (#778405) desteklenmiştir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma, H2020 MSCA RISE AUTOIGG Projesi ile (#778405) desteklenmiştir.



YENİ BİR ANTİJEN DAĞITIM YÖNTEMİ KULLANAN BİR AŞI TARAFINDAN TETİKLENEN ANTİTÜMÖRAL BAĞIŞIKLIK YANITININ DEĞERLENDİRİLMESİ

DAVOD KHALAFKHANY[1], NESRİN ÖZÖREN [1]

[1]BOĞAZİÇİ ÜNİVERSİTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL

Giriş: Koruyucu kanser aşılarının belirli kanser türlerini önlemede önemli etkinlik gösterdiği birçok çalışma ile kanıtlanmışken, terapötik kanser aşılarının daha az başarılı olduğu görülmüştür. Birçok terapötik aşı, bağışıklık yanıtını güçlendirmek için yardımcı maddelere ve küçük antijenler için taşıyıcı moleküllere ihtiyaç duyar. Biz, inflamazom aktivasyonunu ve sonraki bağışıklık yanıtını kullanarak çalışan bir hücredışı mikro partikülü olan ASC zerreciğine dayalı yenilikçi bir antijen dağıtım platformu geliştirdik.

Method: Çalışmamız inflamazom kompleksi için hayati bir adaptör proteini olan ASC etrafında dönmektedir. Transfekte edilmiş Hek293 hücrelerinden ASC zerreciklerini başarılı bir şekilde saflaştırdık. Ayrıca, melanom fare modelinde antitümöral bağışıklık yanıtlarının daha fazla değerlendirilmesi için hedef antijen içeren kimerik ASC zerrecikleri ifade ettik ve saflaştırdık. Bu ASC zerrecikleri hem in vitro hem de ex vivo olarak bağışıklık hücrelerinde bağışıklık yanıtlarının oluşturulmasını sağlarken geleneksel adjuvant maddelerin etkilerine benzer etkiler göstermektedir. ASC zerreciklerinin stabilite, boyut ve bağışıklık güçlendirme özelliklerini gözlemledik ve bunun antijen taşıyıcıları ve doğal adjuvant maddeler olarak umut vadeden bir aday olduğunu gösterdik.

Sonuç: Yanıtının değerlendirilmesi için MageA3 antijenleri ile fareler aşılandı ve ardından fareler tümör hücreleri ile enfekte edildi. Böylece bağışıklık sistemine dayalı potansiyel kanser tedavileri değerlendirildi. ASC ve MageA3 antijeninin kimerik proteinleri, Freundun adjuvant olarak kullanıldığı rekombinant antijenler ve kontrol grubu olarak PBS kullanıldı. Aşılanmış farelere Matrigel ve 10e5 B16-MageA3 hücrelerinin karışımı subkutan olarak enjekte edildi ve tümör büyümesi izlendi. Antikor titrasyonları, MageA3'e özgü IgG seviyeleri kullanılarak ön-immünizasyon ve prechallenge serum örneklerini analiz ederek ölçüldü. Tedavi edilen farelerde koruma oranı %40 oranını bulmaktadır. Buna karşılık, kontrol gruplarındaki tüm fareler, Freundun antijen ile beraber verildiği farelerde yüksek anti-MageA3 antikor titresine rağmen tümör gelişimi görülmektedir. Tümör mikroçevresi karakterize edilerek daha fazla araştırma yapıldı. Tedavi edilen farelerin tümörlerinde daha fazla CD80-pozitif makrofaj ve daha az CD206-pozitif makrofajın yanı sıra Foxp3-pozitif CD4 T hücrelerinde bir azalma gözlemlendi. CD80, T hücre aktivasyonu için bir ko-stimülatör reseptörü olarak görev yaparken, CD206, immünsupresif M2 benzeri bir fenotiple ilişkilidir. Tedavi edilen farelerdeki Treglerin azalması, bir antitümör bağışıklık yanıtının olasılığını desteklemektedir.

Tartışma: Çalışmamız ASC zerreciklerini kullanan antijen dağıtım platformunun tümör mikroçevreyi etkileyebileceğini ve onu antitümör bağışıklığa daha elverişli hale getirebileceğini göstermektedir. Makrofajların M1 benzeri bir fenotipe yönlendirilmesi ve Treglerin azalması, bu etkiye katkıda bulunuyor olabilir. Bununla birlikte, bu olumlu bağışıklık mikroçevresinin oluşturulmasının mekanizmalarını onaylamak ve aydınlatmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışma, tümör mikroçevresini hedefleyerek antitümör bağışıklık yanıtlarını artırmak için yeni kanser immünoterapilerinin geliştirilmesi açısından önemli sonuçlar taşımaktadır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Boğaziçi BAP Proje Kodu: 18B01TUG5, Proje Başlığı: ASC Zerrecik Teknolojisine Dayalı Multivalent Grip Aşılarının ve Melanom İmmün Tedavilerinin Geliştirilmesi



ENDOTEL HÜCRENİN FARKLI DİYABET STRESLERİ ALTINDA MONONÜKLEER HÜCRELERİ BAĞLAMA VE KORUYUCU GENLERİ İFADELEME YANITLARI

NEŞE AKIŞ[1], DİLEK ÇELİK[1]

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

Özet:

Farklı diyabet tiplerinde hastada farklı yüksekliklerde seyreden şeker ve/veya yüksek insuline karşı glomerüler endotel hücrelerin farklı aktivasyon yanıtları geliştirme yeteneği incelendi. Bu amaçla üç koruyucu genin mRNA ifade kinetiği ve miktarı; ayrıca, iki mononükleer hücre çeşidini bağlama özelliği in vitro fare hücresi kültür modelinde incelendi. RT-PCR yöntemiyle yapılan ifade kinetiği incelemesinde; Bcl2a1a geninin tip-1 diyabette (T1D) 6ıncı saatte ve tip-2 diyabette (T2D) 2inci saatte; Tnfaip3 geninin aynı model sırasıyla 4üncü ve 6ıncı saatlerde; Hmox1 geninin bu modellerde 4üncü saatte aktive olduğu saptandı. RT-qPCR yöntemiyle yapılan ifade miktarı incelemesinde; Hmox1 geninin Tnfaip3 geninden 4,5-10 kat ve Bcl2a1a geninden 40-290 kat şeklinde oldukça yüksek seviyede ifade yaptığı; ve bu genin T1D, bozulmuş glukoz toleransı (IGT) ve T2D modellerine özgül farklı seviyelerde ifade yanıtı verdiği (sırasıyla 60,5 ve 76,5 ve 101 kat) saptandı. Benzer şekilde aynı model sırasıyla Tnfaip3 gen ifade artışı (13 ve 6 ve 9 kat) ve Bcl2a1a geninin zayıf ifade artışı (1,5 ve 1 ve 0,35) diyabetin tipine özgül farklılıkta saptandı. Adezyon yöntemiyle yapılan monosit (RAW 264.7 hattı) ve T lenfosit (EL-4 hattı) bağlanma yanıtının incelemesinde; en yüksek bağlanmaların IGTmodelinde (aynı hücre sırasıyla %148 ve %112 kat artış); en az bağlanmaların T1D modelinde (aynı sırayla %80 ve %53); T2D modelinde ise RAW 264.7 hücrelerini T1Dndekine benzer ve EL-4 hücrelerini IGTndekine benzer seviyelerde bağladığı saptandı. Bulgular göstermektedir ki endotel hücreler diyabetin tipini ayırt ederek tipe özgül aktiflenmekte ve tipe özgül koruyucu gen ifade ve lökosit bağlama profilli sergilemektedir. Diyabetik vasküler disfonksiyona karşı geliştirilen terapötiklerin tipe özgül yangı yanıtlarını hedeflemesi düşünülmelidir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.):

TÜBAP2012/72



YÜKSEK YAĞLI DİYETİN KOLOREKTAL KANSER PROGRESYONU VE METASTAZI ÜZERİNE ETKİSİ

ÇİĞDEM ELİF ÇELİK [1,2], SWAGATA GOSWAMI [2], QIMING ZHANG [2], FÜSUN ÖZMEN [1], OMER H. YILMAZ [2]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[2] *MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY, KOCH INSTITUTE FOR INTEGRATIVE CANCER RESEARCH*, USA

Özet:

Kolorektal kanser (CRC) tüm dünyada kanser nedenli ölümlerde üçüncü sıradadır ve cerrahi müdahaleler dışında tedavi seçenekleri oldukça sınırlıdır. Karaciğer metastazları pek çok CRC hastasının temel ölüm nedenidir ve metastatik tümörler iyileştirici tedavilerden etkilenmemektedir. CRC gelişim sürecini etkilediği bilinen başlıca değiştirilebilir dış faktörler arasında yer alan diyete bağlı obezitenin, kolorektal kanser riskini ve mortaliteyi önemli ölçüde artırdığı bilinmekle birlikte, CRC metastazını ne şekilde etkilediği bilinmemektedir. Bu çalışmadaki amacımız yüksek yağlı diyetin CRC metastazı üzerine etkisinin belirlenmesidir.

Klinik olarak ilgili metastaz model sistemlerinin eksikliği, diyetten etkilenen hedeflenebilir faktörleri belirlememizi engellemektedir. Bu nedenle yöntem oluşturulurken aşağıdaki yaklaşımlar benimsenmiştir: 1) CRC metastazını aslına sadık bir şekilde tekrarlayan, fizyolojik olarak uygun bir ortotopik transplantasyon fare modeli. 2) Hastalarda yaygın olarak kanserle ilişkilendirilen genetik mutasyonların tanımlanmış kombinasyonlarına sahip bir CRC organoid paneli. 3) Tanımlanmış makro besin bileşimlerine sahip rafine özelleştirilmiş diyetler. Bu amaçla murin CRC organoidleri Apc, Krasve p53 tanımlanmış mutasyon kombinasyonlarını taşıyacak şekilde genetik olarak tasarlanmış ve floresan tdTomato (AKP-tdT) ile etiketlenmiştir. Farelere (C57BL/6J) 8 hafta boyunca kontrol ve yüksek yağlı diyet (HFD) uygulandıktan sonra kolonoskopi kılavuzluğunda ortotopik enjeksiyonlar kullanılarak AKP-tdT CRC organoidleri nakledilmiştir. CRC organoidlerinin kontrol ve HFD ile beslenen farelerde seri transplantasyonu gerçekleştirilerek, HFDnin tümör hücreleri üzerindeki kalıcı etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Sonuç olarak HFD kökenli CRC organoidlerinin daha yüksek metastatik potansiyele sahip olduğu seri transplantasyonlar ile tespit edilmiştir. Bunun yanında yüksek yağlı diyetin tümör mikroçevresini modifiye ettiği görülmüştür. Özetle HFD kaynaklı obezite sağkalımı azaltmakta, karaciğer metastazını artırmakta, tümör hücrelerinde stemness programlarını teşvik etmekte ve ortotopik murin kolorektal kanser modellerinde mikroçevreyi değiştirmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): National Cancer Institute**,** MIT Stem Cell Initiative**,** TUBITAK BIDEB



OTOİMMÜN LENFOPROLİFERATİF SENDROM TANISINDA THRαβ+CD4-CD8- T HÜCRELERİ: AKAN HÜCRE ÖLÇER SİSTEMİNİN ÖNEMİ

HİMMET ŞİRİN[1], METİN YUSUF GELMEZ[1], GÜNNUR DENİZ[1], SUZAN ÇINAR[1]

[1]İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL

Amaç: Otoimmün Lenfoproliferatif Sendrom (ALPS), lenfositlerde apoptoz bozukluğuna bağlı olarak ortaya çıkan, artan otoimmünite ve lenfoma yatkınlığı ile seyreden, periferik kanda T hücre reseptörü (THR) α/β pozitif CD4 ve CD8 çift negatif T hücrelerin(DNT) birikimi ile karakterize bir hastalıktır. Tanısında periferik kanda DNT oranının yüksekliği majör kriterlerden biridir. Laboratuvarımıza ALPS öntanısı ile başvuran hastaların periferik kan T, THRγδ+ T ve DNT hücre oranlarının akan hücre ölçer ile saptayarak DNT yüksekliğinin yaygınlığını belirlemek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Olguların periferik kan örneklerinde anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-THRαβ ve anti-THRγδ monoklonal antikorlar kullanılarak DNT (CD3+CD4-CD8-THRαβ+) oranları akan hücre ölçer cihazı ile saptanmıştır.

Bulgular: Çalışmaya, 2014-2021 yılları arasında başvuran 113 hasta [74 erkek (4 ay-20 yıl), 39 kadın (4 ay-43 yıl)] ve 10 sağlıklı [6 erkek (19-42 yıl), 4 kadın (18-35 yıl)] gönüllü dahil edilmiştir. Hastaların 8'inde (%7,08; 3'ü kadın) DNT oranı ≥%6 [14,47 (7,96-29,08)] olarak saptanmıştır. DNT oranı ≥%6 ve <%6 olmak üzere oluşturulan hasta gruplarında CD3+ T, THRαβ+ T ve THRγδ+ T hücre oranlarında farklılık gözlenmemiştir. Sağlıklılarda DNT oranı %0,78(0,41-0,99) ölçülmüştür.

Sonuç: Akan hücre ölçer ile DNT tayini, ALPS tanısında oldukça kullanışlıdır. Ülkemizde primer immün yetersizliklerin insidansı yüksek olmakla birlikte ALPS'nin insidansı net olarak bilinmemektedir. ALPS ön tanısı almış olan hastalardan elde ettiğimiz bulgularımız hem bu hastalığın tanısında akan hücre ölçerin yerini göstermesi, hem de Türkiye'deki ALPS sıklığının belirlenmesine veri sağlaması bakımından önemli olabilir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi (proje no: TSG-2018-27987)



İNSAN EOZİNOFİL HÜCRE HATLARI VE PRİMER EOZİNOFİLLERDEKİ PATERN TANIMA RESEPTÖRLERİNİN İN SİLİKO KARŞILAŞTIRMALI EKSPRESYON ANALİZLERİ

ZÜLAL ÇELİK[1], EDANUR BARUTÇU[1], YAĞMUR ÖZÇELEBİ[1], ELİF YAPRAK SARAÇ[1], CEREN ÇIRACI[1]

[1]*İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, İSTANBUL*

Amaç: Eozinofiller kan dolaşımında en az bulunan lökositlerden biridir. Akut ve kronik enfeksiyonlar gibi birçok patolojik durumdaki rolleri, onları ilginç bir araştırma alanı haline getirmektedir. Eozinofiller, doğuştan gelen ve edinsel yanıtların şekillendirilmesinde efektör ve modülatör fonksiyonları aracılığıyla immün homeostazın korunmasında kritik roller oynarlar. Eozinofillerin yalnızca mantar, bakteri ve viral enfeksiyonlarda değil, aynı zamanda doku onarımında ve doku onarımını düzenleyen sinyal yollarında da işlev gördüğü giderek daha açık hale gelmiştir. Mast hücreleri, T yardımcı 2 (Th2) ve B hücreleri, doğuştan gelen bağışıklığın tüm aracıları arasında, patern tanıma reseptörleri (PRR), uyaran bağlamında büyük önem taşır. Bu çalışmadaki amacımız, EoL-1 ve HL-60 insan eozinofil benzeri hücre hatlarını in siliko insan primer eozinofilleriyle karşılaştırarak PRR işlevlerini karşılaştırmalı olarak incelemektir.

Materyal ve Metot: EoL-1 ve HL-60 insan eozinofil benzeri hücre hatlarını in siliko insan primer eozinofilleriyle karşılaştırarak membrana bağlı ve sitozolik PRRlerin mRNA ekspresyon profillerini Genevestigator 9.12.0 ile analiz ettik. Bu veritabanını kullanarak, yüksek protein ve mRNA verimi gerektiren in vitro mekanik çalışmalar için en ideal hücre hattını belirlemek amacıyla eozinofillerin PRR repertuarlarını analiz ettik.

Bulgular: Bulgularımız, Toll benzeri Reseptör (TLR2) ve nükleotid benzeri reseptör 3ün (NLRP3) her iki hücre hattında insan primer eozinofillerinden daha yüksek bazal ekspresyonlara sahip olduğunu gösterdi. NLRP12, Genetik ve Fizyoloji Laboratuvarı 2(LGP2) ve Dectin-1 için tam tersi durum gözlemlendi.

Sonuç: Elde edilen ve kıyaslanan verilere dayanarak, eozinofil immünitesinde Nod-benzeri reseptör (NLR), Retinoik asit ile indüklenebilir gen-I benzeri reseptör (RLR) ve C-tipi lektin reseptör (CLR) ailelerinin TLR2, NLRP3, LGP-2 ve Dectin-1 üyelerine yeni fizyolojik işlevler atfedilebilir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): İstanbul Teknik Üniversitesi BAP Birimi Proje Kodu: 44121



KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİDE CXCR5 EKSPRESE EDEN NK HÜCRELERİ

MELİS İREM KUYAŞ [1], FATİH AKBOĞA [1], FEHMİ HİNDİLERDEN [2], İPEK YÖNAL HİNDİLERDEN [3], EMİNE GÜLTÜRK [2], GÜNNUR DENİZ [1], METİN YUSUF GELMEZ [1]

[1] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, İSTANBUL, TÜRKİYE / İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP VE ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL
[2] İSTANBUL SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ HAMİDİYE TIP FAKÜLTESİ, İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI, DR. SADİ KONUK SUAM HEMATOLOJİ BÖLÜMÜ, İSTANBUL
[3] İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ, DAHİLİ TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ, İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI, İSTANBUL

Giriş: Güncel çalışmalar, doğal öldürücü (NK) hücrelerin CXCR5 eksprese eden yeni bir alt grubu olduğunu göstermektedir. Kronik lenfositik lösemide (KLL) CD5+ malign B hücreleri kan, kemik iliği ve lenf nodlarında birikim gösterir. Çalışmamızda KLL hastalarında CXCR5+ NK hücrelerinin sitokin ve sitotoksik profillerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: KLL hastası 30 gönüllü ve 16 sağlıklı bireyden alınan kan örneklerinden periferik kan mononükleer hücreler izole edildi. Hücreler anti-CD19 monoklonal antikoru ile işaretlenip CD19- hücreler FACSAria II sistemi ile izole edildi. PMA/Ionomycin ile 5 saat uyarımın ardından hücreler anti-CD3 ve -CXCR5 antikoru ile boyanıp, fiksasyon/permeabilizasyon işleminin ardından anti-IL-4, -IL-21, -IL-17A, -IFN-γ, -perforin ve -granzim B ile boyanıp akan hücre ölçerde analiz edildi. CD3-CD19- hücreler içinde CD16 ve CD56 eksprese eden hücre oranının >%93 olması nedeniyle çalışmamızda CD3-CD19- hücreler NK hücreleri olarak değerlendirildi.

Bulgular: Sağlıklı bireylerde CXCR5- NK hücreleriyle karşılaştırıldığında, CXCR5+ NK hücrelerinde perforin, IL-4, IL-21 ve IFN-γ ekspresyonları yüksek, IL-17A ekspresyonları düşük saptandı. Granzim B ekspresyonları açısından iki grup arasında farklılık gözlenmedi. Sağlıklı bireylere göre, hastaların total ve CXCR5+ NK hücre oranları ile bu hücrelerde perforin, IL-21 ve IL-17A ekspresyonlarının arttığı, IL-4 seviyelerinin ise sadece total NK hücrelerinde arttığı gözlenirken, IFN-γ ve granzim B seviyeleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı. CD5+CD19+ malign B hücre oranı ile total NK hücre oranı arasında negatif (R= -0, 445), CXCR5+ NK hücre oranı ile pozitif korelasyon (R= 0,309) olduğu tespit edildi.

Sonuç: Verilerimiz, CXCR5+ NK hücrelerinde artan perforin ekspresyonunun, bu hücrelerin sitotoksik kapasitesin yüksek ve anti-tümöral yeteneklerinin daha etkin olduğuna işaret etmektedir. Çalışmamızda tümör yükü ile CXCR5+ NK hücreleri arasındaki pozitif korelasyon dikkate alındığında, özellikle CXCR5+ NK hücrelerinde artan IL-21 ifadesinin, B-malign B hücrelerinin apoptozunu tetikleyebileceği veya CXCR5+ NK hücrelerinde antikora bağlı sitotoksititeyi arttırabileceği izlenimini vermektedir. Ayrıca KLL hastalarının CXCR5+ NK hücrelerinde artmış perforin içeriği, bu hücrelerin sitotoksititelerinin arttığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kronik lenfositik lösemi, KLL, CXCR5+ NK hücreleri, perforin

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu proje İ.Ü. BAP birimi (proje no:38452) tarafından desteklenmiştir.



METABOLİK YENİDEN PROGRAMLANMANIN HELİKOBAKTER İLE AKTİVE EDİLMİŞ B HÜCRELER ÜZERİNE ETKİSİ

BAHAR DENİZ[1], ZEYNEP NUR ŞENTÜRK[1], IŞILAY AKDAĞ[1], ALEYNA KIZILYER[1], MİRA TAFA, EMRE DUYAN[1], AYÇA SAYI YAZGAN[1]

[1]İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ GENETİK VE BİYOTEKNOLOJİ, İSTANBUL

Amaç: Enerji metabolizmasının bağışıklık hücrerinin aktivasyonunu, çoğalmasını ve fonksiyonunu etkilediği bilinmektedir. Glikoliz ve oksidatif fosforilasyonun belirli inhibitörlerce baskılanmasının B hücrelerinin çoğalma, hayatta kalma ve fonksiyonları üzerinde önemli etkileri olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarda önerilmektedir. Ancak glikolizin ve mitokondriyal inhibisyonun Helikobakter ile aktive olan B hücreler üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Çalışmamızda glikoliz inhibitörü 2-DG ve ATP sentaz inhibitörü oligomisinin Helikobakter felis (H. felis) ile aktive olan B hücrelerinin çoğalması ve düzenleyici B hücrelerine farklılaşması üzerindeki etkisini göstermeyi amaçladık.

Materyal ve Metot: B hücreleri, C57BL/6 farelerinin dalağından manyetik izolasyon yöntemiyle izole edildi. 2-DG (0,1-0,5-1 mM) ve oligomisin (0,1-0,5-1 nM) varlığında veya yokluğunda; H.felis antijeni (10 ug/ml), TLR2-ligandı PAM3CSK4 (2,5 ug/ml) veya TLR4-ligandı LPS (5 ug/ml) ile B hücreleri 24 ve 72 saat süresince uyarıldılar. B hücrelerinin proliferasyon analizi için karboksifloresein süksinimidil ester kullanıldı. Farklılaşma tayini için IL-10 salgı düzeyinin IL-10 ELISA ile araştırılmasına ek olarak CD86 ve PD-L1 yüzey belirteçlerinin ifade seviyeleri akan hücre ölçer ile analiz edildi.

Bulgular: 24 saatte yüksek 2-DG dozlarının, B hücrelerinden IL-10 salgılanmasını ve aktivasyon belirteci CD86 ve kontrol noktası inhibitörlerinden PD-L1 ifadesini azalttığını gözlemledik. 2-DG muamelesi, tüm stimülasyon gruplarında B hücresi çoğalmasını, 72 saatte doza bağlı bir şekilde, önemli hücre ölümüne neden olmadan baskıladı. Öte yandan oligomisin, B hücrelerinin çoğalması veya farklılaşması üzerinde anlamlı etki göstermedi.

Sonuç: Bu veriler, oksidatif fosforilasyona kıyasla glikolizin Helikobakter ile aktifleşen B hücrelerinin çoğalmasını kontrol ettiğini ve düzenleyici B hücrelerine farklılaşmasında kritik rol oynadığını önermektedir. Düzenleyici B hücresi fonksiyonu açısından glikoliz ve oksidatif fosforilasyonun katkısını anlamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma TÜBİTAK-1001 Projesi 119S447-120S804 ve İTÜ-BAP Projesi 43021 tarafından desteklenmiştir.



GEN MODİFİKASYONLARI İLE TOLEROJENİK HALE GETİRİLEN DENDRİTİK HÜCRELERİN DENEYSEL OTOİMMÜN ENSEFALOMYELİT (EAE) MODELİNE TERAPÖTİK OLARAK UYGULANMASI

GÖZDE ARSLAN [1,2], MEHMET KARAÇAY [1,2,4], ELİF ÇELİK [6], GÖKÇEN GÜVENÇ BAYRAM [5], EZGİ YUMUŞAK [9], FATMANUR DÜNDAR [1,2], DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ [1,2,3], FİGEN ERSOY [11], ARZU YILMAZTEPE ORAL [7], AHMET AKKOÇ [8,9], TOLGA SÜTLÜ [6], MURAT YALÇIN [10], HALUK BARBAROS ORAL [1,2,3]

[1] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[2] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİTIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA*
[3] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[4] *İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL*
[5] *DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI, İZMİR*
[6] *ACIBADEM ÜNİVERSİTESİ, MÜHENDİSLİK VE DOĞA BİLİMLERİ FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL*
[7] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, BİYOKİMYA ANABİLİM DALI, BURSA*
[8] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ VETERİNERLİK FAKÜLTESİ, PATOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[9] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, PATOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[10] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ VETERİNERLİK FAKÜLTESİ, FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*[7]
[11] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM, BURSA*

Amaç: Multipl skleroz (MS) inflamasyon, demiyelinizasyon ve akson hasarı gibi ayırt edici özelliklere sahip merkezi sinir sisteminin otoimmün aracılı nörodejeneratif bir hastalığıdır. MS hastalığının patogenezinde, İndolamin-2,3-dioksijenaz (IDO) enzimi triptofan yıkımı aracılığıyla önemli bir rol oynamaktadır. IDO enziminin çalışmasıyla gelişen triprofan açlığı T hücre aktivasyonunu baskılamada rol alır. T lenfositlerinin aktifleşebilmeleri için peptit-major histokompatibilite kompleksinin tanınmasına ve eş uyaran sinyallerine gereksinim vardır. Eş uyaran olmadan T lenfositlerinin aktivasyonu anerjiye yol açabilir. Amacımız çoklu genetik modifikasyonlarla elde edilen tolerojenik dendritik hücrelerin (DH), EAE modelinde tedavi edici olarak kullanımını değerlendirmektir.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada tolerans indüklemek için birinci strateji olarak DH'ler triptofanı katabolize eden enzim IDO'yu eksprese etmek üzere modifiye edilmiştir. İkinci strateji olarak fare DH'lerine CTLA4-KDEL adı verilen ve eş uyaran molekülleri endoplasmik retikulumda (ER) tutarak hücre yüzeyinde B7 (CD80/86) moleküllerinin ekspresyonunu engelleyen füzyon proteinini kodlayan lentiviral vektör ile gen aktarımı yapılmıştır. Üçüncü strateji ASH yüzeyinde B7 moleküllerinin ekspresyonunun shRNA ile susturulması ve aynı vektörde IDO'nun aşırı ekspresyonu sağlanmıştır. Genetik olarak tolerans mekanizmasını indükleyecek bu hücreler EAE oluşturulan farelere intravenöz olarak uygulanarak, tedaviye klinik yanıtları 2 hafta takip edilmiştir. Uygulanan tedavilerin sinir EAE llezyonlarıüzerindeki etkilerini değerlendirmek için histopatolojik incelemeler yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda genetik olarak modifiye edilmiş DH'lerde CD80/CD86 ekspresyonunun tek başına veya aynı zamanda IDO'yu aşırı eksprese eden vektörler kullanılarak aşağı çekilmesinin klinik skoru anlamlı bir şekilde azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, bu terapötik yaklaşımlar uygulanan EAE'li fareler ile histopatolojik olarak karşılaştırıldığında lezyonlarda belirgin gerileme saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda genetik olarak modifiye edilerek tolerans indükleyici hale getirilen DH'lerin MS ve diğer otoimmün hastalıkların tedavisi için umut verici potansiyel bir yaklaşım olduğu ortaya konmuştur.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma TÜBİTAK (118S474) tarafından desteklenmiştir.



KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİNDE MUKOZA İLİŞKİLİ İNVARYANT T HÜCRELER

HATİCE KÜBRA AKAY [1], AKİF TURNA [2], ESİN ÇETİN AKTAŞ [3], ÖMER FARUK SAĞLAM [2], GÜNNUR DENİZ [3]

[1] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANA BİLİM DALI, İSTANBUL / İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANA BİLİM DALI, İSTANBUL / İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK HİZMETLERİ MYO, TIBBİ LABORATUVAR TEKNİKLERİ, İSTANBUL
[2] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA, CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ, GÖĞÜS CERRAHİSİ ANA BİLİM DALI, İSTANBUL
[3] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANA BİLİM DALI, İSTANBUL

Amaç: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK), akciğer kanserlerinin yaygın gözlenen histolojik alt tiplerine verilen genel bir isimdir. Son yıllarda, kansere karşı immün yanıtlarda rol oynadıkları anlaşılan sitotoksik invaryant T hücrelerinin immünoterapide kullanılabilirliği üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Mukoza ilişkili invaryant T (MAIT) hücreler de sitotoksik özellikleriyle ilgi çeken T hücre grubudur. Çalışmamızın amacı KHDAK hastalarının doku ve periferik kan örneklerinde MAIT hücrelerinin oranlarını ve etkinliklerini belirlemektir.

Metot: Çalışmaya KHDAK tanısı almış erken ve geç evre hastalardan periferik kan (n=15), tümör (n=5), tümöre komşu akciğer dokusu (n=5) ve lenf nodu (n=6) örnekleri; ayrıca sağlıklı kontrol (n=10) periferik kan örnekleri dahil edildi. Enzimatik sindirim yöntemi ile doku örneklerinden ve periferik kandan izole edilen mononükleer hücrelerde (PKMH) akan hücre ölçer analizi ile CD3+Va7.2+CD161+ fenotipindeki MAIT hücre oranları tespit edildi. Sağlıklı bireylerden izole edilen periferik kan örneklerinde MAIT hücrelerinde hücre içi IFN-g, TNF ve IL-17A ekspresyonları akan hücre ölçer yöntemi ile değerlendirildi. Sağlıklı ve hasta kanlarında MAIT hücre oranları analizinde non-parametrik-Mann-Whitney U testi, periferik kan ve doku örneklerinin analizlerinde ise non-parametrik Kruskal Wallis H testi kullanıldı.

Bulgular: Periferik kan MAIT hücre oranları KHDAK hasta grubunda sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı derecede düşük tespit edildi (p=0,036). Hastalık evreleri arasında ve erken evre hasta grubunda diğer doku örnekleri ile kıyaslandığında periferik kan MAIT hücre oranları bakımından anlamlı fark saptanmadı. Sağlıklı kan PKMH'de uyarım sonrası MAIT hücrelerinde IFN-g ekspresyonunda artış tespit edildi (p=0,016).

Sonuç: Çalışmamız KHDAK hasta grubunda MAIT hücre yüzdesinin diğer kanser türlerinde olduğu gibi sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında periferik kanda azaldığını göstermektedir. Özellikle akciğer kanserinde MAIT hücrelerinin in vivo rollerini açıklayacak calışmalar bu hücrelerin fonksiyonel rolü açısından aydınlatıcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: MAIT, invaryant T hücreler, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, akan hücre ölçer

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi, Proje no: 34769



HELİKOBAKTER AKTİVE B HÜCRELERİNİN IL-10 ÜRETİMİNDE ROL OYNAYAN SİNYAL YOLAKLARININ ARAŞTIRILMASI

ZEYNEP NUR ŞENTÜRK, BAHAR DENİZ, ÖZGE DEMİR, AYÇA SAYI YAZGAN

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, İSTANBUL

Amaç: Toll benzeri reseptör aracılı aktivasyon, immün cevabı baskılayıcı ve düzenleyici etki gösteren IL-10 sitokininin üretimini indükleme de etkilidir. p38 MAPK yolağının TLR4 ligandı LPS ile uyarılan B hücrelerinden IL-10 salınımını artırdığı gösterilmiştir. 24 saat boyunca TLR2 ligandı H.felis ile birlikte kültüre edilen B hücrelerinin IL-10 ürettiği laboratuvarımızda yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. Ancak Helikobakter aktive B hücrelerinin IL-10 üretiminde hangi sinyal yolaklarının rol aldığı bilinmemektedir. Bu sebeple çalışmamızda sinyal yolak inhibitörleri kullanılarak Helikobakter aktive B hücrelerinin IL-10 salınımını incelemeyi amaçladık.

Materyal-Metod: Naif B hücreleri C57BL6 farelerinin dalaklarından manyetik ayrımla izole edildi. Hücreler 24 ve 72 saat boyunca 10 µg/ml H. felis antijeni ile Mek inhibitörü U0126 (15µM), MAPK inhibitörü SB203580 (10µM) ve PI3K inhibitörü LY294002 (15µM) varlığı/yokluğunda inkübe edildi. Hücreler toplanarak canlılık ve proliferasyon sırasıyla 7-AAD ve CFSE boyaları kullanılarak akan hücre ölçerde analiz edildi. Hücre süpernatantları ise IL-10 salınım miktarlarının tayin edilebilmesi için ELIZA deneyleri sırasında kullanıldı.

Bulgular: H.felis ile uyarılan B hücreleri, uyarılmayan B hücrelerine kıyasla 24 ve 72 saatte canlılık, proliferasyon (sadece 72 saatte bakıldı) ve IL-10 üretimini artırmıştır. LY294002, H.felis aktive hücre canlılığı ve proliferasyonunu %60-80 düşürmüş olup IL-10 en düşük miktarda tespit edilmiştir. U0126 hücre canlılığı ve proliferasyonu %10-20 ve IL-10 salınımını %50-60 oranında azaltmıştır. SB203580 varlığında ise hücre canlılığı &proliferasyonu değişmezken, IL-10 salınımı %70-90 azalmıştır.

Sonuç: H.felis ile uyarılan B hücrelerinden IL-10 salınımı MEK ve MAPK sinyal yolakları aracılığıyla kontrol edilmektedir. IL-10 üretiminin yanı sıra bu sinyal yolaklarının Helikobakter aktive B hücrelerinin fonksiyonunda nasıl rol oynadığının araştırılması için yeni çalışmalar yapılmalıdır. Bu nedenle inhibitör varlığı/yokluğunda inkübe edilen B hücreleri naif T hücreleriyle kültüre alınarak T hücrelerin regülatör fenotipe dönüşüp dönüşmeyeceği araştırılabilir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.(Proje Numarası: 111S447)



BAZI NCF4 R>Q MUTASYONLARININ HOMOLOJİ MODEL ANALİZLERİ

BURCU KİRAZ OFCAN OFLAZ

LOKMAN HEKİM ÜNİVERSİTESİ, ANKARA

Kronik Granülomatöz Hastalığı NCF4 genindeki bazı mutasyonlar sebebiyle, tekrarlayan ciddi enfeksiyonlar, düzensiz inflamasyon ve otoimmünite ile karakterizedir. NCF4 proteini NADPH Oksidaz proteinin alt domainlerinden biridir. Bu protein oksijeni süperoksite dönüştürme özelliğine sahip bir enzimdir. Süperoksit, hidrojen peroksit ve hipokloröz gibi reaktif oksijen türleri reaksiyon sonucunda ortamda artan moleküllerdir ve hücre mekanizmasında üretimleri dengede tutulmaktadır. NCF4 genindeki bazı mutasyonların proteinin katlanmasını ya da fonksiyonunu doğrudan etkileyerek KGH'ye yol açtığı bilinmektedir. Çalışmamızda 105, 213. ve 308. Lokasyonlarda gerçekleşen Arg-Gln dönüşümleri in-silico yöntemle incelenmiştir. Homoloji modelleri Swiss-Model aracılığıyla üretilmiştir ve UCSF-Chimera 1.15.c yazılımı ile incelenmiştir. R105Q ve R213Q mutasyonlarının protein fonksiyonuna protein katlanmasını bozabileceği için etki edeceği, R308Q mutant proteinin ise etki edemeyeceği düşünülmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma, Lokman Hekim Üniversitesi tarafından desteklenmektedir.



YAŞ VE CİNSİYETİN T VE B LENFOSİT ALT GRUP DAĞILIMINA ETKİSİ

FATMA TURĞUT KAYNAK [1], MELEK YANAŞIK [2], SUZAN ÇINAR [1], SEVGİ KALAYOĞLU BEŞIŞIK [2], SEVGİ KALAYOĞLU BEŞIŞIK [3], GÜNNUR DENİZ [1], METİN YUSUF GELMEZ [1]

[1] *İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL*
[2] *İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ, KAN TRANSFÜZYON MERKEZİ, İSTANBUL*
[3] *İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ, İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI, HEMATOLOJİ BİLİM DALI, İSTANBUL*

Amaç: İmmün yaşlanma; timik involüsyon ve naif/hafıza hücre oranı dengesizliği ile birlikte enfeksiyonlara yatkınlık, aşı yanıtlarının yetersizliği, malignitelere duyarlılık ile karakterizedir. Yaşlanmanın bazı T hücre alt-grup dağılımlarını etkileyebileceği bildirilmektedir. Bu çalışmada sağlıklı erişkinlerde cinsiyet ve yaş farklılıklarının T ve B lenfosit alt grup dağılımları üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Materyal ve Metot: Yaşları 20 ile 60 arasında değişen 118 sağlıklı yetişkin bireyden elde edilen periferik kan örneklerinde, T ve B lenfosit alt grupları tam kan lizis protokolüne göre akan hücre ölçer sistemi ile analiz edildi.

Bulgular: Gönüllüler cinsiyet ve 20-29, 30-39, 40-49 ve 50-60 yaş gruplarına ayrıldı. Yaş ve cinsiyet farklılıkları CD4+ T lenfositlerindeki naif, merkezi bellek, efektör bellek ve efektör bellek-CD45RA T (TEMRA) oranlarını etkilemezken 50-60 yaş bireylerde naif CD8+ T hücrelerinde azalma ve CD8+ TEMRA'larda artış saptandı. Regülatör T (Treg) hücrelerin 50-60 yaş bireylerde arttığı gözlendi. İlaveten diğer erkek yaş gruplarına göre 50-60 yaş erkeklerde foliküler regülatör T (TFR) hücrelerinde artış, CD45RA+CD31+ RTE (residual timik emigrant) hücre grubunda azalma saptandı. Kadınlarda 20-29 yaş grubunda Th2 ve Th17, 30-60 yaş grubunda ise Th1 tip yanıtın arttığı bulundu. Yaş ve cinsiyetin B lenfosit alt-grup dağılımına etkisinin olmadığı gözlendi.

Sonuç: Sonuçlarımızın güncel çalışmalarda gözlenen ileri yaş bireylerdeki naif/bellek hücre oranı dengesizliğiyle benzer olduğu görüldü. Ayrıca yaşlanmanın etkisi ile T hücrelerinin Treg, TFR ve Th1 hücrelere doğru farklılaştığı gözlendi. Güncel çalışmalar CD8+ TEMRA hücrelerin tükenmişlik belirteçlerini daha fazla eksprese ettiklerini bildirmektedir. İleri yaşlarda gözlenen enfeksiyon ve kanser riskindeki artış 50-60 yaş bireylerde CD8+ TEMRA artışı ile ilişkili olabilir. Aynı zamanda elde edilen bulguların rutin analizlerde referans olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2020-37095



TARAMA VE DETAY KOMPLEMAN BAĞIMLI SİTOTOKSİSİTE TEST SONUÇLARININ RETROSPEKTİF ANALİZİ

SALİH HALDUN BAL [1,2], ONUR ETGÜ [2], MERT KARACA [1,2] MUHAMMED ALİ KIZMAZ [2], ABDURRAHMAN ŞİMŞEK [1,2], FİGEN AYMAK [1], FERAH BUDAK [1,2], HALUK BARBAROS ORAL [1,2]

[1] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA
[2]SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, BURSA

Amaç: Bu çalışmada, tarama ve detay olarak yapılan kompleman (CDC) bağımlı sitotoksisite test sonuçlarını analiz etmek ve karşılaştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: 2017-2023 yıllarına ait kadavratik CDC çapraz karşılaştırma (Crossmatch:XM) sonuçları, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Doku Tiplendirme Laboratuvarı kayıtlarından elde edilmiştir. Tarama testleri, lenf düğümlerinden (Lenf Tarama: LT) ve dalaktan (Dalak Tarama: DT) izole edilen lenfositlerle gerçekleştirilirken, detay testleri sadece lenf düğümlerinden (Lenf Detay: LD) izole edilen lenfositlerle yapılmıştır.

Bulgular: Toplam analiz edilen CDC-XM test sayısı, sırasıyla 1048, 1022 ve 1048 olup, LT için pozitif sonuç yüzdesi %39.3, DT için %29.9 ve LD için %40.6 olarak bulunmuştur. Bazı DT testleri, total lenfositler yerine sort edilmiş T lenfositleri ile yapılmıştır (n=128). DT sonuçları, bu sort edilmiş T lenfositler için yeniden değerlendirildiğinde; DT pozitifliği %38.3e yükselmiştir. LT ve DT negatiflik oranı, negatif LD vakalarında (%59.4) hesaplanmıştır ve test özgüllüğü LD sonuçlarına göre sırasıyla %88.0 ve %87.0 olarak bulunmuştur. LD pozitif vakalarda LT ve DT pozitiflik oranı %48.1 olarak saptanmış, test duyarlılıkları sırasıyla LT için %78.9 ve DT için %53.5 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, test sort edilmiş T lenfositler ile yapıldığında DT duyarlılığının %70.9a yükseldiği bulunmuştur.

Sonuç: LT ve DT test duyarlılığı yüksek iken yanlış pozitiflik oranı düşük bulunmamıştır. Sort edilmiş hücreler olmadan yapıldığında DT duyarlılığı daha düşüktür. Bu çalışma, CDC-XMin sort edilmiş hücrelerle yapılmasının daha uygun olduğunu önermektedir.



FOLİKÜLER LENFOMALI HASTALARDA FOLİKÜLER SİTOTOKSİK T HÜCRELERİ

FATİH AKBOĞA [1], MELİS İREM KUYAŞ [1], FEHMİ HİNDİLERDEN [3], İPEK YÖNAL HİNDİLERDEN [4], EMİNE GÜLTÜRK [4], YÜCEL ERBİLGİN [5], MÜGE SAYİTOĞLU [5], MELİHA NALÇACI [5], GÜNNUR DENİZ [2], METİN YUSUF GELMEZ [2], METİN YUSUF GELMEZ [2]

[1] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, İSTANBUL
[2] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP VE ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL
[3] SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ HAMİDİYE TIP FAKÜLTESİ, İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI, DR. SADİ KONUK SUAM HEMATOLOJİ BÖLÜMÜ, İSTANBUL
[4] İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ, DAHİLİ TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ, İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI, İSTANBUL
[5] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP VE ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, GENETİK ANABİLİM DALI, İSTANBUL

Giriş: Foliküler lenfoma (FL), germinal merkez B hücrelerinden köken alan yavaş seyirli hodgkin dışı lenfomadır. Foliküler sitotoksik CD8+T (TFC) hücrelerinin malign B ve foliküler yardımcı T (TFH) hücrelerini lize ettikleri ve antikor yanıtlarının düzenlenmesinde rol alabileceği bildirilmektedir. Bu çalışmada sağlıklı bireylerde TFC fonksiyonları, B hücre farklılaşması üzerine etkisi ve FL hastalarında TFC sıklığı, alt grup dağılımı ve fonksiyonları incelenmiştir.

Method: Otuz FL hastası ve 16 sağlıklı kontrolden izole edilen periferik kan mononükleer hücreler PMA/İonomycin ile uyarılıp, anti-CD3, -CD8, -CXCR5, -CD40L, -ICOS antikorları ile işaretlendi. Fiksasyon ve permeabilizayon işlemlerinin ardından anti-IL-4, -IL-17, -IL-21, -IFN-g, -perforin ve -granzim-B antikorları ile hücre içi boyama işlemleri sonrasında örnekler akan hücre ölçer sisteminde analiz edildi. B-TFC ko-kültürü yapılarak plazma hücre farklılaşması ve kültür üst-sıvılarında ELISA ile IgG yanıtları değerlendirildi.

Sonuçlar: Sağlıklı örneklerde ICOS+TFC, CD40L+TFC hücrelerde ICOS-CD40L-(DN) TFC hücrelere göre yüksek IL-4, IL-17, IL-21 ve IFN-gekspresyonu saptandı. ICOS+TFC hücreler de yüksek perforin ve granzim B ekspresyonuna karşılık, CD40L+TFC hücrelerde düşük granzim B ekspresyonu gözlendi. TFC alt gruplarından, CD40L+TFC hücrelerinin B lenfosit plazmablast farklılaşmasını ve IgG üretimini diğer alt-gruplara göre arttığı saptandı.

FL hastalarında total TFC, ICOS+TFC ve CD40L+TFC hücrelerin sağlıklı kontrollere göre arttığı ve DN TFC oranlarının azaldığı gözlendi. FL hastalarında IL-4 ve IL-21 seviyelerinin ICOS+TFC ve CD40L+TFC hücre grubunda azaldığı, IL-17 seviyesinin artığı saptandı. ICOS+TFC hücrelerde yüksek IFN-g ve düşük perforin, granzim B seviyeleri saptanırken, CD40L+TFC hücrelerde granzim B ve Total TFC perforin seviyelerinde artış gözlendi.

Tartışma: Bulgularımız CD40L+TFC hücrelerin daha çok antikor yanıtlarını düzenleyici, ICOS+TFC hücrelerin ise sitotoksik etkili olduğu izlenimini vermektedir. FL hastalarında TFC hücrelerdeki artış, hastalığın immünopatogenezinde bu hücrelerin rolü olabileceğini düşündürmektedir. ICOS+TFC hücrelerinde saptanan düşük perforin ve granzim B seviyelerinin tümör mikro çevresinin bu hücrelerde sitotoksik etki mekanizmasını baskılayabileceğini, düşündürmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu proje İ.Ü. BAP birimi (proje no: TSA-2022-39113) tarafından desteklenmiştir.



MONOSİTİK HÜCRELERİN FARKLI ALÜMİNYUM ADJUVANLARI İLE ETKİLEŞİM DİNAMİKLERİ

ALİ MERT SENCER [1], FATMA ŞEREFOĞLU [2], GÜNEŞ DİNÇ AKBULUT [3], GÜNEŞ ESENDAĞLI [4], EMİRHAN NEMUTLU [5]

[1] *İZMİR ULUSLARARASI BİYOTIP VE GENOM ENSTİTÜSÜ, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, İZMİR*
[2] *AŞI ÇALIŞMALARI ANABİLİM DALI, AŞI ENSTİTÜSÜ, HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ, ANKARA*
[3] *İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, TIP FAKÜLTESİ, KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ, KIRŞEHİR*
[4] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ, KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[5] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ, ECZACILIK FAKÜLTESİ, ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI, ANKARA*

Amaç: Alüminyum tuzları doksan yılı aşkın süredir, aşı çalışmalarında en yaygın kullanılan adjuvan olmaya devam etmektedir. Uzun deneyim sürecine karşın, doğal immün sistem ile olan etkileşimleri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışma kapsamında, en sık kullanılan iki alüminyum adjuvan ürününün, farklı monositik hücrelerle etkileşim dinamikleri incelenerek konu hakkındaki bilgi birikiminin artırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: THP-1 ve U937 monositik hücreleri artan konsantrasyonlarda alüminyum hidroksit (Alhydrogel®) veya alüminyum fosfat (Adju-Phos®) adjuvanlarına maruz bırakılıp, ardından MTT canlılık analizine tabi tutuldu. Sonrasında, her iki adjuvanın 1 mM veya 125 µM konsantrasyonlardaki uygulamalarını takiben hücre içerisine alımları lumogallion boyamasıyla akım sitometri ve mikroskopi ile incelendi. HLA-DR, CD80 ve CD11b ifadelerindeki değişimler her iki monositik hücre hattı için immünfenotipleme ile incelendi.

Bulgular: THP-1 ve U937 hücreleri artan alüminyum konsantrasyonlarında her iki adjuvana karşı canlılıklarını korudu. Lumogallion boyaması, hücrelerin konsantrasyona bağımlı bir biçimde daha fazla alüminyum adjuvanı internalize edebildiğini gösterdi. Sıra dışı bir şekilde, THP-1 hücrelerinin alüminyum hidroksit hücresel alımını alüminyum fosfattan çok daha fazla idi. U937 hücrelerinde ise bu ilişkinin tam tersi gözlendi. Son olarak, alüminyum hidroksit alımının THP-1 hücrelerinde HLA-DR ve CD80 ifade düzeylerini artırdığını ancak U937 hücrelerinin önemli düzeyde etkilenmediği gösterildi. Ayrıca, her iki hücrenin de adjuvan varlığında CD11b ifadesini azalttığı gözlemlendi.

Sonuç: Çeşitli monositik hücre tiplerinin, alüminyum adjuvanlarla farklı düzeylerde etkileşime girdikleri ve farklı yanıtlar verebildiği gösterilmiştir. Bu bulgular, alüminyum adjuvanlara karşı hücresel yanıtların daha iyi anlaşılmasında, hücresel bazda detaylı incelemelerin gerekliliğini göstermektedir.



ENDOMETRİYUM KANSERİNİN TÜMÖR MİKROÇEVRESİNDE VE PERİFERİK KANDA BULUNAN T HÜCRE VE KANSER KÖK HÜCRE POPÜLASYONLARININ KLİNİK İLİŞKİSİ

ZARNİGAR GADIRLI [1], İLAYDA MEMİŞ [2,4], DİDEM ÇAKIRSOY AKYÖNEY [2,4,5], HALUK BARBAROS ORAL [1,2,3] DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ [1,2,3], YAKUP YALCIN [1]

[1] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ, KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI, JİNEKOLOJİ VE JİNEKOLOJİK ONKOLOJİ POLİKLİNİKLERİ, BURSA
[2] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA
[3] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA
[4]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA
[5]KAROLINSKA INSTITUTET, MEDICINE, CENTER FOR HEMATOLOGY AND REGENERATIVE MEDICINE (HERM),14152, HUDDINGE, İSVEÇ

Amaç: Endometriyum kanserinde son yirmi yılda %50'nin de üzerinde artış gözlemlenmeye devam etmektedir. Son yıllardaki terapötik gelişmelere rağmen tedavi başarısızlığı, kanser nüksü, metastaz ve ölümle sonuçlanır. Araştırmalarda kanser gelişiminde ve metastazında tümör mikroçevresindeki immün hücrelerinin ve kanser kök hücrelerinin kritik rol oynadığı bildirilmiştir.Literatürde endometriyum mikroçevresinde yoğun olarak bulunan immün hücre popülasyonları, % 55-65 oranlarıyla CD8+T hücre ve %35-45 CD4+T hücre popülasyonlarıdır. Yaptığımız çalışma endometriyum kanseri hastasından intratümör, peritümör doku ve kan örneği alınarak, T hücre alt popülasyonları ve kanser kök hücre miktarlarının klinik tablodaki yansımasıyla ilgili çıkarımda bulunmakta ve sonuçlarla hastanın alacağı tedaviye katkı sağlamaktır.

Materyal ve Metot: Endometriyum kanseri hastalarından kan örnekleri ve histerektomiyle alınan uterustan doku bütünlüğü bozulmadan peritümör ve intratümör dokuları cerrah tarafından alındı. Alınan doku örneklerinden kolajenaz II enzimiyle enzimatik parçalama yapılarak süspanse hücre elde edildi. Hastadan alınan kan örneği ficoll gradyen santrifüjlemeyle fazlarına ayırıldı ve PKMH (Periferik Kan Mononükleer Hücre) fazı izole edildi. İntratümör hücreleri, peritümör hücreleri ve periferik lenfosit hücreleri CD45/CD3/CD8/CD33; CD44/CD45/CD117 antikorlarıyla boyandı. BD FACS Aria III akım sitometrisi ile analiz edildi.

Bulgular: İntratümör hücrelerinde CD3 popülasyonu peritümör hücrelerine göre daha fazla ve CD8 hücre grubu daha dominant bulundu. İntratümör hücrelerinde, peritümör ve PKMH'ye kıyasla miyeloid hücre daha yüksek bulundu fakat intratümör mikroçevresinde lenfosit oranı miyeloide oranla daha yüksek bulundu..PKMH'ye göre intratümör dokuda kanser kök hücre oranının yüksek olduğu tespit edildi.

Sonuç: Güven aralığını arttırmak için daha fazla hasta çalışılması gerekmektedir. Örneklem arttırıldığı zaman anlamlılığın devamının görülmesi klinikte tedavi planı çizilirken göz önünde bulundurulmasında etkili olacaktır.



AML HÜCRE HATLARINDA STAT3'ÜN DOX VE IFNγ VARLIĞINDAKİ HÜCRE PROLİFERASYONUNA OLAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

BATUHAN YAĞCIOĞLU [1,2], DİDEM ÇAKIRSOY AKYÖNEY [1,2,4], DİDEM ÖZKAZANÇ ÜNSAL [6], BARBAROS ORAL [1,2,3] TOLGA SÜTLÜ [5,6], GÜNEŞ ESENDAĞLI [7], DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ [1,2,3,6,7]
[1] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA
[2]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA
[3]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA
[4] KAROLINSKA INSTITUTET, MEDICINE, CENTER FOR HEMATOLOGY AND REGENERATIVE MEDICINE (HERM). HUDDINGE, İSVEÇ
[5]ACIBADEM ÜNİVERSİTESİ, MÜHENDİSLİK VE DOĞA BİLİMLERİ FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL
[6] SABANCI ÜNİVERSİTESİ MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE BİYOMÜHENDİSLİK, İSTANBUL
[7] HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA

Amaç: Akut miyeloid lösemi (AML) kan ve kemik iliği kanseridir. Yetişkinlerde en sık görülen lösemidir, vakaların %80ini oluşturur. Sinyal dönüştürücü transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3), bir transkripsiyon faktörüdür, onkogen olarak kabul edilmektedir ve kanserlerin %70'inde anormal regülasyonu rapor edilmiştir. Tümör mikroçevredeki immün hücreler için önemli bir sinyal ağıdır. STAT3ün hedeflenmesinin, tümör hücre proliferasyonunun azaltılması başta olmak üzere birçok fayda sağlamaktadır. Çalışmamızda, STAT3 aktif (STAT3C), inhibe (sh), double negatif (STAT3DN), deney gruplarının, IFNγ ve doksorubisin (DOX) kemoterapi ajanı varlığında THP-1 tümör hücre hattının proliferasyonu üzerindeki rolü açıklanmıştır. Bu etkinin doğrulaması U937 ve HL-60 hücre hatlarında da gösterilmiştir.

Materyal ve Metot: THP-1 hücrelerinde STAT3 modifikasyonu, 3. nesil lentiviral yolla gen aktarımı yapılarak; inhibitör shRNA (shSTAT3), transkripsiyonel aktiviteyi engelleyen STAT3 (STAT3DN), devamlı aktif STAT3 (STAT3C) grupları oluşturuldu. Modifikasyon başarısı GFP ile akım sitometrisiyle kontrol edildi ve boş GFP vektör grubuyla kıyaslanarak optimize edildi. Bu grupların h-rhIFNγ, stattic (STAT3 inhibitörü) veya DOX varlığında 48. saat proliferasyonları MTT deneyi kurularak spektrofotometre ile ölçülmüştür. THP-1 hücre hattı üzerindeki bu etkilerin doğrulanması amacıyla U937 ve HL-60 üzerinde karşılaştırma MTT yöntemi ile yapılıştır.

Bulgular: Sonuçlarmızda IFNγ ve DOX kullanımı hücre proliferasyonunu etkilediği, DOX ve IFNγ varlığında STAT3 aktivasyonu stattic ile desteklendiğinde THP-1, U937 ve HL-60 gruplarında proliferasyonu azalttığı görülmüştür. Stattic uygulanmayan koşullarda grupta DOX ve IFNγ THP-1 hücre proliferasyonunu azaltmıştır. STAT3C grubunda DOX eklenmesi stattic molekülüne daha açık hale getirmektedir yani AML'de STAT3'ü daha kolay hedeflenebilir hale getirmektedir. Bu düşünceyi destekleyen sonuçlara göre deney grupları arasında en çok prolifersayonu azalan grup static-DOX kombinasyon varıldığında STAT3C deney grubudur. STAT3'ün sürekli aktif olması (STAT3C) THP-1 üzerinde hücre proliferasyonunu azaltmıştır.

Sonuç: Diğer kanser türlerindekinin aksine STAT3 over ekspresyonu AML hastalarındaSTAT3 üzerinden hedeflemenin daha umut vericeği düşünülmüştür bunun içinde hem STAT3 inhibe etmek hem kemoterapi kombinasyonu kullanabilir

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışmada, Diğdem YÖYEN ERMİŞ ''Moleküler Biyoloji Derneği Kısa Süreli Değişim Programı'' kapsamında desteklenmiştir.



İYİLEŞMİŞ PEDİYATRİK HASTALARDA SARS-COV-2 SPİKE VE NÜKLEOKAPSİD'E ÖZGÜ T HÜCRE CEVABININ İNCELENMESİ

ZEYNEP ECE YILDIZ [1], FATMA ÖYKÜ ELASLAN [1], MUHAMMED YÜKSEL [2], ÇİĞDEM ARIKAN [2], DİLEK GÜLLER [3], NEVİN HATİPOĞLU [4], AYÇA SAYI YAZGAN [1]

[1] İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ GENETİK VE BİYOTEKNOLOJİ BÖLÜMÜ, İSTANBUL
[2] KOÇ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, ÇOCUK GASTROENTEROLOJİ VE HEPATOLOJİ, ORGAN TRANSPLANTASYON MERKEZİ, KOÇ ÜNİVERSİTESİ TRANSLASYONEL TIP ARAŞTIRMA MERKEZİ (KUTTAM) İSTANBUL
[3] DEMİROĞLU BİLİM ÜNİVERSİTESİ, FLORENCE NIGHTINGALE HASTANESİ, PEDİYATRİ BÖLÜMÜ, PEDİATRİK GASTROENTROLOJİ, İSTANBUL
[4] SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, ÇOCUK ENFEKSİYON HASTALIKLARI, BAKIRKÖY DR. SADİ KONUK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ, İSTANBUL

Amaç: 2019 yılında ortaya çıkan yeni tip koronavirüs SARS-CoV-2, tüm dünyayı etkisi altına alarak COVID-19 pandemisine neden oldu. İlk raporlar, çocukların COVID-19'a karşı gösterdiği bağışıklık yanıtının yetişkinlerden farklı olduğunu gösterdi. Çalışmamızda, COVID-19 geçirip iyileşmiş çocuk hastalarda 9. aya kadar SARS-CoV-2 nükleokapsid ve spike'a özgü T hücre yanıtını incelemeyi amaçladık.

Materyal ve Metot: COVID-19 geçirdiği PZR ile doğrulanmış pediyatrik hastalardan, hastalığı geçirdikten 1, 3, 6 ve 9. ay zaman aralıklarında kan alınarak Periferik Kan Mononükleer hücreleri (PBMC) izole edildi ve dondurulduu. COVID-19 geçirmemiş çocuklar sağlıklı kontrol olarak kullanıldı. Hücreler SARS-CoV-2 spike ve nükleokapsid peptit havuzu ile 24 saat uyarıldı. Hücreler canlılık ve ilgili yüzey ve çekirdek içi belirteçler ile boyandıktan sonra, akan hücre ölçer kullanılarak analiz edildi ve SARS-CoV-2'ye özgü T hücre cevabı incelendi.

Bulgular: SARS-CoV-2 nükleokapsid ve spike ile uyarım sonrası 1. ay örneklerinde sağlıklı kontrollere oranla lenfosit oranının azaldığını gözlemledik. CD127-CD25+ regülatör T hücreleri uyarım sonrası tüm zaman gruplarında benzer seviyedeydi. Hafif geçiren hastalarda spike'a özgü CD8+ T hücre aktivasyonu 6. aya kadar gözlemlendi. Spike'a özgü CD4+ hafıza T hücre aktivasyonunun 9.ayda azaldığı görülmüştür.

Sonuç: Bu veriler, hastalığı hafif ile orta-ağır geçiren çocukların uyarım sonrası T hücre yanıtında farklılıklar olduğunu göstermektedir. Çocukların bağışıklık sisteminde görülen bu farklılıkların daha iyi anlaşılması için COVID-19 sonrası antikor yanıtlarıyla ilişkileri, iyileşmiş çocuklarda sitokin yanıtlarının incelenmesi gibi ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma TÜBİTAK-1001 tarafından 120S804 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.



ZUOTİN İLE İLİŞKİLİ FAKTÖR-1 PROTEİNİN MEME KANSERİ METASTAZINDAKİ ROLÜNÜN TÜMÖR MİKROÇEVRESİ AÇISINDAN İNCELENMESİ

AYŞEGÜL KAYMAK-ÖZDEMİR[1], MAHİNUR BAŞCI[1]

[1]EGE ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI, İZMİR

Amaç: ZRF1, kök hücrede ve kanserde gen transkripsiyonun epigenetik olarak düzenlenmesinde kritik rol oynayan kromatin ile ilişkili bir proteindir. ZRF1'nın yokluğunda meme kanseri hücrelerinin metastatik potansiyeli artmakta ve tedaviye direnç kazanmaktadır. Bu çalışmanın amacı ZRF1'nın meme kanseri metastazındaki rolünün tümör mikroçevresini (TME) oluşturan immün hücreler açısından incelenmesidir.

Materyal ve Metot: Lentiviral transdüksiyon ile susturulan MCF-7 meme kanseri hücrelerinden 3D sferoidler elde edilmiş ve bu sferoidlerde RNA sekanslama yapılmıştır. ZRF1'nın susturulmasını takiben ekspresyonları artan genlerin zenginleştirilmiş Gen Ontolojisi'ne (GO) göre dağılım gösterdikleri biyolojik süreçler tanımlanmış, ekspresyonları en çok artan genler tespit edilmiş ve bu genlerin mRNA düzeyleri qRT-PCR ile teyit edilmiştir. Hedef genlerin sekrete proteinleri ELISA ile tespit edilmiştir. TIMER programı ile luminal tipteki meme kanserinde farklı immün hücre alt tiplerinin tümöre infiltrasyon seviyeleri incelenmiştir.

Bulgular: ZRF1'nın susturulmasını takiben ekspresyonları en çok artan genler doğal immün yanıt, inflamatuvar yanıt, sitokin üretimi ve salınımı gibi biyolojik süreçlerde zenginleşmiş olarak bulunmuştur. Kontrole kıyasla farklı oranda eksprese edilen genler arasında, S100A8 ve S100A9 genleri ön plana çıkmıştır. TIMER programına göre S100A8 ve S100A9'un gen ekspresyonları ile tümöre infiltre nötrofil miktarı arasındaki korelasyon dikkat çekmiştir.

Sonuç: TME'de bulunan tümör ilişkili nötrofiller (TAN) metastatik kaskaddaki rolleri ile son yıllarda önem kazanmış hücreler olup, tümör hücrelerinin kendileri tarafından üretilen ve ekstraselüler ortama salınan kemokinlerin de yardımıyla TME'ye çağrılmaktadırlar. Elde ettiğimiz ön veriler ZRF1'nın yokluğunda DAMP grubuna dahil S100A8 ve S100A9'un primer meme tümöründe arttığını ve bu proteinlerin TAN'lar için birer kemoattraktant rolü üstlenebileceğini göstermektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu bildirideki veriler Boehringer Ingelheim Foundation tarafından desteklenen Institute of Molecular Biology (IMB) projesi ile TÜBİTAK 3501 Kariyer Geliştirme Programı tarafından desteklenen 221Z294 nolu projeden elde edilmiştir.



NAİF VE HAFIZA T LENFOSİT YANITLARINDA İKİNCİL SİNYAL BAĞIMLILIĞININ FONKSİYONEL AÇIDAN KARŞILAŞTIRILMASI

SILA ULUTÜRK[1], GÜNEŞ ESENDAĞLI[1]

[1]*HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI*

Amaç: Naif (Tn), merkezi hafıza (Tcm) ve efektör hafıza (Tem) yardımcı CD4+ T (Th) lenfositler farklı güçte ve bileşimde ulaşan ikincil sinyallere hassasiyet gösterir. Bu kapsamda farklı matürasyon düzeyindeki miyeloid hücreler kullanılarak T hücre popülasyonlarının aktivasyon kinetiklerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

Gereç ve yöntem: Sağlıklı donör periferik kan mononükleer hücrelerinden (PKMH) MACS ile CD4+ T lenfositler izole edildi ve FACS ile CD45RO ve CCR7 düzeyine göre Tn, Tcm ve Tem hücre alt gruplarına ayrıldı. İkincil sinyal uyarımı için 5 farklı miyeloid hücre hattı, primer monosit, immatür dendritik hücre (DC) ve matür DC ile farklı oranlarda ve sürelerde ko-kültürler anti-CD3 mAb varlığında gerçekleştirildi. Kontrol olarak anti-CD3/28 boncukları kullanıldı. Monositler PKMH'den CD14+ MACS seleksiyonu ile; dendritik hücreler de izole edilen monositlerin in vitro uyarım ile elde edildi. T hücre çoğalması ve aktivasyon belirteçlerinin düzeyi akım sitometri ile araştırıldı.

Bulgular: Hafıza T hücrelerinin erken aktivasyon sürecine daha yavaş girdiği ancak bu aktivasyon basamağından daha hızlı çıktığı gözlenmiştir. Ko-stimülasyon reseptörlerini farklı düzeylerde ifade eden Tem hücre grubunun diğer T hücrelere göre daha yavaş çoğaldığı; özellikle CD3/28 boncukları ile yapılan çoğalma deneylerinde gözlenmiştir. Bu hücre grubunun ayrıca CD28, CD27 ve CD25 ekspresyon düzeylerine göre kişiler arasında farklılık gösterdiği doğrulanmıştır.

Sonuç: Miyeloid hücreler tarafından sağlanan farklı güçte ve kombinasyondaki ko-stimülasyonun Th hücrelerin hafıza yanıtlarını düzenleme kapasitesi olduğu görülmüştür. Naif hücrelerin düşük ikincil sinyallere erken ancak uzamış bir süreçte yanıt vermesi bir immün düzenlenme mekanizması olarak düşünülebilir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı



MEVALONAT KİNAZ EKSİKLİĞİ OLAN HASTALARDA DOĞAL LENFOİD HÜCRE VE T HÜCRE ALT TİPLERİNDE MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER

BÜŞRA ŞENİZ DEMİR [1], MOHAMMAD HOURAN [1], SÜMEYRA ÖZDEMİR [2], FATİH KARDAŞ [3], MİRAY KIŞLA EKİNCİ [4], BETÜL SÖZERİ [2], HATİCE GÜNEŞ [3], AYŞENUR PAÇ KISAARSLAN [2], AHMET EKEN [1]

[1] *ERCİYES ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI / ERCİYES ÜNİVERSİTESİ, GENKÖK GENOM VE KÖK HÜCRE MERKEZİ, KAYSERİ*
[2] *ERCİYES ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, PEDİYATRİK ROMATOLOJİ ANABİLİM DALI, KAYSERİ*
[3] *ERCİYES ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, PEDİYATRİK METABOLİZMA ANABİLİM DALI, KAYSERİ*
[4] *ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, PEDİYATRİK ROMATOLOJİ ANABİLİM DALI, ADANA*

Giriş: Hiperimmünoglobulin D sendromu (HIDS) olarak bilinen Mevalonat Kinaz Eksikliği (MKD); MVK genindeki fonksiyon kaybı mutasyonları sonucunda gelişen otoinflamatuvar bir hastalıktır. MKD hastalarının hücreleri; IL-1β, IL-6, ve TNFα, ve çeşitli immünoglobulinleri artan miktarlarda üretmektedir. CD4+ T hücreleri ve yardımcı Doğal Lenfoid Hücreler (ILC'ler) fonksiyonel ve moleküler açıdan benzeşen hücreler olup, her iki hücre grubunun MKD hastalarında fenotipik karakterizasyonları bugüne değin yapılmamıştır.

Metot: Periferik kan mononükleer hücreler (PBMC), remisyon (n=12), atak (n=5) dönemi MKD hastalarından, statin kullanan hastalardan (n=9) ve sağlıklı kontrollerden (n=12) Ficoll-paque kullanarak izole edildi. Hücreler, flow sitometrik boyama ve analizlerle Th1, Th2, Th17 ve Treg alt soyları, ILC alt tipleri ve ilişkili sitokin üretimleri bakımından karakterize edilmiştir.

Bulgular: MKD eksikliğine sahip ve statin kullanan hastalar, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında Treg hücre frekansları atak hastalarında artış gösterirken Th2 hücreleri hem atak hastalarında hem remisyondaki hastalarda azalmıştır. Th1 ve Th17 hücrelerin frekansları gruplar arasında benzerdir. CD4+ ve CD4- T hücreleri, atak hastalarında CTLA-4'ü yüksek miktarda ifade etmektedir. Kültür ortamında uyarılan T hücreleri ise kontrollerle karşılaştırıldığında atak hastalarında CD3/28 aktivasyonuna düşük yanıt vermiş, CD69, CD25 markırlarını düşük ifade etmiş ve zayıf proliferasyon göstermiştir. CD127+ total ILC veya ILC alttiplerinin frekans ve mutlak sayılarında gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Sonuç: Genetik MVK eksikliği veya MVK yolağının statinlerle blokajı ILC'ler üzerine majör bir etki göstermemektedir. Ancak Treg ve Th2 yardımcı T hücre alt soyları MVK eksikliğinden önemli derecede etkilemiştir. Ayrıca in vitro kültür ortamında T hücre aktivasyonu ve proliferasyonu MVK eksikliğinden önemli düzeyde negatif etkilenmektedir. Bu sonuçlar HIDS hastalarının immün bozukluklarının daha iyi anlaşılmasına katkı sunmaktadır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu proje, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi kapsamında üretilmiş, TYL-2022-12119 kodlu ERÜ BAP projesiyle desteklenmiştir.



BETA-2-MİCROGLOBULİN (β2M): A PROGNOSTİC MARKER FOR İMMUNE RESPONSİVENESS İN ACUTE MYELOİD LEUKEMİA

MUBAİDA PARVEEN [1], GÜNEŞ ESENDAGLI [1], BEREN KARAOSMANOĞLU [2], EKİM Z. TASKİRAN [2]

[1] *HACETTEPE UNİVERSİTY, CANCER INSTİTUTE, DEPARTMENT OF BASİC ONCOLOGY, ANKARA*
[2] *HACETTEPE UNİVERSİTY, FACULTY OF MEDİCİNE, DEPARTMENT OF MEDİCAL GENETİCS, ANKARA*

Aim: To investigate the potential of Beta-2-microglobulin (β2M) as a marker for immune responsiveness in Acute Myeloid Leukemia (AML), providing insights into its prognostic value.

Methods: Myeloid leukemia cell lines (THP-1, U937, HL-60) were cocultured with peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) under anti-CD3 stimulation to simulate immune reactions. β2M expression was assessed before and after immune reactions using RNA sequencing, bioinformatic analysis, and immunofluorescence staining. Additionally, β2M, PD-L1, CD14, and HLA-DR expression were studied through flow cytometry under different stimulatory conditions. Clinical relevance was explored using data from AML patients in The Cancer Genome Atlas (TCGA) databases, and survival analysis was performed by categorizing them based on β2M expression and treatment status.

Results: Ex-vivo analysis revealed increased β2M expression in AML cells surviving immune reactions, indicating its role in ongoing immune responses. Upregulation of interferon-γ related genes was observed post-immune reaction. TCGA analysis showed elevated β2M expression was associated with improved overall survival in AML patients, particularly in the good prognosis group, regardless of treatment received. Further, immunofluorescence staining confirmed an enhanced β2M expression near the nuclear membrane post-immune reaction.

Conclusion: β2M expression levels may offer valuable information about the immune status and disease progression of AML patients. Its association with improved survival suggests a role in immune-mediated control of leukemia cells. These findings highlight the clinical relevance of β2M and its potential as a prognostic indicator in AML, offering insights for personalized treatment strategies. Further investigations are required to understand the underlying mechanisms linking β2M to AML pathogenesis and immune evasion.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): This study was supported by Scientific and Technological Research Council of Türkiye (TÜBİTAK) Grant 1002 (Project no.120S909).



İNTERLÖKİN-10 ÜRETEN B LENFOMA HÜCRELERİNİN T LENFOSİT YANITLARINA ETKİSİ

TUĞÇE TEMEL [1], SÜLEYMAN CAN ÖZTÜRK [2], ECE TAVUKÇUĞLU [1], GÜNEŞ ESENDAĞLI [1,2]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[2] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ, ANKARA*

Amaç: B lenfositlerin gelişimi ve farklılaşmasında IL-10 önemli bir sitokindir. Ayrıca, düzenleyici B (Breg) hücreler de yüksek düzeyde IL-10 salımı yaparak anti-inflamatuvar etki gösterir. Bu çalışmada IL-10 üreten Burkitt Lenfoma hücre hattı BJAB ile bir araya getirilen yardımcı T lenfositlerin aktivasyon durumunun izlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Sağlıklı kişilerden toplanan periferik kandan PBMC izolasyonu yapıldı. Ardından MACS ile CD3 ve CD20 hücreleri ayrıştırıldı. Sonrasında BJAB ve T hücreler bir araya getirilerek CD3/CD28 uyarımı altında ko-kültürler gerçekleştirildi. 0-12-24 ve 48.ci saatlerde CD154, CD69, PD-L1, CD86, CD80, CD25, CD11b, CTLA-4, LAG3, TIM-3 ve PD-1 ifadeleri akım sitometri ile analiz edildi. Bunun yanı sıra farklı oranlarda elde edilen süspanse ve aderan BJAB lenfoma fraksiyonları CFSE boyaması yapılmış PBMC ile anti-CD3/CD28 veya anti-CD3 varlığında çoğalma analizi için 72 saat ko-kültür edildi. Akım sitometri ile analizler yapıldı.

Bulgular: BJAB hücrelerinin artan oranlarında T hücre proliferasyonu baskılandı. BJAB hücrelerinde CD86 ifadesi yüksek olmasına rağmen T hücrelerine ko-sitmülasyon vermede başarısız olduğu gözlemlendi. BJAB hücresinin süspanse ve aderan olmak üzere iki ayrı fraksiyon verdiği gözlemlenmiştir. Aderan kısım kök hücre özellikleri açısından değerlendirilmiş fakat anlamlı bulunmamıştır. CD11c ve CD11b pozitifliğindeki artışlar aderan hücrelerin ilerleyen matürasyon düzeyi ile ilişkili olabileceği düşündürmektedir. Aderan fraksiyonun süspanseye göre daha baskılayıcı olabileceğine yönelik bulgularımız mevcuttur.

Sonuç: IL-10 üreten BJAB hücre hattı, T lenfosit ve B lenfoma hücrelerinin etkileşimini araştırmak için prototip olarak kullanılabilir. Lenfoma hücrelerinin immün düzenleyici etkisi ve B hücre matürasyonu ile ilişkili ek gözlemlerin yapılması planlanmaktadır.



MİKROGLİA/MAKROFAJ-T HÜCRE ETKİLEŞİMİNİN MEME KANSERİ BEYİN METASTAZI SÜRECİNDEKİ ROLÜ

ELİF ÖZALP [1,2], ONUR ETGÜ [1,2], HİLAL VARDAR [1,2], TUBA ZORCİ [1,2], H. BARBAROS ORAL [1,2,3], DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ [1,2,3]

[1] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[2] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA*
[3] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İMMUNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*

Giriş: Kötü prognozla ilişkilendirilen meme kanseri beyin metastazı (MKBM) tüm metastatik meme kanseri vakalarının %10-30 unu oluşturur. Metastatik odakta bulunan immün hücreler tümör prognozu ve anti tümör immün yanıtın şekillenmesinde önemlidir. Beyindeki bağışıklık sisteminin önemli bir popülasyonunu oluşturan mikroglia hücreleri, fagositik yapılarıyla anti-tümör özellik gösterebildiği gibi tümör hücreleri tarafından salgılanan faktörlerin etkisiyle tümörün korunmasını sağlayan immünosupresif bir fenotipe de polarize olabilir. Bulundukları mikroçevreden gelen sinyaller ile farklı ko-stimülasyon molekül düzeyine sahip mikroglia/makrofaj hücreleri T hücre yanıtlarının şekillenmesinde rol alır. Mikroglia-T hücre etkileşiminin tümör prognozundaki rolleri ile ilgili literatür bilgisi sınırlı olup, bu etkileşimin anlaşılması meme kanseri beyin metastazı olguları için farklı immünoterapik stratejilerinin oluşmasına imkan sağlayacaktır.

Yöntem: Yaptığımız çalışmada N9 (CD1 kökenli) mikroglia hücre hattı ve Raw 264.7 (BALB/c kökenli) monosit türevli makrofaj hücre hattı kullanılmıştır. T hücre yanıtlarını değerlendirmek için CD1 ve BALB/c fare ırklarının dalaklarından primer splenosit hücreleri izole edilmiştir. Meme kanseri prognozunu değerlendirmek için EMT6 ve 4T1 triple-negatif meme kanseri (ÜNMK) hücrelerinden salgılanan faktörler kullanılmıştır. Mikroglia-T hücre ile birlikte ÜNMK condition mediumlarının ko-kültürleri 2 gün sürdürülerek 24. ve 48. saatlerdeki miyeloid hücrelerin CD80, CD86, PDL- 1 ve PDL-2 yüzde ekspresyon düzeyleri ve ortalama florasan yoğunlukları (MFI) akım sitometri ile değerlendirilmiştir. Hücrelerin kaşılıklı seçilime uğraması nedeniyle PI ve 7AAD negatif hücre grupları seçilerek canlı hücrelerin ekspresyonlarına bakılmıştır. Hücrelerin ko-kültürü sonrasında proliferasyon ve canlılık analizi için MTT methodu kullanılmıştır. Aynı zamanda mikroglia/makrofaj hücrelerince salgılanan faktörlerin kanser hücreleri üzerindeki migrasyon kabiliyeti scratch assay yöntemiyle değerlendirilmiştir.

Sonuç-Tartışma: ÜNMK hücre hatlarından 4T1 ve EMT6'dan salgılanan faktörlerle farklılaşan N9 ve Raw 264.7 hücre hatlarının T hücre etkileşimi sonucunda T hücre aktivasyon ve inhibisyon mekanizmaları her iki hücre hattı ve kanser için farklılık göstermektedir. N9 hücresinin göre yara kapatma düzeyi daha yüksek iken, Raw 264.7 hücresinin migrasyoan etkisi daha stabil olduğu görüldü. 4T1' e kıyasla EMT6 kanser hücrelerinin salgıladığı faktörlerin N9 hücrelerinin proliferasyonuna pozitif bir etkisinin olduğu belirlendi.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma BUÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi/ Lisans Üstü Tez Preojesi (LTP) proje no: 1481 kapsamında desteklenmiştir.



KUTANÖZ LEİSHMANİASİS'E KARŞI L. MAJOR KÖKENLİ HÜCRE DIŞI KESECİK KAYNAKLI BAĞIŞIKLAMA

İBRAHİM TOKMAK [3], İSMAİL CEM YILMAZ [1], MUZAFFER YILDIRIM [1], BEKİR SALİH [2], ÜLKÜ GÜLER [2], İHSAN GÜRSEL [1], MAYDA GÜRSEL [1]

[1] İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR
[2] HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ, FEN FAKÜLTESİ, KİMYA BÖLÜMÜ, ANKARA
[3] İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR, TÜRKİYE / DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, İZMİR ULUSLARARASI BİYOTIP VE GENOM ENSTİTÜSÜ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İZMİR

Amaç: Leishmaniasis, Leishmania protozoan parazitlerinin birden fazla türünün neden olduğu vektör kaynaklı bir hastalık grubudur. Enfekte eden türe ve konak tepkisinin doğasına bağlı olarak hastalık kutanöz, mukokutanöz veya visseral leishmaniasis olarak ortaya çıkar. İhmal edilen bir tropikal hastalık olarak leishmaniasis, yayılımının sınırlandırılması için yeni hastalık önleyici tedbirlerin geliştirilmesini gerektiren ciddi bir küresel sağlık sorunudur. Bu çalışmamızda, BALB/c farelerde L. major kökenli hücre dışı keseciklerin immünojenik aktivitesini değerlendirmeyi hedefledik.

Materyal ve Metot: Aksenik kültür ortamında geç log faz aşamasına erişinceye kadar büyütülmüş metasiklik-promastigotlardan salgılanan L. major kökenli hücre dışı kesecikler GMP-uyarlanabilir koşullar altında saflaştırıldı. Elde edilen hücre dışı keseciklerin proteomik ve mikroskopi yöntemleri ile yapılan biyokimyasal ve fiziksel karakterizasyonlarını takiben, farklı dozlarda hücre dışı kesecikler çeşitli aşı adjuvanları ile birleştirildi ve 6-8 haftalık naif dişi BALB/c farelere uygulandı. ELISA yöntemiyle çözünür Leishmania-antijen (SLA) spesifik IgG antikor üretimi ölçülerek sıvısal bağışıklık düzeyleri belirlendi.

Bulgular ve Sonuç: Çözünür Leishmania-antijen (SLA) spesifik antikor titreleri, plaseboya kıyasla L. major kökenli hücre dışı kesecikler ile aşılanmış gruplarda yükselmiştir. Verilerimiz, L. major kökenli hücre dışı keseciklerin parazite özgü immünojenik antijenleri barındırdığını göstererek ihmal edilen paraziter hastalıklara karşı aday aşılar olarak parazit kökenli keseciklerden yararlanmanın fizibilitesini göstermiştir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından 115S073 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.



BAKTERİYAL ENFEKSİYON VE İMMÜN HASTALIKLARLA ASSOSİYE NOD2'NİN VİRAL BAĞIŞIKLIKTAKİ ROLLERİNİN İNSAN EOZİNOFİL HÜCRELERİNDE İN VİTRO YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

EDANUR BARUTÇU[1], YAĞMUR ÖZÇELEBİ[1], ZÜLAL ÇELİK[1], ELİF YAPRAK SARAÇ[1], CEREN ÇIRACI[1]

[1]İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL

Amaç: Eozinofiller doğal bağışıklık sisteminin granüllü hücreleridir. Parazitik enfeksiyonlar, astım ve alerjik hastalıklarla ilişkilendirilseler de bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda da rol aldıkları bilinmektedir. Son çalışmalar, eozinofillerin viral enfeksiyonlarda da rolleri olduğunu önermektedir. Patern tanıma reseptörleri (PRR) aracılığıyla, patojenle ilişkili moleküler paternleri (PAMP) tanıyan eozinofiller, granüler protein ve sitokinlerini salgılayarak bağışıklık yanıtı oluştururlar. Bu PRRlerden biri de sitozolde bulunan NOD2'dir. NOD2'nin makrofajlar ve dendritik hücrelerde anti-bakteriyel immün yanıtların oluşturulmasında görev aldığı bilinmektedir ancak viral enfeksiyonlar sırasında eozinofillerde NOD2nin rolü hala belirsizdir. Bir başka sitozolik reseptör olan RIG-I'in da anti-viral yanıtların üretilmesinde önemli olduğu bilinmektedir, ancak bu reseptörlerin de eozinofillerdeki fonksiyonları henüz bilinmemektedir. Bu tür sitozolik reseptörler genellikle multimerik protein kompleksleri halinde aktive olur ve immün yanıtların büyüklüğünü ve süresini etkiler. Bu bağlamda NOD2 ile RIG-I arasında bir ilişki olabilir. Bu çalışmada amaç viral enfeksiyonlar sırasında insan eozinofil hücrelerinde NOD2 ve RIG-Iin rolünü anlamaktır.

Materyal ve Metot: Eozinofil hücrelerinin viral stimülantlar ile uyarılması sonucu oluşturdukları yanıtları incelemek amacıyla, EoL-1 insan eozinofilik hücre hattının R848 ve ssRNA40 ile stimülasyonu sonrası NOD2 ve RIG-I ekspresyonları incelendi.

Bulgular: R848 ve ssRNA40 ile stimüle edilen EoL-1 hücrelerinde NOD2 ve RIG-I ekspresyon seviyelerinde anlamlı değişimler gözlenmiştir.

Sonuç: Esasen bakteriyel enfeksiyonlarla ilişkilendirilen NOD2, insan eozinofil hücrelerinde viral enfeksiyon sırasında da rolleri olabilir. Bununla birlikte, RIG-I ekspresyonu da bu hücrelerde viral enfeksiyon sonucu değişim göstermektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu proje İTÜ-BAP-44121 nolu proje tarafından desteklenmiştir.



FARKLI MATÜRASYON DÜZEYLERİNDE İNDÜKLENEN HL-60 HÜCRELERİNİN MİYELOİD KÖKENLİ BASKILAYICI HÜCRE (MKBH)-BENZERİ OLARAK İN VİTRO KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ [1,2,3,4], FATMA DOMBAZ ÖZBEY [2], BATUHAN YAĞCIOĞLU [2,3], PINAR KARAŞAR [5], ARZU YILMAZTEPE ORAL[4,3], HALUK BARBAROS ORAL [1,2,3], GÜNEŞ ESENDAĞLI [5]

[1] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[2] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA*
[3]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[4]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI, BURSA*
[5]*HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*

Amaç: HL-60 hücre hattı, akut miyeloid lösemi hücre hattı olmakla beraber farklı miyeloid matürasyon düzeyindeki çalışmalarda model olarak kullanılmaktadır. Bu hücrelerin bazı faktörlerle granülosit ve/veya monosit/makrofaj benzeri hücrelere farklılaştığı bilinmektedir. Miyeloid kökenli baskılayıcı hücreler(MKBH) kronik inflamasyon sonucunda farklı matürasyon düzeylerinde kemik iliğinden çıkarak periferik dolaşıma katılan,immun regülasyon yapabilen miyeloid hücre topluluğudur.Bu hücreler birçok patolojide kilit role sahip olmakla birlikte mekanistik çalışmalarda kullanılabilecek bir hücre hattı yoktur!Bu çalışmada all-trans retionik asit (ATRA), 1a,25-dihidroksivitaminD3(D3) ve MDA-MB-231 hücrelerinden salgılanan faktörlerin HL-60 hücrelerinde MKBH-benzeri dönüşüme olan etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Method: MKBH-benzeri hücreleri belirleyebilmek için HL-60 hücreleri ATRA ve D3 ile 24,48 ve 96saat uyarıldı ayrıca farklılaşması uyarılmış bu hücreler 48saat LPS veya IFN-g ile uyarıldı.HL-60 hücreleri MDA-MB-231 hücreleri ile 72saat ve 8gün ko-kültür edildi.Tüm koşulların inkübasyon süresi sonunda HL-60 hücrelerinin Giemsa boyaması ile morfolojisi, akım sitometri ile CD11b,CD11c,CD14,CD15,CD16,CD33,CD40,CD62L,CD66b,CD70,CD114, TRAİL,TLR4,HLA-DR ve LOX-1 yüzey belirteçleri değerlendirildi. Ayrıca ATRA ve D3 ile uyarılan HL-60 hücrelerinin T hücre proliferasyonuna etkisi ile ROS (Reaktif oksijen türleri) ve NO (nitrik oksit) üretim kapasitleri araştırıldı. MKBH ilişkili NOX2,MPO,COX2,IDO1,NOS2,ARG1,ARG2 genlerinin ekspresyonu RT-PCR ile değerlendirildi.HL-60 ko-kültür edilen MDA-MB-231 hücrelerinin metastatik karakteri(scratch assay) incelendi.

Bulgular ve Sonuç: HL-60 hücrelerinin morfolojisinin ATRA ve D3 ile olgun hücre morfolojisine kaydığı görüldü.HL-60 ile ko-kültür edilen MDA-MB-231 hücrelerinin metastatik özelliğinin arttığı görüldü.ATRA ve D3 ile uyarılan hücrelerde NO üretimi ve NOS2 mRNA düzeyinde bir farklılık görülmedi.Ancak ATRA ile uyarılan hücrelerde ROS üretimi,NOX2 ve MPO mRNA ekspresyon düzeyi artmaktaydı.Tüm koşullarda CD11b pozitifliği kontrole göre artarken;CD14 pozitifliği özellikle D3 ile uyarılan hücrelerde artış gösterdi.MDA-MB-231 ile ko-kültürlenen HL-60'larda CD11b'yi yüksek ifade eden hücrelerde CD114 ve LOX-1 ekspresyonun arttığı görüldü.Özellikle 8.gün ko-kültür sonrası bakılan LOX-1 ekspresyonunun daha da artışı dikkat çekti.Tüm bu bilgiler ışığında ATRA ile uyarılan HL-60 hücrelerinde ROS ve granülositik-MKBH farklılaşmasını uyaran genlerdeki eskpresyonun artmış olması,MDA-MB-231 ile ko-kültürlenen HL-60 hücrelerinin CD114 ve özellikle LOX-1 yüzey belirtecindeki ekpresyonların artışı MKBH benzeri bir alt populasyonun olabileceğini göstermektedir.Yapılacak ileri çalışmalar ile bu iki grubun farklılık ve benzerlikleri incelenecektir.



COVID-19 GEÇİRİP İYİLEŞMİŞ PEDİYATRİK HASTALARDA SARS-COV-2 SPİKE SPESİFİK IGG VE IGG ALT TİPLERİNİN MULTİPLEKS AKAN HÜCRE ÖLÇER BONCUK YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

FATMA ÖYKÜ ELASLAN [1], ZEYNEP ECE YILDIZ [1], MEHMET KARAÇAY [1], MENŞURA FERAY COŞAR [1], MUHAMMED YÜKSEL [2], ÇİĞDEM ARIKAN [2], DİLEK GÜLLER [3], NEVİN HATİPOĞLU [4], AYÇA SAYI YAZGAN [1]

[1] İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ FEN EDEBİYAT FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, 34469, MASLAK, İSTANBUL
[2] KOÇ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, PEDİYATRİK GASTROENTROLOJİ VE HEPATOLOJİ, KOÇ ÜNİVERSİTESİ TRANSLASYONEL TIP UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ (KUTTAM), İSTANBUL
[3] DEMİROĞLU BİLİM ÜNİVERSİTESİ, FLORENCE NİGHTİNGALE HASTANESİ, PEDİATRİK GASTROENTEROLOJİ, İSTANBUL
[4] BAKIRKÖY DR. SADİ KONUK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ ÇOCUK ENFEKSİYON HASTALIKLARI, İSTANBUL

Amaç: COVID-19 hastalığı farklı yaş gruplarında oldukça farklı sonuçlara sebep olmaktadır. Çocuklar, yetişkinlere kıyasla hastalığı çoğu zaman hafif olarak neredeyse belirti göstermeden atlatmaktadır ve bu sebeple çocukların SARS-CoV-2'ye karşı olusturduğu immün yanıtların zamanla nasıl değiştiğini anlamak önem arz etmektedir. Bu çalışmada, COVID-19 geçirip iyileşmiş pediyatrik hastaların SARS-CoV-2 spike spesifik IgG ve IgG alt tipleri (IgG1/2/3/4) yanıtlarının iyileştiklerinden sonraki farklı zamanlarda (1., 3., ve 6., ayda) multipleks akan hücre ölçer boncuk deneyi ile incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: 18 ay-18 yaş arasındaki iyileşen pediatrik hastalar, son pozitif PCR testlerinin üzerinden 25 gün geçtikten sonra kan örneklerinden plazma toplandı ve SARS-CoV-2ye özgü IgG, IgG1/2/3/4 yanıtları laboratuvarımızda multipleks olarak optimize edilen akan hücre ölçer boncuk deneyi ile tespit edildi. Sonuçlar GraphPad Prism 8 kullanılarak analiz edildi.

Bulgular: Birincil bulgularımız, SARS-CoV-2 spike spesifik total IgG yanıtının 6. Aydan itibaren anlamlı olarak düştüğünü göstermektedir. Pediyatrik hastaların çoğunluğunda IgG1 ve IgG3 yanıtları IgG2 ve IgG4'e kıyasla daha yüksek gözlemlenmiştir. IgG2 yanıtları 6. Aya kadar anlamlı şekilde artarken IgG3 yanıtları ise anlamlı şekilde düşmüştür.

Sonuç: Pediyatrik hastaların SARS-CoV-2 spike spesifik total IgG seviyeleri hastalıktan iyileştikten sonra zaman geçtikçe düşmektedir. IgG1 ve IgG3'ün diğer alt tiplere kıyasla daha yüksek olması ve total IgG yanıtının zaman içerisinde düşmesi bulgularımız literatürle uyumludur. IgG yanıtlarına dair detaylı sonuçlar elde edebildiğimiz çalışmamızda hasta sayımızın arttırılması ve diğer SARS-CoV-2 proteinlerine karşı da yanıtların incelenmesi hedeflenmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK 1001, Proje Numarası: 120S804



BUFFY-COAT'TAN İZOLE EDİLEN EKSOZOMLARIN GRANÜLOSİTLERİN OKSİDATİF PATLAMASI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

YAĞMUR AYDIN ATALAY [1,2], HİLAL VARDAR [1,2], İREM ÖZVERİ [1,2], SALİH HALDUN BAL [1,2,3,4], DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ [1,2,3,4], YASEMİN HERPER [4], H. BARBAROS ORAL [1,2,3,4]

[1] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[2]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA*
[3]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[4]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*

Amaç: Granülosit süspansiyonu (GS) transfüzyonu, febril nötropenili hastaların kontrol altına alınamayan enfeksiyonlarında nötrofil desteği sağlamak için yapılmaktadır. GS elde edilemediğinde buffy-coat konsantreleri (BFC) bu amaçla kullanılabilmektedir. Bu çalışmanın amacı BFC içinde bulunan eksozomların alıcı granülositlerinin oksidatif patlaması üzerindeki etkilerini değerlendirmektir.

Materyal ve Metot: Sağlıklı kan bağışçılarından alınan tam kanlardan ayrılan BFC'ler bu çalışmada kullanıldı. Yirmişer tane A, B, AB ve O grubu BFC'den (n=80) süpernatanlar izole edilip eşit miktarlarda havuzlandı. Havuzlanan süpernatanlardan ultrasantrifügasyon yöntemiyle (125.000xg) eksozomlar izole edildi. 0,22 nM'lik filtrelerden geçirilen eksozom örnekleri son hacmi 300 µL olacak şekilde PBS tampon çözeltisinde süspanse edilerek saklandı. Konsantrasyonları Bikinkoninik Asit (BCA) Assay aracılığıyla (n=5) değerlendirildi. Ardından BFC transfüzyonunu taklit etmek amacıyla kan bağışçılarından elde edilen beş adet (n=5) yeni BFC ile ilgili kan grubuna ait eksozom örnekleri 3 farklı konsantrasyonda (3 µl, 9 µl, 27 µl) inkübe edildi ve nitroblue tetrazolium (NBT) testi yapıldı. Sonuçlar ışık mikroskobunda değerlendirildi.

Bulgular: A, B, AB ve O gruplarına ait eksozom örneklerinde eksozomal protein düzeyleri sırasıyla ortalama 1086 µg/ml, 3548 µg/ml, 2604 µg/ml, 2767 µg/ml şeklinde saptandı. NBT test sonuçlarına göre; eksozomların oksidatif patlamayı ortalama (3 µl) düzeyinde %2,4; (9 µl) düzeyinde %3; (27 µl) düzeyinde %4,5 oranında artırdığı belirlendi.

Sonuç: BFC transfüzyonu febril nötropenili hastalarda nötrofil desteği sağlamaktadır. Buna ek olarak ürün içindeki eksozomlar aracılığıyla transfüzyon alıcısının granülositlerinin oksidatif patlama düzeyine belirgin bir etkisi belirlenememiştir.



B LENFOSİT, B LENFOMA VE MONOSİTİK LÖSEMİ HÜCRELERİNDE Breg VE OLGUNLAŞMA İLE İLGİLİ BELİRTEÇ ANALİZLERİ

GİZEM AKÇA[1], GÜNEŞ ESENDAĞLI[1]

[1]HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA

Amaç: B lenfoma hücrelerinin immün baskılama mekanizmaları düzenleyici B lenfosit (Breg) hücreleri ile özellikle IL-10 sentez kapasitesi açısından benzerlik göstermektedir. B hücrelerinin Breg farklılaşmasını uyaran sinyaller arasında kostimülatör sinyaller, mikrobiyal ajanlar ve sitokinler bulunur. Bu çalışmada EBV-negatif B lenfoma hücre hatları CD40L, IFN-γ ve LPS ile uyarılarak Breg ve olgunlaşma ile ilgili belirteçlerin analizleri gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Metot: Sağlıklı donörlerden alınan kan örnekleri 1.077 g/mL Ficoll üzerine yayıldı. CD20+ MACS ile izole edilen B hücreleri, THP-1 monositik lösemi ve BJAB B lenfoma hücre hatları 100ng/mL IFNγ, CD40L veya LPS ile 48 saat uyarıldıktan sonra CD11b, CD11c, CD25, CD38, CD40, CD80, CD86, 4-1BB, HLA-DR PD-L1, PD-L2, TLR-4 ifadeleri akım sitometride analiz edildi.

Bulgular: Pozitif kontrol olarak kullanılan THP-1 hücre hattında bazı (CD80, CD86, HLA-DR, PD-L1, CD25 ve 4-1BB) yüzey belirteçlerinin ifadesinde fark gözlenirken BJAB ve B hücrelerinde uyarım sonucunda bir fark gözlenmedi.

Sonuç: Monositik hücrelerin CD40L, IFN-γ ve LPS gibi proinflamatuvar sinyallere B lenfosit türevi hücrelere göre daha açık ve hassas olduğu değerlendirilmiştir. B lenfositlerin ve B lenfoma hücrelerinin uyarımları ile ilgili ek optimizasyon ve titrasyon aşamalarına devam edilmesi planlanmıştır.



PROSTAT KANSER HÜCRELERİNİ HEDEFLEYEN MULTİ EPİTOP KANSER AŞISI TASARIMI

ALİ ŞAHİN [1], ÖMER FARUK ÖZOĞLU [1], İBRAHİM FURKAN ASİLTÜRK [1], METEHAN ARICI [1], MERT METEHAN ARSLANER [2], HUSEYN BABAYEV [3], EMRE ALTINTAŞ [2], MURAT GÜL [2]

[1] *SELÇUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, 42250 KONYA*
[2] *SELÇUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, ÜROLOJİ ANABİLİM DALI, 42250 KONYA*
[3] *SWİSS INSTİTUTE OF ALLERGY AND ASTHMA RESEARCH (SIAF), ZÜRİH ÜNİVERSİTESİ, DAVOS, İSVİÇRE*

Özet:

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen kanserdir. Prostat kanserinin erken evrelerinde cerrahi ve radyoterapi ana tedavi olarak kullanılmaktadır. Ancak metastaz yapan ve ileri evre olan prostat kanserlerinde cerrahi ve radyoterapi yetersiz ve/veya etkisiz kalmaktadır. Metastazı ve/veya ileri evre olan prostat kanserlerinin tedavisinde immünoterapi etkili bir tedavi modalitesi olmaya aday bir yöntemdir. İmmünoterapi maligniteleri hedefleyen, tümöre karşı immün yanıtı indükleyen bir tedavi modalitesidir. Günümüzde, immünoterapi özellikle renal hücreli karsinom, melanom ve akciğer kanseri gibi metastatik kanserlerin tedavisinde kullanılan ve efektleri umut vaad eden bir tedavi yaklaşımı olarak ön plana çıkmaktadır. İmmünoterapi alanında yeni bir trend halini alan kansere karşı immün sistemi aktive eden kanser aşıları geliştirilmeye başlanmıştır.

Kanser aşılarının, diğer immünoterapötiklere karşı üstünlüğü; daha kolay tolere edilebilmeleri ve kanserli hücrelere karşı daha iyi bir immün cevap oluşturabilmesidir. İmmünoterapötik etkili kanser aşıları ilk olarak prostat kanserine karşı geliştirilmiştir. Ancak yeterli klinik cevabı oluşturmaması, prostat dokusunun endokrinolojik özellikleri ve prostat kanserinin mikro çevresini değiştirmesi sebebi ile etkisiz kalmıştır.

Bu nedenle, projemizde prostat kanserinde over-eksprese, antijenik proteinlere karşı multi-epitop kanser aşısı geliştirmeyi amaçlamaktayız. Çalışmamızda prostat kanser aşısının tasarlanmasını immünoinformatik yöntemler kullanarak yapacağız. İmmünoinformatik yöntemler ile tasarladığımız aşımızın fizikokimyasal özelliklerini tanımlamak ve stabilite analizini yapmak amacı ile proteoinformatik yöntemler kullanacağız.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Projemiz teknofest-2023 proje yarışmasında final aşamasına ulaşmıştır. Final aşamasına ulaşan takımlar proje desteği teknofest tarafından desteklenmiştir.



PANKREATİK DUKTAL ADENOKARSİNOMDA HÜCRESEL AÇLIĞI TAKİBEN SİKLOOKSİJENAZ İNHİBİSYONUNUN ANTİ-KANSER ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

AYŞE NUR ÇALDIRAN[1], GİZEM GÜREL[1], BAŞAK ARU[1]

[1]*YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL*

Amaç: Tüm pankreatik kanserlerin %90'ından fazlasını meydana getiren pankreatik duktal adenokarsinom (PDAC) dünyada kanser ilişkili ölümlerin dördüncü sebebidir. Günümüzde PDAC için tedavi seçenekleri arasında kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi rezeksiyon bulunmaktadır, fakat hastalığın zayıf prognozu sebebiyle tedavi etkinliğini artıracak yeni yaklaşımlara ihtiyaç vardır. Bu çalışmada steroid olmayan anti-inflamatuar ilaç (NSAİİ) Diklofenak'ın iki PDAC hücre hattında anti-kanser etkinliği ve hücresel açlığın NSAİİ aracılı siklooksijenaz (COX) inhibisyonuna bağlı programlı hücre ölüm yolaklarının aktivasyonuna etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmada PANC-1 ve MIA PaCa-2 hücre hatları kullanılmıştır. Diklofenak uygulamasının canlılık üzerine etkisi MTS testi ile değerlendirilmiş, canlılığı kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşüren en düşük ilaç dozları seçilmiştir. Uygulamanın etkinliğini artırmak amacıyla hücreler öncelikle altı saat süresince büyüme faktörlerinden yoksun ortamda açlığa maruz bırakılmış, sonrasında ilgili dozlarda Diklofenak içerikli besiyeri ile 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Canlılık ve apoptoz Annexin V/Propidyum İyodid boyaması ve aktif kaspaz-3 seviyesinin analizi, otofaji ise hücre içi Beclin-1 ve aktif LC3B proteinlerinin ölçümü yoluyla akan hücre ölçer kullanılarak değerlendirilmiştir. COX-1 ve COX-2 seviyeleri hücre içi işaretleme ile akan hücre ölçerde analiz edilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda Diklofenak uygulamasının PDAC hücre hatlarında COX ifadesini baskılayarak apoptoz ve otofajiyi indüklediği tespit edilmiştir. Ancak uygulama öncesi hücresel açlığın ilacın etkinliği üzerine anlamlı etkisi saptanmamıştır.

Sonuç: Elde edilen sonuçlar, Diklofenak uygulamasının COX-1 ve COX-2 baskılama yoluyla apoptozu indüklediğini, ancak ilaç uygulaması öncesi hücresel açlığın ilacın anti-kanser etkinliği üzerinde anlamlı etkisi olmadığını göstermektedir. Özellikle COX-2 inhibisyonunun immün kontrol noktası blokajı ile kombine uygulamasının sinerjistik etkinliği göz önünde bulundurulduğunda NSAİİ kullanımının tümör inflamatuar profilinin düzenlenmesinde kullanım potansiyeli mevcuttur.



IN VITRO ALZHEIMER HASTALIĞI MODELİNDE NLRP3 İNFLAMAZOMU AKTİVASYONU VE MİTOFAJİ İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

BAŞAK ARU [1], NUR EKİMCİ GÜRCAN [2], UTKU ÖZBEY [3], ÖMER FARUK BAYRAK [4], GÜLDEREN YANIKKAYA DEMİREL [1]

[1] *YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL*
[2] *BİRUNİ ÜNİVERSİTESİ, MÜHENDİSLİK VE DOĞA BİLİMLERİ FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL*
[3] *YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HÜCRE VE GEN TERAPİ MÜKEMMELİYET MERKEZİ, İSTANBUL*
[4] *YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI, İSTANBUL*

Amaç: Alzheimer Hastalığı (AH), amiloid plaklar ve hiperfosforile tau proteinin birikimi sonucu meydana gelen nörofibriler yumaklar ile karakterize olan geri dönüşsüz bir nörodejeneratif hastalıktır. AH, demansın temel sebebi olup 21. yüzyılda sağlık sistemine ilişkin en büyük problemlerinden biridir. Yapılan çalışmalar, amiloid β birikimi ile hiperfosforile tau nörofibrillerinin beyinde oksidatif strese ve inflamasyona sebep olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda geliştirdiğimiz in vitro AH modelinde, hastalık patojenezinde rol oynayan NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu ve mitofaji arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmada nöronal öncül hücre hattı RenCell VM kullanılarak viral transdüksiyon ile Swedish ve Indiana mutasyonlarını taşıyan bir hücre hattı elde edilmiştir. Hücrelerin nöronal farklılaştırılmaları yoluyla elde edilen hücresel AH modeli, amiloid β40/42 ifadeleri ve tau fosforilasyonu ile karakterize edilmiştir. NLRP3 inflamazomu ve mitofaji belirteçleri gen ve protein seviyelerinde değerlendirilmiştir.

Bulgular: Oluşturulan in vitro AH modelinde amiloid β birikimi ve nörofibriler yumakların oluşumunu takiben oksidatif stres ve otofajide artış tespit edilmiş ve hem nihai otofaji belirteci LC3B, hem de mitofajide görevli PINK ve PARKIN proteinlerinde AH grubunda anlamlı artış görülmüştür. Otofaji ayrıca konfokal mikroskopisi ile doğrulanmıştır. Ancak NLRP3 seviyelerinde izlenen artışa karşılık piroptozun nihai belirteçleri kaspaz-1, IL-1β ve IL-18 seviyelerinde artış tespit edilememiştir.

Sonuç: AH'nin karakteristik özellikleri ile korele mitofajik aktivasyon, literatür ile uyumludur. Fakat in vivo çalışmaların AH patojenezinde NLRP3 ve piroptozun baskılanmasının terapötik önemini göstermesine karşılık çalışmamızda NLRP3 inflamazomu aktivasyonunun izlenmemiştir. Bulgularımız AH vakalarında NLRP3 aracılı piroptozun glial hücreler kaynaklı olması sebebiyle nöron kültüründe simüle edilemeyeceğini ifade etmekle beraber nöron kökenli ekstraveziküler NLRP3 salınımı üzerine araştırmalarının devamlılığının gerekliliğinin altını çizmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu araştırma TÜBİTAK ARDEB 1001 programı (Proje No: 217S663) ve AB Horizon 2020 MSCA-RISE-2018 kapsamında yer aldığımız Automated Functional Screening of IgGs for Diagnostics of Neurodegenerative Diseases (AUTOIGG) tarafından desteklenmiştir.



ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİ HÜCRE HATLARINDA MIF-CD74 İLİŞKİLİ İMMÜN YOLAKLARA IFN-GAMMA ETKİSİ

AYŞENUR KÖKOĞLU [1], ALİ ABDİ [1], ESİN ÇETİN [2], SUHENDAN EKMEKÇİOĞLU [3], GÜNNUR DENİZ [2]

[1] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI / İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL
[2] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL
[3] DEPARTMENT OF MELANOMA MEDİCAL ONCOLOGY - RESEARCH, DİVİSİON OF CANCER MEDİCİNE, THE UNİVERSİTY OF TEXAS MD ANDERSON CANCER CENTER, HOUSTON, TX

Özet:

IFN-g, enflamasyon aracılı tümör oluşum süreçlerinin yanı sıra tümörün immün düzenlemesinde rol alan pleiotropik bir sitokindir. CD74 molekülü MIF ile uyarıldıktan sonra CD44, CXCR2 ve CXCR4 molekülleri ile kompleks oluşturarak COX2 ve PGE2 gibi kanser büyümesi ve metastazında rol alan sinyalleri aktive eder. Çalışmamızda kanser hücrelerinin yaşamında MHC-II aracılı veya MIF/CD74/CXCR ve/veya COX2 sinyal yolaklarında IFN-g etkisinin araştırılması planlanmıştır.

Çalışmamızda MCF-10A ve MDA-MB-231 hücreleri 200 ng/ml INF-g varlığında ve yokluğunda COX2 inhibitörü selekoksib, PGE2 sentetaz inhibitörü MF63 ve MIF antagonisti ISO-1 molekülleri ile (48 saat, 37°C, %5 CO2) inkübe edilmiştir. Kültür sonrası hücreler fluoresan işaretli CD74, CD44, HLA-DR2, CXCR2, CXCR4, CXCR7, PDL-1 ve PDL-2 monoklonal antikorlar ile boyanarak spektral akan hücre ölçer cihazında değerlendirilmiştir.

Sonuçlarımız, MCF-10A ve MDA-MB-231 hücre hatlarında, IFN-g uyarımının CD74, HLA-DR2, PDL-1 ve PDL-2 moleküllerinin ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir. Selekoksib ve ISO-1 moleküllerinin her iki hücre hattında, MF63 molekülünün ise yalnızca MDA-MB-231 hücre hattında IFN-g etkisi ile artan CD74 ekspresyonunu baskıladığı saptanmıştır. IFN-g uyarımı MDA-MB-231 hücrelerinde CD44 ekspresyonunu uyarım olmayan koşula göre anlamlı olmamakla birlikte azaltırken MF-63+IFN-g sinerjik bir etki yaratarak baskılamıştır. MCF-10A hücrelerinde MF-63 ve ISO-1 moleküllerinin MDA-MB-231 hücrelerinde ise MF63+IFN-g, selekoksib ve selekoksib+IFN-g koşullarının PDL-2 ekspresyonunu IFN-g uyarımına göre azalttığı gözlenmiştir. MCF-10 ve MDA-MB-231 hücreleri karşılaştırıldığında ise MDA-MB-231 hücrelerinin PDL-1, CXCR7, CXCR4, CXCR2 moleküllerini daha yüksek eksprese ettiği gösterilmiştir. MCF-10A hücrelerinde HLA-DR2 ekspresyonu uyarımsız koşulda MDA-MB-231 hücrelerine göre düşük, IFN-g içeren koşullarda ise daha yüksek saptanmıştır.

Bulgularımız IFN-g sitokinin CD74, PD-L1 ve PD-L2 ifadesini arttırarak tümör hücrelerinin gelişimini desteklediğini göstermektedir. Selekoksib, MF63 ve ISO-1 molekülleri IFN-g ile artan CD74 ve PDL-2 ekspresyonunu baskılamaktadır. Ayrıca MF63 molekülünün IFN-g ile birlikte kullanıldığında CD44 ifadesini baskılaması MF63 molekülünün iki farklı şekilde CD74/CD44 kompleksini etkilediğini düşündürmektedir. Bu bulgular selekoksib, MF63 ve ISO-1 moleküllerin IFN-g etkisiyle artan MIF/CD74 aracılı pro-tümöral etkiyi baskılayabilecek potansiyel ajanlar olabileceğini düşündürmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma İÜ BAP Birimi 39677 ve 39189 numaralı projeler tarafından desteklenmiştir.



POLİOKSOETİLEN ZİNCİRLERİNE SAHİP NONPERİFERAL ÇİNKO FTALOSİYANİN TÜREVLERİNİN CCR7 VE CXCR4 PROTEİN SEVİYELERİNE ETKİSİ

BAŞAK ARU [1], GİZEM GÜMÜŞGÖZ ÇELİK [2], MEHMET MENAF AYHAN [2], DEVRİM ATİLLA [2], AYŞE GÜL GÜREK [2], GÜLDEREN YANIKKAYA DEMİREL [1]

[1] *YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL*
[2] *GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TEMEL BİLİMLER FAKÜLTESİ, KİMYA BÖLÜMÜ, KOCAELİ*

Amaç: Fotodinamik Terapi (PDT) ışığa duyarlı bir ilacın uygulamasını takiben hedef bölgenin ilacın uyarılma dalgaboyunda ışığa maruz bırakılması yoluyla programlı hücre ölüm yolaklarının aktivasyonunu hedefleyen bir tedavi yöntemidir. Bu çalışmada geliştirilen özgün PDT ajanları trietilen monometil eter (TEGME) sübstitüe non-periferal çinko ftalosiyaninlerin sahip oldukları sübstitüent sayılarının ve heteroatom etkisinin bileşiklerin anti-kanser aktivitelerine etkinliğinin tespiti amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmada SH4 malign melanom ve HCT116 kolorektal kanser hücreleri kullanılmış, sağlıklı keratinosit hücre hattı HaCat kontrol olarak seçilmiştir. İdeal inkübasyon süresi ve optik doz MTS testi ile değerlendirilmiş, en düşük IC50 değerleri 1 Joule optik dozda ışık maruziyetini takiben 48. saatte hesaplanmıştır. Canlılık ve apoptoz Annexin V/Propidyum iyodid boyaması, mitokondriyal fonksiyon ise dihidrorodamin testi ile değerlendirilmiştir. Bileşiklerin migrasyon ve invazyonda rol oynayan reseptörleri CXCR4 ve CCR7 protein seviyelerine etkileri akan hücre ölçer ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Test edilen doz aralığında dört TEGME grubuna sahip np-O-ZnPc1 ile sekiz TEGME grubuna sahip np-O-ZnPc2 ve np-S-ZnPc2 için IC50 değerleri hesaplanabilmiştir. Bileşikler iki kanser hücre hattında da canlılığı anlamlı derecede düşürmüş ve apoptozu teşvik etmiştir. HCT116 hücrelerinde np-O-ZnPc2 ve np-S-ZnPc2 mitokondriyal aktivasyona yol açarken SH4 hücrelerinde np-O-ZnPc1 ile ve np-O-ZnPc2 uygulamaları mitokondriyal disfonksiyona neden olmuştur. Bileşikler her iki hücre hattında CCR7 protein seviyelerinde artışa yol açmış, SH4 hücrelerinde CCR7 ile beraber CXCR4 protein seviyelerinde de artış görülmüştür.

Sonuç: TEGME sübstitüe çinko ftalosiyanin türevleri apoptozu teşvik ederek anti-kanser aktivite göstermektedir. Ancak uygulamayı takiben CCR7 ve CXCR4 proteinlerinde izlenen artış, bileşiklerin tümör hücrelerinin invazyon ve migrasyon özellikleri üzerine etkilerinin detaylı değerlendirilmesinin gereksinimine işaret etmektedir.



SARS-COV-2 YE KARŞI VLP AŞISI: KLİNİK ÖNCESİ VE KLİNİK DEĞERLENDİRME

İREM EVCİLİ [1], İSMAİL CEM YILMAZ [1], BERFU SARAYDAR GÖLCÜKLÜ [2], EMRE MERT İPEKOĞLU [3], TUĞÇE BİLDİK [2], ASLI GÜLCE BARTAN AKSOY [2], NİLSU TURAY [2], NAZ SÜRÜCÜ [3], ARTUN BÜLBÜL [2], NEŞE GÜVENÇLİ [3], MUZAFFER YILDIRIM [1], TUĞÇE CANAVAR YILDIRIM [1], YASEMİN ÖZSÜREKÇİ [4], MAYDA GÜRSEL [1], İHSAN GÜRSEL [1]

[1] İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR, BALÇOVA, TÜRKİYE
[2] MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, BİLKENT ÜNİVERSİTESİ, ANKARA, TÜRKİYE
[3] ODTÜ, BİYOLOJİK BİLİMLER BÖLÜMÜ, ODTÜ, ANKARA, TÜRKİYE
[4] TIP FAKÜLTESİ, PEDİYATRİK BULAŞICI HASTALIKLAR DEPARTMANI, HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ, ANKARA, TÜRKİYE

Özet:

2019'un sonlarında COVID-19 salgınının ortaya çıkması, SARS-CoV-2'nin hızlı yayılmasını önlemek için etkili aşıların acilen ihtiyaç duyulmasına yol açtı. Mevcut aşıların çoğu öncelikle Spike proteinini hedeflerken, bu çalışma yeni bir çoklu-antigen virüs benzeri parçacık (VLP) aşısının geliştirilmesine ve immün sistemi uzun süre etkilemesine odaklanmaktadır. VLP aşısı, SARS-CoV-2'nin dört yapısal proteini olan Spike, Nükleokapsid, Membran ve Zarfı içerir. VLPler, transfekte edilmiş HEK293T hücrelerinde üretilmiş ve kromatografi yoluyla saflaştırılmıştır. VLPlerin yapısal ve boyut analizleri ve 4 antijeni içerdiklerini kanıtı biyokimyasal ve enstrümantal analizlerle karakterize edilmiştir. Aşı, Alum ve K3-CpG ODN ile birlikte formüle edilmiştir. Farelerde yapılan klinik öncesi deneylerde VLP aşısının, Alpha ve Delta dahil olmak üzere çeşitli RBD varyantlarının yanı sıra Spike ve Nükleokapside karşı güçlü antikor yanıtlarını tetiklediği ELISA ile gösterilmiştir. Ek olarak, VLP aşısının üçüncü dozunun antikor yanıtlarını artırdığı ve uzattığı bulunmuştur. Faz I/II klinik çalışmada ise aşı, Spike, Nükleokapsid ve RBD varyantlarına karşı önemli bir humoral bağışıklık yanıtı ile umut verici sonuçlar göstermiştir. Hücresel bağışıklık yanıtları, güçlü bir Th1 eğilimli profil ile karakterizedir. Ayrıca VLP aşısı Th17 ve Th9 yanıtlarını da tetiklemiştir. Bu veriler, aşının çok yönlü bir bağışıklık yanıtı indükleme yeteneğine işaret etmektedir. Genel olarak, bu araştırma, çoklu-antigen VLP aşısının SARS-CoV-2ye karşı hem hücresel hem de sıvısal bağışıklık yanıtlarını tetikleme potansiyelini vurgulamaktadır ve çeşitli yapısal proteinlere ve RBD varyantlarına karşı çapraz koruyucu bağışıklık sağladığı gösterilmiştir. Yeni varyantlara uyarlanabilir olması ve üçüncü bir dozun etkinliği, VLP aşısını gelecekteki hatırlatıcı enjeksiyonlar için umut verici bir aday haline getirmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK



İNSAN MİKROGLİAL HÜCRE HATTINDA HİPOKSİK KOŞULLAR ALTINDA GELİŞEN RIG-I YANITLARININ ARAŞTIRILMASI

YAĞMUR ÖZÇELEBİ[1], EDANUR BARUTÇU[1], ELİF YAPRAK SARAÇ1, ZÜLAL ÇELİK[1], CEREN ÇIRACI[1]

[1]*İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, İSTANBUL*

Amaç: Mikroglialar, merkezi sinir sisteminde yerleşik olarak bulunan miyeloid kökenli bağışıklık sistemi hücreleridir. Mikroglialar beynin profesyonel fagositleri olup aktifleştiklerinde sitotoksisiteyi artıran pro-enflematuar faktörleri ya da yara iyileşmesine ve doku onarımına yardımcı olan anti-enflematuar nöroprotektif faktörleri üretirler. Hipoksi, homeostazı sürdürmek için gereken seviyeden düşük miktarlarda oksijenin bulunduğu durumlardır. Yetersiz kan temini nedeniyle veya kandaki düşük oksijen içeriği nedeniyle dokulara yeterli oksijen sağlanamamasından kaynaklanabilir. Retinoik asit ile indüklenebilir gen I (RIG-I), virüslerin tanınmasında görev alan önemli bir sitoplazmik patojen tanıma reseptörüdür. Bu çalışmadaki amacımız insan HMC3 mikroglialarında, antiviral bağışıklıkta görev alan RIG-I'ın, hipoksik koşullar altında da aktifleşme potansiyelini incelemektir.

Materyal ve Metot: Mikrogliaların hipoksik koşullar altında oluşturdukları yanıtları incelemek amacıyla HMC3 insan mikroglia hücre hattı kullanılarak CoCl2 stimülasyonu ile kimyasal hipoksi modeli oluşturduk ve RIG-I ekspresyonunu inceledik.

Bulgular: HMC3 mikroglialarında 70, 125 ve 250 µM CoCl2 ile 4, 8, 12 ve 24 saatlik muamele sonucu hipoksik koşulu indükledik ve HIF1α transkripsiyon faktörünün stimülasyon süresine ve CoCl2 dozuna bağlı olarak arttığını tespit ettik. RIG-I ekspresyonu, protein seviyede 8 saatlik ve 12 saatlik stimülasyonlarda indüklenirken 24 saattlik muamelede hücre ölümüyle beraber azalmıştır.

Sonuç: 250 µM CoCl2 ile 8 saatlik stimülasyon HMC3 mikroglialarında hipoksi indüklemektedir ve RIG-I ekspresyonunda anlamlı değişim görülmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK 1002 proje no: 222Z226



TRİPLE NEGATİF MEME KANSERİ İMMÜN HÜCRE ETKİLEŞİMİNDE PANTOPRAZOL VE PAKLİTAKSEL KOMBİNASYONUNUN ETKİSİ

TUBA ZORCİ [1,2], DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ [1,2,3], HALUK BARBAROS ORAL [1,2,3], ARZU YILMAZTEPE ORAL [1,4]

[1] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[2] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA*
[3] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[4] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI, BURSA*

Amaç: Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser türüdür ve triple-negatif meme kanseri (TNMK), bu vakalarının %20'sini oluşturmaktadır. TNMK, en agresif ve ölüm oranı en yüksek meme kanseri alt tipidir ve en etkili tedavi yöntemi kemoterapidir. Ancak kemoterapi direnci sebebi ile ek yaklaşımlara ihtiyaç vardır. Bu dirençteki en önemli sebeplerden biri tümördeki asiditedir ve proton pompası inhibitörleri (PPI) ile bu engelin aşılabileceği ve kemoterapi etkinliğinin artabileceği görüşü dikkat çekmiştir. Ancak bu etkinlikteki mikroçevre ile alakalı bilgilerimiz sınırlıdır. Bu çalışmada, TNMK immün hücre etkileşiminde Pantoprazol ve Paklitaksel etkinliği araştırıldı.

Yöntem: Bu çalışmada TNMK fare hücre hattı olan EMT6 kullanıldı. İmmün hücre etkileşimi için BALB/c farelerin splenositleri kullanıldı. Bir PPI olan Pantoprazol (20 ug) ve Paklitaksel (2,5 ve 5 ug) için IC50 ve ED50 dozları hesaplandı. İlaçlar, EMT6 hücrelerine, splenositlere, ve bu iki hücrenin ko-kültürlerine tek başına ve kombine olarak uygulandı. İlaçların sitotoksik etkileri 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonu takiben MTT yöntemi ile analiz edildi.

Bulgular ve Sonuç: Tek başına splenositlerin 24., 48. ve 72. saatlerinde Pantoprazolün hücre proliferasyonunu desteklediği ve kombine tedavi uygulanan koşullarda Paklitakselin toksisitesini azalttığı saptandı. EMT6'ya tek başına Pantoprazol kullanıldığında anti-kanser etkinlik görülse de, paklitaksel ile olan kombinasyonunda artmış bir sitotoksite görülmedi. Splenositlerle gerçekleşen ko-kültürlerde kombine tedavi, tek başına EMT6'daki etkiye benzer şekilde artmış sitotoksik etki göstermedi. Sonuç olarak Pantoprazol tek başına bile EMT6 üzerinde anti-kanser etki gösterse de kemoterapiyle birlikte kullanıldığında beklenilenin aksine kemoterapinin EMT6 üzerine olan sitotoksisitesi azalmaktadır.



SARS-COV-2'YE KARŞI VİRÜS BENZERİ PARÇACIK (VLP) AŞI FORMÜLASYONUNDA %50 EFEKTİF ANTİJEN DOZUNUN (ED50) BELİRLENMESİ

HATİCE ASENA ŞANLI [1,2], ELİF SENA ÖZKOÇ [1], MUZAFFER YILDIRIM [1], İREM EVCİLİ [1], İHSAN GÜRSEL [1], MAYDA GÜRSEL [1]

[1] *İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR*
[2] *ORTA DOĞU TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, ANKARA*

Amaç: VLP (Virus-Like Particle), virüsün genetik materyali dışında SARS-CoV-2'nin ifade ettiği dört yapısal antijeni barındıran nanometre boyutundaki parçacıklardır. Bu çalışmanın temel amacı, SARS-CoV-2ye karşı virüs benzeri parçacık (VLP) aşı formülasyonunda efektif antijen dozunun (ED50) belirlenmesi, aşının immün koruyucu etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmek ve optimal dozun tespit edilmesini sağlamaktır. Doz optimizasyonunun belirlenmesi, aşı geliştirme sürecinin erken aşamalarında immün yanıt ile güvenlik analizlerine ait gerçekçi verilerin ortaya çıkmasına olanak sağlayan önemli bir aşamadır.

Materyal ve Metot: İlk olarak, farklı dozlarda VLP ve sabit miktarda CpG ve alum içeren yedi farklı fare grubu aşılandı. Bu gruplardan alınan kan örnekleri kullanılarak, total IgG, ve IgG1 ve IgG2A antikor alt-tiplerinin seviyeleri ELISA yöntemi ile ölçüldü. Daha sonra, doza bağlı IgG yanıtlarından doygunluk eğrisi oluşturuldu. Bu eğriden elde edilen korelasyon sabiti dikkate alınarak ED50 değeri graphpad programı aracılığıyla hesaplandı.

Bulgular: Hesaplamalara göre 10 µg VLP'nin yaklaşık %90 efektif olduğu ortaya konuldu. Bu durumda yarı etkin doz (ED50) 2.83 µg olarak hesaplandı.

Sonuç: Sonuç olarak, VLP aşısında %90 efektif yanıt göstermesi nedeniyle 10 µg konsantrasyon kullanılmasına karar kılınmıştır. Bu miktar yeterli immün yanıt oluşturabilme potansiyeline sahiptir.

Anahtar Kelimeler: SARS-Cov-2, Covid-19, VLP, aşı

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK



CPG/TAT NANO HALKALARIN MUKOZAL AŞI ADJUVANI OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

DİCLE ÇALIŞKAN[1,2], BURCU TEMİZÖZ[3], ETSUSHİ KURADO[4], KEN J. ISHİİ[3], İHSAN GÜRSEL[1], MAYDA GÜRSEL[1], BİLGİ GÜNGÖR[1]

[1]İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İZMİR
[2]DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, İZMİR
[3]TIP BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TOKYO ÜNİVERSİTESİ, TOKYO, JAPONYA
[4]İMMÜNOLOJİ DEPARTMANI, HYOGO TIP FAKÜLTESİ, NİSHİNOMİYA, JAPONYA

Amaç: Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre mukozal patojenlerin sebep olduğu solunum yolu enfeksiyonları günümüzde global bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu virüslerin ilk temas noktaları mukozal yüzeyler olmasına rağmen günümüzde uygulanan anti-viral aşıların çoğu güçlü bir sistemik yanıtı hedeflemektedir. Sentetik CpG ODN'ler klinik olarak onaylanmış anti-viral aşı adjuvanlarıdır. Önceki çalışmalarımızda CpG ODN'lerin polikatyonik Tat peptidi ile kararlı ve nükleaza dirençli kompleksler oluşturduğunu ve bu "nano halkaların" (NH) antijene özgü güçlü anti-viral bağışıklık yanıtına yol açtığını göstermiştik. Bu çalışmamızda, CpG/Tat NH'ı farklı uygulama yolları için deneyerek mukozal aşı adjuvanı potansiyelini test etmeyi amaçladık.

Materyal ve Metot: NH ovalbümin (OVA) ile karıştırılarak, C57BL/6 farelere periton içi, kas içi, subkutan, deri içi ve burun içi/intranazal olmak üzere 5 farklı yoldan uygulanmıştır. Serum ve bronkoalveolar lavajda (BALF) bulunan anti-OVA antikor titreleri ELISA ile belirlenmiştir. T hücre yanıtı, dalak hücrelerinin in vitro koşullarda MHC-I ve MHC-II spesifik OVA peptid epitoplarıyla muamele edilmesi sonucunda salınan IFNg miktarının ELISA ile ölçülmesi sonucunda belirlenmiştir.

Bulgular: NH'in kullanıldığı model aşılamalarda farklı deneme yolları arasından en yüksek serum IgG1, IgG2 antikor düzeyleri intranazal, subkutan ve deri içi uygulamaya maruz kalan farelerden elde edilmiştir. Sistemik yanıtın yansıra, intranazal uygulama sonucu mukozal immün yanıtı gösteren BALF IgA, IgG2c antikorlarında da anlamlı bir artış ölçülmüştür. NH, yine intranazal uygulandığında, en yüksek antijene özgü IFNg üretimine yol açmıştır.

Sonuç: Sonuçlarımız, CpG/Tat NH'nın intranazal aşı adjuvanı olarak uygulandığında güçlü sistemik ve lokal immün yanıta sebep olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, NH'nın mukozal patojenlere ve solunum yolları enfeksiyonlarına karşı özgün ve etkili bir aşı adjuvanı olarak geliştirilebileceğini önermektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK



SARS-COV-2 İLE NEİSSERİA MENİNGİTİDİS'E KARŞI KOMBİNE AŞI GELİŞTİRİLMESİ

TUĞÇE CANAVAR YILDIRIM[1,3], HARUN ÖNLER[1,2], MUZAFFER YILDIRIM[1], IREM ABRAŞ[3], YASEMİN CEYLAN[3], YASEMİN ÖZSÜREKÇİ[4], İHSAN GÜRSEL[1]

[1]İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR
[2]DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, İZMİR ULUSLARARASI BİYOTIP VE GENOM ENSTİTÜSÜ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İZMİR
[3] BİLKENT ÜNİVERSİTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, ANKARA
[4] HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, PEDİYATRİK BULAŞICI HASTALIKLAR DEPARTMANI, ANKARA

Giriş: SARS-CoV-2'ye özgü VLP (Virüs Benzeri Parçacık) aşısının antijen kaynağı spike (S), membran glikoproteini (M), zar (E) ve nükleokapsit (N) olarak bilinen dört yapısal proteinin ifadesine ve birleştirilmesine dayanır. Gram-negatif bakteriler, OMV olarak bilinen dış membran veziküllerini ortama salarlar. Bu veziküler yapılar, üzerlerinde birçok bakteriyel membran antijenleri taşıdığından, aşı geliştirmesinde umut vadetmektedirler. Bu çalışmada, Türkiye'de yaygın iki farklı Neisseria meningitidis suşundan elde edilen OMV ile Delta-Spike ifade eden VLP antijenini birbirleri ile kombine ettik ve kombine aşı olarak bağışıklama deneylerinde potenslerini belirledik.

Materyal ve Metodlar: Neisseria meningitidisin serogrup B ve serogrup W'ya ait OMVleri ultrasantrifüj yoluyla izole edilmiştir. Bu OMV'lerin morfolojileri ve boyutları qNano Gold sistemi, atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve taramalı elektron mikroskobuyla (SEM) belirlenmiştir. VLP ve CpG ODN'ler OMV ile karıştırılıp veya liyofilizasyon ile içlerine yüklenerek birleştirilmiştir. Dişi C57BL/6 fareler (6-8 haftalık) bu formulasyonlarla intraperitonal (i.p.) olarak iki hafta ara (0. ve 14. günlerde) ile aşılanmıştır. Takviye aşıdan 2 hafta sonra farelerden alınan serumların, anti rec-trimerik Spike, anti Delta-RBD, anti rec-NCP, anti OMV-B ve anti OMV-W yanıtlarına, 2 ay sonra alınan serumlara ise serum bakteri öldürücü deneyi (serum bactericidal assay – SBA) uygulanıp bakılmıştır.

Bulgular ve Tartışma: Aşılama sonucunda tüm SARS-CoV-2 viral antijenlerinde ve iki serogrub'un OMV'lerine karşı yüksek titrelerde SBA, IgG, IgG1 ve IgG2c yanıtları elde edilmiştir. IgG2c titrelerinin IgG1'e göre daha yüksek olması, SARS-CoV-2 ve menenjit antikor yanıtının güçlü bir şekilde Th-1 kaynaklı olduğunu göstermiştir.

Sonuç: Bu veriler, VLP-OMV tabanlı aşının hem bağışıklık potansiyelini hem de bakteriyel ve viral patojenleri içeren bir kombine aşının geliştirilebileceğini önermektedir.

Anahtar kelimeler: VLP, SARS-CoV-2, OMV, aşı, N. Meningitidis, CpG ODN, Adjuvant

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TUBITAK



ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİNDE (TNBC) MONOSİT/MAKROFAJ İLİŞKİLİ İMMÜNOMODÜLATÖR ETKİ SONUCU FARKLILAŞAN TNBC ALT GRUPLARININ T HÜCRE YANITLARINA ETKİSİ

ONUR ETGÜ [1,2], ELİF OZALP [1,2], FATMANUR DÜNDAR [1,2], BATUHAN YAĞCIOGLU [1,2], CEREN ESEN [1,2], HALUK BARBAROS ORAL [1,2,3] DIĞDEM YÖYEN ERMİŞ [1,2,3]

[1] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA
[2]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA
[3]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, İMMUNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA

CD44+/CD24- meme kanseri kök hücreleri, üçlü negatif meme kanserinin (TNBC) baskın alt grubudur, ancak fenotipleri ve T hücre yanıtları üzerindeki doğrudan veya dolaylı etki üzerindeki immünomodülatör etkileri hakkındaki sınırlı anlayışımız, tedavinin başarısını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu çalışma, CD44 / CD24 fenotipinin monosit, makrofaj bağımlı immünofonksiyonel farklılıklar üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

THP-1 hücre hattından spontan şekilde farklılaşma yoluyla CD206+, CD163+, HLA-DR low, (M2c-Like makrofaj) hücreler elde edilmiştir. Bu hücrelerle beraber THP-1 ve pTHP-1(THP-1'in phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) ile uyarılması ile makrofaja farklılaşması) hücreleri MDA-MB-231 ve MDA-MB-468 meme kanseri hücre hatları ile ko-kültüre edilerek akan hücre ölçerde meme kanseri kök hücresi (CD44/24) farklılaşmasına ve kanser hücreleri üzerinde CD80, CD86, PD-L1 ve PD-L2'ye bakılmıştır aynı zamanda miyeloid hücreler üzerinde CD80, CD86, PD-L1, PD-L2, CD206, CD163, CD169, CD14 boyamaları yapılmıştır. Daha sonra ko-kültür sonucunda farklılaşan kanser kök hücreleri saflaştırılarak(sort) T hücreler ile ko-kültür edilmiş ve T hücrelerinin proliferasyonuna bakılmıştır.

M2c benzeri THP-1 hücreleri ile kanser hücreleri ortak kültür koşulundan toplanan CD44+/CD24- alt popülasyonu, THP-1 ve PMA ile İndüklenmiş THP-1 koşullarına göre daha az metastatik ve daha fazla immünomodülatör kapasite sergilemiştir. Ayrıca, M2c benzeri THP-1 hücrelerinde CD163, CD169 ve CD14 ekspresyonu azalmıştır.THP-1 kaynaklı monositik/makrofaj benzeri hücrelerin ortak kültüründe CD44+CD24+ popülasyonu azalmıştır. MDA-MB-468 hücre hatları ve THP-1 kaynaklı monositik/makrofaj benzeri hücreler arasındaki ortak kültürlerde, özellikle CD44+CD24+ popülasyonu azalmıştır. CD4+ veya CD8+ T hücrelerinin proliferasyonu, monosit/makrofaj benzeri hücreler ile meme kanseri hücreleri kültürü sonucu oluşan CD44/CD24 alt popülasyonlarından etkilenmiştir. Bu çalışmada, TNBCde CD44/CD24 fenotipi ve bunların monositik/makrofaj hücre aktivasyon polarizasyonu üzerindeki etkileri değerlendirilmiş, ayrıca bu etkileşimin metastatik karakteri ve T hücre yanıtları tespit edilerek immünoterapi yaklaşımlarına yardımcı olabilecek ilk ön veriler elde edilmiştir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Alt-yapı projesi (AYP), Proje no: TAY-2022-601



YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİĞİ OLAN BİR AİLEDE NFKB2 GENİNDE NOVEL BİR MUTASYON

AYSİMA ATILGAN LÜLECİOĞLU [1], ALPEREN BARAN [1], SERKAN BELKAYA [2]

[1] *BİLKENT ÜNİVERSİTESİ, FEN FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, ANKARA*
[2] *BİLKENT ÜNİVERSİTESİ, FEN FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, ANKARA / BİLKENT ÜNİVERSİTESİ, ULUSAL NANOTEKNOLOJİ ARAŞTIRMA MERKEZİ, ANKARA*

Amaç: Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (YDİY), primer immün yetmezlik (PİY) bozukluklarından biridir ve yetersiz B hücresi farklılaşmasından dolayı enfeksiyonlara karşı artmış duyarlılık ile karakterize edilirken, antikor üretiminde bozukluklar göstermektedir. Araştırmalar, YDIY hastalığına ilişkin çeşitli gen defektleri olduğunu göstermiştir. Bu genlere örnek olarak CD19, CD81, CR2, CTLA4, ICOS, IKZF1, IL21, IRF2BP2, LRBA, MS4A1, NFKB1, PRKCD, SKIC3, TNFRSF13B, TNFRSF13C ve VAV1 verilebilir. Bu gen defektlerine ek olarak NFKB2 genindeki heterozigot işlev-kaybı ve işlev-kazancı mutasyonlarının da YDIY ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu mutasyonlar, kanonik olmayan NFKB sinyal yolağını etkileyerek YDİY hastalarında immün yetmezliğe yol açmaktadır.

Materyal ve Metot: YDIY tanısı almış multipleks bir aileye tüm ekzom dizileme (WES) yöntemi uygulanmış ve hastalıkla ilişkilendirilebilecek aday mutasyonlar taranmıştır. Hastalık yapıcı aday mutasyonun gen ifadesi ve fonksiyonu üzerindeki etkileri biyokimyasal, moleküler ve hücresel tetkiklerle test edilmiştir.

Bulgular: Analizler sonucunda, baba ile iki çocukta NFKB2 geninde novel bir heterozigot mutasyon tespit edilmiştir. Transfekte edilen HEK293 hücreleriyle yapılan immunoblot ve immunositokimya analizleri bu mutasyonun p100ün p52ye proteazomal yıkımını engellediğini ve aktif p52 alt biriminin hücre çekirdeğine translokasyonunu bozduğunu göstermiştir. Bunlara ek olarak yapılan Lusiferaz muhabir deneyi NFKB2 proteininin işlevini kaybettiğini ve mutant proteinin kanonik-olmayan NFKB yolağını etkilediğini göstermiştir.

Sonuç: Bu çalışma, kanonik olmayan NFKB sinyal yolağının aktivitesini engelleyen yeni bir NFKB2 mutasyonunu ortaya koymuştur. Hastalığa yol açan yeni mutasyonların bulunması tanı ve tarama testlerinin geliştirilmesinin önünü açıp hastalık riskinin değerlendirilmesini ve teşhisini kolaylaştırabilir. Ayrıca, ailelere genetik danışmanlık hizmetlerinin sunulması konusunda önemli bir katkı sağlamaktadır.



NEİSSERİA MENİNGİTİDİS DIŞ MEMBRAN VEZİKÜL AŞISININ PREKLİNİK BAĞIŞIKLIK YANITLARI

TUĞÇE CANAVAR YILDIRIM [1], ZEYNEP ARZUM [2], MUZAFFER YILDIRIM [1], İREM EVCİLİ [1], İREM ABRAŞ [3], YASEMİN CEYLAN [3], YASEMİN ÖZSÜREKÇİ [4], MAYDA GÜRSEL [1], İHSAN GÜRSEL [1]

1 İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR
2 İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, İZMİR / DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, İZMİR ULUSLARARASI BİYOTIP VE GENOM ENSTİTÜSÜ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İZMİR
3 BİLKENT ÜNİVERSİTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, ANKARA
4 HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, BULAŞICI HASTALIKLAR PEDİYATRİ DEPARTMANI, ANKARA

Amaç: Neisseria meningitidis bakterisinin A, B, C, W, ve Y ana serogrupları, invazif Meningokok hastalığına sebep olur. Bu hastalığa karşı ACWY ve B serogruplarını hedefleyen ortak bir aşı henüz geliştirilmemiştir. Türkiye'de meningokok enfeksiyonuna en sık sebep olan MenB ve MenW suşları olduğu için, bu suşlara karşı dış membran veziküllerinin (OMV) kullanıldığı bir aşı formüle ederek CpG ODN ve Alum ile adjuvante ettikten sonra aşının immünojenitesini mevcut ticari meningokok konjugat ve polisakkarit (PS) aşılarıyla fare bağışıklama deneylerinde karşılaştırdık.

Materyal ve Metot: BALB/c fareleri, Alum veya CpG ODN ile adjuvanlanmış W+B OMV aşımız ile veya ticari olarak temin edilebilen MenACYW konjuge aşısı (NimenrixTM, Pfizer) veya MenB OMV bazlı aşı (Bexsero®, GlaxoSmithKline) ile 2 hafta arayla immünize edildi. İmmün yanıtları ELISA ve serum bakterisidal tahlili (SBA) ile test edildi.

Bulgular: Alum veya CpG ODN ile adjuvanlanmış W+B OMV aşısına karşı oluşan antikor yanıtları ve serum bakterisidal (SBA) titreleri, plasebo kontrol grubuna kıyasla daha yüksekti. Ayrıca W+B OMV aşısının SBA titreleri, mevcut durumda kullanılan 4CMenB aşılarındaki titrelere eşit, ACWY konjuge aşılarındaki titrelerden yüksekti.

Sonuç: W+B OMV aşısının uyardığı yüksek antikor düzeylerinin, lisanslı meningokok aşılarının uyardığı yüksek seviyedeki antikorlara eşit veya daha fazla olduğu belirlendi. Bu sebeple, W+B OMV aşısı potansiyel olarak mevcut meningokok aşılarına alternatif veya destekleyici olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Meningokok, aşı, N.menengitidis, OMV, CpG ODN Adjuvantı

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, Tübitak 1004 KorTUP Projesi



MALİGN MELANOM HASTALARININ FARKLI ALT GRUP VE EVRELERİNDE İFADE EDİLEN TÜMÖR İLE İLİŞKİLİ ANTİJENLERİN BELİRLENMESİ

MEHMET KARAÇAY [1,2,3], HAKAN YILMAZ [2,3], ELİF ÇELİK [5], MERTKAYA ARAS [6], BAHAR DAKİKİ-KORUCU [1,2,3] SERKAN YAZICI [7], EMEL BÜLBÜL-BAŞKAN [7], TÜRKKAN EVRENSEL [8], RAMAZAN KAHVECİ [9] ŞADUMAN BALABAN-ADIM [10] DİĞDEM YÖYEN-ERMİŞ [1,2,3,4], TOLGA SÜTLÜ [5], HALUK BARBAROS ORAL [1,2,3,4]

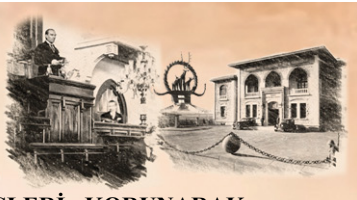
[1] İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL
[2]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ BÖLÜMÜ, BURSA
[3]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ, BURSA
[4]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA
[5]ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ, MÜHENDİSLİK VE DOĞA BİLİMLERİ FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL
[6]TÜRKİYE KANSER ENSTİTÜLERİ BAŞKANLIĞI (TÜSEB), AZİZ SANCAR ARAŞTIRMA MERKEZİ, ANKARA
[7]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI, BURSA
[8]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA
[9]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ ANABİLİM DALI, 16059, GÖRÜKLE, BURSA, TÜRKİYE
[10] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI, 16059, GÖRÜKLE, BURSA, TÜRKİYE

Giriş ve amaç: Malign melanom (MM) epidermisin bazal tabakasında yer alan ve melanosit olarak bilinen pigment hücrelerinin, kötü huylu tümöre dönüşümü nedeniyle meydana gelen bir kanser türüdür. Dünya genelinde en yaygın 17. kanserdir ve kutanöz maligniteye bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir. Adoptif hücre tedavileri (ACT), MM hastaları için son yıllardaki mevcut en iyi immünoterapi seçeneklerinden biridir. Tümörün baskılayıcı mikroçevresi, anti-tümör immün yanıtların yetersiz kalmasına ve kansere bağlı ölümlerin artmasına neden olmaktadır. Etkin tedavi yaklaşımları açısından bu hastaların antijen özgüllüklerinin önceden belirlenmesi oldukça önem taşımaktadır. Çalışmamızdaki amacımız, MM hasta dokularının hem in situ hem de invaziv alanlarında, melanomun farklı alt grup ve evrelerinde benzerlik-ortaklık gösteren melanom spesifik antijenlerin ifade düzeylerinin belirlenmesidir.

Materyal ve Yöntem: MM hasta dokuları (n=133), benign nevüs (BN) dokuları (n=30), pozitif kontrol doku örneklerinden melanom dokusu ve testis dokularının immünohistokimyasal boyamaları, Ventana Discovery XT (Roche) otomatik cihazda gerçekleştirilmiştir. Tüm doku örnekleri literatürde daha önce melanom ile ilişkilendirilmiş, Tirozinaz (TYR), Tirozinaz ilişkili protein-1 (TRP-1), Tirozinaz ilişkili protein-2 (TRP-2), Melan-A (MART-1), HMB-45, MAGE-A, MAGE-C1 ve NY-ESO-1 antijenlerine özgül primer antikorlar ile işaretlenmiş ve antijenin görünür hale gelebilmesi için alkalin fosfataz kırmızısı kullanılarak mikroskop ile görüntülenmiştir. Dokulardaki antijenlerin ifade düzeyleri H-skorlama yöntemi ile hesaplanmış ve istatistiksel analizleri Graphpad yazılım programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular ve Sonuç: MM dokularının hem in situ hem de invaziv alanlarında, hasta kontrol gruplarının dokularına kıyasla HMB-45, MAGE-A ve MAGE-C1 antijenlerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ifade edildikleri belirlenmiştir. Bu antijenlerin tanınmasına yönelik TCR-NK immünoterapi yaklaşımlarının efektif anti-tümör immün yanıtların artmasına ve melanoma bağlı ölümlerin azalmasına aracılık edebileceği düşünülmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmektedir, Proje no: 218S910



DOKU YERLEŞİK/İNFİLTRE MAKROFAJLARIN İZOLASYONU VE ORGAN NİŞLERİ KORUNARAK GERÇEKLEŞTİRİLEN 3 BOYUTLU HÜCRE KÜLTÜRÜ ORTAMINDA BÜYÜTÜLMESİ

FATMANUR DÜNDAR [1,2], ONUR ETGÜ [1,2], CEREN ESEN [1,2], BATUHAN YAĞCIOĞLU [1,2], ELİF ÖZALP [1,2], HALUK BARBAROS ORAL [1,2,3] DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ[1,2,3]
[1] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP- İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[2]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA*
[3]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*

Giriş: Makrofajlar kemik iliği, yolk sac kesesi ve fetal karaciğerden kökenlenir. Doku yerleşik makrofajlar, kemik iliği türevlerine göre daha plastisiteye sahiptir. Doku yerleşik makrofajlar heterojendir; doku işlevi ve homeostazisinin ayrılmaz parçası olan gelişim ve yetişkinlik sırasında dokuya özgü ve mikroanatomik nişe özgü işlevler için gereklidir. Bu hücrelerin izolasyonu ve karakterizasyonu kısıtlıdır. Çalışmamızda doku yerleşik makrofajların izolasyonu ve kültür ortamında çoğaltıldı.

Materyal-Method: BALB/c farelerden akciğer, beyin ve karaciğer çıkartıldı. Dokular DMEM/F12 içerisine bütün/parçalanmış halde yerleştirildi. Kemik iliğinden türetilmiş hücreler, L929 hücre hattının süpernatanı ile kültürlendiler. Kültür 10 gün inkübasyona bırakıldı, ortam her 4 günde yenilendi. Sferoidler ayrılırken, dokuya sızan/yerleşik makrofajlar dispaz/kollajenaz kullanılarak ayrıldı. Dokular gece boyunca dispaz ile +4oCde bekletildikten sonra ertesi gün kollajenaz eklendi ve 37oCde 2 saat inkübe edildi. Dokular ve sferoidlerden izole edilen hücreler, 1.077 g/ml ve 1.119 g/ml Ficoll üzerine yayıldı. Hücreler akış sitometrisi ile değerlendirildi.

Sonuç-Tartışma: Çalışmamızda doku yerleşik makrofajların varlığını göstermek için F4/80 antikoru kullanıldı. Beyin ve karaciğer için CD45+ hücrelerden CD11b+ popülasyonu, akciğer için CD45+ hücrelerde CD11c+ popülasyonu seçildi, hücrelerde F480 pozitifliği görüldü. Kemik iliği+L929 süpernatanı ile inkübe edilmiş beyin hücrelerinin CD11b ekspresyonunu desteklediği görüldü. Akciğer ve karaciğer hücrelerinde CD11b ekspresyonunda farklılık gözlemlenmedi. CD11b popülasyonu içerisinden F4/80 analizlerinde beyin ve akciğer hücrelerinde kemik iliği+L929 süpernatanı ile inkübe edilmiş hücrelerde F4/80 ekspresyonunun desteklendiği görüldü. Karaciğer hücrelerinde kemik iliği+L929 süpernatanı ile inkübe edilmemiş hücrelerde F4/80 ekspresyonunda artma gözlemlendi. Çalışmamızda doku yerleşik makrofajların popülasyonu az olduğu ve saflaştırıldıklarında organ nişlerinden bağımsız çoğalma gösterdikleri için popülasyonu arttırmak adına mikroçevreyi koruyarak protokol dizayn ettik. Sonuç olarak izole edilen doku yerleşik makrofajların yüzdesi %5-%10 arasında olduğundan anlamlı farklılık görebilmek adına deneyler tekrarlanmalı ve veriler genişletilmelidir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Alt-yapı projesi (AYP), Proje no: TAY-2022-601



ALLERJİK RİNİTLİ HASTALARDA ALLERJEN İMMÜNOTERAPİSİNİN REGÜLATÖR B HÜCRELER ÜZERİNE ETKİSİ

MEHTAP ÜLKER [1], SEMRA DEMİR [2], NİDA ÖZTOP [2], ASLI GELİNCİK [2], ALİ ŞENGÜL [3], GÜNNUR DENİZ [4], UMUT CAN KÜÇÜKSEZER [4]

[1] MEDİCANA INTERNATİONAL HOSPİTAL, ISTANBUL, TURKİYE/İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL
[2] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTES, İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI, ALLERJİ VE İMMÜNOLOJİ BİLİM DALI, İSTANBUL
[3] MEDİCANA INTERNATİONAL HOSPİTAL, İSTANBUL
[4] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL

Özet:

Allerjik Rinit (AR), IgE aracılı alerjik inflamasyon hastalığıdır. Tedavisinde farmakoterapi ve allerjene özgü immünoterapi (AİT) kullanılmaktadır. AİT mekanizmaları tam bilinmemekle birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalar, bilinen regülatör T hücrelerinin dışında başka baskılayıcı hücre alt gruplarının da immün düzenlenmeye katıldığını ortaya çıkarmıştır. Bu hücre gruplarından biri de düzenleyici B hücreleri (Breg)'dir. Bu hücreler, farklı alt gruplarıyla farklı hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadır. AİT ile Breg hücre ilişkisini kanıtlamaya yönelik çalışmalar mevcut ama yetersizdir.

Bu çalışmanın amacı, AİT tedavisi almış, ev tozu akarı duyarlı AR hastalarında, AİT'e cevaben uyarılmış periferik kan regulatör B hücre alt gruplarından B1:CD19+CD73-CD25+CD71+, B10:CD19+CD24hiCD27+ ve Transitional B: CD19+CD24hiCD38hi oranlarını saptamak, bu oranları AR tanısı almış ve AİT başlanmamış hastalar ile sağlıklı bireylerle karşılaştırmaktır. Ayrıca, AİT sonucu uyarıldığı bilinen ve Tr1 hücreleri olarak adlandırılan CD3+CD4+CD25+CD127- Treg hücre oranlarını Breg hücre oranlarıyla karşılaştırmaktır. İlgili hücre grupları, hastalar ve sağlıklı kontrollerden alınan periferik kan örneklerinden akan hücre ölçer kullanımı ile saptanmıştır. Aynı grupların serum örneklerinden ise ev tozu akarına özgü IgG4 düzeyleri, Eliza yöntemi ile tespit edilmiştir.

Sonuçlarımız, CD19+CD25+CD71+CD73- Breg hücre grubunun AİT alan hastalarda arttığını, en düşük oranın ise sağlıklı kontrol grubunda olduğunu ($P<0,001$) ve CD19+CD24hiCD27+ Breg hücre oranının AR hastalarında yüksek iken AİT sonrası kontrol grubuna gore azaldığını göstermiştir ($P<0,001$). Ayrıca CD19+CD24hiCD38hi B hücre grubunda, AİT alanlarda almayanlara göre istatistiksel oranda anlamlı artış da göstermiştir ($P<0,05$). Ev tozu akarına özgül IgG4 oranları, AİT sonrası AR grubunda, AR hastaları ve sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p<0.001$).

Bu çalışma, CD19+CD25+CD71+CD73- Breg ve CD19+CD24hiCD38hi Breg hücre gruplarının AİT sonucunda artışını göstermiş olup, CD19+CD24hiCD27+ grubunun ise AR hastalarında artışı ise bu grubun hastalığı kontrol altına almaya çalıştığını düşündürmektedir. AİT sonucu artmış IgG4 ise Breg hücrelerinin immün regülasyondaki rollerini desteklemektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:36719



VLP İLE SARS-COV-2'YE KARŞI AŞILAMALARDA YAŞA BAĞLI BAĞIŞIKLIK PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ

HATİCE ASENA ŞANLI[1], MUZAFFER YILDIRIM[1], İREM EVCİLİ[1], İHSAN GÜRSEL[1], MAYDA GÜRSEL[1]

[1]*İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, BALÇOVA, İZMİR*

Amaç: Virüs benzeri parçacıklar (VLP), kanıtlanmış etkili immünojenisite profilleri ile oldukça etkili bir aşı platformunu temsil eder. Parçacıklı yapıları, antijenlerin, B hücresi reseptörlerini çapraz bağlayabilen ve dolayısıyla güçlü antijene spesifik humoral bağışıklığı tetikleyebilen tekrarlayan birimler olarak gösterilmesini sağlar. VLP bazlı SARS-CoV-2 aşısı, virüsün dört yapısal proteinini (spike, membran, zarf ve nükleocapsit protein) kodlar. Bununla birlikte, genç yetişkinlerde etkili olmalarına rağmen aşılar, bağışıklık tükenmesi ve/veya yaşlanmanın bağışıklık üzerine etkisi nedeniyle yaşlılarda düşük performans gösterebilir. Bu nedenle bir aşının farklı yaş gruplarındaki performansının değerlendirilmesi, potensinin tam olarak anlaşılması açısından çok önemlidir. Bu çalışmanın amacı, VLP bazlı SARS-CoV-2 aşısının genç-erişkin, yetişkin ve yaşlı farelerdeki bağışıklama düzeylerini değerlendirmektir. İkincil hedefimiz ise adjuvan bileşimini değiştirerek SARS-CoV-2ye özgü aşı kaynaklı bağışıklığı güçlendirmektir.

Materyal ve Metot: Bu hedeflere ulaşmak için, aşı formülasyonundaki VLP ve adjuvan (CpG ODN ile Alum) konsantrasyonunu, preklinik deneylerimizde farelerde spike, membran, zarf ve nükleocapsid protein olmak üzere antijene spesifik IgG tepkisinin önemli ölçüde yüksek seviyelerini ortaya çıkaracak şekilde optimize etmeye çalıştık. Farklı yaş gruplarındaki farelerin aşı kaynaklı bağışıklık tepkisini IgG ELISA yöntemi ile tespit ettik.

Bulgular: İlk bulgularımız, VLP bazlı SARS-CoV-2 aşısının tüm yaş gruplarında plasebo kontrolüne göre istatistiksel olarak önemli ölçüde daha yüksek antijene spesifik IgG üretimine neden olduğunu gösterdi. Ayrıca aşı dozlarının etkinliğini yaş grupları arasında çapraz karşılaştırma yaparak değerlendirdik. Antijene özgü antikor titreleri aşı etkinliğinde temel ölçüm olduğundan, çalışmamızda temel olarak sıvısal yanıta (IgG) odaklandık. Th1/Th2 baskınlığını araştırmak için IgG titrelerinin yanı sıra IgG alt tiplerini de kontrol ettik ve VLP aşısının farelerde yaşa bağlı olmadan güçlü bir Th1 yanıta neden olduğunu saptadık.

Sonuç: Önceki adjuvan araştırma ve aşı denemeleriyle tutarlı olarak, VLP bazlı SARS-CoV-2 aşısında, literatürde yaşlanmanın bağışıklık sistemi üzerinde Th2 baskın bir immün fenotiple ilişkilendirilmesine rağmen; formülasyonundaki CpG'nin etkisiyle Th1 baskın bağışıklık yanıtını tüm yaş gruplarında göstermiş olduk. Bunun yanı sıra aşı aracılı etkin IgG yanıtı gözlemledik.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK



TEKRARLAYAN GEBELİK KAYBI VE İMPLANTASYON BAŞARISIZLIĞI OLAN KADINLARDA ENDOMETRİYAL DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ HÜCRELERİN ROLÜ

NİLGÜN AKDENİZ[1], BURÇİN KARAMUSTAFAOĞLU BALCI[2], VUSLAT YILMAZ[3], ABDULLAH YILMAZ[1], ESİN ÇETİN AKTAŞ[1], CEMİL AKGÜN[2], GÜNNUR DENİZ[1]

[1] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ AD, İSTANBUL
[2] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ CERRAHİ TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ REPRODÜKTİF ENDOKRİNOLOJİ BD, İSTANBUL
[3] İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ SİNİR BİLİM AD, İSTANBUL

Özet:

Uterin doğal öldürücü (natural killer – NK) hücrelerin fonksiyonları hala çok açık olmamakla birlikte, gebeliğin erken dönemlerinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışmamızda, tekrarlayan gebelik kayıplarında periferik kan ve endometriyal NK hücre fonksiyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İnfertilite Polikliniğine tekrarlayan gebelik kayıpları olgusuyla başvuran hastalar (n=20) ve tekrarlayan düşük nedeniyle başvuruda bulunan ama çocuk sahibi olan (n=10) kişiler kontrol grubunu oluşturmuştur. Periferik kan ve endometriumdan izole edilen hücrelerde, lenfosit alt grup oranları ve NK hücre sitotoksik aktivitesi (perforin, granzim ve CD107a ekspresyonu) akan hücre ölçer sisteminde değerlendirilmiştir.

Hem kontrol hem de tekrarlayan gebelik kayıplarında uterin CD3+ T lenfosit oranı, periferik kana göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,01$, $p<0,001$, sırasıyla). Benzer şekilde, uterin CD19+ B lenfositleri de periferik kana göre tekrarlayan gebelik kayıplarında anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,01$ $p<0,0001$, sırasıyla). Tekrarlayan gebelik kayıplarında hem kan hem de uterin NK hücre oranlarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,0001$). Perforin/granzim açısından değerlendirildiğinde, her iki grupta da uterin NK oranlarında periferik kana göre düşüş, CD107a ekspresyonunda ise artış görülmüştür ($p<0,0001$, $p<0,001$, sırasıyla). Kontrol grubunda ise uterin NK CD107a ekspresyonu periferik kana göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Tekrarlayan gebelik kayıplarında periferik kan ve uterin NK hücrelerinin sayısal ve fonksiyonlarındaki düzensizlikler bu hücrelerin hastalık patogenezinde rol oynayabileceğini göstermektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu proje, Proje ID: 35443 ile İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmektedir.



KOLLAJEN İLE İNDÜKLENEN ARTRİT MODELİNDE İNFLAMATUVAR DURUMDA İFADE EDİLEN TOLERANS İNDÜKLEYİCİ POTANSİYEL TERAPÖTİK GENİN UYGULANDIĞI FARELERDE CİNSİYETE VE YAŞA BAĞLI KLİNİK YANITLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

MEHMET KARAÇAY [1,2,3], AYŞE ÖZDEN SOYDAŞ [2,4], GÖKÇEN GÜVENÇ-BAYRAM [5], İZEL YILMAZ [2], FİGEN ERSOY [5], CANSEL GÜZİN ÖZGÜDEN-AKKOÇ [7], ARZU YILMAZTEPE-ORAL [8,2], AHMET AKKOÇ [9] MURAT YALÇIN [10], HALUK BARBAROS ORAL [2,3,11]

[1] *İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, İSTANBUL*
[2]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TIP-İMMÜNOLOJİ BÖLÜMÜ, BURSA*
[3]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), BURSA*
[4]*GAZİ ÜNİVERSİTESİ, SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, KAVAKLIDERE, ÇANKAYA, ANKARA*
[5] *DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, VETERİNER FAKÜLTESİ, VETERİNERLİK FİZYOLOJİSİ ANABİLİM DALI, KİRAZ, İZMİR*
[6]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ, BURSA*
[7]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, VETERİNER FAKÜLTESİ, HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI, 16059, BURSA*
[8]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI, BURSA,*
[9]*BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, VETERİNER FAKÜLTESİ, PATOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[10] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, VETERİNER FAKÜLTESİ, FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*
[11] *BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA*

Giriş ve amaç: Romatoid artrit (RA) eklemlerde sinoviyal dokuları etkileyen, ağrılı, kronik, inflamatuvar otoimmün bir hastalıktır. Kadınlarda, erkeklerden 3 kat daha fazla görülen bu hastalığın ileri yaşlardaki bireylerde görülme sıklığı oldukça yüksektir. RA tedavisinde kullanılan ilaçlar genellikle hastaların şikayetlerini yatıştırmaya yönelik olduğundan kalıcı çözümler oluşturmamaktadır. Çeşitli otoimmün hastalıklarda olduğu gibi RA hastalarında da triptofan katabolizmasındaki değişikliklerle ilgili kanıtlar bulunmaktadır. Triptofan katabolizmasıyla ilgili olarak bilinen İndolamin 2,3-dioksijenaz (IDO), triptofanın kinürenine yıkımını gerçekleştiren hücre içi bir enzimdir. IDO kullanımı sonucu gelişen triptofan açlığı T hücre aktivasyonunu baskılamaktadır. E-selektin (ELAM-1), lökositlerin inflamatuvar bölgeye göçünde görev alan bir endotelyal adezyon molekülüdür. Normal zamanda düşük düzeylerde ifade edilirken, inflamatuvar sitokinler ile uyarıldığında çok kısa süre içerisinde yüksek seviyelere ulaşırlar. Bu çalışmada, Kollajen ile indüklenen artrit (CIA) modeli oluşturulan farelerde ELAM-1 promotoru kontrolünde seçici olarak ifade edilen IDO geninin terapötik olarak dişi-erkek ve genç-yaşlı farelerdeki klinik yanıtlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem: Klinik ve histopatolojik olarak CIA oluşumu için Tip II sığır nazal septum kollajeni ve Freunds adjuvant kompleksinin (CFA, Mycobacterium tuberculosis) 2mg/mL konsantrasyonu, 0.1 M asetik asit içerisinde çözülerek, 0,01 mL intraartiküler olarak enjekte edilmiştir. Ayrıca 0,1 mL CFA subkutan olarak uygulanmıştır. CIA oluşumunu arttırmak için ilk enjeksiyonlardan 14 gün sonra aynı enjeksiyonlar 6-8 aylık ve 6-8 haftalık dişi ve erkek Balb/c (H-2d) (n=80) farelere uygulanmıştır. CIA'nın ilk enjeksiyonundan sonraki 21. günde intraartiküler olarak lipofeksiyon aracılı terapötik gen ELAM-1pro/hIDO konstraktı, negatif ve pozitif kontrol plazmidleri uygulanarak 1 ay süresince eklem kalınlıkları ölçülmüştür.

Bulgular ve Sonuç: CIA oluşturulan farelerden, terapötik gen tedavisi uygulanan grupta diğer gruplara kıyasla, yaşa ve cinsiyete bağlı olmadan hastalığın klinik olarak gerilediği gözlemlenmiştir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir, 1001- Proje no: 113S375



PAKLİTAKSEL VE NANO-KABARCIK OZON DEPOLANAN NİOZOM SOLÜSYONUNUN 4T1 MEME KANSERİ MODELİNDE MİYELOİD KÖKENLİ BASKILAYICI HÜCRELERİN TÜMÖR ANJİYOGENEZİ VE PROLİFERASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

ZEHRA AVCI KÜPELİ [1], ONUR ETGÜ [3,4], A. ÜMİT SABANCI [4], H. BARBAROS ORAL [2,3,4], DİĞDEM YÖYEN ERMİŞ[2,3,4], M. ÖZGÜR ÖZYİĞİT [1]

[1] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, VETERİNER FAKÜLTESİ, PATOLOJİ ANA BİLİM DALI, BURSA, TÜRKİYE
[2] BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, İMMUNOLOJİ ANA BİLİM DALI, BURSA
[3]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ TIP-İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, BURSA
[4]BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI YETİŞTİRME VE ARAŞTIRMA BİRİMİ (DENHAB), DENEYSEL VE MOLEKÜLER İMMÜNOLOJİ ARAŞTIRMA LABORATUVARI, BURSA
[5] ÇEKİRGE DEVLET HASTANESİ, ORTOPEDİ ANA BİLİM DALI, BURSA

Özet:

Paklitaksel (PTX) özellikle metastatik meme kanseri tümörlerinde sıklıkla tercih edilir. Biyolojik sistemde yaratmış olduğu ciddi toksisite ve yan etkisi nedeni ile dozun mümkün olduğu kadar düşük tutulması amaçlanmıştır. ‘’Nano bubble ozone stored niosomes (NOSN)’’ tedavisi yeni bir formülasyon yöntemi olup sahip olduğu lipozomal tabiatı nedeniyle yavaş salım yaparak dokuda daha uzun süreli bir etki bırakır. Bu terapötik yaklaşımların immun sistem ile bağlantılı olarak tümör anjiyogenezi ve metastazı ile olan ilişkisi incelenmiştir. Hücre kültüründe üretilen 4T1 meme tümörü hücre hattı kullanılarak, BALB/c ırkı dişi farelerin meme yağ yastıklarına subkutan yolla 25.000/100µl hücre süspansiyonu inoküle edilmiştir. Tümörler 0,3-0,4mm hacmine ulaştığında (10.günde) tedavilerine başlanılmıştır. Hayvanlar, FTS, PTX, NOSN, PTX-NOSN ve High NOSN olmak üzere beş gruba ayrılmıştır. Primer tümörlerde immunohistokimyasal boyama yöntemiyle hücre proliferasyon belirteci Ki-67 pozitif hücreler QuPath0.4.3’te sayılarak, CD31 belirteci mikrodamar yoğunluğu (MVD) H-index skorlaması yapılarak değerlendirilmiştir. Dalak ve kemik iliğinde bulunan miyeloid kökenli baskılayıcı hücrelerin (MDSC) varlığının immunofenotiplendirilmesi CD11b, Gr-1(Ly6C, Ly6G) işaretleyicileri kullanılarak akım sitometrisinde analiz edilmiştir. Periferal kandan hazırlanan frotilerde bulunan MDSC’ler Diff-Quik boyamasından sonra maturasyon seviyelerine göre sınıflandırılmıştır. Ki-67 boyamasında HIGH NOSN (%10,01) ve PTX (%8,15)’in proliferasyonu kontrol grubuna (%30,32) göre daha düşük olduğu görülmüştür. Tümöral alan içinde ortalama MVD yoğunluğu HIGH NOSN grubunda (3,80), diğer gruplara kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada in vivo ozon kullanımının MDSC’ler üzerindeki etkisi, tümör proliferasyonu, anjiyogenezi ve metastazındaki azalma ile olan ilişkisi gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: 4T1, CD31, Ki-67, Meme tümörü, Ozon, MDSC, Gr-1

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bursa Uludağ Üniversitesi BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri) tarafından TGA-2021-485 proje koduyla desteklenmiştir.



NÜKLEİK ASİT BAZLI İMMÜNOSTİMULANLARIN NOROVİRÜS ENFEKSİYONUNDA ANTİ-VİRAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

NURİDE TURAN[1], BANU B. KOCABAŞ[1]

[1]*ORTA DOĞU TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, ANKARA*

Özet:

Norovirüs (NV), tüm Dünya'da gastroenteritin en önemli bakteriyel olmayan nedenlerinden biridir. Bu pozitif RNA virüsü, Dünya çapında yılda yaklaşık altı yüz milyon vakayı hasta etmektedir. Yaşlılar, çocuklar ve bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde ciddi semptomlara ve hatta ölümlere neden olmaktadır. Klinikte anti-viral ajan olarak bir tedavi veya aşı bulunmadığı için acil olarak NV'ye etkili ajanlar geliştirmek gerekmektedir. Yapılan çalışmalar NV'nin Tip-I Interferon üretimine duyarlı olduğunu; koordine tip-I, II ve III interferon uygulamasının viral replikasyonu engellediğini göstermektedir. Ancak virüsün nükleik asit sensörlerini veya ilgili yolakları inhibe ederek bu doğal bağışıklık yanıtlarını engellediği bilinmektedir. Amacımız, virüsün baskıladığı interferon üretimini nükleik asit bazlı immunostimulanlar kullanarak arttırmak ve virus replikasyonunu durdurmaktır. Fare Norovirüsü (MNV), doğal fenotip (WT) ve MAVS bulunmayan (MAVS KO) RAW 294.7 hücre hattı ve kemik iliğinden geliştirilen makrofajlar (BM-DM) ile enfekte edilecek ve tedavi amacıyla immunostimulan içeren formülasyonlar ile enfekte edilmiş konağa verilecektir. Hücresel tedavinin oluştuğunu gözlemleyebilmek için viral RNA miktarı, interferonlar (IFNs), interferon ile stimüle edilen genler (ISGs) ve nükleik asit sensörlerinin gen ekspresyonları qPCR yöntemiyle tayin edilecektir. Ön verilerimize göre, WT hücrelerin MAVS KO hücrelere göre daha fazla interferon ürettiği ve KO hücrelerde daha fazla viral ORF1 yapısal olmayan poliprotein mRNA'sına rastlandığı görülmüştür. Bu çalışma sonucunda sitozolik RNA sensörlerinin immunostimülan olarak kullanımlarının NV tedavisinde önemli olabileceği ve hücresel interferon miktarını arttırabileceği görüşü ortaya çıkmıştır. İlerleyen süreçte, tip-I interferonda artış sağladığı bilinen poly(I:C) (TLR3), CpG ODN (TLR9) ve cGAMP (STING) agonistlerinin NV ile enfekte RAW264.7 hatlarında ve kemik iliğinden oluşturulan makrofajlarda doğal bağışıklık yanıtının etkileri araştırılacaktır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): TÜBİTAK 2232-B Uluslararası Genç Araştırmacılar Programı



NÖRONAL ÖNCÜL HÜCRELERDEN GELİŞTİRİLMİŞ ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİNDE KOMPLEMAN SİSTEMİ BİLEŞENLERİ C5A VE C5A RECEPTÖRÜ C5AR1'İN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

GİZEM GÜREL [1], FURKAN AYDIN [1], BAŞAK ARU [1], NUR EKİMCİ GÜRCAN [2], ÖMER FARUK BAYRAK [3], GÜLDEREN YANIKAYA DEMİREL [1]

[1] *YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL*
[2] *BİRUNİ ÜNİVERSİTESİ, MÜHENDİSLİK VE DOĞA BİLİMLERİ FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI, İSTANBUL*
[3] *YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, TIP FAKÜLTESİ, TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI, İSTANBUL*

Amaç: Kompleman sistemi, 40tan fazla proteini içeren, doğal bağışıklık sisteminin parçası olan bir yangı yanıt mekanizmasıdır. Bu sistemin anafilotoksin bileşeni C5a, yangı yanıtını yönlendiren önemli bir aracıdır; aynı zamanda myeloid olmayan hücrelerde bile ifade edilen C5aR1 (CD88) reseptörü ile birlikte Alzheimer hastalığı (AH) gibi nörodejeneratif hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir. AH, amiloid beta (Aβ) peptitlerin birikimiyle plak oluşumu ve hiperfosforile tau (HFT) proteinlerinin oluşturduğu nörofibriller yumaklar ile karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. AH patogenezinde kompleman aktivasyonunun gösterilmesi yeni nöredejeneratif mekanizmaların keşfinin önünü açmış fakat kompleman bileşenlerinin AH'na etkisi henüz aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, nöronal öncül hücrelerden türetilmiş AH modelinde C5a'nın, C5aR1 antagonisti PMX53'ün ayrıca ve kombine uygulamalarının AH'na olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışma kapsamında; C5a, C5aR1 ve PMX-3'ün AH'na olan etkisini değerlendirebilmek için; hücre kültürü ve canlılık analizleri, akan hücre ölçer analizi, western blot ve konfokal mikroskopi teknikleri kullanılmıştır.

Bulgular: Geliştirilen hücre modelinde, AH karakteristik özellikleri (C5aR1 ekspresyonu, Aβ40-42 ve APP birikimi ve HFT'nin fosforilasyon paternleri) konfirme edilmiş ve her birinin ekspresyonlarında kontrol grubuna (nöronal öncül hücreler) göre artışı görülmüştür. C5a ve PMX53 ayrıca uygulandıklarında AH grubuna göre, C5a'nın C5aR1 ekspresyonunu etkilemediği gözlemlenirken PMX53'ün C5aR1 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Birlikte uygulanmaları ile C5aR1 ekspresyonunda artış izlenmiştir. Aβ40-42 peptitlerinin seviyeleri C5a uygulaması ile azalış gösterirken, APP peptidi PMX53 uygulanması ile azalış göstermiştir. HFT proteini bağlamında, yalnızca PMX53'ün Thr181 fosforilasyonunu azalttığı görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile birlikte kompleman sisteminin ve bileşenlerinin AH hastalığı ile ilişkili olduğu görülmektedir aynı zamanda geniş kapsamlı çalışmaların bu bağlamda kazandırılması gerekliliğini vurgulamıştır.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu araştırma TUBİTAK ARDEB 1001 programı (Proje No: 217S663) ve AB Horizon 2020 MSCA-RISE-2018 kapsamında yer aldığımız Automated Functional Screening of IgGs for Diagnostics of Neurodegenerative Diseases (AUTOIGG) ile desteklenmiştir.



PPP1R32 PROTEİN VARYANTININ İNFLAMAZOM AKTİVİTESİNİN *İN VİTRO* HÜCRE KÜLTÜRÜ MODELİNDE ARAŞTIRILMASI

ZEYNEP TONBUL [1], UMUT İNCİ ONAT [1], ÖZGÜR KASAPÇOPUR [2], EDA TAHİR TURANLI [1]

[1] *ACIBADEM ÜNİVERSİTESİ, İSTANBUL*
[2] *İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA, İSTANBUL*

Amaç: Takayasu Arteriti (TA) hastalığı, nadir görülen, inflamatuar, bir damar hastalığıdır. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde kalpten çıkan ana atardamar olan aorta ve ana dallarının duvarında iltihaplanmalar sonucu damarlarda daralma, tıkanma ve delinme gelişebilmektedir. Amacımız, önceden ekibimizin yaptığı araştırmada, akraba evliliği olan iki TA'li ailede tüm ekzom dizileme sonucunda ailedeki otozomal resesif kalıtımına uyan, nadir varyantların arasından, Protein phosphatase 1 regulatory subunit 32 (PPP1R32) genindeki nadir anlam kaydıran c.G598A varyantının in vitro hücre kültürü modelinde inflamazom aktivitesinin araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot: TA tanısı almış hastalar ve ailelerindeki sağlıklı bireyler için PPP1R32 geninin NM_000011.10:c.598G>A varyantının doğrulanması için Sanger sekanslama yapılmıştır. PPP1R32 de istenilen varyasyonun gerçekleştirilmesi için PPP1R32 cDNA-ORF klonu kullanılmış olup, varyasyon Yüksek Doğruluk DNA Polimeraz kullanılarak bölgesel yönlendirmeli mutagenez yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Varyantının inflamazom aktivitesi THP-1 hücre hattında araştıtılmıştır. THP-1 hücreleri, Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) ile makrofaja farklılaştırılmış olup, inflamazom kompleksinin oluşturulması için Lipopolisakkarit (LPS) ve Adenozin trifosfat (ATP) kullanılmıştır. İnflamazom aktivitesinin araştırılması için, immunoblotlama gerçekleştirilmiş olup,inflamatuvar sitokinlerin salınımı (IL1B-aktif , Kaspaz-1) analiz edilmiştir.

Bulgular: Sanger sekanslama ile hastalarda c. NM_000011.10:c.598G>A varyantı doğrulanmış olup, ailenin sağlıklı bireylerinde bu varyant gözlemlenmemiştir. THP-1 hücrelerinde, aşırı ifade edilen varyantın, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında IL-1B ve aktif Kaspaz- 1 protein seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Sonuç: PPP1R32 geninde ki c. NM_000011.10:c.598G>A varyantının Takayasu Arteriti hastalığında gözlemlenen inflamazom aktivasyonunda rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Acıbadem Üniversitesi-ABAPKO**,** Proje Numarası:12



PSORİASİS HASTALARINDA TNF-α, IL17, IL12 VE IL23 İNHİBİTÖRLERİNİN ETKİNLİĞİ VE ÇALIŞMA MEKANİZMALARININ IN SİLİCO YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

ONURCAN SEZGİNER [1], GÖZDE İMREN [2], UTKU HORZUM [1], EKİM Z. TAŞKIRAN [2], AYŞE ÖKTEM [3], GÜNEŞ ESENDAĞLI [1]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[2] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI, ANKARA*
[3] *ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI, ANKARA*

Genel Bilgi ve Amaç: Plak tipi psoriasis, psoriasis vakaları arasında en yaygın olarak gözlemlenen varyanttır. Orta ila şiddetli psoriasis vakalarının tedavilerinde ilk basamak olarak biyolojik ilaçların kullanımı yaygın olarak görülmektedir. Araştırma kapsamında bu biyolojik ilaçlardan TNF-α inhibitörü Adalimumab, IL12 ve IL23 inhibitörü Ustekinumab ve IL17 inhibitörü Secukinumab'ın plak tipi psoriasis hastalarında etkinliği, çalışma mekanizmaları ve uygulama sonrası hastaların gen ekspresyon profillerindeki değişimlerin değerlendirilmesi ve bu değerlendirmelere göre hastalarda daha etkin bir tedavi süreci belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntemler: Plak tipi psoriasis hastalarında görülen lezyonların merkezinden, sınırından ve dışından örnekler alınmıştır. Aynı zamanda adalimumab, ustekinumab ve secukinumab tedavisi gören hastaların lezyonlarının merkezlerinden örnek toplanmıştır. Toplanan örneklerden, AmpliSeq Transkriptom Paneli teknolojisi aracılığıyla RNA-Seq verileri elde edilmiştir. Elde edilen RNA-Seq verilerinden, R programlama dili yoluyla, diferansiyel ekspresyonu görülen genler belirlenmiş ve bulunan genler yer aldıkları sinyal yolakları ve biyolojik süreçlere göre hiyerarşik bir şekilde kümelendirilmiştir. İlaveten, örneklerin genel gen ekspresyon profiline göre örnekler, kendi arasında hiyerarşik bir şekilde kümelendirilmiş ve kullanılan ilaç tedavisinin gen ekspresyonu üzerindeki etkisi gözlemlenmiştir.

Bulgular: *In silico* analiz sonucunda, adalimumab ve lezyon merkezi arasında 97, secukinumab ve lezyon merkezi arasında 221 ve ustekinumab ve lezyon merkezi arasında 238 diferansiyel ekspresyonu olan gen bulunmuştur (LogFC > 5). Diferansiyel ekspresyonu olan genlerin hangi sinyal yolağında ve biyolojik süreçte yer aldığı belirlenmiştir. Buna ilaveten Adalimumab tedavisi gören hastaların ekspresyon profili, tedavi görmemiş hastaların lezyon sınırından alınan örneklere yakınlaştığı, Ustekinumab tedavisi gören hastalarda lezyon dışından alınan örneklerin ekspresyon profilinin örtüştüğü belirlenmiştir. Secukinumab ise lezyonun ekspresyonu profilini sağlıklı kontrol örneğinin ekspresyon profiline yaklaştırdığı gözlemlenmiştir.

Sonuçlar: Secukinumab tedavisi gören hastaların ekspresyon profilinin sağlıklı kontrole yakınlığı, ilacın analizi yapılan diğer ilaçlara göre daha etkin olduğunu göstermektedir. Ustkimumab tedavisi, gen ekspresyon profilinde secukinumab ile benzer etkiler gösterirken, secukinumab kadar etkin olmadığı belirlenmiştir. Adalimumab ise lezyon merkezinin ekspresyon profilini lezyon sınırına yakınlaştırmıştır. Bu bilgiler ışığında belirlenecek yeni hedeflerin, hastalık teşhisi ve tedavi yöntemi belirlenmesinde kullanılması amaçlanmaktadır.



ALLOJENİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN HASTALARDA NK HÜCRE KIR-OLMAYAN RESEPTÖR DÜZEYLERİNİN ZAMANA GÖRE DEĞİŞİMİ

BAŞAK SAYINALP [1], MELEK GÜNİNDİ KORKUT [1], YAHYA BÜYÜKAŞIK [2], FÜSUN ÖZMEN [1],

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[2] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HEMATOLOJİ BİLİM DALI, ANKARA*

Amaç: Graft-versus-leukemia (GVL), kök hücre nakli sonrası istenen bir durum olup, immün reaksiyonlar ile malign hücrelerin yok edilmesini sağlar. Graft-versus-host-disease (GVHD) gelişimini önlemede, GVL etkisi gösteren doğal öldürücü (Natural Killer, NK) hücrelerin rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmanın amacı, allojenik kök hücre nakli yapılmış hastalarda, nakil sonrası rekonstitüte olan NK hücre KIR-olmayan reseptörlerinin, zamana göre ekspresyonlarının nasıl değiştiğinin gösterilmesidir.

Materyal ve metod: Bu amaçla, Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi Kemik İliği Nakli Merkezi'nde allojenik kök hücre nakli kararı alınan 20 hasta çalışmaya alınmıştır. Bu hastalardan nakil öncesi hazırlık rejimi başlanmadan hemen önce (0. gün) ve nakil sonrası 30, 100 ve 180. gün periferik kan örneği alınarak analiz edilmiştir. Hastalardan toplanan kan örneklerinden periferik kan mononükleer hücreleri izole edilmiş ve bunu takiben NK hücreleri üzerindeki NKG2A, NKG2C, NKG2D, NKp46, NKp30, NKp44, ILT-2, ILT-4 reseptör ekspresyonları akım sitometri yöntemi ile belirlenmiştir. Burada 180.gün örnekleri tamamlanan 5 hastanın sonuçları verilmiştir.

Bulgular: NKG2A reseptör ekspresyonu 0 ve 30. günlere göre 180. günde azalmıştır ($p<0.05$). NKG2C reseptör ekspresyonu nakil öncesine göre 180. günde istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0.05$). NKG2D ekspresyonun ise 180. günde 0, 30 ve 100. günlere göre artış göstermiştir ($p=0.0016$). Nkp30 ekspresyonu 0 ve 30. güne göre 180. günde azalmıştır ($p<0.0001$). Nkp44 ekspresyonu 30. güne göre 180 günde azalmıştır ($p=0.0173$). ILT2 ve ILT4 ekspresyonlarının ise 30. güne göre 180. günde artmış olduğu saptanmıştır($p=0.0036$).

Sonuç: Bu reseptörlerin ekspresyon düzeylerindeki değişimlerin GVL etkisi ve GVHD ile ilişkisinin ortaya konması nakil prognozu hakkında bilgi verebilir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Bu proje Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:19934



PANKREAS KANSERİ KÖK HÜCRELERİNDE BETA-2-MİKROGLOBULİN EKPRESYONUNUNDA EPİGENETİK DÜZENLEMENİN ARAŞTIRILMASI

MELEK GÜNİNDİ KORKUT[1], FÜSUN ÖZMEN [1]

[1]*HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ KANSER ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*

Amaç: HLA molekülleri ve antijen sunum mekanizmasında görevli bileşenler, tümör hücreleri ve T hücreleri arasındaki etkileşimde anahtar role sahiptir. Histon deasetilaz inhibitörleri günümüzde kanser çalışmalarında epigenetik modifikasyonların düzenlenmesi amacıyla araştırılmaktadır. Bu çalışmada pankreas kanseri kök hücrelerinde beta-2-mikroglobulin ekspresyonun epigenetik olarak düzenlenip düzenlenmediğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Pankreas kanseri ile ilgili olarak yaptığımız in siliko analizlerde pankreas kanseri kök hücrelerinde beta-2-mikroglobulin ekspresyonunun azaldığı ve epigenetik düzenleme ile ilişkili gen ekspresyonlarının arttığı görülmüştür. Pankreas kanseri hücre dizisi Panc1 hücreleri ile yapılan optimizasyon çalışmalarında 24, 48 ve 72 saat boyunca 5 µM, 10 µM ve 20 µM dozlarında selektif bir HDAC3 inhibitörü olan RGFP966 ile muamele edilmiş ve hem histon3 asetilasyon miktarı hem de hücre canlılıkları değerlendirilmiştir. Panc1 hücreleri 96 kuyucuklu kültür kaplarına ekilmiştir. 24 saat sonra 10 µM dozunda ilaç uygulanmıştır. 48 saat sonra kanser kök hücrelerinde asetil H3 ve beta-2-mikroglobulin ekspresyonları akım sitometri tekniği ile belirlenmiştir.

Bulgular: Yapılan analizlerde CD133+ Panc1 ve EpCAM+CD44+ Panc1 hücrelerinde ilaç uygulanan gruplarda ilaç uygulanmayan gruplara göre asetil H3 ekspresyonlarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görülmüştür ($p<0.001$). Aynı zamanda kanser kök hücre yüzdeleri her iki kök hücre türünde de ilaç uygulanan grupta ilaç uygulanmayan gruba göre azalmıştır fakat bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Beta-2-mikroglobulin ekspresyonları değerlendirildiğinde CD133+ Panc1 ve EpCAM+CD44+ Panc1 hücrelerinde ilaç uygulanan gruplarda beta-2-mikroglobulin ekspresyonlarının arttığı fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir.

Sonuç: Sonuçta selektif HDAC3 inhibitörü olan RGFP966'nın pankreas kanseri kök hücrelerinde kök hücre yüzdesini azalttığı görülmüştür. Beta-2-mikroglobulin ekspresyon düzeyleri için muamele süresi arttırılarak deneylere devam edilmektedir.



NAİVE T LENFOSİTLER VE AKTİVE EDİLMİŞ T LENFOSİTLERİN MERKEZİ SİNİR SİSTEMİ VE PERİFERİK MİGRASYONU

MELİKE ÇAKAN ERCAN [1], SILA ULUTÜRK [2], SÜLEYMAN CAN ÖZTÜRK [2], NAZİRE PINAR ACAR ÖZEN [1], GÜNEŞ ESENDAĞLI [2], ASLI TUNCER [1]

[1] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ NÖROLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*
[2] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEMEL ONKOLOJİ ANABİLİM DALI, ANKARA*

Giriş: Her açıdan sağlıklı bir merkezi sinir sisteminde (MSS) T-lenfositlerin kan beyin bariyerini geçtiği bilinmektedir. Bu hücrelerin parankime yönelimleri merak konusudur. Deneysel Otoimmün Ensefalomiyelit (DOE) ile yapılan çok sayıda preklinik çalışmada, periferde miyelin antijenlerine karşı aktive edilmiş T-lenfositlerin MSS'e geçtiği bildirilmiştir.

Amaç: Sağlıklı bir sistemde, periferik inflamasyon varlığında ve merkezi sinir sistemde inflamasyon yok iken nonspesifik aktive edilmiş T-lenfositlerin MSS'e yönelimi artabilir. Bu çalışmanın amacı nonspesifik sinyaller ile aktive olmuş T lenfositlerde MSS'e yönelimde değişiklik olup olmadığının çalışılmasıdır.

Yöntem: C57BL/6, 6-7 haftalık, 18 – 20 gr ağırlığında, sağlıklı dişi fareler %0.2'lik kuprizon ile hazırlanmış pellet ile 8 hafta beslendikten sonra sakrifikasyon yapıldı. Beyin, omurilik, dalak, karaciğer, kalp, akciğer ve böbrek diseksiyonu yapıldı. Önce görüntüleme cihazı altında T hücrelerin hangi organda ne kadar toplandığı incelendi. Ardından her organ için akım sitometri ile o organdaki T hücrelerin analizi yapıldı.

Sonuç: Sağlıklı farelere T hücre enjeksiyonu yapıldığında, aktive T lenfositlerin organlarda naive T lenfositlerden daha fazla biriktiği görüldü. Özellikle beyin ve omurilikte birikimleri diğer organlardan fazla idi. Ancak immünfloresan görüntülemede beyin parankimine T hücre geçişinin olmadığı görüldü. %0.2'lik kuprizon ile beslenen ancak T hücre enjeksiyonu yapılmayan hayvanlarda demiyelinizasyon gerçekleştiği saptandı. %0.2'lik kuprizon ile beslenen hayvanlara T hücre enjeksiyonu yapıldığında, beyin ve omurilikte toplanan T-lenfosit miktarının arttığı saptandı.

Tartışma: Merkezi Sinir Sisteminde salt kuprizon uygulaması ile, kliniğe yansımayan ancak histopatolojik olarak gösterilebilecek düzeyde demiyelinizasyon gerçekleşmiştir. Sağlıklı farelerde yapılan T hücre enjeksiyonu ile beyin veya omuriliğe T hücre geçişi gösterilememiştir. Ancak kuprizon ile beslenerek intrinsik hasar oluşturulan farelerde, periferal non-spesifik olarak prolifere ve aktive olmuş T hücreler ile demiyelinizasyonun arttığı ve beyne T hücre geçişi olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlarla, demiyelinizasyona açık hale gelmiş bir beyinde nonspesifik bir periferik immün indüksiyonun bile hastalık oluşturmaya yatkın olabileceği sonucuna varılmıştır.



PEDİATRİK COVID-19 HASTALARINDAN İZOLE EDİLEN HÜCRE DIŞI VEZİKÜLLERİN MONOSİT VE CD4+ T HÜCRELERİNDEKİ BAĞIŞIKLIK YANITLARI

PINAR GÜR ÇETİNKAYA [1], İREM FATMA ABRAŞ [1], İREM EVCİLİ [2], TUĞÇE YILDIRIM [2], YASEMİN CEYLAN [1], EMRE MERT İPEKOĞLU [3], BAŞAK KAYAOĞLU [3], AYŞEGÜL AKARSU [4], MUZAFFER YILDIRIM [2], TAMER KAHRAMAN [1], FEHİME KARA EROĞLU [1], ALİ BÜLENT CENGİZ [5], ÜMİT MURAT ŞAHİNER [4], BÜLENT ENİS ŞEKEREL [4], YASEMİN ÖZSÜREKÇİ [5], ÖZGE SOYER [4], İHSAN GÜRSEL [2]

[1] *BİLKENT ÜNİVERSİTESİ, ANKARA*
[2] *İZMİR BİYOTIP VE GENOM MERKEZİ, DOKUZ EYLÜL TIP FAKÜLTESİ, İZMİR*
[3] *ORTADOĞU TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, BİYOLOJİ BÖLÜMÜ, ANKARA*
[4] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, PEDİATRİK ASTIM VE ALERJİ BÖLÜMÜ, ANKARA*
[5] *HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ, PEDİATRİK ENFEKSİYON HASTALIKLARI BÖLÜMÜ, ANKARA*

Giriş: Coronavirüs hastalığı etkeni SARS CoV-2, pandemi süresince milyonlarca insanı enfekte etmiştir. Astım, pek çok kronik hastalık gibi COVID-19 için risk faktörü olarak gösterilmişti. Literatürde, astım ve COVID-19 ilişkisini gösteren çalışmalar bulunurken, immünolojik açıdan önemli olduğu gösterilen plazma kaynaklı hücre dışı keseciklerin (extracellular vesicles; EVs) astımı olan COVID-19 hastalarındaki rolleri bilinmemektedir.

Materyal ve Metodlar: Bu çalışmada astımı olan ve olmayan COVID-19 pediatrik hastaların plazmasından elde edilen EVlerin immünolojik rolleri değerlendirildi. EVler, 13 sağlıklı kontrolden ve astımı olan/olmayan akut ve iyileşme dönemlerindeki 104 şiddetli/hafif COVID-19 pediatrik hastadan izole edilerek sağlıklı PBMCler, saf CD4+T hücreleri ve monositlerle inkübe edildi. Plazma sitokinleri (IFNγ, IL2, TNFa, IL4, IL5, IL13, IL10, IL6, IL17A, IL17F, IL9, IL22),

Bulgular ve Tartışma: Anti-RBD, Anti-N, Anti-S immünoglobulin A, G, M düzeyleri ve EV protein miktarları astımı olan ve olmayan gruplarda benzerdi. COVID-19 şiddetine göre gruplandırdığımızda, ağır akut hasta plazmalarında daha fazla EV ($p<0,001$) olduğunu, tüm sitokinlerin ağır hastalarda arttığını, ancak IFNγ'nın azaldığını gözlemledik. Ayrıca, CD4+T ($p=0,035$) ve B lenfositler ($p=0,0003$), monosit ($p=0,0079$) ve plasmositoid dendritik hücreler ($p<0,0001$) ağır akut hastalarda azalmıştı. COVID-19 hasta PBMC'lerini SARS CoV-2 peptid havuzu ile uyardığımızda, yine IFNγ'nın ağır hastalarda hafif hastalara göre daha az üretildiğini, IL13, IL10 ve IL17A'nın ise daha fazla olduğunu gösterdik. Sonuçlara göre, ağır hastalar hafif kliniği olanlara göre immünsüpresif bir pattern sergilemekteydi. Ağır akut hastaların EVleri, Th1 (PBMCler için $p<0,0001$, naïve CD4+T hücreleri için $p=0,0039$), Th17 hücrelerini (PBMCler için $p<0,0001$, naïve CD4+T hücreleri için $p=0,047$) ve IFNγ salınımını baskılarken, Th2 (PBMCler için $p=0,0003$, naïve CD4+T hücreleri için $p=0,017$), Treg hücrelerini ve PDL1 ifadesini (PBMCler için $p<0,0001$, naïve CD4+T hücreleri için $p=0,013$) artırmıştı. Hasta EVlerinin, monositlerin inflamatuvar M1 yönüne doğru farklılaşmasını ve proinflamatuvar sitokin üretimini baskıladığı görüldü (hafif hasta EVleri için $p<0,001$, ağır hasta EVleri için $p=0,0025$). Tüm bu etkiler ağır hastalarda daha belirgindi ($p<0,0001$). Ayrıca, ağır akut hasta EV'leri, inkübe edildikleri sağlıklı CD4+T hücre ($p=0,043$) ve monosit ($p=0,033$) popülasyonlarını azaltmıştı.

Sonuç: Sonuç olarak, mmün yanıtlar ve EV ilkişkili sonuçlar, astım varlığı ile değil COVID-19un şiddetine göre farklılık göstermekte olup ağır akut hastalarda immün süpresif bir pattern gözlemlenmiştir. Çalışmamıza göre plazma kaynaklı EVlerin, enfeksiyonun erken evresinde, özellikle ağır hastalarda görülen immünsüpresif yöndeki cevaba katkı sağlıyor olabileceğini düşünmekteyiz.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK), Proje Numarası: SBAG-115S837, SBAG-116S602



İMMÜN YAŞLANMANIN İMMÜN HÜCRELER ÜZERİNE ETKİSİ

SAHAND GHADİMİ [1] FARHAD KOHANSAL [1] NİLSU İZGİ [1] SEMA BİLGİÇ GAZİOĞLU [1]

1AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ, İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI, İSTANBUL

Amaç: İmmün sistem ilerleyen yaşla beraber tüm vücut sistemlerinde olduğu gibi yaşlanır ve buna bağlı değişiklikler göterir. İmmünosens veya İmmüno-aging olarak adlandırılan bu durum yaşla birlikte azalan bağışık yanıt, bulaşıcı patojenlere karşı artan duyarlılık, otoimmünite ve zayıf aşı yanıtları ile ilişkilendirilmiştir. Yaşlanmanın immün sistem üzerine etkileri, timus ve kemik iliğindeki T ve B hücreleri ve sekonder lenfoid dokulardaki olgun lenfositlerin fonksiyonlarının farklı düzeylerde azalması ile kendini belli eder. Çalışmamız, sağlıklı bireylerde yaşlanmaya bağlı olarak lenfosit popülasyonlarındaki değişimleri göstermeyi amaçlamıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmamıza, 20 ile 65 yaş aralığında (n=56) kronik ve otoimmün hastalığı olmayan, son 3 ay içinde enfeksiyon geçirmemiş ve ilaç kullanmayan sağlıklı bireyler dahil edildi. Periferik kan örneklerinden yapılan kan sayımını takiben PBMC'lerdeki T, B ve NK değişimini gösterebilmek için hücreler floresan işaretli (CD3, CD19, CD16-56, HLA-DR, CD57, CD16, CD27, CD18, CD11a, CD11b ve CD11c) monoklonal antikorlar ile isaretlendi. Hücre belirteçlerindeki % değişimler Akan Hücre Ölçer ile değerlendirildi. İstatistik değerlendirmelerde ANOVA ve Student t testi kullanıldı. $P<0.05$ anlamlı fark olarak değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmamızda, artan yaşla beraber NK hücre belirteci olan CD16, CD16-56 ve CD57 ifadelerini anlamlı olarak düşük saptadık (sırasıyla; p=0.032, p=0.028, p=0.012,). $CD3^+$ NK hücreleri olan NKT hücrelerini ise anlamlı yüksek saptadık (p=0,038). $CD45RO^+$ hafıza hücrelerini anlamlı yüksek bulduk (P=0.045). Adezyon molekülü olan CD11c/CD18 ifadesini de anlamlı olarak yüksek saptadık (P=0.047).

Sonuç: Bütün bunların ışığında, yaşa bağlı immün sistem hücrelerindeki değişikliklerin yaşlanmayla beraber patojenlere, aşılara, tekrarlayan enfeksiyonlara verilen cevaptaki farklılıkların nedenini ortaya koyabilmektedir. Yaşlanma karşıtı bağışıklığı hedefleyici tedaviler, sağlıklı yaşam süresini iyileştirmek için güçlü bir yaklaşım olabilir.

Destekleyen Kuruluş (Kurum, proje numarası vb.): Proje Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü / İmmünoloji Anabilim Dalı laboratuvarının imkanları ile yapılmıştır.

TÜRK
İMMÜNOLOJİ
DERNEĞİ