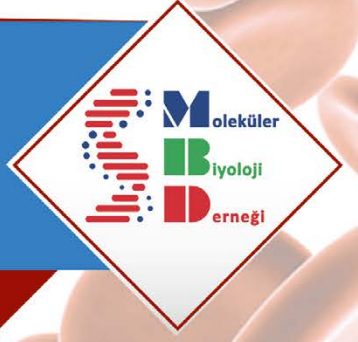


İMMÜNOLOJİDE MOLEKÜLLER SEMPOZYUMU



18 - 21 Ekim 2018

Paloma Pasha Resort - Özdere / İzmir



SEMPOZYUM KİTABI

www.immunoloji.org

HOŞ GELDİNİZ

Sevgili İmmünologlar ve Moleküler Biyologlar,

Türk İmmünoloji Derneği ve **Moleküler Biyoloji Derneği** iş birliğiyle düzenlenmekte olan **İmmünolojide Moleküller Sempozyumu**'na hoş geldiniz!

Sempozyum boyunca **Doğal Bağışıklık, Edinsel Bağışıklık, Primer İmmün Yetersizlikler, Sitokinler, Kanser İmmünolojisi, Kanser Moleküler Biyolojisi ve İmmün Yanıt** konulu oturumlarda hem Türkiye'nin önde gelen araştırmacılarının güncel sonuçlarını, hem de genç araştırmacılarımızın sunacağı bildirileri tartışma imkanı bulacağız. Bunun yanı sıra düzenlenecek olan, **"Nöroimmünolojide Otoantikolar", "Akan Hücre Ölçer", "Makale Nasıl Yazılır?"** ve **"Klinik Biyoenformatik Analiz"** konulu akşam kursları sayesinde teorik bilgilerinizi güncelleme ve deneysel pratik yapma imkanı siz katılımcılara sunmayı amaçlamaktayız.

Doyurucu bir bilimsel ve sosyal program çerçevesinde hazırlanan bu sempozyum siz değerli meslektaşlarımızın aktif katılımıyla başarıya ulaşacaktır. Sizlerin de katkılarıyla, İmmünoloji ve Moleküler Biyoloji alanlarında çalışan araştırmacı ve öğrencileri bir araya getiren, disiplinler arası etkileşimin en üst düzeyde olacağı, ufuk açıcı bir toplantı geçirmeyi amaçlamaktayız.

İmmünoloji ve Moleküler Biyoloji alanlarındaki güncel gelişmelerin yanı sıra çeşitli eğitsel kurslara, uzman panellerine ve doyurucu bir sosyal programa erişim imkanı sunacak olan bu sempozyumda araştırmacı ve öğrencilerimizin çalışmalarını tartışarak yeni iş birliklerine adım atmalarını umut ediyoruz.

Hepiniz tekrar hoş geldiniz!

KURULLAR

Sempozyum Eş Başkanları

Günnur Deniz
Nesrin Özören

Bilimsel Sekreteryaya

Tolga Sütü

Bilimsel Kurul

Barbaros Oral
Güher Saruhan Direskeneli
İhsan Gürsel
Gizem Dinler Doğanay
Umut Şahin
Batu Erman
Duygu Sağ
Ceren Çıracı

BİLİMSEL PROGRAM

18 Ekim 2018, Perşembe

SALON A

11:00 - 13:30	Kayıt
13:30 - 14:00	Açılış Konuşmaları Günnur Deniz (İstanbul Üniv.), Nesrin Özören (Boğaziçi Üniv.)
14:00 - 15:30	Açılış Konferansı <i>Moderatörler: Günnur Deniz, Barbaros Oral</i> Kilit Taşlarım - Dicle Güç (Hacettepe Üniv.) Enfeksiyon ve Primer İmmün Yetersizlikler - Yıldız Camcıoğlu (İstanbul Üniv.)
15:30 - 16:00	Kahve Molası
16:00 - 17:30	Oturum 1: Primer İmmün Yetersizlikler <i>Moderatörler: Yıldız Camcıoğlu, Ömür Ardeniz</i>
16:00 - 16:30	Yeni Bir İmmün Yetersizlik: CHAPLE Hastalığı - Ahmet Özen (Marmara Üniv.)
16:30 - 17:00	Primer İmmün Yetersizliklere Laboratuvarından Bakış: Aziz Sancar DETAE Bulguları - Suzan Adın Çınar (İstanbul Üniv.)
17:00 - 17:15	Kısa Sözel Sunum 1 NEMO Eksikliği Hastasında Enflamasyon Bulgularının Fonksiyonel Testlerle Araştırılması Naz Sürücü
17:15 - 17:30	Kısa Sözel Sunum 2 Yaygın Değişken İmmün Yetersizlik Benzeri Semptom Gösteren Hastada TLR'ye Bağlı İmmün Cevaplar İrem Evcili
18:00 - 19:00	Açılış Kokteyli (Safran Restoran / Asansör ile -1. Kat)

19 Ekim 2018, Cuma

SALON A

09:00 - 10:30	Oturum 2: Doğal Bağışıklık <i>Moderatörler: Nesrin Özören, Arzu Aral</i>
09:00 - 09:30	Eozinofil Hücre Fonksiyonlarının NLRC4 İnflamazomuna Bağlı Regülasyonu - Ceren Çıracı (İstanbul Teknik Üniv.)
09:30 - 10:00	NK Hücre Aktivasyonunda İmmün Kontrol Noktaları - Esin Çetin Aktaş (İstanbul Üniv.)
10:00 - 10:15	Kısa Sözel Sunum 3 Hymenoptera Venom Allerjisi Hastalarda Komponent Bazlı Diyagnostik Testin (CRD) Tanıya Katkısı Fatma Betül Öktemlik
10:15 - 10:30	Kısa Sözel Sunum 4 NK Hücrelerinde Lentiviral Gen Aktarımına Karşı Verilen Doğal Bağışıklık Cevaplarının CRISPR Genom Susturma Kütüphaneleri ile Tespit Edilmesi Aydan Saraç Derdiyok
10:30 - 11:00	Kahve Molası

19 Ekim 2018, Cuma

SALON A

11:00 - 12:30

Oturum 3: Edinsel Bağışıklık

Moderatörler: Güher Saruhan Direskeneli, Batu Erman

11:00 - 11:30

Fukozilasyonun T Hücre Gelişimindeki Önemi - Mehmet Yabaş (Trakya Üniv.)

11:30 - 12:00

İnsan Embriyogenezinde NLRP7'nin Rolü - Nesrin Özören (Boğaziçi Üniv.)

12:00 - 12:15

Kısa Sözel Sunum 5

Edinsel Bağışıklık Cevabının Düzenlenmesinde Nod-Benzeri Reseptör 11 (NLRP11)'in Moleküler Genetik Karakterizasyonu

İrem Özel

12:15 - 12:30

Kısa Sözel Sunum 6

ASC Zerrecikleri Kullanılarak Yeni Çağ Aşılama

Aylin Alkan

12:30 - 14:00

Öğle Yemeği

14:00 - 15:30

Oturum 4: Sitokinler

Moderatörler: Vedat Bulut, Günnur Deniz

14:00 - 14:30

Hastalıkta ve Sağlıkta Tip 1 İnterferonlar - Mayda Gürsel (Orta Doğu Teknik Üniv.)

14:30 - 15:00

Kanserde İmmün Kontrol Noktaları ve IFN-gamma - Güneş Esendağlı (Hacettepe Üniv.)

15:00 - 15:15

Kısa Sözel Sunum 7

CXCL Kemokinlerden Türevlenen Küçük Peptit Moleküllerinin Yeni ve Özgün Algoritmalar Kullanılarak Tasarlanması ve İmmün Modülatör Etkileri

Diğdem Yöyen Ermiş

15:15 - 15:30

Kısa Sözel Sunum 8

Sfingozin 1 Fosfat Reseptör 1 İnsan ve Fare İnnate Lenfoid Hücrelerinin Sitokin Üretimini, Doku Dağılımını ve Kemotaksisini Düzenler

Fatma Zehra Okuş

Deneysel ve Teorik Uygulama Kursları

Kurs 1 - "Nöroimmünolojide Otoantikorlar" Uygulamalı IFA (Euroimmun)

15:00 - 18:00

15:00	Açılış
15:00 - 15:50	Sinir Sistemi Hastalıklarının Tanısında Antikor Temelli Biobelirteçler Erdem Tüzün (İ.Ü. Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü)
15:50 - 16:00	Ara
16:00 - 17:00	Nörolojik Antikorların IFA Yöntemi ile Tayini - Teori ve Vaka Örnekleri Tutku Taşkınoğlu (Düzen Laboratuvarlar Grubu)
17:00 - 18:00	IFA Slaytlarının Değerlendirilmesi – Pratik

19 Ekim 2018, Cuma

SALON A

Kurs 2 - Akan Hücre Ölçer (Thorvacs & BD)

Oturum Başkanı: Gülderen Yanıkkaya Demirel

19:30 - 20:00 Akan Hücre Ölçer Çalışma Prensipleri
Gülderen Yanıkkaya Demirel

20:00 - 20:30 İmmüfenotipleme
Klara Dalva

20:30 - 21:00 Apoptosis Ölçümleri
Esin Aktaş

21:00 - 21:30 **Ara**

21:30 - 21:45 **NovoCyte Tanıtımı**

21:45 - 22:00 **BD BioSciences Tanıtımı**

Oturum Başkanı: Esin Aktaş

22:00 - 22:30 Hücre İçi Sitokinler, Proliferatif ve Sitotoksik Yanıtın Saptanması
Günnur Deniz

22:30 - 23:00 Fosfoproteinlerin Akan Hücre Ölçerle Saptanması
Tolga Sütlü

23:00 - 23:30 Kapanış
Akan Hücre Ölçer Alt Komitesi Üyeleri

19:30 - 23:30

19:30 - 23:30

Kurs 3 - Makale Nasıl Yazılır? - Batu Erman

19:30 - 23:30

Kurs 4 - Klinik Biyoformatik Analiz (GEN ERA) - Levent Doğanay

20 Ekim 2018, Cumartesi

SALON A

09:00 - 10:30

Oturum 5: Kanser İmmünolojisi
Moderatörler: Dicle Güç, Tolga Sütlü

09:00 - 09:30

Kanserde Fibroblastlar - Gürcan Günaydın (Hacettepe Üniv.)

09:30 - 10:00

Kanserde Makrofaj Polarizasyonu - Duygu Sağ (İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi)

10:00 - 10:15

Kısa Sözel Sunum 9
Meme Kanseri Karşı HER2/Neu ile İndüklenmiş Dendritik Hücre ve Anti-PD-L1 Monoklonal Antikörünün Birlikte Kullanıldığı İmmünoterapi Modelinin in vivo Olarak Araştırılması
Cenk Serhan Ozverel

10:15 - 10:30

Kısa Sözel Sunum 10
TLR3 ve TLR9 Ulaklarıyla Süperparamanyetik Demiroksit Nanoparçacıkları Yüklü Eksozomların Koruyucu Kanser Aşısı Olarak Kullanımı
Muzaffer Yıldırım

10:30 - 11:00

Kahve Molası

20 Ekim 2018, Cumartesi

SALON A

11:00 - 12:00	<i>Yaşam Boyu Aşılamanın Önemi - Selim Badur</i>
12:00 - 14:00	Poster Turu ve Öğle Yemeği
14:00 - 16:15	Oturum 6: Kanser Moleküler Biyolojisi Moderatörler: Gizem Dinler Doğanay, İshak Özel Tekin
14:00 - 14:30	Tümör Baskılayıcı ve Anti-viral PML Proteini ve PML Çekirdek Cisimcikleri - Umut Şahin (Boğaziçi Üniv.)
14:30 - 15:00	Kanser Esansiyel Genlerin Tüm Genom CRISPR-Cas9 Taramalarıyla Araştırılması - Şerif Şentürk (İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi)
15:00 - 15:15	Kısa Sözel Sunum 11 Türkiye’de Görülen Ailesel Geçişli Meme Kanserlerinin Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile İncelenmesi Jale Yıldız
15:15 - 15:45	Yaşam Bilimleri Alanında İkili ve Çoklu İş Birliklerine Dayalı Uluslararası Destek Programları Dr. Jale Şahin (TÜBİTAK - Uluslararası İşbirliği Daire Başkanlığı, İkili ve Çoklu İlişkiler Müdürlüğü)
15:45 - 16:15	ERC Hibe Programları (TÜBİTAK Destekleri, Destek Programları Hk.) Dr. Derya Dönertaş (TÜBİTAK - Uluslararası İşbirliği Daire Başkanlığı, İkili ve Çoklu İlişkiler Müdürlüğü)
16:15 - 16:30	Kahve Molası
16:30 - 18:00	Oturum 7: İmmün Yanıt Moderatörler: Barbaros Oral, Gülderen Yanıkkaya Demirel
16:30 - 17:00	Rejeksiyon Tanısında Moleküler Biyomarkerlar - Jülide Duymaz Tozkır (Trakya Üniv.)
17:00 - 17:30	Kızamık Virüsüne İmmün Yanıt - Sibel Penbe Yentür (İstanbul Üniv.)
17:30 - 17:45	Kısa Sözel Sunum 12 Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Hasarına Bağlı İnflamasyonda, Karaciğer ve Uzak Organlarda Endoplazmik Retikulum (ER) Stresinin Rolü Erkan Ermis
17:45 - 18:00	Kısa Sözel Sunum 13 Kollajen ile İndüklenen Artrit Fare Modelinin, Genetik Olarak Modifiye Edilmiş Tolerojenik Dendritik Hücre (tolDH) ile Tedavisi İzel Yılmaz
21:00	Kapanış Partisi

21 Ekim 2018, Pazar

SALON A

08:40 - 09:00	Akılcı İlaç Kullanımı - Barbaros Oral (Uludağ Üniv.)
09:00 - 11:00	Panel - Biyoformatik ve Girişimcilik Moderatör: İhsan Gürsel Panelistler: Erşen Kavak (Genomize) / Saliha Durmuş (PHI Tech) / Levent Doğanay (GLAB)
11:00 - 11:30	Kahve Molası
11:30 - 12:30	Sunay Akın ile Kapanış Konferansı & Işıl Barlan Başarı Ödülleri Takdimi

POSTER BİLDİRİ LİSTESİ

BİLDİRİ NO	BAŞLIK	SUNUCU
PP-001	Probiyotik Bifidobacterium breve'nin olası TIR domain proteinin klonlanması, rekombinant üretimi ve saflaştırılması	Dicle Dilara Akpınar
PP-002	TLR sinyal iletimi ve bakteriyel TIR proteinler	Burcu Kaplan Türköz
PP-003	Kısa bir toksik probiyotik protein hikayesi	Bahar Bakar
PP-004	Eozinofillerin fonksiyonlarında NLRC4 inflamazom kompleksinin rollerinin incelenmesi	İlgin Akkaya
PP-005	B hücreli akut lenfoblastik lösemide doğal öldürücü hücrelerin rolü	Gülce Özçit Gürel
PP-006	İnsan doğal öldürücü hücrelerde lentiviral gen aktarımının hücre içi immün dinamiği	Cevriye Pamukcu
PP-007	Hücre içi bağışıklığın baskılanması lentiviral gen aktarımı sırasındaki sapmayı ortadan kaldırıyor	Elif Çelik
PP-008	Ankilozan spondilit ön tanılı hastalarda HLA-B27 ve miyeloperoksidaz ilişkisi	Pınar Kasapoğlu
PP-009	Nöromiyelitis optika mpektrumunda anti miyelin oligodendrosit glikoprotein pozitifliği	Demet Gür Vural
PP-010	Helicobacter-stimüle B Hstim-B hücreleri ile dendritik hücreler arasındaki fonksiyonel etkileşimin Araştırılması	Doğuş Altunöz
PP-011	STING aracılı doğal bağışıklık uyarımlarının patoloji bağlamında karakterizasyonu	Hatice Asena Şanlı
PP-012	ASC proteininin PYRIN ve CARD bölgelerinin polimerizasyon dinamiklerinin yapısal olarak incelenmesi	Hasan Ozan Otaş
PP-013	Adjuvan ve immunoterapi teknolojisi olarak ASC zerrecikleri	Ozen Kaya
PP-014	Multipl Skleroz patogenezinde CD3-CD16+CD56dim NK hücrelerinin fonksiyonel analizi	İlhan Tahralı
PP-015	İVİg'in periferik kan hücre fonksiyonları üzerine etkileri	Büşranur Geçkin
PP-016	DOCK8 defektif HIES hastalarında grup 3 innaten lenfoid hücrelerin sayı ve fonksiyonları bozulmuştur	Şerife Erdem
PP-017	TLR antagonisti A151 ODN'nin immün baskılayıcı mekanizmasının araştırılması	Gizem Kılıç
PP-018	Farede bleomisin ile oluşturulmuş fibrozis modelinin Lipozomal A151 ODN ile tedavisi	Bilgehan İbibik
PP-019	HCV RNA pozitif kronik hepatit C hastalarında otoantikör prevalansı	Rabiye Altınbaş
PP-020	Sistemik sklerozda oksidatif DNA hasarının tandem kütle spektrometri ile değerlendirilmesi ve vitamin D replasmanının hasar parametreleri üzerine etkisinin incelenmesi: pilot bir çalışma	Nazlı Ecem Dal
PP-021	LAG3 ve HLA-DR moleküllerinin yardımcı T hücre aktivasyonu ile ilişkilendirilmesi	Aslı Akın
PP-022	Sürekli uyarım altındaki yardımcı T hücrelerin farklı zaman noktalarında transkriptomik profillerinin ve fonksiyonel karakterlerinin karşılaştırılması	Utku Horzum
PP-023	Çeşitli bitkisel ekstraktların insan periferik kan t ve nk hücre çoğalması üzerine etkileri	Utku Güneş
PP-024	Foliküler yardımcı T (Tfh) hücre alt gruplarının myasthenia gravis gelişimindeki rolü	Merve Çebi
PP-025	Pediyatrik ve erişkin sağlıklı kontrol gruplarında mitojenlerle uyarılmış lenfosit proliferasyon değerlerinin CFSE dilüsyonu yöntemiyle karşılaştırılması	Umut Can Küçüksezer
PP-026	CpG ODN ile adjuvantlanmış Leishmania eksozomlarının Kutanoz Leishmaniasis'e karşı koruyucu aşı potansiyelinin araştırılması	İsmail Cem Yılmaz

PP-027	TCR genlerinin aktarılmasıyla melanoma ile ilişkili antijen tirozinaza spesifik Doğal Öldürücü hücrelerin geliştirilmesi	Ayhan Parlar
PP-028	Sıvı kromatografisi ve kütle spektrometrisi ile biyobenzer ürünlerde intakt protein analizi	Başak Özata
PP-029	Biyobenzer ilaçlarda kütle spektrometrisi ile glikan profili analizi	Lolai Ikromzoda
PP-030	NK hücreleri ve tümör hücreleri arasındaki etkileşimin genetik olarak modifiye edilmiş NK-92 hücreleri kullanılarak haritalandırılması	Didem Ozkazanc Unsal
PP-031	Biyobenzer ürünlerde kütle spektrometrisi ile peptid haritalama analizi	Pegah Zahedimaram
PP-032	Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde immün hücre tiplerinin karakterizasyonu	Gönül Seyhan
PP-033	T hücre yanıtlarının farklı oranlarda nötrofil, monosit ve akciğer adenokarsinom hücreleri içeren ko-kültürlerde değerlendirilmesi	Feyza Gül Özbay
PP-034	Mide ve pankreas kanserinde dalak ve periferik kan granülositik miyeloid-kökenli baskılayıcı hücrelerin fonksiyonel ve fenotipik analizi	Ece Tavukçuoğlu
PP-035	Kolorektal kanser hasta serumlarının T hücre çoğalması üzerine etkisinin araştırılması	Mubaıda Parveen
PP-036	Enflamatuvar ortamda fare meme kanseri hücrelerinde (4T1) immün kontrol noktası PD-L1 inhibisyonunun doksorubisin ile birlikte apoptoza etkisinin araştırılması	Büşra Çakır
PP-037	Kanser antijeniyle ikili ligand yüklü eksozomların terapötik melanoma aşısı olarak kullanımı	Tuğçe Canavar
PP-038	Apoptoz/otofaji kararında yeni bir düzenleyici: BAG-1	Miray Türk
PP-039	Bag-1-Hsp70 etkileşiminin ERAD yolağına etkisinin meme kanseri hücre hattında incelenmesi	Ezgi Baştürk
PP-040	Tümör dokularında sıcak nokta mutasyonlarının tespiti ve serbest tümör DNA'sı kullanılarak karşılaştırılması	Gizem Alkurt
PP-041	Süt çocukluğu döneminde inflamatuvar bağırsak hastalığı nedeni olarak IL-10 reseptör mutasyonu: olgu sunumu	Esra Hazar Sayar
PP-042	Erişkinde kombine immün yetmezlik	Handan Aksoy
PP-043	Primer immün yetmezliklerin genetik defektler yönünden yeni nesil dizileme ile araştırılması	Çağman Tan
PP-044	LRBA eksikliğinde CTLA-4 analogunun (abatacept) lenfosit alt tipleri üzerine <i>ex-vivo</i> etkileri	İsmail Öğülür
PP-045	Rendu-Osler-Weber sendromlu hastada PI3K yolağının TLR tetiklemesine olan etkisi	Naz Bozbeyoğlu
PP-046	Otoimmün bulgular ile seyreden yaygın değişken immün yetmezlik tanısı alan hastalarda HLA Sınıf I ve HLA Sınıf II allellerinin frekansının araştırılması	Begüm Özbek
PP-047	Makrofajlarda neopterin ve IP-10 üretimlerine interlökin-33'ün etkileri	Rahime Aksoy
PP-048	Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarda STAT3 protein ve IL-10 sitokin düzeylerinin araştırılması	Ozden Ozcan
PP-049	Farklı büyüme faktörlerine karşı geliştirilen aptamerlerin yüzey plazmon rezonansı ile seçilmesi	Alp Ertunga Eyüpoğlu
PP-050	HUVEC hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonunda çeşitli büyüme faktörlerinin etkisinin gerçek zamanlı hücre analiziyle ölçümü	Mertkaya Aras
PP-051	Trombosit zengin plazmanın gastrik serozal yüzeydeki neomukoza oluşumuna etkileri: deneysel kemirgen modeli	Pınar Kasapoğlu
PP-052	Kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalarda PRA pozitifliği ile serum IL-17, IL-16, IL-12 ve IL-21 sitokin düzeyleri arasındaki ilişki	Nurten Sayın Ekinci

Sözel Sunumlar

SS-001 [Primer İmmün Yetersizlikler]

NEMO eksikliği hastasında enflamasyon bulgularının fonksiyonel testlerle araştırılması

Naz Sürücü¹, Başak Kayaoğlu¹, Büşranur Geçkin¹, Esin Alpdündar Bulut¹, İhsan Cihan Ayanoğlu¹, Betül Sözeri², Ayça Kıyıkım³, Elif Karakoç Aydınır³, Safa Barış³, Ahmet Özen³, Mayda Gürsel¹

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara ²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ümraniye EAH, Çocuk Romatoloji Kliniği, İstanbul ³Marmara Üniversitesi Hastanesi, Çocuk Alerji ve İmmünolojisi BD, İstanbul

Nuclear Factor (NF)-κB transkripsiyon faktörü pro-enflamatuar yanıtın başlatılmasında merkezi bir role sahiptir. NEMO (NF-κB essential modulator, IKK-γ), IKK (inhibitor of κB kinase) alt birimlerinin (IKKα ve IKKβ) NF-κB transkripsiyon faktörünü etkinleştirmesinde regülatör olarak görev yapmaktadır. NEMO eksikliği, ektodermal displazi ve tekrarlayan enfeksiyonlarla seyreden ve nadir görülen bir primer immün yetersizliğe yol açarken bazı hastalarda enflamatuar bulgulara da rastlanmaktadır. Bu çalışmada; tekrarlayan ateş, perivasküler ve interstisiyal nötrofilik infiltrasyon ile beraber nodüler cilt lezyonları gibi semptomlarla NEMO eksikliği bulguları olan bir hastanın immün parametreleri fonksiyonel testler ve nanostring enflamasyon gen ifade paneli aracılığıyla çalışılmıştır. NEMO eksikliği western blot ile doğrulanan hastanın periferik kan hücreleri ile yapılan çalışmalarda TLR ulakları ve anti-CD3/anti-CD28 aracılı uyaranlara, azalmış pro-enflamatuar sitokin (IL-1β, IL-6, IL-17, IFNγ) yanıtı gözlenmiştir. Ancak, sitozolik DNA ile uyarılan hücrelerden salınan IFNα yanıtının sağlıklı bireylere benzer düzeyde olduğu belirlenmiştir. Periferik kanda özel bir nötrofil grubu olan düşük dansite nötrofil yüzdesi çok yüksek düzeyde olan hastanın Nanostring gen ifade panelinde bu bulguyu doğrulayıcı olarak MMP9 ifadesi de yüksek bulunmuştur. Yolak analizinde IKK ve NF-κB sinyalizasyonundaki genlerin altregüle olduğu görülen hastada Arjinaz-1 gen ifadesinin artması sebebiyle M2 makrofaj fenotipinin dominant olabileceği düşünülmüştür. MX1, IFI44 Tip I interferon ilişkili genlerde de ifade artışı görülmüş, bu sonucu doğrulamak üzere plazma IP-10 düzeyleri sitometrik boncuk teknolojisiyle incelenmiştir. Hasta örneğinde sağlıklı bireylere kıyasla yaklaşık 60 kat fazla IP-10 olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, NEMO eksikliğinde nötrofil dereglasyonundan kaynaklanan enflamasyonların tip I IFN ve düşük dansite nötrofiller sebebiyle olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Düşük dansite granülositler, nanostring, NEMO, primer immün yetmezliği, tip I interferon

SS-002 [Primer İmmün Yetersizlikler]

Yaygın Değişken İmmün Yetersizlik Benzeri Semptom Gösteren Hastada TLR'ye Bağlı İmmün Cevaplar

İrem Evcili¹, Göksu Gökberk Kaya¹, Muzaffer Yıldırım¹, Naz Bozbeyoğlu¹, İhsan Cihan Ayanoğlu², Ömür Ardeniz³, Mayda Gürsel², İhsan Gürsel¹

¹Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara ²Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara ³Ege Üniversitesi, Alerji ve Klinik İmmünoloji Bilim Dalı, Tıp Fakültesi, İzmir

AMAÇ: Doğal bağışıklık sistemi hücreleri patojenleri örüntü algaçlarıyla hızla algılayıp antijenden bağımsız şekilde konağı korumayı yönlendiren sistemdir. Toll benzeri reseptörlerle (TLR), diğer patojene bağlı örüntü tanıma reseptörleri doğal bağışıklık sisteminde önemli rol oynamaktadırlar. Yaygın Değişken İmmün Yetersizlik (CVID), erişkinlerde en sık görülen primer immün yetersizlik durumudur. Bu çalışmada, CVID benzeri semptom gösteren hastanın kanı kullanılarak Nanostring'le gen ifadesindeki değişim, CBA'yla plazma sitokin seviyeleri, TLR yolak uyarımı ve STAT fosforilasyon durumları değerlendirildi.

YÖNTEM: Hasta ve sağlıklıların plazmalarındaki sitokin seviyeleri Th1/Th2/Th17/IP10/IL1β/TNFα CBA kitiyle analiz edildi. Hastanın ve sağlıklıların periferik kanından izole edilen mononükleer hücrelerden elde edilmiş total RNA, Nanostring enflamasyon paneliyle çalışıldı. Hasta eksozomu plazmadan izole edildi ve sağlıklı PBMC'ler 24 saat farklı dozlarda hasta eksozomuyla uyarıldı. Uyarımı takiben, IL1β, TNFα, IL6, IL8, IL10 ve IFNγ seviyeleri ELISA yöntemiyle belirlendi. STAT1/3/5 fosforilasyon durumları, hasta ve sağlıklı PBMC'lerin IFNγ, IL6 ve IL2 ile uyarımıyla analiz edildi. Hastanın PBMC'leri 24 saat Zymosan, p(I:C), LPS, Flagellin, R848, Resiquimod, CpG ODNleri, Nigericin ve ATP gibi TLR ve enflamazom ligandlarıyla uyarılıp; IL4, IL8, IL10, IP10, IFNγ ve pan-IFNα düzeyleri ELISA'yla belirlendi.

BULGULAR: Nanostring ve CBA paneli hasta plazmasındaki IP10 seviyesinin sağlıklılara göre yüksek olduğunu saptadı. Hastanın TLR3 ve TLR7/8 gen ifadesi seviyelerinin sağlıklılara göre düşük olduğu Nanostring'le belirlendi. Hasta eksozomlarının sağlıklı kontroller üzerinde, kişiler arasında farklı immün-düzenleyici etki oluşturduğu gözlemlendi. Sağlıklılara kıyasla hasta CD4+T hücrelerinde STAT1/3 fosforilasyonu gözlemlenmezken Th1 ve Th17 yanıtlarının normal olduğu belirlendi. Fakat, STAT5 fosforilasyonunun hastada sağlıklıya göre fazla olduğu ve artışın Treg hücrelerinden salgılanan IL10 sayesinde düzenlendiği gözlemlendi. Hücre süpernatantlarından çalışılan ELISA sonucunda, hastada sağlıklılara kıyasla TLR2, TLR3, TLR4, TLR5 TLR7/8 ve TLR9 ligandlarına verilen immün yanıtlarında ve sitokin salımında azalma gözlemlendi. Hastada özellikle TLR3 ve TLR7/8 ligandları p(I:C), R848, Resiquimod uyarımından pan-IFNα ve IFNγ seviyelerinin sağlıklılara kıyasla az olduğu belirlendi.

SONUÇ: Disregüle olan TLR yollarının düzenlenmesi CVID hastalarına yeni tedavi imkânları sunabilir.

Anahtar Kelimeler: CVID, Doğal Bağışıklık, İmmün Yetersizlik

Hymenoptera Venom Allerjili Hastalarda Komponent Bazlı Diyagnostik Testin (CRD) Tanıya Katkısı

Fatma Betül Öktelek¹, Ayşe Engin¹, Esin Çetin¹, Betül Ayşe Sin², Aslı Gelincik³, Begüm Görgülü², Şengül Beyaz³, Günnur Deniz¹

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

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara

³İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

Hymenoptera venom allerjisi IgE aracılı, Hymenoptera böcek ailesine ait zehirlere karşı oluşan aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Bazı durumlarda hastalar hangi arı türüne maruz kaldığını bilememekte ve bu durum öyküdeki belirsizlikler ve tedaviye yönelik sorunlar oluşturmaktadır. Sistemik reaksiyon geçiren hastaların yaklaşık olarak %15'inde deri testleri ya da serum spesifik IgE tayini ile hangi arı venomuna gerçek duyarlılık mı yoksa çapraz reaktivite mi olduğu gösterilememektedir. Diğer önemli bir konu olan çift pozitiflik, tek bir tür arı ile maruziyet yaşayan kişilerin yaklaşık %60 kadarında gözlenen önemli bir sorundur. Arı maruziyetine bağlı sistemik reaksiyon geçirmiş kişilerde, deri testlerinde pozitifliğin gösterilememesi ya da çift pozitiflikle karşılaşıldığında hangi tür venom immünoterapi (VIT) ile tedavi seçeneği oluşturulacağı konusunda karışıklıklar yaşanmaktadır. Bu çalışmada sistemik reaksiyon geçirme öyküsü olan ancak mevcut tanı yöntemleri ile uygun VIT başlanılamadığı durumlarda komponent bazlı diyagnostik testlerin (CRD) tanıya olan katkısı araştırılmıştır. Bu amaçla venom immünoterapisi uygulayan 2 farklı merkezden toplam 35 hasta 6 aylık süre için çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar tanı ve tedavi noktasında belirsizlik yaşanan hastalardan seçilmiş ve tüm hastalara venom ekstraktları ile öncelikle prik ve intradermal deri testler uygulanmıştır. CRD tanısı için saklanan serum örnekleri DPA-Dx insect venom 2 kiti kullanılarak çalışılmıştır.

Deney sonuçlarımıza göre 9 hastada her iki arı türüne kesin duyarlılık, 2 hastada vespidlere kesin duyarlılık, bal arısına çapraz duyarlılık ve 6 hastada ise vespide kesin duyarlılık saptanmasına rağmen, bal arısı için bakılan komponent türlerinden hiçbirine karşı duyarlılık saptanmamıştır.

Rekombinant ürünlerin geliştirilmesi yalancı pozitifliklerin azaltılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Hangi immünoterapinin başlanacağı konusunda kararsızlık yaşanan hastalarda rekombinant teknolojiye dayalı testler ile tedavi aşamasındaki sorunlar minimize edilebilecektir. Moleküler tanı yöntemlerinin VIT uygulanacak hasta seçiminde uygun hastaya doğru immünoterapi uygulanmasında büyük oranda yardımcı olması hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: venom allerji, venom immünoterapi, komponent tanı yöntemi, çift allerji, çapraz reaktivite

NK Hücrelerinde Lentiviral Gen Aktarımına Karşı Verilen Doğal Bağışıklık Cevaplarının CRISPR Genom Susturma Kütüphaneleri İle Tespit Edilmesi

Aydan Saraç Derdiyok¹, Ece Canan Sayitoglu³, Alp Ertunga Eyüpoğlu¹, Didem Özkazanç Ünsal¹, Batu Erman¹, Adil Doganay Duru³, Tolga Sütü²

¹Sabancı Üniversitesi Doğa Bilimleri ve Mühendislik Fakültesi, İstanbul

²Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (SU-NUM), İstanbul

³NSU Hücre Terapi Enstitüsü, Nova Southeastern Üniversitesi, Fort Lauderdale, FL, USA

AMAÇ: Doğal Öldürücü Hücre (NK) temelli immunoterapi yöntemleri kanser tedavisinde umut vadeden yaklaşımlardan biridir. NK hücrelerinde lentiviral vektörler ile gen değişimi yapabilmek pratik açıdan oldukça zorlu olduğundan bu geliştirilen yöntemlerin klinikte uygulanabilmesi güçleşmektedir. NK hücrelerinin lentiviral vektör girişini nasıl tespit ettikleri ve sonrasında bu vektörlere karşı hücre içi doğal bağışıklık cevaplarını yöneten sinyal yollarını nasıl tetikledikleri konusunda bilgimiz sınırlıdır. Öte yandan virüslere yönelik hücresele bağışıklık cevapları çoğunlukla doğal virüs enfeksiyonlarında çalışılmış ve gen terapisi perspektifinden viral vektörlere verilen yanıtlar değerlendirilmemiştir.

YÖNTEM: Bu çalışmada CRISPR/Cas9 sisteminin genom düzeyinde uygulanabilirliği kullanılarak viral vektörlere karşı verilen bu hücre içi doğal bağışıklık cevaplarının ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Bu amaçla CRISPR tabanlı, genom ölçekli gen susturma kütüphanesi olan GeCKO1 ve Yeni Nesil DNA Dizileme teknikleri kullanılmıştır.

BULGULAR: Yapılan kontrollü deney kurgusu sayesinde; daha önce başka hücre gruplarında RNA virüslerine karşı aktif olduğu gösterilen RIG-I/MDA-5 aracılı tip 1 interferon sinyal yolağının ve bunun yanında bazı Toll benzeri reseptör(TLR) sinyal yollarının NK hücrelerin viral vektör karşıtı cevaplarında önemli rol oynayan sinyal yolları olduğu gösterilmiştir. Verilerimiz TRL ve RLR aracılığıyla verilen cevabın NK hücrelerine viral vektör girişini olumsuz etkileyen bir faktör olduğunu göstermiştir.

SONUÇ: Bu çalışma sonucunda NK hücrelerine viral vektör girişi sırasında aktif hale gelen sinyal yollarının bir haritasını çıkarmış bulunuyoruz. Bu harita sayesinde gen aktarımı verimini arttırmak üzere hücre içi doğal bağışıklık cevaplarının küçük molekül inhibitörlerle baskılanmasına yönelik hedef moleküllerin tespiti mümkün olmaktadır.

1. Sanjana NE, Shalem O, Zhang F. Improved vectors and genome-wide libraries for CRISPR screening. Nat Methods. 2014;11(8):783-784. doi:10.1038/nmeth.3047.

Anahtar Kelimeler: NK, Doğal Bağışıklık sistemi, Lentiviral vektörler, CRISPR

Edinsel bağışıklık cevabının düzenlenmesinde nod-benzeri reseptör 11 (NLRP11)'in moleküler genetik karakterizasyonu

İrem Özel, Ilgın Akkaya, Ceren Ciraci

İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

AMAÇ: Bu çalışmada, sadece primatlarda ifade edilen ve literatür bilgisi kısıtlı olan NLRP11'in bağışıklık sisteminin işleyişinde oynadığı roller, enflamasyona katkıları ve edinsel bağışıklık sistemini koordine etmede düzenleyici görevleri incelenmiştir. **YÖNTEM:** Model olarak, yüksek oranda NLRP11 mRNA'sı üretmesi nedeniyle; insan Burkitt lenfoma hücresi olan Daudi hücreleri kullanılmıştır. Daudi hücrelerinde endojenöz NLRP11 ekspresyonunu indüklemek için LPS, CD40L, PMA/ionomycine ve adenozin gibi çeşitli uyarımlar test edilmiştir. NLRP11 mRNA ekspresyon düzeyleri kantitatif RT-qPCR ile belirlenirken, protein seviyeleri western blot ile belirlenmiştir. NLRP11'in inflamazom kompleksi oluşturma potansiyelini anlamak amacıyla ASC adaptör proteini ile etkileşimi ko-immünopresipitasyon (Co-IP) analiziyle incelenmiştir. Bu etkileşim sonucunda pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1 β , IL-18) salgılanması ve kaspaz-1 enziminin aktivasyon durumu, sırasıyla ELIZA ve kaspaz-1 enzim aktivasyon deneyleriyle araştırılmıştır. NLRP11'in edinsel bağışıklığı nasıl şekillendirdiğinin belirlenmesi için Daudi hücrelerinde NLRP11 proteini siRNA ile azaltılıp ve/veya adenozin ile indüklenip, kandan izole edilen insan primer CD4+T hücreleriyle birlikte kültür edilmiştir. Bu primer T hücrelerinden salgılanan sitokinler ELIZA ile ölçülmüştür. **BULGULAR:** (1) NLRP11 spesifik olarak 50 μ M adenozin ile stimülasyondan 4 saat sonra hem mRNA hem de protein seviyelerinde anlamlı olarak yaklaşık 2 kat artmaktadır ($p < 0,05$). (2) Adenozin ile artan NLRP11 Daudi hücrelerinde ASC adaptör proteiniyle etkileşmektedir. (3) Daudi hücrelerinden NLRP11 ve ASC etkileşimi sonucunda pro-inflamatuar sitokinlerin hücre dışına salgılanması gerçekleşmemektedir. (4) Adenozin stimülasyonu Daudi hücrelerinde IL-1 β proteininin sitozoldeki ekspresyonunu ve kaspaz-1 enziminin aktivasyonunu azaltmaktadır. (5) NLRP11; Treg ve Th2 yanıtlarında bir değişikliğe sebep olmazken, Th1 ve Th17 yanıtlarını azaltmaktadır ve NLRP11'in siRNA ile susturulması Th1 ve Th17 yanıtlarını anlamlı bir şekilde (sırasıyla $p < 0,001$ ve $p < 0,01$) arttırmaktadır. **SONUÇ:** NLRP11, enflamasyonu ve Th1 ve Th17 gibi edinsel bağışıklık yanıtlarını azaltmaktadır. Bu bulgular NLRP11'in bağışıklık sistemindeki rolleri hakkında aydınlatıcı ve ümit verici bilgiler vermenin yanı sıra, NLRP11'in T hücresi farklılaşma mekanizmasını anlamak için gelecekteki çalışmalara zemin hazırlamakta ve T hücre yanıtı eksikliklerinden kaynaklanan bağışıklık sistemi hastalıklarının tedavisi için yeni hedefler önermektedir.

Anahtar Kelimeler: NLRP11, adenozin, Edinsel bağışıklık, T hücre yanıtı, Daudi

ASC Zerrecikleri Kullanılarak Yeni Çağ Aşılama

Aylin Alkan, Mesut Berber, Seda Yaşa, Alican Sahillioğlu, Nesrin Özören

Apoptoz ve Kansere İmmünoloji Laboratuvarı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Patojen ilişkili moleküler paternler ve tehlikeye bağlı moleküler paternler, sitozoldeki nükleotid bağlanma oligomerizasyonu bölgesi olan NLR protein reseptör ailesi tarafından algılanır. NLRP3 ve AIM2 gibi bazı NLR'ler enflamasyon komplekslerin oluşumunu indükler. CARD (ASC) içeren apoptoz ile ilişkili zerrecik benzeri protein, 22 kDa adaptör proteindir ve prokaspaz-1 ile CARD-CARD etkileşimleri ve NLR'ler arasında pirin-pirin etkileşimleri ile bir köprü oluşturarak enflamatuar ve piroptik sinyal yollarında kritik fonksiyonlara sahiptir. Amaçlanan projenin hedefi, ASC zerreciklerini antijen epitopları ile saflaştırmak ve aşılama sağlamaktır, dolayısıyla ASC zerreciklerini yeni bir taşıyıcı ve/veya adjuvan modalite olarak geliştirmektedir. Uyarılmamış hücrelerde, ASC sitozol içinde çözünür; bununla birlikte, uyarım üzerine, çekirdeğin yakın çevresinde globüler zerre yapıları oluşturur. Bu buluş, antijen-bağlı ASC zerreciklerinin, antijen sunan hücrelere (APC'ler) verilmesini, APC'lerin T hücrelerine antijen sunum kapasitesinin artırılmasını, APC'lerin içine çekilmelerini kolaylaştırmak için antijenlerin boyutunu arttırmayı ve raf ömrünü arttırmayı amaçlamaktadır. Günümüzde influenza dünyadaki en yaygın tehditten biridir, dolayısıyla influenza ile ilgili aşılamanın önemi vurgulanmaktadır. Hemaglutinin, influenza ile ilgili en uygun antijenlerden biridir. Bu nedenle, kuş gribi virüsü antijenik kaplama glikoproteinini "hemaglutinin 5" ile konjuge edilmiş ASC zerreciklerini prototip grip aşısı olarak kullanacağız. Ön çalışmalarımızda, antijen-bağlı ASC zerreciklerini model antijen ovalbumin (OVA), mCherry ve Hemaglutinin 5 proteinlerini ayrı ayrı bağlayarak saflaştırmayı başardık. Saflaştırılmış OVA ve mCherry ASC zerreciklerinin, makrofajlara fagositoz yoluyla beslendiğini belgeledik. Ayrıca, makrofajların saflaştırılmış ASC zerrecikleri ile uyarılmasının hücre içindeki IL-1 β ve TNF-a salgılanmasını önemli ölçüde artırdığını gösterdik. Daha sonra, Hemaglutinin 5 bağlı ASC zerrecikleri kullanılarak immünitenin uyarılması, ASC zerreciklerinin antijen verme kabiliyeti ve adjuvan etkisini göstermek için fareler tarafından canlı içi çalışmalarda kontrol edilecektir. Patentli ASC zerrecik dağıtım sistemimizin yeni çağ aşılama yöntemlerinin geliştirilmesinde yararlı olabileceğini iddia ediyoruz.

Anahtar Kelimeler: enflamasyon, ASC, influenza, aşı

CXCL kemokinlerden türevlenen küçük peptit moleküllerinin yeni ve özgün algoritmalar kullanılarak tasarlanması ve immün modülatör etkileri

Diğdem Yöyen Ermiş^{1,2}, Utku Horzum¹, Güneş Esendağlı¹

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

²Lokman Hekim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Genel bilgi ve Amaç:Küçük peptit molekülleri birçok fizyolojik süreç ve hücreler arası iletişimin düzenlenmesinde görev alır.CXCL kemokinleri immün hücreler ve hasarlı dokular tarafından üretilen proteolitik enzimler ile işlenerek biyoaktif formlarına dönüştürülür.Bu süreç boyunca birçok küçük peptit molekülü açığa çıkar.Bu çalışmada, CXCL kemokinlerden türevlenen kısa peptitler in silico biyoinformatik yaklaşımla belirlenmesi amaçlanmıştır ve bu amaçla çeşitli kriterler oluşturularak ilgili peptitlerin hücreler ile iyi düzeyde etkileşmesi sağlanmıştır.Bu çalışmada, CXCL kemokin moleküllerinden türev alan kısa peptit dizileri yeni ve özgün bir algoritma ile belirlenerek, immün yanıtları modüle edip etmediği yönünde bilgiler elde etmiştir
Yöntem: CXCL kemokinlere ait protein dizileri kullanılarak endopeptidaz kesim bölgeleri, uzunluk, net yük, hidrofobik amino asit oranı (polar ortamda çözünürlük) ve amfipatiklik özelliklerini göz önünde bulunduran ve özgün öğeler barındıran özgün bir algoritma tasarlanmıştır.Küçük peptit moleküllerinin hangi immün hücre ile etkileştiğini belirlemek için aday peptitlere floresan takı eklenerek etkileştiği hücre takip edilmiştir.Tasarlanan peptitlerin hücre içine alım mekanizmalarını ortaya koymak için ise farklı endositoz alım mekanizmalarını bloklamak üzere inhibitörler (Amilorid, kloropromazin hidroklorid ve MB-siklodektrin) kullanılmıştır.Sonuçlar floresan mikroskopi ve akım sitometri kullanılarak değerlendirilmiştir. Peptitlerin fonksiyonel etkilerini araştırmak için PBMC'ler farklı koşullarda (aCD3/aCD28; LPS; allojenik monositik hücreler/aCD3) uyarıldı.Aktivasyon belirteçlerinin (CD80, CD86, CD154, CD25, CD69, HLA-DR) düzeyi ve hücre çoğalması akım sitometri ile değerlendirildi.
Bulgular/Sonuç:Küçük peptit moleküllerinden bazılarının LPS, anti-CD3 ve allojenik miyeloid hücreler veya anti-CD28 ile uyarılmış PKMH'ler üzerinde immün modülatör etkileri görüldü.Özellikle, CD86, CD154, HLA-DR ve/veya CD69 seviyeleri bazı küçük peptit molekülleri varlığında modüle (artış veya azalış yönünde) oldu.Bu peptitlerin hücre proliferasyonu üzerine etkileri de aktivasyon belirteçleri ile korelasyon gösterdi. Küçük peptit moleküllerinin PBMC'lerden özellikle monositik hücreler ile daha iyi etkileşim gösterdiği belirlendi. Küçük peptitlerin hücre içine girerken ortak yolları kullanmanın yanı sıra farklı endositoz yollarını da tercih edebildiği görüldü. Bu da keşfettiğimiz peptitlerin özgünlüğünü destekledi. Böylece, çalışmamızda keşfettiğimiz peptitler ileride farklı modifikasyonlar ile ilaç taşıyıcı ve monositik hücre hedeflenmesinde kullanılmak üzere geliştirilebilecektir.

Anahtar Kelimeler: immün modülasyon, küçük peptit molekülleri, CXCL kemokinleri, monositik hücreler

Sfingozin 1 Fosfat Reseptör 1 İnsan Ve Fare İnate Lenfoid Hücrelerinin Sitokin Üretimini, Doku Dağılımını Ve Kemotaksisini Düzenler

Ahmet Eken¹, Mehmet Fatih Yetkin³, Alperen Vural⁴, Fatma Zehra Okus¹, Şerife Erdem¹ Zehra Büşra Azizoğlu¹ Yeşim Haliloğlu¹, Enes Türkoğlu² Ömer Kılıç², İrfan Kara⁴, Hamiyet Dönmez Altuntaş¹, Mohamed Oukka⁵, Mehmet Serdar Kütük⁶, Meral Mirza³, Halit Canatan¹

¹Erciyes Üniversitesi Tıbbi Biyoloji A.B.D.,Kayseri ²Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK), Kayseri

³Erciyes Üniversitesi Nöroloji A.B.D., Kayseri ⁴Erciyes Üniversitesi Kulak,Burun,Boğaz Hastalıkları A.B.D., Kayseri

⁵Washington Üniversitesi İmmünoloji Bölümü, Seattle ⁶Erciyes Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.B.D., Kayseri

GİRİŞ: Sfingozin-1-fosfat reseptör 1 (S1PR1) T ve B lenfositlerince ifade edilir ve bu hücrelerin sekonder lenfoid organlardan çıkışını sağlar. Bundan hareketle geliştirilen ve bir S1P analogu olan fingolimod Multiple (MS) skleroz hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır.

AMAÇ: Bu çalışmada insan ve fare ILC hücrelerinin fonksiyonel S1P reseptörlerini ifade edip etmediğini ve fingolimod tedavisinin ILC hücrelerinin fonksiyonlarını ve doku dağılımını nasıl etkilediğini anlamayı amaçladık.

YÖNTEMLER: Fingolimod kullanan ve kullanmayan MS hastalarının periferik kandaki ILC miktarları flow sitometri ile karşılaştırıldı. Periferik/cordon kanı ve tonsilden insan ILCleri FACS Aria III ile sort edilip fingolimod ve bir diğer S1P analogu olan SEW271 ile muamele edilip sitokin üretimleri flow sitometri ve ELISA ile ölçüldü. Benzer deneyler fare ILCleri içinde tekrar edildi. Tonsilden sort edilen ILC1 ve ILC3 hücrelerinin SEW271 ve fingolimoda kemotaksisi incelendi.

BULGULAR: İnsan ILC alt gruplarının mRNA düzeyinde S1PR1,2,3,4,5 ifade ettiği ve protein düzeyinde flow sitometri ile S1PR1 ifade ettiği gösterildi. İnsan ILC1 ve ILC3 hücrelerinin in vitro ortamda fingolimod ve SEW271'e doğru göç ettiği ve S1PR1'in major reseptör olarak kullanıldığını gösterdik. Fingolimod tedavisi alan MS hastalarının kanında ILC miktarının azaldığını ve insan ILC'lerinin bu ilaca cevap verdiğini gözlemledik. Benzer şekilde FTY720 enjekte edilen farelerin kanında ILC miktarında azalma ve sekonder lenfoid organlarında birikme gösterildi. Ayrıca FTY720 (fingolimod) ve SEW271 ile muamele edilen ILC3 hücrelerinin imza sitokinlerde (IL-17, IL-22, GM-CSF) azalma gözlemledik. Fingolimod tedavisi alan farelerin bağırsağında ILC3 sayısını azalırken ILC3 ilişkili sitokinler olan IL-17, IL-22 ve GM-CSF ve antimikrobiyal peptitlerde ise bir azalma gerçekleşmedi.

SONUÇ: Bu çalışma fingolimod ve S1P reseptörlerinin insan ILC subsetlerini nasıl etkilediğini araştıran literatürdeki ilk çalışma olup uzun vadeli fingolimod kullanımının ILC subsetleri ve mukozal bariyer yüzeylere etkileri hakkında bilgiler sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: ILC, fingolimod, SEW271, MS

Meme kanserine karşı HER2/neu ile indüklenmiş dendritik hücre bazlı aşı kombinasyonunun anti-PD-L1 monoklonal antikoru ile birlikte kombine immünoterapisi

Genk Serhan Ozverel¹, Y.Uyanıkgil², İsmail Karaboz¹, Ayşe Nalbantsoy³

¹Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bölümü, İzmir

³Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

Bu çalışmada, yeni bir kombinasyon immünoterapi modeli olarak HER2/neu ile indüklenmiş dendritik hücre bazlı aşı kombinasyonunun anti-PD-L1 monoklonal antikoru ile birlikte denemesi ve HER2 pozitif meme kanserine karşı alternatif ve etkili bir tedavi yaklaşımının oluşturulması hedeflenmiştir. Oluşturulan aşı kombinasyonu QS-21 adjuvanı ile desteklenmiştir. Bu aşı sayesinde hem bağışıklık hücrelerinin tümöre karşı tetiklenmesi, hemde tümör hücrelerinin immün sistemden evazyonunun engellenmesi hedeflenmiştir.

Çalışmada 2x10⁶ HER2 pozitif 4T1 hücreleri 6-8 haftalık farelere çalışmanın 0. gününde enjekte edilmiş, ve aşılama prosedürü 1. gün başlayıp; haftada 1 kere toplam 2 hafta boyunca uygulanmıştır. Çalışmada anti-PD-L1 monoklonal antikoru ise 4 gün ara ile toplam 2 kez farelere uygulanmıştır. Çalışma sonunda sakrifiye edilen farelerden tümör boyut ölçümü yapıldıktan sonra tümör, dalak dokuları ile kanı toplanmıştır. Kullanılan aşı kombinasyon etkinliğini belirlemek amacı ile, LDH testi, flow sitometri ile CD8+ T-hücre, IFN γ yanıtı belirleme çalışmaları, ELISA ile HER2 spesifik antikor tayini ile IHC çalışmaları yürütülmüştür.

Çalışmada 4 farklı aşı kombinasyonu denenmiş ve elde edilen bulgulara etkili aşı kombinasyonlarının tümör hacimlerinde anlamlı küçülmeler gözlemlenmiştir. Çalışmada ayrıca LDH testi kullanılarak spesifik sitotoksik etki bakılmış, ve yine en etkili kombinasyon olan DC+HER2/Neu+QS-21+anti-PD-L1 kombinasyonu 24 saat gibi kısa bir inkünasyon sonucunda %35 hücre ölümüne neden olmuştur. Uygulanan aynı formülasyona ait fare grubundan alınan kan serum örneklerinde anti-HER2 antikor titresi anlamlı bir şekilde yüksek çıkmış, ve bu gruba ait total CD8+ T-hücre popülasyonu ile IFN- γ salgılayan CD8+ T-hücre popülasyonunda anlamlı farklar elde edilmiştir. Bunun yanı sıra CD4+, CD8+ ve CD61+ hücre popülasyonlarının bakıldığı immünohistokimya çalışmaları ile elde edilen bulgular konfirme edilmiş, en etkili formülasyon olarak bulunan gruba ait tümör kesitlerinde immün hücre popülasyonunda diğer gruplara göre artış olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda, hem aktif hem pasif immünitenin birlikte kullanıldığı bu immünoterapötik yaklaşımın günümüz kanser tedavi yaklaşımlarına katkı sağlayabileceği ve alternatif bir yaklaşım olabileceği gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: HER2, immünoterapi, Dendritik hücre, PD-L1, meme kanseri

TLR3 ve TLR9 ulaklarıyla süperparamanyetik demiroksit nanoparçacıkları yüklü eksozomların koruyucu kanser aşısı olarak kullanımı

Muzaffer Yıldırım, İrem Evcili, Naz Bozbeyoğlu, Gökberk Kaya, Gamze Aykut, Gözde Güçlüler, İhsan Gürsel
Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara

AMAÇ: Eksozomlar tüm hücreler tarafından ortama salınan doğal nanokesecekler olup ilaç, nükleik asit veya aşı taşıyıcı sistemler olarak geliştirilmesi dikkat çekmektedir. Bunun yanında nanopartiküller düşük toksisite ve biyoyumlulukları sayesinde daha iyi terapötik sonuçlar elde etmeyi amaçlayan ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımına yönelik kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır. Bu çalışma, süperparamanyetik demiroksit nanopartikülleriyle (FeO-NP'ler) TLR ligandlarının birlikte eksozomlara dışarıdan yüklenmesi için basit bir yöntem sunarken, bu modifiye eksozomları kanser aşısı olarak kullanım potansiyelini de irdelemektedir. **YÖNTEM:** FeO-NP, TLR3, TLR9 ligandlarıyla yüklü ve yüklenmemiş eksozomların hücre içine alınım seviyeleri ve immün uyarıcı etkileri RAW264.7 fare makrofaj benzeri hücre hattı ve dalak hücrelerinde değişik zaman aralıklarında ve dozlarda analiz edildi. Ayrıca, FeO-NP'ler ve TLR ligandları ile yüklenen eksozomların terapötik etkinliği (örn. Exo (pl:C+CpG+FeO-NP)) hu-HUH7 zenograftı yapılmış atimik farelerde test edildi.

BULGULAR: FeO-NP yüklü eksozomların hücre içine alımı yüklenmemiş eksozomlara kıyasla, RAW 264.7 makrofaj hücre hattında 10 kat, dalak hücrelerinde 3 kat artmıştır. Ayrıca, FeO-NP'lerin CpG ODN ile birlikte eksozomlara yüklenmesi, FeO-NP içermeyen CpG ODN yüklenmiş eksozomlara kıyasla, ODN'nin hücrelere alınımı önemli ölçüde artırmıştır. Beklendiği gibi, Exo(CpG+FeO-NP) ile muamele edilmiş splenositler, Exo(CpG) grubuna kıyasla daha yüksek miktarda IL-12 ve IFN γ üretimine yol açtılar. Son olarak, farelere HUH7 hücrelerinin zenotransplantasyonu gerçekleştirildi ve tümör oluşumunun 100mm³ düzeyine ulaşması beklendi. Daha sonra 3 gün arayla 3 kez Exo(pl:C+CpG+FeO-NP) ile tedavi edilen tümürlü hayvanlarda, serbest karışımla veya salınla tedavi edilen gruplara kıyasla tümör boyutunda önemli ölçüde gerileme gözlemlendi. Eksozomal terapötik aşı verildiğinde, farelerdeki tümör boyutunun tedavi görmeyen hayvanlara kıyasla %70 oranında küçülme gözlemlendi.

SONUÇ: Sonuç olarak bu çalışma, FeO-NP'lerin TLR ligandları ile birlikte eksozomlara yüklenmesinin terapötik etkisi yüksek, hedef odaklı eksozomlar geliştirmekte etkili bir teranostik yaklaşım olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Eksozom, Teranostik, Kanser İmmünoterapi, TLR Ligand, Süperparamanyetik demiroksit nanoparçacıklar

Türkiye’de Görülen Ailesel Geçişli Meme Kanserlerinin Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile İncelenmesi

Jale Yıldız¹, Gizem Alkurt¹, Tuğba Kızıloğa Akgün¹, Elifnaz Çelik¹, İzzet Akçay⁴, Fikret Ezberci², Levent Doğanay³, Gizem Dinler Doğanay¹

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

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ümraniye Eğitim Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Ümraniye, İstanbul

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ümraniye Eğitim Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji ve Hepatoloji Kliniği, Ümraniye, İstanbul

⁴GLAB (Genomik Laboratuvar), İstanbul Kuzey Kamu Hastaneleri Genel Birliği, Ümraniye & Maslak, İstanbul

AMAÇ: Meme kanseri, dünyadaki en yaygın ikinci kanser olmakla beraber kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Ülkemizde de kadınlarda görülen en sık kanser türü olan meme kanserinde malignitelerin çoğu sporadik olmakla beraber %5-10 oranında ailesel geçiş görülmektedir. Ailesel geçişli meme kanserinden sorumlu olarak bilinen en yaygın genler BRCA1 ve BRCA2 olmakla beraber CHEK2, PALB2, TP53 vs. genleri de majör olarak sorumlu olan diğer genlerdir.

YÖNTEM: Türk toplumundaki kurucu varyasyonların tespitini hedefleyen bu çalışmamızda, meme kanseri yatkınlığı ile ilişkili 27 gen (ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, EPCAM, FAM175A, MLH1, MRE11A, MSH2, MUTYH, NBN, PALB2, PIK3CA, PMS2, PMS2CL, PTEN, RAD50, RAD51C, RAD51D, STK11, TP53 ve XRCC2), 276 kişilik hasta grubunda yeni nesil dizileme teknolojisi kullanılarak çoklu gen paneli aracılığıyla dizilenmiş, analizleri veri tabanları ile karşılaştırmalı olarak yapılmıştır. **BULGULAR:** Akralılık ilişkisi bulunmayan hastalarda gözlenen aynı varyasyonların kurucu varyasyon olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada popülasyonun %1,63’ündeki patojenik ve %8,87’sinde bulunan klinik önemi belirsiz varyantlar toplumsal veri bankalarıyla karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir.

SONUÇ: Türk popülasyonuna ait ailesel geçişli meme kanserinin genetik olarak incelenmesi, toplumumuza ait herediter kanserlerin varyasyonel dağılımının anlaşılması yönünden katkı sağlayacaktır.

Bu çalışma, İstanbul Kalkınma Ajansı tarafından desteklenen TR10/15/YNK/0085 ve TR10/16/YN0144 projeleri ile gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yeni nesil dizileme, ailesel geçişli meme kanserleri, kurucu varyasyon

SS-012 [Transplantasyon]

Karaciğer iskem/reperfüzyon hasarına bağlı inflamasyonda, karaciğer ve uzak organlarda endoplazmik retikulum (ER) stresinin rolü

Erkan Ermis¹, Pınar Baysan Çebi¹, Hasibe Verdi¹, Güldal Esendağlı Yılmaz², Yahya Ekici¹, Fatma Belgin Ataç¹

¹Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

Karaciğer iskem/reperfüzyon(I/R) hasarı, pringle manevrası gerektiren karaciğer cerrahisinde ve transplantasyonunda geçici iskem ve sonrasında dolaşımın tekrar sağlanmasıyla oluşmaktadır. Reperfüzyon sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikalleri IR hasarında önemli rol oynamaktadır. Ortaya çıkan bu serbest radikallerin de etkisiyle endoplazmik retikulumda(ER) biriken katlanmamış /hatalı katlanmış proteinler sonucu ER stresi tetiklenmektedir. Çalışmamızda karaciğerde oluşan hasara ek olarak diğer uzak organlardaki olası ER stresinin varlığının ve hücre ölümü üzerindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla Wistar Albino 15 adet erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar rastlantısal olarak 3 gruba ayrıldı. Grup1 (İskem/reperfüzyon):orta hat insizyonu ile açılarak karaciğere giden hepatik portal ven ve hepatik arter bulldog klemp ile kapatıldı.60dk iskem süresi sonunda,60dk reperfüzyona bırakıldı. 60dk’nın sonunda ise sakrifiye edildi.Grup2(Sham):orta hat insizyonu ile açılarak 120dk bekletilip sakrifiye edildi. Grup3(Kontrol):Bu gruptaki sıçanlara hiçbir işlem uygulanmayıp, sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen tüm sıçanların karaciğer,akciğer,böbrek ve beyinleri patolojik inceleme ve RNA izolasyonu için alındı. Elde edilen RNA’lar cDNA’ya çevrilip, light cyler480 cihazında ER stres genleri olan GRP78, PERK, ATF6 ve CHOP ifadelenmelerine bakıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Karaciğer,akciğer,böbrek ve beyinde ER stres gen ifadelerinde sham grubuna göre farklı oranlarda artış gözlemlendi. Patolojik değerlendirme sonucunda İskem/reperfüzyon grubunda,hepatosit kordonlarında daralma ve hepatoselüler kayıp ile karakterize parankim hücre zedelenmesi görüldü. Ayrıca, karaciğerde nötrofil infiltrasyonu ile karakterize inflamasyon gözlemlendi. Literetürde ilk kez karaciğer I/R hasarı sonrası karaciğerin yanı sıra uzak organlarda ER stresinin etkisi gözlemlendi. Sonuç olarak karaciğerde meydana gelen I/R hasarına bağlı oluşan inflamasyonun ER stresini tetiklediği ilk kez hem lokal hem de uzak organlarda gösterilmiştir. IR’ na bağlı olarak gelişen ER stresinin dokular üzerinde yarattığı etkinin araştırılması gereken önemli bir konu olduğuna düşünülmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: İnflamasyon, serbest radikaller, Endoplazmik retikulum stresi, Karaciğer iskem /reperfüzyon hasarı, Uzak organ hasarı

Kollajen ile indüklenen artrit fare modelinin, genetik olarak modifiye edilmiş tolerojenik dendritik hücre (toIDH) ile tedavisi

İzel Yılmaz¹, Mehmet Karaçay¹, Gökçen Güvenç², Didem Özkazanç Ünsal³, Elif Uz⁴, Ferah Budak⁵, Figen Ersoy⁴, Tolga Sütlü³, Murat Yalçın⁶, Haluk Barbaros Oral⁵

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

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa

³Sabancı Üniversitesi, Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul

⁴Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Bursa

⁵Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa

⁶Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa

AMAÇ: Romatoid Artrit (RA) patogeneğinde T hücre aktivasyonu önemli rol oynamaktadır. Fonksiyonel T hücre aktivasyonu için antijen sunan hücrelerden iletilen CD80 ve CD86 eş-uyaran moleküllerin sinyali gerekmektedir. Bu çalışmada, kollajen ile indüklenme sonucunda oluşturulan fare artrit modelinde T lenfosit aktivasyonunu engellemek için, genetik olarak modifiye edilmiş kemik iliğinden üretilen tolerojenik dendritik hücreler (toIDH) kullanılarak etkili bir tedavi amaçlanmıştır.

Kemik iliğinden elde edilen dendritik hücrelerin yüzeyindeki CD80 ve CD86 moleküllerinin ekspresyonunu azaltmak veya yok etmek amacıyla hücrelerin endoplazmik retikulumunda (ER) sitotoksik T lenfosit antijen 4 (CTLA4) molekülünün ekspresyonunu sağlayan bir gen yapısı (CTLA4-KDEL) ile transfekte edilmesi hedeflenmiştir. Böylece CD80 ve 86 molekülünün ER'da tutulup parçalanarak hücre yüzeyinde ifade edilmesinin engellenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Fare CTLA4 cDNA memeli ekspresyon plazmidi (pCMV/mCTLA4), ticari olarak (Sino Biologicals, Çin) temin edildi.

mCTLA4 geni pCMV/myc/ER'ye (Invitrogen, Life Technologies, ABD) klonlandı. Bu klonlamadan elde edilen plazmitler LeGo-iG2 (AddGene, USA) lentiviral vektörüne klonlandı ve lentivirüs üretimi gerçekleştirildi.

Kemik iliğinden izole edilen dendritik hücreler mCTLA4-KDEL lentivirüsleri ile enfekte edildi. CD80 ve CD86'nın yüzey ekspresyon düzeylerindeki değişiminin saptanması için hücre akım ölçer analizi anti-CD80, CD86 (Tonbo Biosciences, Birleşik Krallık) ve uygun izotipik monoklonal antikorlar kullanılarak değerlendirildi.

Farelerde kollajen ile artrit geliştirildikten sonra toIDH'ler ve uygun kontroller intraartiküler olarak farelere enjekte edildi. Farelerin 4 hafta boyunca takibi sırasında terapötik etkiler ayak bileği çevresi, farelerin klinik ve histopatolojik skorlaması, enflamasyon ilişkili kan parametreleri de dikkate alınarak değerlendirildi.

BULGULAR: Kemik iliğinden izole edilen dendritik hücrelerin mCTLA4-KDEL ile lentiviral transfeksiyonu sonucu CD80/86 oranı anlamlı bir şekilde azaldığı ve böylelikle toIDH'lerin elde edildiği gözlemlendi. ToIDH'ler ile tedavi edilen RA'li farelerin de eklem kalınlığı ve lökosit sayıları kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlendi.

SONUÇ: Genetik modifikasyon ile elde edilen toIDH'lerin otoimmün hastalıkların tedavisinde potansiyel yaklaşım olabileceği düşünülmektedir.

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

Anahtar Kelimeler: ASH, CTLA4, RA, Tolerans

Poster Sunumlar

PP-001 [Doğal Bağışıklık]

Probiyotik *Bifidobacterium breve* 'nin olası TIR domain proteinin klonlanması, rekombinant üretimi ve saflaştırılması

Dicle Dilara Akpınar¹, Burcu Kaplan Türköz²

¹Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, 35100, İzmir

²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, 35100, İzmir

AMAÇ: Probiyotikler ürettikleri farklı moleküllerle bağışıklık sistemini etkilemektedirler. Son zamanlarda yapılan çalışmalar probiyotiklerin bu etkiyi moleküler düzeyde nasıl gerçekleştirdiğini anlamaya odaklanmıştır. Yapılan çalışmalarla, çeşitli bakteriyel TIR domain proteinlerinin yapısal olarak TIR domain proteinlerini taklit ederek, insan adaptör TIR domain proteinlerine bağlanabildiği gösterilmiştir. Dolayısıyla, bakteriler ürettikleri bu proteinlerle sinyal iletimini değiştirerek, bağışıklık cevabını yönlendirebilmektedirler. Bu çalışmada, probiyotik *Bifidobacterium breve*'nin olası TIR domain proteinin rekombinant üretimi ve saflaştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Biyoinformatik yöntemler kullanılarak *Bifidobacterium breve* 'nin genomu üzerinde olası TIR domain gen dizisi bulunmuştur. PZR ile çoğaltılan gen, pET151/D-Topo plazmidine klonlanmıştır. Farklı ekspresyon hücrelerinden ve farklı sıcaklıklarda protein üretimi için optimum koşullar belirlenmiştir. Üretilen rekombinant protein nikel afinite ile saflaştırılmış ve jel filtrasyon kromatografisi ile oligomerik yapısı incelenmiştir.

BULGULAR: Biyoinformatik çalışmalarla, çoklu dizi hizalamalarla *Bifidobacterium breve* TIR domain proteininin (BbTIR) korunan TIR domain desenleri içerdiği doğrulanmıştır. 6his-BbTIR protein üretimi için optimum üretim koşulları 1 mM IPTG ile Rossetta 2 hücrelerinden ve 25 °C 6 saat induksiyon olarak belirlenmiştir. 6his-BbTIR, nikel afinite ile saflaştırılmıştır. 6his-BbTIR kırılma ürünü olduğu düşünülen ve TIR domain moleküler ağırlığına denk gelen bir proteinle beraber saflaştırılmıştır. DTT varlığında yapılan jel filtrasyon kromatografisi ile protein monomerik formda elde edilmiştir.

SONUÇ: Saf halde elde edilen BbTIR makromoleküler kristalografi için kriztalisasyon deneylerinde kullanılması ve atomik yapısının belirlenmesi üzerine araştırmalar yapılması hedeflenmektedir. Ayrıca elde edilen protein, insan TIR domain proteinleri ile etkileşim testlerinde kullanılacaktır. Bu çalışmalar ile probiyotiklerin TIR domain proteinleri ürettikleri gösterilecektir.

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK-KBAG (Proje no: 116Z299) ve Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No: 16-Müh-083) tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotikler, Bakteriyel TIR domain proteinleri, Gen klonlama, Rekombinant protein üretimi, Protein saflaştırma

PP-002 [Doğal Bağışıklık]

TLR sinyal iletimi ve bakteriyel TIR proteinler

Burcu Kaplan Türköz

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

AMAÇ: Proteinlerin yapıları, birbirleriyle ve hücredeki diğer moleküller ile etkileşimlerinde belirleyicidir ve protein-protein etkileşimleri insan sinyal iletim yollarında kilit rol oynar. TLR sinyal iletiminde en önemli yapısal etkileşim modüllerinden biri TIR bölge yapısıdır. Yeni çalışmalar bakterilerin bağışıklık sistemini baskılamak ya da ele geçirmek için bakteriyel TIR proteinlerini (BTP) kullandığını ortaya koymuştur. *Brucella* BtpA atomik yapısının çözülmesiyle, BTPlerin insan TIR bölge yapıları ile benzerlik gösterdikleri anlaşılmıştır. BTPlerin bu yapısal taklit sayesinde insan TIR-TIR etkileşimlerini engelledikleri ve özellikle sinyal iletiminin merkezinde yer alan MyD88 proteinin etkileşimlerini hedef aldıkları gösterilmiştir. Probiyotik proteinlerin de insan proteinleri ve bunların görev aldıkları sinyal iletim sistemlerini etkileyebildikleri düşünülmekte ve bu yönde yapılan moleküler çalışmalar giderek artmaktadır.

YÖNTEM: Bu çalışmaların ışığında farklı bakterilerin genomlarında btp genleri aranmış ve patojen (*H.pylori*) ve probiyotiklerin (*B.breve* ve *L.casei*) olası BTP proteinleri tespit edilmiştir. Protein yapıları homoloji modelleme ile modellenmiştir. İlgili gen bölgeleri pET151-D/TOPO plazmidine klonlanmış ve proteinler rekombinant olarak üretilmiştir. *H.pylori* BTP proteini saflaştırılmış ve MyD88 ile etkileşimi in vitro pull down testi ile incelenmiştir.

BULGULAR: Yapılan modellemelerin sonucunda proteinlerin TIR domain yapısına sahip oldukları görülmüştür. *H.pylori* olası TIR domain proteini saflaştırılmış, dimerik formda elde edilmiş ve in vitro pull down testiyle MyD88 ile etkileştiği gösterilmiştir. *B.breve* BTP proteini saflaştırılmış ve DTT varlığına bağlı olarak dimerik ve monomerik formda elde edilmiştir. *L.casei* proteini ile deneysel çalışmalarımız devam etmektedir.

SONUÇ: Probiyotik BTP'lerin insan TLR sinyal yolağı proteinleri ile etkileşimleri in vivo ve in vitro yöntemlerle incelenecektir. Ayrıca proteinlerin deneysel yapılarını X ışını yöntemleriyle hesaplamaya yönelik çalışmalarımız devam etmektedir. Biyokimyasal ve yapısal olarak insan sinyal iletimine doğrudan etki eden bakteriyel moleküllerin tanımlanması, farklı bağışıklık sistemi hastalıklarında hedefe yönelik tedavilerde kullanımlarına yönelik araştırmaların önünü açacaktır.

Teşekkür: Araştırmalarımız TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir (Proje no: 114C095 ve 116Z299).

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel TIR domain proteinler, TLR sinyal iletimi, yapısal biyoloji

Kısa bir toksik probiyotik protein hikayesi

Bahar Bakar¹, Burcu Kaplan Türköz²

¹Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

Amaç; Probiyotiklerin etki mekanizmalarının aydınlatılmasıyla ilgili çalışmalar, sağlık alanında olduğu kadar gıda bilimciler için de oldukça ufuk açıcıcıdır. Bağışıklık sisteminde önemli bir yeri olan Toll benzeri reseptör (TLR) sinyal yolağında, TIR domainlerin etkileşimleri sinyalin iletilmesinde kritik bir rol almaktadır. Yapılan çalışmalar, bazı bakteriyel TIR domain proteinlerinin de TLR sinyal yolağını manipüle ettiğini göstermiştir. Buradan yola çıkarak, bu çalışmada TLR sinyal yolağını etkileyebileceği düşünülen probiyotik kökenli bir proteinin rekombinant olarak üretimi ve karakterizasyonu yapılarak, etki mekanizmasının anlaşılması çalışmaları öncü olmak hedeflenmiştir.

Yöntem; Biyoinformatik aramalarla *Lactobacillus casei* genomundan bulunan TIR domain protein bölgesi, PCR ile çoğaltılmış ardından pET151D/TOPO ve pGEX4T-2 plazmitlerine klonlanmıştır. Protein üretim optimizasyonu; BL21(DE3), BL21(DE3)pLysS, BL21Star(DE3), Rosetta2(DE3) protein üretim hücrelerinde, 20,25,37°C sıcaklıklarda ve 0.2, 0.5, 1, 2mM IPTG konsantrasyonlarında yapılmıştır.

Bulgular; Üretilen protein miktarları SDS-PAGE veya 6His-antikor ile Western Blot yönteminde karşılaştırılmış ve en iyi protein üretim koşulu olarak BL21(DE3) pLysS hücresinde, pET151D/TOPO plazmitinde, 37°C ve 0,5mM IPTG olarak belirlenmiştir. Ancak elde edilen protein miktarı saflaştırma için yeterli bulunmamıştır. Aynı zamanda hücrelerin gelişimi ve üretilen protein miktarlarına bakıldığında proteinin hücreler üzerinde toksik etki gösterdiği görülmüştür.

Sonuç; Protein üretimindeki toksik etkinin çözülmesi üzerine yapılan çalışmalar devam etmektedir. Sonrasında yapılacak saflaştırma ve yapı çözme çalışmalarıyla, probiyotik kökenli TIR domainlerin TLR sinyal yolağındaki olası etkileri araştırmalarına katkı sağlanacaktır.

Anahtar Kelimeler: Toksik protein, TIR domain, rekombinant protein

Eozinofillerin fonksiyonlarında NLRC4 inflamazom kompleksinin rollerinin incelenmesi

Ilgın Akkaya, İrem Özel, Şevval Nur Bilgiç, Ceren Ciraci

İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

AMAÇ: Doğal bağışıklığın moleküllerinden NOD benzeri reseptörlerin (NLR), hasar ve patojen kaynaklı moleküler motifleri tanıma yoluyla aktifleşerek inflamazom komplekslerini oluşturduğu ve pro-formdan aktif formlarına kesilen IL-1B ve IL-18 sitokinlerinin hücre dışına salgılanmasına neden olduğu bilinmektedir. Bu sitokinlerin edinsel bağışıklığın, özellikle sırasıyla yardımcı T17 ve T1 hücre cevabının koordinasyonunda rol oynadığı sayısız çalışmada rapor edilmiştir. Bu çalışmanın amacı; insanda 22 üyeden oluşan, NLR ailesinin üyesi olan ve inflamazom adı verilen protein kompleksleri oluşturduğu bilinen NLRC4'ün, bağışıklık yanıtının oluşumunda sahip olduğu işlevi anlamaktır. Bunun için daha önce NLR bakımından henüz çalışılmamış olan eozinofilleri seçtik. Eozinofillerin periferik kandaki bağışıklık sistemi hücrelerinin %1'inden azını oluşturmaları nedeniyle, EoL-1 hücre hattını kullandık.

YÖNTEM: EoL-1 hücreleri; IL-5, IL-13, PAM3CSK4 (PAM) ve flagella ile uyarıldı. NLRC4 ve Siglec-8 mRNA seviyeleri kantitatif RT-qPCR; NLRC4, ASC ve aktif kaspaz-1 protein seviyeleri ise western blotlamayla belirlendi. IL-1B ve IL-6 salgılanması ELISA tekniğiyle analiz edildi. Siglec-8 ve FcεRI-α ifade eden hücreler Akan Hücre Ölçer ile analiz edildi.

BULGULAR: (1) IL-5 ve IL-13 sitokinleriyle uyarılan EoL-1 hücrelerinde bulunan NLRC4'ün mRNA ve protein ekspresyonunun kontrole göre anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi. (2) PAM ve flagella ile birlikte uyarılan hücrelerde benzer bir artış gözlenirken inflamazom üzerinden aktifleşen IL-1B'de yaşanan anlamlı artış inflamazomdan bağımsız üretilen IL6'da tespit edilmedi. (3) PAM-flagella verilen hücrelerde, aktif kaspaz-1 protein seviyelerinde artış yaşansa da ASC adaptör proteininde bir değişim gözlenmedi. (4) PAM-flagella verilen hücrelerde, apoptoz aktivasyonuna yol açan Siglec-8'in mRNA ekspresyonunda artış yaşandığı görülürken, Siglec-8 ve alerjik reaksiyonlarda önemli rollere sahip olan FcεRI-α ekspresyonunda, kontrol ve PAM verilen örneklerle göre anlamlı bir artış gözlemlendi.

SONUÇ: Bulgularımız, NLRC4 inflamazomunun eozinofillerde ASC'ı dahil etmeden kompleks oluşturabileceğini ve NLRC4'ün eozinofil fonksiyonlarında önemli rollerinin olabileceğini ortaya koymuştur. Kronik eozinofilik pnömoni, eozinofilik özeftajit, eozinofilik granülomatozis, alerji, parazitik enfeksiyonlar, astım gibi eozinofilik hastalıkların tanı ve tedavisinde, yeni hedef moleküllerin bulunması daha etkin ilaç tasarımlarına yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: NLRC4, Alerji, İnflamazom, Doğal bağışıklık, Edinsel bağışıklık

B Hücreli Akut Lenfoblastik Lösemide Doğal Öldürücü Hücrelerin Rolü

Gülce Özçit Gürel¹, Metin Yusuf Gelmez¹, Gönül Aydoğan², Suzan Adın Çınar¹, Günnur Deniz¹

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

²Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Onkoloji ve Hematoloji Bölümü, İstanbul

Akut lenfoblastik lösemi (ALL) çocukluk çağının en sık gözlenen, lenfoblast olgunlaşma sürecinin bozulması sonucu anormal hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile karakterize lösemi tipidir. Tümör hücrelerini lize etme yeteneğinde olan doğal öldürücü (NK) hücrelerin, ALL tedavisinde kullanılabileceğini destekleyen çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda ALL olgularında NK hücre oranları ve farklı sitokinlere yanıtta NK hücrelerinin prognoz ile ilişkisinin saptanması hedeflenmiştir. Bu amaçla ALL tanısını saptamak ve blast fenotiplerini belirlemek için CD7, CD10, CD19, CD34, CD45 hücre yüzey ekspresyonları değerlendirilmiştir. B-ALL olguları kemik iliği ve periferik kan örneklerinde CD3, CD16, CD56 hücre yüzey molekül ekspresyonları saptanmıştır. Periferik kan ve kemik iliğinden elde edilen mononükleer hücreler IL-2, IL-15, IL-2+IL-15 sitokinleri ile 24 saat ve PMA+IO uyarısıyla 5 saat kültüre edilmiştir. Kültür sonrası NK hücre alt gruplarının hücre içi interferon-gamma (IFN- γ), interlökin (IL)-4 ve IL-10 seviyeleri akan hücre ölçer cihazı ile araştırılmış, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sonuçta, periferik kan CD3-CD56parlakCD16⁻ ve CD56solukCD16⁺ NK hücre oranları kemik iliğine kıyasla anlamlı derecede artış göstermiş, IL-2 ve PMA uyarımı sonucu ise CD3-CD56parlakCD16⁻ ve CD56solukCD16⁺ NK hücrelerinde IFN- γ içeriğinde artış, IL-10 içeriğinde azalma tespit edilmiştir. On beş günlük tedavi sonrası MRD değerlendirmeleri incelendiğinde, sadece FLR hastalarında saptanan IFN- γ seviyesindeki artış, ALL-MRD takibinde CD3-CD56solukCD16⁺ NK hücre alt grubunun FLR hasta takibinde önemli olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: İmmünoloji, NK hücre, Sitokin

İnsan Doğal Öldürücü Hücrelerde Lentiviral Gen Aktarımının Hücre İçi İmmün Dinamiği

Cevriye Pamukcu¹, Ece Canan Sayitoğlu², Didem Özkazanç¹, Ayhan Parlar¹, Alp Ertunga Eyüpoğlu¹, Batu Erman¹, Adil Doğanay Duru², Tolga Sütlü³

¹Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, İstanbul

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

³Sabancı Üniversitesi, Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul,

Amaç: Genetiği değiştirilmiş NK (doğal öldürücü) hücreleri kullanılan kanser immün tedavisi yaklaşımları klinik deneylerde umut vadeden sonuçlar vermektedir. Fakat NK hücrelerinde genetik değişiklik yöntemleri henüz ideal koşullara ulaşmamıştır. NK hücreleri lentiviral gen aktarımına diğer bağışıklık sistemi hücrelerine kıyasla yüksek direnç gösterirler. Geçmiş çalışmalarda Toll-benzeri reseptörler ve RIG-I-benzeri reseptörün sinyal yollarında rol alan TBK1/IKKepsilon çiftinin küçük molekül inhibitörü BX795'in kullanımının NK hücrelerine lentiviral vektörlerle gen aktarımında anlamlı bir verim artışına yol açtığını gösterdik.

Yöntem: Bu çalışma NK hücrelerine viral vektörlerin girişinde bir engel bulunmadığını, fakat virüs karşıtı sinyallerin aktifleşmesi sonucu hücre içine girmiş olan viral vektörlerin elenmesinin gerçekleştiğini göstermiştir. Bu yanıtta payı olan 20 aday genin rollerini araştırmak için CRISPR/Cas9 sistemi kullanılmış ve bu genler 293FT ve NK-92 hücre hatlarında mutasyona uğratılmıştır.

Bulgular: Sonuçlarımız viral proteinlerin 293FT hücrelerinde TRIM5alfa tarafından algılanmasının ve viral RNA'nın NK-92 hücrelerinde RIG-I ve TRIM25 üzerinden algılanmasının lentiviral gen aktarımına karşı dirençte önemli roller oynadıklarını göstermektedir. Buna ek olarak, viral vektöre maruz kalan hücrelerde MAPK aktivitesinde, ve özellikle vahşitip HIV enfeksiyonlarında görüldüğü gibi p38 ve JNK fosforilasyonunda artış olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada NK hücrelerine lentiviral gen aktarımı sırasında viral bileşenlerin çeşitli kalıp tanıma reseptörleri tarafından algılanarak hücre içi doğal bağışıklık cevabını tetiklemesinde rol alan genler tespit edilmiştir. Genetiği değiştirilmiş NK hücrelerinin immün tedavide umut vadeden uygulamaları için küçük molekül inhibitörlerinin kullanımı engelleri aşmaya yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: doğal öldürücü hücreler, immünoterapi, lentiviral vektörler

Hücre İçi Bağışıklığın Baskılanması Lentiviral Gen Aktarımı Sırasındaki Sapmayı Ortadan Kaldırıyor

Elif Çelik¹, Alp Ertunga Eyüpoğlu¹, Didem Özkazanç Ünsal¹, Tolga Sütü²

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

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

AMAÇ: Genetik olarak değiştirilmiş ve programlanmış immün hücreler kanser tedavisinde giderek yaygınlaşan bir şekilde kullanılmaktadır. Bu yeni tedavi yönteminde genetik materyalin hücre içine aktarılması için çeşitli metotlar mevcuttur. Özellikle viral vektörlerin geliştirilmesi ve *in vitro* gen transferinde kullanılabilmesi kanser immünoterapisi için önemli bir potansiyel taşımaktadır. Gen aktarımı sırasında vektörün kültürdeki belirli hücre alt gruplarına doğru sapma olmadan homojen bir şekilde dağılması yüksek verimlilikte genetik modifikasyon için önemli bir adımdır. Bu çalışmanın amacı NK-92 hücrelerine lentiviral gen aktarımı sırasında oluşan sapmaları analiz ederek daha verimli gen aktarımına yönelik küçük molekül inhibitörlerin bu fenomen üzerindeki etkisini tespit etmektir.

YÖNTEM: Farklı floresan proteinleri kodlayan viral vektörler ve farklı küçük molekül inhibitörler kullanılarak art arda yapılan seri gen aktarımları sonrasında viral vektörü kabul eden popülasyonlar akan hücre ölçeği ile analiz edilmiştir. Birden fazla gen aktarımı geçiren kültürlerde birinci ve ikinci gen aktarımları sırasında viral vektörü kabul eden popülasyonlar karşılaştırılmıştır.

BULGULAR-SONUÇ: Bulgularımız art arda iki gen aktarımı geçiren kültürlerde bakıldığında, ilk gen aktarımı sırasında viral vektörü kabul eden popülasyonların ikinci gen aktarımı sırasında da viral vektörü kabul etmeye daha uygun olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, gen aktarımı sırasında ancak belirli hücre popülasyonlarının hedeflenebildiğini ve bunun viral vektörün homojen olarak dağılması önünde bir engel oluşturduğunu göstermiştir. Gen aktarımı sırasında hücre için bağışıklık cevabını baskılayıcı küçük molekül inhibitörlerin kullanılması ise bu sapmayı minimize ederek viral vektörün kültürdeki hücreler içerisinde daha homojen bir dağılım göstermesini sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Viral Vektörler, Kinaz İnhibitörleri, Doğal Öldürücü Hücreler

Ankilozan Spondilit ön tanılı hastalarda HLA-B27 ve Miyeloperoksidaz ilişkisi

Nilgün Işıksaçan¹, Pınar Kasapoğlu¹, Murat Koşer²

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr.Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, İstanbul

²İstanbul Silivri Ceza İnfaz Kurumu Devlet Hastanesi, Biyokimya, İstanbul

AMAÇ: Ankilozan spondilit (AS), aksiyal iskeletin ve periferik eklemlerin inflamatuvar bir hastalığı olup, kronik ve ilerleyici patogenezinde genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. HLA-B27'nin sitotoksik T lenfositlere bireyin kendi proteinlerini sunması ve otoimmün yanıt oluşturmaya, AS hastalık patogenezindeki teorilerden biridir. AS'in, HLA-B27 geni ile yakın ilişkili olduğu bilinmektedir. Miyeloperoksidaz (MPO) ise patojene karşı immün yanıt ve inflamatuvar doku hasarında etkili olan, demir içeren ve oksijene bağımlı bir proteindir. Çalışmamızda AS ön tanısı alan hastaların, MPO ve HLA-B27 düzeylerinin ilişkisi araştırılmıştır.

YÖNTEM: Ocak 2016–Ağustos 2018 tarihleri arası Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran, HLA-B27 ile MPO testleri çalışılan 223'ü kadın, 128'i erkek toplam 351 kişi çalışmaya alınmıştır. EDTA'lı tüplere alınan venöz tam kan örneklerinden anti-HLA-B27 antikoru (Beckman Coulter) kullanılarak yüzey boyaması yapılmıştır. Lenfosit kapısı alınmış ve Beckman Coulter Navios kan hücre ölçer cihazı ile HLA-B27 analizi tamamlanmıştır. MPO ölçümü ise serum örneklerinden ELISA metodu ile Grifols Triturus cihazı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analizler Kolmogorov Smirnov, Mann-Whitney U ve Fisher Exact Testleri NCSS 11 Statistical Software (2016) programı kullanılarak yapılmış, p<0.05 değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR: Hastaların yaşları 12-79 arasındadır (ortalama=44). Kadın erkek oranı 1.7:1'dir, HLA-B27 negatifliği tüm hastalarda %90.03 olarak bulunmuştur. HLA-B27 ile cinsiyet dağılımı arasında anlamlı fark bulunamamıştır (p=0.053). HLA-B27 negatif ve pozitif hastalarda MPO değerleri sırasıyla 1,53±2,15u/mL ve 1,14±1,16u/mL olup, iki grup kıyaslandığında anlamlı fark (p=0.210) bulunmamaktadır.

SONUÇ: MPO, patojene karşı yapılan savunmada, serbest radikal tutucuları aktive eder ve sitotoksik özellik gösterir. İnflamatuvar hastalıklardaki bu etkinin, inflamasyonun ilerlemesinde rolü olduğu düşünülmektedir. MPO düzeyinin, özellikle HLA-B27 pozitif hastalarda güçlü bir inflamasyon ile korele artış göstermesi beklenirken, anlamlı fark bulunamamasının nedenleri arasında; çalışmanın retrospektif olmasının, cinsiyet ve HLA-B27 dağılımının daha homojen olmasını engellemekte olduğu ve kesin tanıyla hastaların gruplandırılmaması, sayılabilir. MPO testinin AS'de yerinin netleşebilmesi için daha fazla merkezde ve sayıda hasta ile çalışma yapılması gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Ankilozan Spondilit, Miyeloperoksidaz, HLA-B27

Nöromiyelitis Optika Spektrumunda Anti Miyelin Oligodendrosit Glikoprotein Pozitifliği

Demet Gür Vural¹, Murat Terzi², Begüm Korkmaz², Bahattin Avcı³

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı ³Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Nöromiyelitis Optika Spektrumunda Anti Miyelin Oligodendrosit Glikoprotein Pozitifliği

GİRİŞ: Nöromiyelitis optika (NMO), merkezi sinir sisteminde demiyelinizasyon ve aksonal dejenerasyonla seyreden otoimmün, kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Optik nörit, beyin sapı ve spinal kord tutulumu görülebilmektedir. Nöromiyelitis optika tanı kriterlerini tam doldurmayan hastalar NMO spektrum bozukluğu içerisinde izlenmektedir. BOS oligoklonal band genellikle negatif olup, astrosit podositlerinde bulunan bir protein olan aquaporine karşı antikör (anti-NMOIgG) pozitifliği tanıda önemli bir yer tutmaktadır. Anti NMO IgG negatif olan bazı hastalarda, miyelin yapısında bulunan miyelin oligodendrosit glikoproteinine (MOG) karşı antikörler görülmüştür ve tanı için önem taşımaktadır. Anti MOG antikörleri NMO spektrumu içerisinde özellikle optik nörit veya miyelit kliniği olup anti NMO Ig G'si negatif olan hastalarda tanıya yardımcı olabilmektedir. NMO spektrumu dışında multipl skleroz (MS), immünensefalopati, akut dissemine ensefalomyelit gibi immün santral sinir sistemi hastalıklarında da daha nadir olarak pozitif olabilmektedir. Çalışmamızda Ondokuz Mayıs Üniversitesi Nöroimmünoloji Laboratuvarı'na gönderilen hasta serumlarında Anti MOG IgG pozitifliğini ve bu hastaların demografik ve klinik bulgularını değerlendirdik.

YÖNTEM: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Nöroimmünoloji Laboratuvarı'nda Şubat 2018-Ağustos 2018 tarihleri arasında Anti MOG IgG çalışılan 212 hasta çalışmaya dahil edildi. Anti MOG IgG değerlendirmesinde rekombinant hücre-temelli indirektimmünofloresan test (RC-IFA; cellbased assay, CBA) kullanılmıştır.

BULGULAR: NMO spektrum bozukluğunda değerlendirilen ve anti NMO IgG'si negatif olan toplam 212 hastada anti MOG IgG çalışıldı. Toplam 10 hastada anti MOG IgG pozitif bulundu (%4.7). Hastaların 6'sı kadın, 4'ü erkekti. Yaş ortalaması 36.7 idi. Hastaların 6'sında spinal kord tutulumu, 3'ünde optik nörit kliniği, 1 hastada ise ensefalopati tablosu ile seyreden klinik etkilene vardı. Hastaların 1'inde Beyin Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRG) 'de MS için atipik lezyonlar olup diğer hastaların beyin MRG'si normaldi.

Sonuç ve YORUM: NMO spektrumunda takip edilen ve anti NMO IgG negatif olan hastalarda anti MOG IgG pozitifliği tanıda yardımcı olabilmektedir. Anti MOG antikör pozitifliğinin klinik seyirle olan ilişkisinin belirlenmesi için daha fazla anti MOG antikör pozitif hastanın yer aldığı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Nöromiyelitis optika, MOG, aquaporin

Helicobacter-Stimüle B (Hstim-B) Hücreleri ile Dendritik Hücreler Arasındaki Fonksiyonel Etkileşimin Araştırılması

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

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

AMAÇ: Dendritik hücreler (DC) doğal ve kazanılmış immün yanıt arasındaki bağlantının oluşturulmasında önemli rolü olan profesyonel antijen sunan hücrelerdir. Tolerojenik DC'lerde TNF- α , IL-12 gibi pro-enflamatuvar moleküller düşük düzeyde; IL-10 gibi anti-enflamatuvar moleküller yüksek düzeyde ifade edilir. Regülatör B hücreleri (Breg) IL-10 ve TGF- β gibi anti-enflamatuvar sitokinler salgırlar ve DC'lerin efektör fonksiyonlarını baskırlar. *Helicobacter felis* (*H.felis*) sonikati B hücrelerinin %20-30'unda IL-10 üretimini indükler. Çalışmamızda, *Helicobacter felis*-stimüle B (*Hfstim*-B) hücrelerinin ve bu hücrelerin salgıladıkları moleküllerin olgun olmayan fare kemik iliği kökenli DC'ler üzerindeki regülatör etkileri araştırılmıştır.

YÖNTEM: C57BL/6 fare kemik iliği hücreleri GM-CSF ve IL-4 varlığında olgun olmayan DC'lere farklılaştırılmıştır. Fare dalaklarından manyetik ayırımla izole edilen B hücreleri, *H.felis* sonikatiyle muamele edildikten sonra manyetik ayırımla IL-10⁺ ve IL-10⁻ B hücre alt gruplarına ayrılmıştır. Bu hücre gruplarının 8 saat süreyle *H.felis* sonikatiyle muamelesinin ardından salgıladıkları sitokinleri içeren hücre süpernatantları toplanıp DC'ler üzerine uygulanmıştır. Başka bir deney sisteminde; 24 saat süreyle B hücreleriyle kültürde tutulan DC'ler, LPS ile 12 saat süreyle muamele edilmiştir. DC'lerin yüzey boyamaları akan hücre ölçer, sitokin profilleri ise ELİZA ve qPCR ile analiz edilmiştir.

BULGULAR: *H.felis* sonikati; DC'lerin CD86 ekspresyonlarını ve IL-10, IL-12 ve TNF- α salgılamalarını indüklemektedir. IL-10⁺ veya IL-10⁻ B hücre süpernatantının uygulandığı DC'lerde CD86 ifadeleri ve IL-12 salgılamaları indüklenmiştir. Bununla beraber, IL-10⁻ B hücre süpernatantıyla tutulduktan sonra LPS ile muamele edilen DC'lerdeki TNF- α ve IL-10 düzeylerinde baskılanma gözlenmiştir. Ancak; LPS ile muamelesinin öncesinde IL-10⁺ B hücre süpernatantıyla tutulan DC'lerde TNF- α salgılamaları baskılanırken IL-10 salgılarında bir azalma gözlenmemiştir. Gerçekleştirilen ön çalışmada; LPS ile muamelesinden önce total *Hfstim*-B hücreleriyle 1:2 oranında (DC:B) kültürde tutulmuş DC'lerden salgılanan TNF- α düzeyinde anlamlı bir azalma, IL-10 düzeyindeyse anlamlı bir artış gözlenmiştir. Ayrıca, total *Hfstim*-B hücreleri ile etkileşen DC'lerde CD86 ifadesi indüklenmiştir.

SONUÇ: Çalışmamız *Hfstim*-IL-10⁺ B hücrelerinden salgılanan moleküllerin hücre-hücre etkileşimi ile birlikte DC'lerin aktivasyonunu ve fonksiyonunu regüle ederek DC'leri tolerojenik forma dönüştürebildiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Breg, *Helicobacter*, IL-10, kemik iliği kökenli dendritik hücreler

STING Aracılı Doğal Bağışıklık Uyarımlarının Patoloji Bağlamında Karakterizasyonu

Hatice Asena Şanlı, Emre Dünüroğlu, Mayda Gürsel

Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara

AMAÇ: Tip I interferonopatiler, aşırı tip I interferon üretimi ile karakterize edilen hastalık grubu olarak tanımlanır. Bu çalışmada, SAVI (STING- ilişkili erken başlangıçlı vaskülopati) ve AGS'de (Aicardi-Goutières sendromu) aşırı tip I interferon üretimi ve enflamasyondan sorumlu düzensiz hücre içi sinyal yolağının karakterizasyonu ve bu yollara dair uygun inhibitör adayları bulunması amaçlanmıştır. Son olarak, sirkadiyen ritmin tip I interferon sekresyonu üzerindeki regülatör etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

YÖNTEM: Sürekli STING aktivasyonu ile nitelenen SAVI, STING proteinindeki M155V ve N154S fonksiyon kazanım mutasyonları sonucu oluşur. Bu doğrultuda, SAVI'de gözlemlenen kronik tip I interferon profilini incelemek için stabil olarak transfekte edilmiş STINGM155V B16 melanoma hücrelerini oluşturduk. Benzer şekilde, AGS in vitro modeli olarak TREX yoksunu THP1 monositler kullanılmıştır. Hücre hattı modellerinde, tip I interferon ifadesi, interferon yolağı altında çalışan salgısal alkalın fosfataz ya da lusiferaz ifadesi (Quanti Blue ve Quanti Luc) değerlendirilerek tayin edilmiştir. Sirkadiyen senkronizasyon için hücreler 0.1 µM dexamethasone ile 2 saat inkübe edilmiş, senkronizasyondan itibaren dörder saat aralıklarla 48 saat boyunca interferon yanıtı incelenmiştir.

BULGULAR: I) Soğuk stresinin, SAVI in vitro modeli B16 hücrelerinde hem p-STING hem de total STING seviyelerinde artışa neden olduğu gözlemlenmiş, bu mekanizmanın SAVI hastalarında gözlenen soğukla tetiklenen enflamasyondan sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

II) TREX yoksunu THP1 monositlerde tip I interferon üretimi, hem tip I interferon reseptör aracılı otokrin pozitif geri besleme döngüsü ile hem de hücre içi STING bağımlı yolağın uyarımı ile tetiklendiğinden, iki ayrı yolağı hedef alan inhibitörlerin etkinliği ve sitotoksitesi incelenmiştir. AGS in vitro modeli TREX yoksunu THP1 hücre hattında TBK1/IKK inhibitörleri amlexanox ve BX795'in, Jak/Stat inhibitörleri ruxolitinib ve tofacitinib'e kıyasla kronik tip I IFN üretimini baskılamada daha etkili olduğunu gösterilmiştir.

III) Önveriler, sirkadiyen ritmin tip I interferon üzerinde regülatör rol oynayabileceğine işaret etmiştir. Buna dayanarak, inhibitör uygulamasının sabah erken saatlerde gerçekleşmesinin inhibitörün terapötik etkinliğini artıracağı öngörülmüştür.

Anahtar Kelimeler: AGS, interferon, SAVI, sirkadiyen ritim, STING

ASC proteininin PYRIN ve CARD bölgelerinin polimerizasyon dinamiklerinin yapısal olarak incelenmesi

Hasan Ozan Otaş, Hulusi Onur Kuzucu, Nesrin Özören

Boğaziçi Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Apoptoz ve Kanser İmmünolojisi Laboratuvarı, İstanbul

Apoptoz-ilişkili zerrecik benzeri CARD içeren protein (ASC), 22 kDa büyüklüğünde, ölüm bölgesi ailesi üyesi olan PYD ve CARD isimli korunmuş bölgeleri içeren bir proteindir. Ölüm bölgesi ailesi üyelerinin en belirgin ortak özelliği altı anti-paralel α-helix bölgesine sahip olmalarıdır. Ölüm bölgesi ailesi üyeleri arasında meydana gelen homotipik etkileşimler, bu üyelerin üzerlerinde bulunan belirli temas yüzeyleri arasında olmakta ve en az üç çeşit (Tip I, Tip II ve Tip III) etkileşim yüzeyi vasıtasıyla sağlanmaktadır. ASC proteini, üzerinde taşıdığı PYD ve CARD bölgelerinin homotipik etkileşimleri ile supramoleküler küresel şekilli "ASC zerreciği" yapısını meydana getirir. PYD ve CARD bölgeleri hücre içinde ayrı ayrı ifade edildiğinde fiber benzeri polimerik yapıları oluşturdukları gözlemlenmiştir. Yabancı ASC proteini üzerindeki PYD ve CARD bölgeleri birlikte ifade edilirken, bu fiberlerin bir araya gelip yabancı ASC zerreciği yapısına katıldığı düşünülmektedir. Bu çalışmada ASC proteini üzerindeki belirli bölgelerin, PYD-PYD ve CARD-CARD homotipik etkileşimleri ile polimerizasyon süreçleri üzerindeki etkilerini ve bağlantılarını belirlemeyi amaçladık. Bölgeye yönelik mutagenез yöntemi ile ASC zerreciği polimerizasyonunda güçlü rol oynadığı tahmin edilen aminoasitler mutasyona uğrattırılıp değiştirildi, floresan ve lazer taramalı konfokal mikroskopi yöntemleri ile bu mutasyonların etkileri gözlemlendi. Elde ettiğimiz sonuçlar, homo-oligomerizasyonu bozduğunu gözlemlediğimiz bazı PYD mutantlarının, vahşi tip ile birlikte ifade edildiğinde multimerik fiber yapıları sağlayabildiğini göstermektedir. Homotipik etkileşimlerdeki değişimler ayrıca Förster Rezonans Enerji Transferi (FRET) yöntemi ile niceliksel olarak analiz edildi ve FRET sinyalini engelleyen önemli noktalar belirlendi. Ayrıca, CARD bölgesinin hem vahşi tip hem de E130A mutanları üzerindeki Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) tekniği tabanlı Tek Molekül Kuvvet Spektroskopisi (SMFS) analizi yapılarak, CARD bölgesindeki Tip I etkileşim yüzeyi üzerinde meydana gelen E130A mutasyonunun homotipik etkileşim gücü üzerindeki bozucu etkisi niceliksel olarak incelendi. Bu çalışmamız, ASC proteininin PYD ve CARD ölüm bölgeleri aracılığıyla meydana gelen polimerizasyonu sonucu zerrecik yapısı oluşturma sürecindeki etkileşim dinamikleri ve güçleri hakkında yeni bilgiler ve daha iyi açıklamalar sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: doğal bağışıklık, inflamazom, ASC zerreciği, FRET, AFM

Adjuvan ve immunoterapi teknolojisi olarak ASC zerrecikleri

Mesut Berber¹, Ozen Kaya¹, Nesrin Özören¹

¹Boğaziçi Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

ASC zerrecikleri antijen taşıma sistemi olarak grubumuz tarafından geliştirilmiştir. Adjuvan olarak kullanılan antijen yüklü ASC zerreciklerinin makrofajlar tarafından yutulup ayrıştırıldığı gösterilmiştir. Ortalama 1 µm boyutundaki ASC zerrecikleri antijen boyutunu artırması nedeniyle antijenin makrofaj tarafından tanınıp yutulmasını kolaylaştırdığı, yüksek stabilitesinden dolayı antijenin raf ömrünü artırdığı in vivo hem de in vitro koşullarda gösterilmiştir. Tümör deneylerinde ovalbumin, görüntüleme deneylerinde mCherry floresan proteini antijen olarak seçilmiştir. Fagosite edilen saflaştırılmış antijen yüklü ASC zerrecikleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 10 kat daha fazla IL-1β ve TNF-α sitokinlerinin salınımına neden olduğu gözlenmiştir. Fare EG-7 timoma zenograft modelleri geliştirilmiş, ASC zerreciklerinin kanser immunoterapisindeki potansiyeli araştırılmıştır. Karın boşluğuna enjekte edilen tOVA-ASC zerreciklerinin EG7-OVA timoma dokusuna göç ettiği görülmüştür ve tümör dokusunun küçülmesini veya tümörün tamamen yok olmasını sağlamıştır. ASC zerrecik teknolojisi Avrupa, Japonya ve Amerika'dan (EP2841110 (A1), JP6026645 (B2), US9725491 (B2)) patent alarak tescillenmiştir ve kanser immunoterapilerinde umut vadetmektedir.

Anahtar Kelimeler: ASC, immünoterapi, kanser

Multipl Skleroz patogenezinde CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} NK hücrelerinin fonksiyonel analizi

İlhan Tahralı¹, Umut Can Küçüksezer¹, Ayşe Altıntaş², Uğur Uygunoğlu², Günnur Deniz¹

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

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

Doğal immün sistemin bileşenlerinden olan Doğal Öldürücü (Natural Killer – NK) hücreler, sahip oldukları sitotoksik ve düzenleyici özellikleriyle immün sistem hastalıklarında önemli rol oynamaktadır. NK hücrelerinin % 90'ını oluşturan CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} NK hücreleri sitotoksik özellikleriyle ön plana çıkarken, yaklaşık % 10'unu oluşturan CD3⁺CD16⁺CD56^{bright} NK hücreleri ise sitokin üretimleriyle immün sistemin regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, merkezi sinir sisteminin kronik enflamatuvar bir hastalığı olan Multipl Skleroz (MS) patogenezinde NK hücrelerinin katılımı olduğuna işaret eden bulgular elde edilmiştir.

AMAÇ: Çalışmamızda, MS'in en yaygın görülen tipi olan, atak ve remisyonlarla seyreden RR-MS patogenezinde, CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} NK hücre alt grup fonksiyonlarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmaya herhangi bir tedavi görmemiş RR-MS hastaları, IFN-β tedavisi görmekte olan RR-MS hastaları, MS'in başlangıç formu olduğu düşünülen Klinik İzole Sendrom (KİS) hastaları ve sağlıklı kontroller dahil edilmiştir.

YÖNTEM: Hasta ve sağlıklı vericilere ait periferik kan örneklerinde anti-CD3, -CD16 ve -CD56 monoklonal antikorları ile CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} NK hücre alt grupları belirlenmiş ve NKG2D ekspresyonları akan hücre ölçer yöntemiyle saptanmıştır. Kan örneklerinden izole edilen periferik kan mononükleer hücreler (PKMH'ler), 10:1 (efektör:hedef) oranında floresan işaretli K562 eritromiyeloid lösemi hücreleri ile birlikte 5 saat süreyle kültüre edilerek NK hücrelerinin sitolitik kapasitesi ölçülmüştür. Ayrıca PKMH'ler IL-2 ve IL-12 sitokinleri ile uyarılarak ve herhangi bir uyarım yapılmadan 24 saat kültüre alınmış, kültür sonrası CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} NK hücre alt grubunda IFN-γ seviyeleri saptanmıştır.

SONUÇ: CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} NK hücrelerindeki NKG2D ekspresyonunun sağlıklı kontrollere göre RR-MS ve KİS hastalarında düşük olduğu saptanmıştır. CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} NK hücrelerinin kültür sonrası IFN-γ seviyelerinin sağlıklı kontrollere göre hasta gruplarında düşük olduğu görülmüştür. Bu bulguyla uyumlu şekilde, hasta gruplarının NK hücre sitotoksik aktiviteleri sağlıklı kontrollere oranla düşük bulunmuş ve bu düşüklüğün, tedavili RR-MS hastalarında hastalık süresiyle negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Tüm bu bulgular, RR-MS patogenezinde CD3⁺CD16⁺CD56^{dim} NK hücrelerinin fonksiyonel yetersizliğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: İmmünregülasyon, Multipl Skleroz, NK hücreleri, Sitotoksikite

İVİg'in periferik kan hücre fonksiyonları üzerine etkileri

Büşranur Geçkin, Başak Kayaoğlu, Mayda Gürsel
Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara

İVİg, klinikte primer immün yetmezlik ve otoimmün hastalık gruplarının tedavisinde kullanılmaktadır. Birçok farklı primer immün yetmezlik vakasında gözlemlenen nötrofil deregülasyonu, İVİg tedavisi sonucu iyileşme göstermektedir. Bu çalışma, İVİg'in nötrofil fonksiyonlarına olan etkisiyle beraber İVİg'e maruz bırakılmış doğal bağışıklık hücrelerinin çeşitli TLR ve/veya nükleik asit sensör uyarılarına verdiği tepkileri tayin etmeyi amaçlamıştır. PBMCLer sağlıklı donörlerden yoğunluk gradyan yöntemi ile izole edilmiştir. Nötrofil izolasyonu için eritrositlerle beraber çöken polimorfonükleer hücreler dekstran sedimentasyonu ile ayrılmıştır. Nötrofiller, artan İVİg konsantrasyonları (0.2, 1, 5, 25mg/ml) varlığında ve yokluğunda LPS, Zimosan veya PMA ile stimüle edilmiştir. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) üretimi DHR123 boyamasını müteakiben akış sitometri ile analiz edilmiştir. Benzer şekilde, İVİg'in LPS, Zimosan ve PMA ile tetiklenen NETosis oluşumuna etkisi de nükleik asit problemleri ve floresan mikroskopisi ile tayin edilmiştir. Bunlara ek olarak, PBMCLerin 4 farklı İVİg konsantrasyonu varlığında çeşitli patojen tanıma reseptör agonistlerine olan tepkileri, sitokin ELİSAsı ile ölçülmüştür. Sonuçlar, nötrofillerin PMA gibi ROS indükleyicilerine verdiği yanıtın en yüksek dozdaki İVİg ile baskılanabilirken immünoglobülin uygulamasının LPS ile sinerji halinde ROSu arttırdığını göstermiştir. Verilerimiz İVİg'in doz ve stimülana bağlı olarak granülositler üzerinde tetikleyici ya da anti-enflamatuvar bir etki oluşturduğunu önermektedir.

Anahtar Kelimeler: İVİg, nötrofil fonksiyonları, netosis, doğal bağışıklık

DOCK8 defektif HIES hastalarında Grup 3 İnnaten Lenfoid Hücrelerin sayı ve fonksiyonları bozulmuştur

Ahmet Eken¹, Fatma Zehra Okuş¹, Halit Canatan¹, Hamiyet Dönmez Altuntaş¹, Serife Erdem¹, Musa Karakükcü² Ekrem Unal² Murat Cansever² Alper Özcan² Türkan Patiroğlu², Ömer Devecioğlu³, Güzide Aksu⁴, Erdem Topal⁵, Elif Karakoc⁶ Ayca Kiykim⁶ Ahmet Ozen⁶ Safa Baris⁶, Ayse Metin⁷, İsmail Reisli⁸ Sukru N. Guner⁸ Sevgi Keles⁸, Gulsun Karasu⁹ Vedat Uygun⁹, Mohamed Oukka¹⁰, Talal Chatila¹¹

¹Erciyes Üniversitesi Tıbbi Biyoloji A.B.D, Kayseri ²Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Hematoloji Onkoloji Bilim Dalı, Kayseri ³Memorial Ataşehir Hastanesi, Pediatri Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul ⁴Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Römatoloji, İzmir ⁵İnönü Üniversitesi, Tıp fakültesi, alerji departmanı, Malatya, ⁶Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi alerji immünoloji Bilim Dalı, İstanbul ⁷Ankara çocuk hematoloji onkoloji araştırma hastanesi, Pediatri Hematoloji Onkoloji Bilim Dalı, Ankara, ⁸Necmettin Erbakan Üniversitesi meram tıp fakültesi, Pediatri İmmunolojisi ve Alerji, Konya ⁹Medikal Park Antalya Hastanesi, Pediatri kemik iliği transplantasyon ünitesi, Antalya ¹⁰Washington Üniversitesi, immünoloji departmanı, WA, USA ¹¹Boston çocuk hastanesi, İmmünoloji bölümü, Boston, USA 13. Harvard Tıp Fakültesi, Pediatri bölümü, Boston, USA

GİRİŞ: DOCK8 (Dedicator of cytokines 8) mutasyonları insanda otozomal resessif hiper immunoglobulin E sendromuna (HIES) yol açmaktadır. Daha önceki çalışmamızda Dock8'in farelerde grup 3 innate lenfoid hücrelerin (ILC3) yaşam ve fonksiyonlarını düzenlediğini gösterdik.

AMAÇ: Bu çalışmada DOCK8'in insanlarda ILC alt kümelerinin sayı, fonksiyonu ve idamesi için gerekli olup olmadığını test etmeyi amaçladık.

YÖNTEMLER: Ondört transplant öncesi evrede DOCK8 eksikliği olan HIES hastası ile sekiz STAT3 mutant HIES hastası çalışmaya dahil edildi ve sağlıklı kontrollerle veya transplant geçirmiş olan DOCK8 defektif HIES hastalarında (n = 10) periferik ILC alt gruplarını akış sitometrisi ve real-time qPCR testleriyle karşılaştırdık. Ek olarak, DOCK8 eksikliği olan hastalar, STAT3 mutant hastalar ve sağlıklı

kontrollerden sort edilen ILC'ler, hücre kültürü, akış sitometrisi, -flow analizi deneyleri aracılığıyla IL-7, IL-23 ve IL-12 sinyal yolları aktivasyonu, apoptozu ve proliferasyonu bakımından incelendi.

BULGULAR: DOCK8 eksikliği olan hastalarda STAT3-mutant olan HIES hastalarından farklı olarak periferik kanın ILC3 ve ILC2 sayılarının azaldığını gösterdik. Önemli olarak, DOCK8 eksikliği olan ILC'ler, IL-7, IL-12 veya IL-23 sitokinlerine daha az cevap vererek IL-7reseptörünü (IL-7R) daha düşük seviyelerde ifade etti. Sonuç olarak, ILC'lerin proliferasyonları kusurluydu ve apoptozise daha meyilliydi. IL-7R azlığının bu genin ifadesini pozitif regüle eden FOXO1 ve ETS1'in azalması ile ilişkili olabileceğini gösterdik.

SONUÇ: DOCK8 insan ILC3 sağkalımını, sitokin sinyalini ve proliferasyonunu düzenler. Böylece, DOCK8 eksikliği periferik kandan ILC3 kaybına yol açar. DOCK8 eksikliği olan HIES hastalarının tekrarlayan enfeksiyonlara duyarlılığı kısmen ILC defektleri ile açıklanabilir.

Anahtar Kelimeler: DOCK8, ILC, HIES

TLR Antagonisti A151 ODN'nin İmmün Baskılayıcı Mekanizmasının Araştırılması

Gizem Kılıç, Volkan Yazar, Özlem Bulut, İhsan Gürsel
Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara

AMAÇ: A151 oligodeoksinükleotidi (ODN), memeli kromozom ucunda bulunan telomerik TTAGGG motiflerinin taklidi ile oluşturulmuş sentetik bir dizidir. Çalışmalarımız bu sekansın bir TLR9 antagonisti olarak immün baskılayıcı özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. A151'in AIM2 enflamazom yolağını baskıladığı, cGAS-STING yolağını düzenleyerek IFN α salımını azalttığı ve Th2 tipi yanıtı desteklediği rapor edilmiştir. Tüm bu immün baskılayıcı özelliklere rağmen A151 ODN'in etki mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır. Bu çalışmadaki amacımız A151 ODN'nin immün hücrelerine uyguladığı immün düzenleyici etkinin mekanizmasını araştırmaktır.

YÖNTEM: Farenden izole edilen dalak hücreleri ve insan periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC) TLR9 ligandı olan CpG ODN, A151 ODN ve ikisinin kombinasyonu ile uyarıldı. mTOR yolağında rol alan gen düzeyleri qRT-PCR ile belirlendi. Fare kemik iliğinden oluşturulan makrofajlar LPS ile uyarılarak A151'in mTOR fosforilasyonunu baskılama seviyesi akış sitometrisiyle incelendi. Ayrıca fare peritoneal makrofajları A151 varlığında/yokluğunda M1-polarizasyonu için LPS ile, M2-polarizasyonu içinse IL-4 ile 3 gün boyunca uyarıldıktan sonra hücre morfolojileri EVOS ile görüntülenirken, CD206 düzeyi akış sitometrisiyle belirlendi.

BULGULAR: A151, CpG ODN varlığında ve yokluğunda dalak hücrelerinde mTOR'un ve bu yolaktaki Rps6ka1, Myc, Slc2a1, Stat3 gibi genlerin ifadesini düşürmüştür. İnsan PBMC'lerinde de buna benzer şekilde mTOR, Stat3, Eif4ebp1, Slc2a1 gen seviyeleri baskılanmıştır. Peritoneal makrofajlardaki mTOR fosforilasyonu düzeyi, LPS varlığında veya yokluğunda A151 eklenmesi sonrasında azalmıştır. A151 uygulaması, M2 yönünde polarize edilen makrofajlardaki CD206 ifadesini arttırmakla birlikte, polarize olmamış M0-makrofajlarda CD206 ifadesinin A151 uygulamasından sonra yükseldiği görülmüştür.

SONUÇ: A151ODN hücre bölünmesini, metabolizmasını ve protein sentezini kontrol eden mTOR'u ve bu yolakla ilgili birçok genin ifadesini baskıladığı ilk kez tarafımızdan gösterilmiştir. Ayrıca A151 ODN'nin, M0- ve M2-tipi makrofajların CD206 düzeyini arttırırken M0 ve M1-tipi makrofajların morfolojisini M2-yönünde farklılaştırdığı anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: immün baskılayıcı, immün metabolizma, oligodeoksinükleotid

Farede Bleomisin ile Oluşturulmuş Fibrozis Modelinin Lipozomal A151 ODN ile Tedavisi

Bilgehan İbibik, Gizem Kılıç, Özlem Bulut, Muzaffer Yıldırım, Banu Bayyurt Kocabaş, Tamer Kahraman, Gamze Aykut, Gözde Güçlüler, İhsan Gürsel
Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara

AMAÇ: Skleroderma ekstrasellüler matris proteinlerinin birikmesiyle oluşan damarsal anomaliler, enflamasyon ve fibroz ile karakterize edilmiş otoimmün bir hastalıktır. Organa özgü sklerodermal komplikasyonlara karşı tedavi seçenekleri bulunsa da fibrozun çözülmesine yönelik etkin terapi seçenekleri çok kısıtlıdır. Bu çalışmada TLR antagonisti olarak karakterize edilen immün baskılayıcı bir oligodeoksinükleotid olan A151 ODN'yi lipozomlara yükleyerek fibrozu önleme düzeyini belirledik.

YÖNTEM: NIH3T3 hücreleri bleomisin ve A151 ile indüklenerek, i) fibrotik gen seviyeleri qRT-PCR ile ii) sitokin seviyelerindeki değişim ELISA ile belirlenmiştir. Fare kemik iliğinden üretilmiş ve p(dA/dT) ile uyarılmış makrofajların enflamazom düzeyindeki değişim A151 ODN varlığında veya yokluğunda IL-1 β seviyelerini inceleyerek anlaşılmıştır. Son olarak, A151 ODN'nin skleroderma oluşumuna olan baskılayıcı etkisi, serbest ya da lipozomal A151 ODN'yi intratrakeal bleomisin uygulamasından üç gün sonra intraperitoneal enjekte ederek incelenmiştir.

BULGULAR: Veriler, A151 muamelesi sonunda NIH3T3 ve kemik iliğinden oluşturulan makrofajların TGF β gen ifadesini baskıladığını, IL-1 β salımı ile eşyaran CD80 ve CD86 ifadesini ise azalttığını göstermiştir. TLR uyarımı sonrasında NIH3T3 hücre süpernatantlarındaki IL-6 ve TNF α miktarları A151 inkübasyonundan sonra azalmıştır. A151 akciğer dokusundaki Col1a1 ve Col1a2 gen seviyelerini ve aynı zamanda bronkoalveolar lavajdan elde edilen nötrofil sayısını azaltmıştır. Bleomisin instilasyonundan sonra oluşan kilo kaybının A151 kullanımı sonunda gerilediği görülmüştür.

SONUÇ: Verilere göre serbest ya da lipozomlara yüklenmiş A151 ODN'nin in vitro ortamda fibrozisin gelişmesinde katkısı olan ve fibroblastlardan üretilen sitokin salımını azalttığı belirlenirken, skleroderma modelinde ise enflamasyon ve fibrozun oluşumu A151 kullanımı sonunda geriletilmiştir.

Anahtar Kelimeler: fibroz, lipozom, otoimmün hastalık, skleroderma

HCV RNA Pozitif Kronik Hepatit C Hastalarında Otoantikör Prevalansı

Rabiye Altınbaş

Eskişehir Yunus Emre Devlet Hastanesi

Hepatit C virüsü (HCV) ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak önemini sürdürmektedir. Enfeksiyonun geçişinde başlıca enfekte kan ve kan ürünleri rol oynamaktadır. HCV kronik hepatit, hepatik steatoz, siroz ve hepatocellüler karsinom ile ilişkili bulunmaktadır. HCV, karaciğer (KC) hastalığı dışında hematolojik, dermatolojik, renal, otoimmün ve nörolojik bozukluklar gibi çok sayıda ekstra hepatik belirti ve bulgulara neden olmaktadır.

Çalışmamızda HCV enfeksiyonu ile hepatit dışı otoimmün hastalıklar arasında ilişki varlığını göstermek amacıyla; RT PCR ile HCV RNA'sı (+) tayin edilen hastalarda ki HCV RNA varlığının gösterilmesi HCV enfeksiyonunun kesin tanısı için altın standarttır, indirekt immün floresan yöntemi ile otoantikör tayini yaparak, HCV RNA pozitif hastalardaki otoantikör (ANA, AMA, ASMA, LKM) prevalansını tespit ettik.

ANA antikoru, hasta grubunda 11 olguda (%17.46), kontrol grubunda 10 olguda (%18.18) pozitif saptandı. Gruplar arasında ANA pozitifliği yönünden istatistiksel anlamı olan fark saptanmadı ($p=0.919$).

HCV'na bağlı kronik karaciğer hastalığı olan grup ile kontrol grubundaki olguların hiç birinde AMA, LKM antikoru saptanmadı ASMA antikoru, hasta grubunda 3 olguda (%4.76) ve kontrol grubunda 1 olguda (%1.82) pozitif saptandı. Hasta grubu ve kontrol grubu arasında ASMA pozitifliği yönünden istatistiksel anlamı olan fark saptanmadı ($p=0.718$).

Kronik hepatit C enfeksiyonunun konakta çeşitli immünolojik bozukluklara yol açtığı bilinmektedir. Bunlar içinde otoantikörlerin oluşumunun da yer aldığı belirtilmektedir. HCV antijenleri ile konak otoantijenlerindeki moleküler benzerlik (mimicry) ve poliklonal B lenfositlerinin aktivasyonu otoantikör üretimindeki mekanizmalar olarak düşünülmektedir.

Çalışmamızda saptanan oranlar literatürde saptanan otoantikör pozitifliği ile uyumlu olmakla birlikte bazı çalışmalarda bildirilen yüksek oranda otoantikör oluşumu, HCV ile birlikte bölgesel diğer etkenlerin de bu süreçte etkili olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir..

Anahtar Kelimeler: Hepatit C Virus, HCV RNA, Otoantikör

Sistemik Sklerozda Oksidatif DNA Hasarının Tandem Kütle Spektrometri ile Değerlendirilmesi ve Vitamin D Replasmanının Hasar Parametreleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi: Pilot Bir Çalışma

Nazlı Ecem Dal¹, Gamze Tuna¹, Melis Kant², Merve Akış², Berrin Zengin³, Aydan Köken Avşar³, Merih Birlik³, Hüray İşlekel¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İzmir ²Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir ³Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji ve Romatoloji Bilim Dalı, İzmir

AMAÇ: Otoimmün bağ doku hastalığı olan sistemik skleroz (SSk) nadir bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Sistemik sklerozun patogenezi henüz aydınlatılamamıştır ve etkin bir tedavi stratejisi bulunmamaktadır. Patogeneizde oksidatif stresin kritik bir rol oynadığı bilinmesine karşın, oksidatif hasarın kümülatif ve uzun vadeli etkisinin önemli bir belirtici olan oksidatif DNA hasarını değerlendiren kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Vitamin-D eksikliği, SSk hastalarında yaygın bir problemdir ve rutin tedavi sürecinde vitamin-D replasmanı uygulanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, SSk hastalarında daha önce değerlendirilmemiş olan DNA hasarı ürünlerinin ölçümünü, hassas bir yöntem olan sıvı kromatografi tandem kütle spektrometri (LC-MS/MS) ile gerçekleştirmek ve vitamin-D replasmanının bu ürünler üzerine etkisini incelemektir.

YÖNTEM: Çalışmaya 14 SSk hastası dahil edildi. 800 IU/gün dozunda oral vitamin-D takviyesine başlamadan önce hastaların sabah ilk idrar örnekleri toplandı. Hastalara üçüncü ay kontrollerinde, 300.000 IU intramusküler vitamin-D replasmanı yapıldı ve oral vitamin-D takviyesine devam edildi. Replasmanın altıncı ayında yeniden sabah ilk idrar örnekleri toplandı. Başlangıçta ve altıncı ayda alınan idrar örneklerinden oksidatif DNA hasarı ürünleri olan 8,5'-siklo-2'-deoksiadenozin'in S ve R formu (S-cdA, R-cdA) ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OH-dG) LC-MS/MS yöntemi ile ölçüldü. Sonuçlar, idrar kreatinin düzeylerine oranlanarak verildi. Analizler SPSS v.24 yazılımı ile yapıldı.

BULGULAR: S-cdA düzeylerinin, vitamin-D replasmanı öncesinde $0,07\pm 0,05$ nmol/mmol; sonrasında $0,04\pm 0,02$ nmol/mmol; R-cdA düzeylerinin ise, replasman öncesinde $0,11\pm 0,01$ nmol/mmol iken sonrasında $0,06\pm 0,03$ nmol/mmol olduğu gösterildi ($p>0,05$). 8-OH-dG düzeyleri, vitamin-D replasmanı öncesi $3,23\pm 1,40$ nmol/mmol olarak ölçülürken replasman sonrası $2,67\pm 1,46$ nmol/mmol olarak belirlendi ($p>0,05$).

SONUÇ: SSk hastalarında daha önce ölçümü gerçekleştirilmemiş oksidatif DNA hasarı ürünleri S-cdA ve R-cdA'nın hassasiyet ve seçiciliği yüksek bir yöntem olan LC-MS/MS ile ölçülebildiği gösterildi. 8-OH-dG, S-cdA ve R-cdA'nın vitamin D replasmanı sonrası düşüş yönünde bir eğilim gösterdiği tespit edildi. Ön verileri içeren bu çalışmada örnek sayısının az olması nedeniyle istatistiksel anlamlılığa ulaşamadı. Vitamin D'nin oksidatif DNA hasarı üzerine etkisi daha geniş bir örneklemde, kapsamlı olarak değerlendirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Oksidatif DNA Hasarı, Sıvı Kromatografi-Tandem Kütle Spektrometri, Sistemik Skleroz, Vitamin D Replasmanı

LAG3 ve HLA-DR moleküllerinin yardımcı T hücre aktivasyonu ile ilişkilendirilmesi

Aslı Akın¹, Utku Horzum², Güneş Esendağlı²

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

AMAÇ: T hücre yanıtının düzenlenmesinde etkin rol oynayan ko-inhibitör reseptörler (PD-1, CTLA-4, TIM-3, LAG3, vb.) kronik inflamatuvar hastalıklar ve kanserde sürekli ifade edilerek immün yanıtları sekteye uğratar. LAG3 yapısal olarak CD4'e benzer ve MHC-II'ye yüksek afinite ile bağlanır. Her iki molekül de CD4+ T hücrelerinin üzerinde belirlenebilmektedir ancak yalnızca özel durumlarda bazı alt-popülasyonlarda izlenirler. Bu çalışmada reseptör-ligand ilişkisinde olan ve T hücre inhibisyon yollarını aktive eden LAG3 ve HLA-DR moleküllerinin yardımcı T hücre aktivasyon sürecindeki dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Sağlıklı kişilerden safaştırılan CD4+ T hücreleri ve insan monositik hücre hattı (THP-1) ile ko-kültürler oluşturuldu. Devamlı kostimülasyon sinyalleri THP-1 hücrelerinden, birinci sinyal ise anti-CD3 mAb ile sağlandı. 0., 12., 24., 48., 72., 96., 120., ve 144. saatlerde LAG3 ve HLA-DR immünofenotip analizleri gerçekleştirildi. En yüksek düzeyde ko-ekspresyon görülen saatte ko-kültürde uyarılmış olan yardımcı T hücreler FACS yöntemiyle safaştırılarak LAG3 ve HLA-DR immünofloresan ile gösterildi. LAG3 ve HLA-DR pozitifliğine göre FACS ile safaştırılan CD4+ T hücrelerin diğer T hücrelerin çoğalma ve efektör fonksiyonları üzerine olan etkileri eFluor670 proliferasyon kapasite testi ile incelendi.

BULGULAR: Aktivasyon sürecinin 48. saatinde yardımcı T hücreler üzerinde HLA-DR ve LAG3 moleküllerinin ko-ekspresyonlarının arttığı hem akım sitometre analizi hem de immünofloresan görüntülemeleriyle belirlendi. Aktivasyonla birlikte yardımcı T hücre yüzeyinde arttığını tespit ettiğimiz HLA-DR molekülünün T hücre aktivasyon ve proliferasyon kapasitesini değiştirebildiği görüldü.

SONUÇ: Reseptör-ligand ilişkisi içinde olan iki yüzey molekülünün, yardımcı T hücre yüzeyinde aynı anda bulunması, T hücre yanıtlarını aynı popülasyon içerisinde düzenleyebilecek bir inhibisyon mekanizmasına işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Yardımcı T hücre, aktivasyon, ko-inhibitör, HLA-DR, Lag-3

Sürekli uyarım altındaki yardımcı T hücrelerin farklı zaman noktalarında transkriptomik profillerinin ve fonksiyonel karakterlerinin karşılaştırılması

Utku Horzum¹, Ekim Z. Taşkiran², Güneş Esendağlı¹

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

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara,

AMAÇ: CD4+ yardımcı T hücreler edinsel immün sistem yanıtlarının iletilemesi ve düzenlenmesinde kritik role sahiptir. Kronik inflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi immün sistem uyarımının sürekli olduğu ancak yüksek düzeyde olmadığı durumlarda, T lenfositler efektör fonksiyonlarını kademeli olarak kaybeder. Bu durum fonksiyonel yorulma olarak adlandırılır. Bu çalışmada, uyarılmamış yardımcı T hücrelerin erken aktivasyon, geç aktivasyon, efektör farklılaşma ve yorulma gibi fazlarının in vitro modellenmesi ve bu süreçlerde gözlemlenen transkriptomik, fonksiyonel ve sitolojik değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Sağlıklı kişilerden safaştırılan CD4+ T hücreleri ve insan monositik hücre hattı (THP-1) ile ko-kültürler oluşturuldu. Devamlı kostimülasyon sinyalleri THP-1 hücrelerinden, birinci sinyal ise anti-CD3 mAb ile sağlandı. Hücre kültürü ortamı ve uyarımlar sürekli tazelenerek 0., 12., 24., 48., 72., 96., 120., ve 144. saatlerde çokrenkli immünofenotiplendirme (CD3, CD4, CD69, CD25, CD154, TIM3, LAG3, PD-1, CTLA-4), canlılık (Annexin V-PI), proliferasyon (eFluor670, hücre siklus analizi) ve morfolojik değişim (immünofloresan ve Giemsa) analizleri gerçekleştirildi. İlgili zaman noktalarında ko-kültürlerde uyarılmış olan yardımcı T hücreler FACS yöntemiyle safaştırıldı ve RNA izolasyonunu takiben RNA-dizi kütüphanesinin hazırlanması ve yeni nesil sekanslama (NGS) yapılarak yardımcı T hücrelerin transkriptomik profili değerlendirildi.

BULGULAR: Yardımcı T hücrelerin farklı aktivasyon fazlarında gösterdikleri transkriptomik değişikliklerin hücrelerin fonksiyonel karakterleri ve morfolojisi ile uyum sağladığı görüldü. Erken ve geç aktivasyon fazlarının bir birinden ayırt edilebildiği; hücre çoğalması ve sitokin salımı ile karakterize edilen efektör sürecin yorulma ve sessiz faza nasıl bağlandığına dair yaklaşık 23x10e3 mRNA ifadesine ait profil elde edildi.

SONUÇ: Kronik uyarım altındaki yardımcı T hücrelere ait transkriptomik profillerden elde edilen fonksiyonel modüllerin yardımcı T hücre davranışına etkileri hakkında imza örgüleri elde edildi. Bu sayede, farklı hastalıklarda yardımcı T lenfosit yanıtlarının değerlendirilebilmesi için standardizasyon verisi oluşturuldu.

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aktivasyon, Yardımcı T hücre, Yeni nesil sekanslama

Çeşitli Bitkisel Ekstrelerin İnsan Periferik Kan T ve NK Hücre Çoğalması Üzerine Etkileri

Utku Güneş, Umut Can Küçüksezer, Günnur Deniz

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

Bitkisel ekstrelerin biyoaktivitelerinin tanımlanması ve bu biyoaktivitelere uygun kullanım alanlarının oluşturulması önemli bir araştırma alanıdır. Bu tez çalışması kapsamında, 3'ü Türkiye'ye endemik olan toplam 11 metanolik bitki ekstresinin (Centaurea antiochia, Cotinus coggygia, Crataegus microphylla, Olea europaea, Rosa damascena, Stachys cretica, Teucrium sandrasicum, Thymus praecox, Thymus pseudopulegioides, Thymus sipyleus, Oryganum vulgare) uyarılmış periferik kan mononükleer hücreler (PKMH) üzerindeki anti-proliferatif etkileri MTT kolorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışılan bitki ekstrelerinden en yüksek inhibisyonu sağlayan Centaurea antiochia, Cotinus coggygia, Stachys cretica ve Teucrium sandrasicum fraksiyonlarının uyarılmış PKMH'ler üzerindeki etkileri Karboksi Floresein Suksitimidil Ester (CFSE) yöntemi ile akan hücre ölçerinde tekrar analiz edilmiş ve sitomilasyon indeks (SI) parametreleri belirlenmiştir. Cotinus coggygia ekstresinin anti-proliferatif etkisinde apoptotik yolların etkisini incelemek için Annexin V/Propidiyum iyodür boyama gerçekleştirilmiş ve bu ekstrenin apoptoza neden olmadığı görülmüştür. Periferik kan T ve doğal öldürücü (NK) hücreler üzerindeki etkileri ise proliferatif yanıt ile takip edilmiştir. Cotinus coggygia ekstresinin çalışılan tüm hücre gruplarının proliferasyonunu inhibe ettiği ancak sitotoksik T hücrelerinin proliferasyonunu diğer hücre gruplarına göre daha yüksek oranda inhibe ettiği görülmüştür. Bu inhibisyonun sebebini belirlemek amacıyla kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu ile IL-1 β , IL-2, IL-4 ve IL-10 genlerinin anlatım düzeyleri araştırıldığında, IL-1 β , IL-2 ve IL-10 gen anlatımlarında azalma, IL-4 gen anlatımında artma olduğu belirlenmiştir. Bulgularımız Cotinus coggygia ekstresinin anti-enflamuar yolakları aktive ettiğini düşündürmektedir.

Bu bulgular anti-enflamuar etkileri henüz araştırılmamış olan Cotinus coggygia metanol fraksiyonunun saptanan anti-enflamuar etkilerinin yeni anti-enflamuar etkili ilaçların ve bunlara bağlı tedavilerin geliştirilmesinde öncü olabileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Anti-enflamuar aktivite, T ve NK hücreleri, İnterlökinler

Foliküler yardımcı T (Tfh) hücre alt gruplarının myasthenia gravis gelişimindeki rolü

Mehmet Hocaoglu¹, Merve Çebi¹, Hacer Durmuş², Sibel P. Yentür¹, Yeşim Parman², Güher Saruhan Direskeneli¹

¹İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD

²İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji AD

AMAÇ: Myasthenia gravis (MG) nöromusküler bileşkedeki bilinen 3 farklı otoantijene karşı oluşan otoantikörlerin neden olduğu T hücre aracılı otoimmün bir hastalıktır. MG'de hastaların büyük bir kısmında otoantikörler asetilkolin reseptörüne (AChR) karşı oluşurken, küçük bir bölümünde kasa özgü kinaz (MuSK) proteinine karşı oluşmaktadır. Bu çalışma, B hücresi antikör üretiminde rol oynayan Tfh1, Tfh2 ve Tfh17 alt gruplarını AChR'ye karşı otoantikörlerle gelişen MG (AChR-MG) ve MuSK proteinine karşı otoantikörlerle gelişen MG (MuSK-MG) hastalarında incelemeyi amaçlamaktadır.

YÖNTEM: Çalışmaya 24 AChR-MG, 3 MuSK-MG hastası ve 19 sağlıklı kontrol (SK) dahil edildi. AChR-MG hastalarının 13 tanesi immünsüpresif tedavi görürken (AChR-MG-ISP), 11 tanesi immünsüpresif ilaç (kortikosteroid, azathioprine, imuran) kullanmamıştı (AChR-MG-ISN). Hastaların kanlarından mononükleer hücre elde edildi. Hücreler CD4 (PeCy7) ve CXCR5 (FITC) antikoru ile boyandı ve CD4+ hücre grubu içindeki CXCR5+ hücreler Tfh hücreleri olarak tanımlandı. Tfh alt grupları ayırımı için hücreler CCR6 (PE) ve CXCR3 (Efluor 660) antikörleri ile boyandı. CCR6- CXCR3+ hücreler Tfh1, CCR6-CXCR3- hücreler Tfh2 ve CCR6+CXCR3- hücreler Tfh17 olarak sınıflandırıldı. İstatiksel analiz parametrik olmayan Mann Whitney U testiyle yapıldı.

BULGULAR: Tfh hücrelerinin genel dağılımına bakıldığında AChR-MG hasta grubu ve sağlıklı kontroller arasında fark yoktu (SK: %3.7, AChR-MG-ISP: %3.7, AChR-MG-ISN: %3.8). MuSK-MG hastalarının Tfh hücre popülasyonu yüksek görüldü (MuSK-MG: %6.6), fakat bu grupta 3 hasta bulunduğu için istatistiksel değerlendirme yapılmadı. Tfh alt grupları kontrol grubunda değerlendirildiğinde en yüksek oranda bulunan popülasyonun Tfh2 alt grubu olduğu görüldü (Tfh1: %17, Tfh2: %43, Tfh17: %31). AChR-MG-ISN hastaların, AChR-MG-ISP hastalara göre Tfh2 hücre popülasyonu düşük bulundu (p= 0.011). Ayrıca, AChR-MG-ISN hastalarının Tfh2 hücre popülasyonu sağlıklılara göre de düşüktü (p= 0.045).

TARTIŞMA: Tfh2 hücre popülasyonunun AChR-MG-ISN hastalarında, AChR-MG-ISP hastalara göre düşük olması bu hücrelerin hastalık gelişiminde azaldığını düşündürmektedir. MuSK-MG hastalarındaki Tfh hücre popülasyonu yüksekliğinin, hastalık gelişimiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür ve bu alt grupta hasta sayısı artırılarak çalışmalara devam edilecektir.

Anahtar Kelimeler: Tfh, otoimmünite, B hücresi, otoantikör, myasthenia gravis

Pedriatrik ve erişkin sağlıklı kontrol gruplarında mitojenlerle uyarılmış lenfosit proliferasyon değerlerinin CFSE dilüsyonu yöntemiyle karşılaştırılması

Umut Can Küçüksezer¹, Zaky Shoub Elshari¹, İlhan Tahralı¹, Serdar Nepesov², Yıldız Camcioğlu², Günnur Deniz¹

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

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

GİRİŞ: Antijene yanıtı lenfosit klonlarının çoğalmaları yani proliferasyonları, kazanılmış immün yanıtlarda ilk basamağı oluşturmakta olup efektör fonksiyonların gelişimi açısından önemlidir. Lenfosit proliferasyonunu inceleyen testler hem immünolojik araştırmalar hem de klinik tanı açısından ilgi çekmektedir. Pedriatri klinikleri, primer immün yetmezliklerin tanı ve takibi için bu testleri istemekte, deney kontrolü ve karşılaştırma için ise sağlıklı kontroller gerekmektedir. Pedriatrik yaş grubundan kan almanın olası zorlukları nedeniyle erişkin sağlıklı kontrollerle uyum sorgulanmaktadır. Bu çalışma, pedriatrik ve erişkin sağlıklı kontrollerin mitojenlerle uyarılmış proliferasyon değerlerini karşılaştırmayı amaçlamaktadır.

YÖNTEMLER: Pedriatrik (n=19,) ve erişkin (n=20) sağlıklı bireylerden alınmış heparinize kan örneklerinden periferik kan mononükleer hücreleri ficol konsantrasyon gradyan santrifüjleme yöntemi ile saflaştırılmış, karboksiflorescein süksinimidil ester (CFSE) ile işaretlenmenin ardından hücreler 120 saat boyunca fitohemaglutinin (PHA) ve anti-CD2, -CD3 ve -CD28 monoklonal antikor kokteyli (CD-Mix) mitojenleri ile hücre kültürü ortamında uyarılmış, sürenin sonunda lenfositlerin proliferasyon değerleri akan hücre ölçer yardımı ile ölçülmüştür. Grupların karşılaştırılmasında bağımsız örnekler için T Testi kullanılmıştır.

SONUÇLAR: Erişkin ve pedriatrik kontrol grupları arasında, uyarılmamış (% 3,57±1.8 vs % 3,54±1,26), PHA uyarımlı (% 78,42±9,66 vs % 81,27±9,82) ve CD-mix uyarımlı (% 84,91±6,02 vs % 82,74±6,88) koşullar açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. Pedriatrik kontroller 0-2 yaş (n=6), 3-5 yaş (n=4), ve 6-18 yaşlara (n=9) göre gruplandırılmışlardır. Bu grupların kendi aralarında ve erişkin sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmalarında da lenfosit proliferasyon değerleri açısından anlamlı fark gözlenmemiştir.

TARTIŞMA: Bu çalışmanın ön sonuçları, pedriatrik ve erişkin sağlıklı kontrol grupları arasında benzerlik ortaya koymuştur. Bu bulguların ışığında, PHA ve CD-Mix gibi poliklonal aktivatörlerin kullanımında, erişkin sağlıklı kontrollerin pedriatrik sağlıklı kontroller yerine kullanılabilmesinin mümkün olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akan hücre ölçer, lenfosit, mitojen, proliferasyon

CpG ODN ile adjuvantlanmış Leishmania eksozomlarının Kutanöz Leishmaniasis'e karşı koruyucu aşı potansiyelinin araştırılması

İsmail Cem Yılmaz¹, İhsan Cihan Ayanoğlu¹, Emre Mert İpekoğlu¹, Emre Dünüroğlu¹, İhsan Gürsel², Mayda Gürsel¹

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara

²Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Departmanı, Ankara

Şark çıbanı olarak da bilinen Kutanöz Leishmaniasis (KL), kendiliğinden iyileşen cilt lezyonları, kişiyi zayıf düşüren kronik yaralar veya tekrarlayan lezyonlar olarak seyreden ihmal edilmiş bir paraziter hastalıktır.

1990-2010 yılları arasında Türkiye'de 3 farklı Leishmania türünün neden olduğu 46.000 yeni KL vakası tespit edilmiştir. KL'nin son derece endemik olduğu Suriye'den çok sayıda göç alan Türkiye'de, yakın gelecekte KL vakalarında önemli bir artış olacağı öngörülmektedir. Tedavi için kullanılan pentavalent antimonialler ile ilişkilendirilen yüksek maliyet, toksisite ve ilaç direnci ile mevcut lisanslı bir aşının yokluğu, etkili bir koruyucu aşının geliştirilmesini gerektirmektedir. Bu çalışmada, CpG ODN bazlı aşı adjuvantları ile kombinasyon halinde parazitlerden salınan Leishmania antijeni açısından zengin küçük keseciklerin (eksozomlar) koruyucu bağışıklık için aşı potansiyelini araştırdık. Çözülebilir leishmania antijeni (SLA) veya parazit eksozomları L. majör türlerinden izole edildi. Aşılama için, Balb / c fareleri ikişer kez ısıyla öldürülen parazitler, SLA veya eksozomlar ile tek başlarına veya CpG ODN eşliğinde aşılanmıştır. Leishmania antijenine spesifik IgG seviyeleri, ELISA ile serumdan ölçülmüştür. Aşı formülasyonları ile ortaya çıkan Th1 / Th2 / Th17 cevapları, sitometrik boncuk teknolojisi (CBA) kullanılarak antijen ile uyarılmış splenositlerden ölçülmüştür. Elde edilen bulgular, SLA ve eksozomların ümit vaat eden anti-Leishmania koruyucu antijenler olduğunu ve D-tipi CpG ODN'nin en güçlü adjuvant olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca, yapılan ön çalışmalar, parazit eksozomlarının ümit vaat eden antijen taşıyıcılar olduğunu, ancak keseciklerle ilişkili proteazların etkisiz hale getirilmesinin immünojenisitesini arttırabildiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: CpG ODN, eksozom, Kutanöz Leishmaniasis, parazit, pentavalent antimonialler

TCR genlerinin aktarılmasıyla melanoma ile ilişkili antijen tirozinaza spesifik Doğal Öldürücü hücrelerin geliştirilmesi

Ayhan Parlar¹, Ece Canan Sayioğlu², Cevriye Pamukcu¹, Anna Maria Georgoudaki², Didem Ozkazanc¹, Mertkaya Aras¹, Pegah Zahedimaram¹, Lolai İkmrozoda¹, Evren Alici³, Batu Erman¹, Adil Doğanay Duru², Tolga Sütü⁴

¹Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Sabancı Üniversitesi, İstanbul, Türkiye ²NSU Cell Therapy Institute, Nova Southeastern University, Fort Lauderdale, FL, USA ³Center for Hematology and Regenerative Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden ⁴Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul, Türkiye

AMAÇ: Antijene özgü hedefleme yapmak üzere, kimerik antijen reseptörleri (CAR) ve T hücre reseptörleri (TCR), yaygın olarak kullanılan iki yöntemdir. Çoğunlukla sitotoksik T hücrelerin kullanıldığı bu yaklaşımlar içerisinde doğal öldürücü hücreler de (NK) CAR için kullanılabilir. CAR ile hücre yüzeyindeki, TCR ile hücre içi antijenler hedeflenebilmektedir. TCR molekülünün heterodimerik yapısı sebebiyle, dışarıdan verilen alfa ve beta zincirlerinin T hücresinin içerisinde sentezlenen alfa ya da beta zincirleriyle eşleşme riski vardır. Bu olgu yanlış eşleşme problemi olarak adlandırılmakta ve özgüllüğü bilinmeyen ve potansiyel otoimmün TCR oluşturma riski taşımaktadır. Bu sorunu ortadan kaldırmak ve hücre içi antijenlerin NK hücreler tarafından hedeflenebilmesi için, TCR gen terapisini NK hücreleri üzerinde uygulamayı planladık.

YÖNTEM: Bu çalışmada NK92 ve YTS hücre hatları kullanıldı. Bu hücrelerde TCR kompleksinin ifade edilmesi için lentiviral gen aktarımı gerçekleştirildi. Akan hücre ölçeği ile gen aktarımı doğrulandı. NK sitotoksitesini belirlemek için A375 melanom hücre hattı ve bu hücrenin tirozinaz proteinini yüksek oranda ifade eden türevi kullanıldı. Gerçek zamanlı sitotoksitesini belirlemek için xCELLigence RTCA cihazı kullanıldı. NOD/SCID farelerine floresans etiketli tümör hücreleri verilerek TCR ifade eden NK hücrelerinin in vivo aktivitesi test edildi. Tümörler farelere subkutan şekilde sağ ve sol yanına injekte edildi. NK-TCR hücreleri de belirlenen günlerde fareye verildikten sonra düzenli olarak ölçümler alındı.

BULGULAR: Sonuçlarımız, dışarıdan verilen CD3δ, CD3γ, ve CD3ε genlerinin, TCR α/β genleriyle birlikte ifade edildiğinde, HLA-A2 kompleksiyle sunulan tirozinaz epitopuna karşı fonksiyonel TCR oluşturabildiğini göstermiştir. CD3 ve TCR α/β molekülleri tek başına hücre yüzeyine çıkmamakta, ancak birlikte ifade edildiklerinde hücre yüzeyinde kompleks oluşabilmektedir. Ayrıca sonuçlarımız, TCR kompleksini NK hücrelerinde ifade etmenin antijen-spesifik sitotoksitesini in vitro ve in vivo olarak çarpıcı bir şekilde artırdığını göstermiştir.

SONUÇ: Bulduğumuz bu yöntem kanser immünoterapisi alanında yeni bir yaklaşım olmakla kalmayıp aynı zamanda TCR gen terapisinde görülen yanlış eşleşme sorununun nihai çözümüdür.

Anahtar Kelimeler: TCR gen terapisi, Doğal öldürücü hücreler, tümör immünolojisi, antijene özgü hedefleme

Sıvı Kromatografisi ve Kütle Spektrometrisi ile Biyobenzer Ürünlerde İntakt Protein Analizi

Başak Özata¹, Pegah Zahedimaram², Lolai İkmrozoda², Melike Berksöz², Huriye Erdoğan⁴, Duygu Dağlıkoca³, Yılmaz Çapan³, Batu Erman², Tolga Sütü¹

¹Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul ²Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Sabancı Üniversitesi, İstanbul ³İLKO ARGEM Bioteknoloji Merkezi, Teknopark, İstanbul ⁴Kimya Bölümü, Gebze Teknik Üniversitesi, İstanbul

AMAÇ: Günümüzde monoklonal antikorlar (mAb) kanser ve otoimmün bozukluklar gibi önemli hastalıkların tedavisi için klinikte kullanılmaktadır. Orijinal mAb ilaç patentlerinin sürelerinin dolmaya başlamasıyla beraber biyobenzer ilaçların üretilmesinin önündeki engel de ortadan kalkmaya başlamıştır. Fakat mAb'ler analiz ve üretim açısından oldukça karmaşık yapılardır. Referans ürüne benzeyen bir aday ürünün moleküler benzerliğinin değerlendirilmesi, biyobenzer ilaç geliştirilmesindeki en kritik adımdır. Biyobenzer ve referans ürünlerin karşılaştırılmasının genel amacı, ikisi arasındaki herhangi yapısal bir farkın, etkinlik ve güvenlik açısından etkilerini tespit edebilmektir. Bu bağlamda ilk ve en kritik adım kapsamlı analitik karakterizasyondur. Üretilen biyobenzerin tam karakterizasyonu için birçok farklı analitik araç ve teknik kullanılmaktadır. Bu çalışmada, referans ürün ve biyobenzer arasındaki moleküler benzerlik intakt mAb analizi açısından ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir.

YÖNTEM: İntakt mAb analizleri, monoklonal antikor yapıdaki biyobenzer çalışmalarında molekülün ağırlığı, proteinin büyüklüğü ve post-translasyonel modifikasyonların belirlenmesi için gerekli bir analizdir. Bu çalışmada, sıvı kromatografisi (LC) ve kütle spektrometrisi (MS) kullanılarak referans ürün ve bir biyobenzer aday ürüne intakt mAb analizi uygulanmıştır. Herhangi bir örnek hazırlama gerektirmeyen bu analiz metodu molekülün yapısı bozulmadan LC-MS ile değerlendirilmesine olanak sağlar. UPLC-Xevo G2 XS- QTOF sistemi kullanılarak yapılan analiz sonucu her iki örnek için kütle spektrumları elde edilmiştir. UNIFI yazılımı biyobenzerlik değerlendirmesi için örneklerin doğrudan spektrum karşılaştırmasını yapmaya olanak sağlamaktadır.

BULGULAR-SONUÇ: LC-MS analizi sonucunda elde edilen ham data UNIFI yazılımı dekonvolusyon algoritması kullanılarak, istenen kütle aralığı içerisinde kütle/yük datasını yükten arındırıp kütle spektrumuna (Dalton) çevirmektedir. Dekonvolusyon spektrumunda görülen ana pik intakt mAb 'in moleküler ağırlığını vermektedir. Biyobenzer ürün ile referans ürünün moleküler ağırlıklarının birebir uymaktadır. Dekonvolusyon spektrumunda görülen diğer pikler ise mAb' in farklı glikoformlarını ifade etmektedir. Referans ürün ile biyobenzer ürün arasında farklı glikoformları da tespit edilmiştir.

Bu proje 115G074 nolu TUBİTAK projesi tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyobenzer ilaçlar, İntakt mAb analizi, Kütle Spektrometrisi

Biyobenzer ilaçlarda kütle spektrometrisi ile glikan profili analizi

Lolai İkmrozda¹, Pegah Zahedimaram¹, Başak Özata², Melike Berksöz³, Hüriye Erdoğan⁴, Emine Duygu Dağlıkoca³, Yılmaz Çapan³, Batu Erman¹, Tolga Sütü²

¹Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Sabancı Üniversitesi, İstanbul

²Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul

³İLKO ARGEM Biyoteknoloji Merkezi, Teknopark İstanbul

⁴Kimya Bölümü, Gebze Teknik Üniversitesi, İstanbul

AMAÇ: Biyofarmasötik endüstrisinde monoklonal antikolar (mAb'lar), otoimmün ve kanser gibi çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılan geniş bir üretim yelpazesine sahiptir. mAb'ların yapısal karmaşıklığı sadece büyük protein molekülleri olmalarından değil aynı zamanda üretildiği şartlara göre değişebilen bir çok post-translasyonel modifikasyon taşımalarındandır. Bunların en önemlilerinden olan glikozilasyon, hücreler arası etkileşim, fosforilasyon, patojen-host etkileşimleri gibi birçok moleküler mekanizmada önemli bir işleve sahiptir. mAb'larda glikozilasyon, Antikora Bağımlı Hücrel Sitotoksikite (ADCC), yarı ömür, doku dağılımı, biyolojik aktivite, farmakokinetik ve farmakodinamik gibi ilacın birçok önemli özelliğini değiştirebilecek bir işleve sahiptir. Bu sebeplerden dolayı glikozillenme profilinin tanımlanması, özellikle biyobenzer mAb üretimi sırasında büyük önem taşımaktadır. **YÖNTEM:** Bu çalışmada, XeVo-XS QToF kütle spektrometrisi ile entegre hidrofilik etkileşim sıvı kromatografisi (HILIC UPLC) kullanılmıştır. Glikanlar PNGase F enzimi tarafından proteinden kesilerek saflaştırıldıktan sonra floresan ve MS problemleri ile etiketlenerek kütle spektrometrisinde tespit edilmiştir.

BULGULAR: mAb üretimi ve saflaştırılması sonrası, farklı glikan formlarının kantifiye edilerek orijinal ürün için belirlenen aralıkla karşılaştırılması biyobenzerlik hakkında bir fikir verir. Optimize edilmiş olduğumuz yöntemle saflaştırılmış mAb örneklerinde yüksek çözünürlükte glikan profillemesi başarıyla gerçekleştirilmiştir. Farklı üretimlerle orijinal ilaç arasında tespit edilen glikan profili farkları spesifik olarak raporlanarak ilacın yukarı akım ve aşağı akım imalat süreçlerine gerekli geribildirim verilebileceği gösterilmiştir.

SONUÇ: Biyobenzer ilaçta farklı glikan formlarının final ürünlerdeki yüzdesel dağılımı, orijinal ilacın glikan profiliyle eşdeğer olmalıdır. Biyobenzer ilacın geliştirilmesi sırasında kütle spektrometrisi ile yapılan glikan analizi sayesinde üretim ve saflaştırma süreçleri yakından kontrol edilebilmektedir.

Bu proje 115G074 no'lu TÜBİTAK projesi kapsamında desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyobenzer ilaçlar, Glikan Analizi, Kütle Spektrometrisi

NK hücreleri ve tümör hücreleri arasındaki etkileşimin genetik olarak modifiye edilmiş NK-92 hücreleri kullanılarak haritalandırılması

Didem Ozkazanc Unsal¹, Elif Celik¹, Michael Chrobok⁴, Batu Erman¹, Evren Alici⁴, Adil Doganay Duru³, Tolga Sutlu²

¹Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Sabancı Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul, Türkiye

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

⁴Center for Hematology and Regenerative Medicine, Karolinska University Hospital Huddinge, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

AMAÇ: Doğal öldürücü (NK) hücrelerde sitotoksik aktivite hücre yüzeyinde taşınmakta olan aktivasyon ve inhibisyon reseptörlerinden gelen sinyaller arasındaki denge tarafından kontrol edilmektedir. Bu çalışmada farklı reseptörleri yüksek düzeyde ifade etmek üzere genetik olarak modifiye edilmiş NK-92 hücre hatları kullanılarak NK-hedef hücre arasındaki reseptör-ligand etkileşiminin temel mekanizmalarının anlaşılması hedeflenmektedir.

YÖNTEM: Aktivasyon ve/veya inhibisyon sağlayan 20 farklı yüzey reseptör geni belirlenerek lentiviral vektörlere klonlanmış ve bu vektörler NK-92 hücre hattında genetik modifikasyon için kullanılmıştır. Tek bir özgül reseptörü overekspres eden yeni hücre hatları fenotiplendirilmiş ve efektör fonksiyonları test edilmiştir.

BULGULAR: Yeni hücre hatlarında, özellikle CRACC, DNAM-1, NKG2D taşıyan NK-92 hücrelerinde, K562 hücre hattına karşı kontrollere kıyasla sitotoksik cevapta belirgin bir artış ölçülmüştür. Gen aktarımı NK-92 hücrelerinin fonksiyonlarını bozmamış ve hatta tümöre özgül ligand taşıyan bazı hücre hatlarına karşı yanıtları artmıştır.

SONUÇ: Çalışmamızın NK-tümör etkileşimlerine sağlayacağı temel bakış açısı NK hücresi bazlı kişiselleştirilmiş immünoterapi uygulamalarının geliştirilmesinde etkin olacaktır.

*Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje kodu: 114Z861).

Anahtar Kelimeler: İmmünoterapi, moleküler immünoloji, NK hücreleri, kanser immünolojisi

Biyobenzer Ürünlerde Kütle Spektrometrisi ile Peptit Haritalama Analizi

Pegah Zahedimaram¹, Lolai Ikromzoda¹, Başak Özata², Melike Berksöz³, Hüriye Erdoğan⁴, Emine Duygu Dağlıkoca³, Yılmaz Çapan³, Batu Erman¹, Tolga Sütü²

¹Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Sabancı Üniversitesi, İstanbul

²Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul

³ILKO ARGEM Biyoteknoloji Merkezi, Teknopark İstanbul

⁴Kimya Bölümü, Gebze Teknik Üniversitesi, İstanbul

AMAÇ: Biyofarmasötiklerin kalite kontrolünde en önemli adımlardan birisi üretilen protein yapıdaki ilacın dizisini analiz etmektir. Bu amaçla uygulanan peptit haritalama analizinde protein öncelikle enzimatik veya kimyasal yöntemler kullanılarak küçük peptit parçalarına ayrılır. Kimyasal yöntemlerde Cyanogen Bromide (CNBr) gibi nükleofilik non-enzimatik kimyasallar kullanılarak peptit bağlarının parçalanması sağlanırken enzimatik yöntemlerde ise Tripsin gibi hangi peptit dizisinden kestiği bilinen proteaz enzimleri kullanılarak önceden tahmin edilebilecek küçük peptitler elde edilir. Biyofarmasötiklerin kalite kontrol amacıyla peptit haritalanmasına tabi tutulması, üretilen ürünün dizisi bilindiği için nispeten kolaydır. Fakat geliştirilen protokollerin üründeki nokta mutasyonları veya başka dizi değişikliklerini ve posttranslasyonel modifikasyonlardaki değişiklikleri hassas ve tekrar edilebilir bir şekilde tespit edebilmesi gerekmektedir. Bu çalışmanın temel amacı Tripsin ve Kemotripsin enzimlerinin biyobenzer monoklonal antikorların peptit haritalaması analizlerinde hassas ve tekrar edilebilir bir şekilde kullanılması için yöntem geliştirmektir.

YÖNTEM: Tripsin ve Kemotripsin kullanılarak peptit sindirimi yapılması için gerekli şartlar optimize edilmiştir. Sindirim sonrası ortaya çıkan peptitlerin karakterizasyonu için UPLC/ Xevo G2-XS QTOF –MS sistemi kullanılmıştır.

BULGULAR: Elde ettiğimiz sonuçlara göre hem tripsin hem de kemotripsin peptit haritalama analizi için verimli bir şekilde kullanılabilir. Analiz sırasında %95 ve üzeri kapsama rutin olarak elde edilebilmiştir fakat protein dizisinin %100 kapsanabilmesi için sindirim sonrası ortaya çıkan tüm peptitlerin kütle spektrometrisinde elektrosprey iyonizasyon yöntemiyle iyonize edilebilir olması gerekliliği görülmüştür. İyonizasyon verimliliği ise peptitin biyokimyasal özelliklerine göre değişmektedir. **SONUÇ:** Peptit dizisinde biyokimyasal özellikleri sebebiyle düşük düzeyde iyonlaşma verimliliğine sahip dizilerin de tespit edilebilmesi için optimizasyon çalışmalarımız sürmektedir.

Bu çalışma 115G074 no'lu TUBITAK projesi kapsamında desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: peptit haritalama, kütle spektrometre, biyobenzer

Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde İmmün Hücre Tiplerinin Karakterizasyonu

Gönül Seyhan¹, Akif Turna², Ayça Sayı Yazgan¹

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

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

AMAÇ: Akciğer kanserinin ölüm oranı yüksektir. Kanser mikroçevresinde immün yanıtın baskılanması için Interlökin-10 (IL-10) oldukça önemlidir. Bu çalışma, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (KHDAK) immün hücreleri, ifade ettikleri yüzey belirteçleri ve salgıladıkları sitokinlere göre karakterize etmeyi ve tümör mikroçevresinin, sağlıklı B ile CD4⁺ T hücreleri üzerindeki etkisini incelemeyi amaçlamaktadır. Çalışmamız özellikle KHDAK'ta daha önce tanımlanmamış regülatör B hücrelerine (Breg) odaklanmıştır. Bu amaçla, T hücre (CD4) ve Breg (CD19, CD24, CD38) yüzey belirteçleri, programlı hücre ölümü-1 (PD-1) molekülü, anti-enflamatuvar (IL-10) ve pro-enflamatuvar (IFN γ) sitokin profilleri incelenmiştir.

YÖNTEM: İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi bölümüne başvuran KHDAK hastalarının periferik kan örneklerinden mononükleer kan hücreleri (PBMC); cerrahi operasyon sonrasında alınan tümör dokusundan ise tümöre infiltrat lökosit (TIL) elde edilmiştir. KHDAK mikroçevresinin etkilerini araştırmak için, sağlıklı kontrol PBMC'lerden B ve CD4⁺ T hücreleri manyetik ayırım yöntemiyle izole edilmiştir. Daha sonra bu hücreler, tümör ve normal doku hücrelerinin kültürde tutulmasıyla elde edilen tümör veya normal doku besisi ortamında bekletilmiştir. Boyamalar öncesinde hücreler CpG ODN K3 (0,7 μ g/ml) ile 24 saat uyarılmıştır. Hücre tipleri ve sitokin profilleri anti-CD4, anti-CD19, anti-CD24, anti-CD38, anti-PD1, anti-IL10 ve anti-IFN γ antikorlarıyla boyanarak akan hücre ölçerde analiz edilmiştir.

BULGULAR: 7 sağlıklı kontrol ve 16 KHDAK'lı hastada analiz yapılmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında KHDAK'lı hastaların, kanlarındaki CD4⁺ ve CD19⁺ (%0,82-24,1; %0,85-17,3) hücreler ile TIL'lerindeki aynı hücrelerde (%0-23,7; %0-20) IL-10 ekspresyonunda artma eğilimi görülmüştür. KHDAK'lı hastaların kanlarındaki CD19⁺CD24⁺CD38⁺ hücrelerin IL-10 seviyesi önemli oranda artmıştır (%0-75). KHDAK'lı hastaların hem kanlarındaki (%7,88-26,2) hem de TIL'lerindeki (%3,52-28,6) B hücrelerinin PD-1 ekspresyonu sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında (%0,79-3,9) anlamlı olarak artmıştır. PD-1⁺IL-10⁺ B hücreleri ise kontrollere göre (%0-0,94) kanda (%0,68-5,45) ve TIL'lerde (%1,58-7,04) anlamlı olarak artmıştır. Yapılan ön çalışmaya göre, primer KHDAK tümör hücre süpernatantı ile muamele edilen sağlıklı B ve CD4⁺ T hücreleri IL-10 üretimini artırmış; CD4⁺IFN γ ⁺ hücre miktarı azalmıştır.

SONUÇ: Bu bulgular KHDAK'ta anti-enflamatuvar bir mikroçevre olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: akciğer kanseri, Breg, IL-10, PBMC, tümör infiltrat lenfosit (TIL)

T hücre yanıtlarının farklı oranlarda nötrofil, monosit ve akciğer adenokarsinom hücreleri içeren ko-kültürlerde değerlendirilmesi

Feyza Gül Özbay, Güneş Esendağlı

Hacettepe Üniversitesi, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Küçük hücreli-dışı akciğer kanserinde (KHDAK), tümöre infiltre olan lenfositlere rastlanabilmektedir. Diğer taraftan, KHDAK tümör mikroçevresinde nötrofiller ve monosit/makrofajlar da önemli bir popülasyonu oluşturur. Bu hücrelerin kanser hücrelerinin varlığında birbirleri ile etkileşimi hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada, akciğer adenokarsinom hücreleri ve T lenfositler nötrofil ve monositlerin varlığında dört komponentli ko-kültür modelleri gerçekleştirilerek T lenfosit yanıtları, nötrofil ve monosit aktivasyonunun araştırılması hedeflenmiştir.

YÖNTEM: Akciğer adenokarsinom hücreleri (A549, NCI-H1299, NCI-H441) ve T lenfositler nötrofil ve monositlerin varlığında farklı oranlarda ve sürelerde hücre kültüründe bir arada tutuldu. Sağlıklı donörlerden alınan kandan iki fazlı (1077 – 1119) yoğunluk ayrımı ile mononükleer hücreler ve granülositler toplandı. Daha sonra MACS ve FACS teknikleri ile CD8+ veya CD4+ T hücreler, Cd66b+ nötrofiller ve Cd14+ monositler saflaştırıldı. Ko-kültürlerdeki nötrofil ve monosit canlılığı (PI boyama) ve aktivasyonu (CD66b, CD62L, CD33, HLA-DR, CD11b, CD86 düzeyi); anti-CD3 uyarımı ile gerçekleşen T-hücre çoğalması akım sitometri ile incelenmiştir.

BULGULAR: Akciğer kanseri hücrelerinin ve süpernatantlarının varlığı, nötrofil (CD66b, CD62L azalması) ve monosit (HLA-DR, CD86 artışı) aktivasyon ve canlılık düzeylerini desteklemiştir. Akciğer kanseri hücrelerinin ko-kültürlerde yer almasına rağmen, özellikle sitotoksik T lenfosit yanıtları nötrofillerin varlığında artmıştır. Düşük oranda eklenen monositlerin varlığı ile bu etki ilerledi. Ko-kültürlerde

SONUÇ: Akciğer kanserindeki tümör mikroçevresini taklit eden nötrofil, monosit, sitotoksik T hücre ve kanser hücrelerinin bulunduğu ko-kültür ortamında, nötrofil canlılığının ve aktivasyonunun desteklendiği ve sitotoksik T hücre yanıtlarının daha verimli düzeye ulaşabildiği gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: nötrofil, monosit, akciğer kanseri, T hücre yanıtları

Mide ve pankreas kanserinde dalak ve periferik kan granülositik miyeloid-kökenli baskılayıcı hücrelerin fonksiyonel ve fenotipik analizi

Ece Tavukçuoğlu¹, Utku Horzum¹, Diğdem Yöyen Ermiş¹, Büşra Aydın¹, Kerim Bora Yılmaz², Ayşegül Üner³, Derya Karakoç⁴, Erhan Hamaloğlu⁴, Güneş Esendağlı¹

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

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

⁴Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Miyeloid-kökenli baskılayıcı hücreler (MKBH), miyeloid hücre gelişiminin farklı olgunlaşma basamaklarını yansıtan heterojen bir gruptur. Bu hücreler çeşitli kanserlerde yüksek düzeyde üretilir ve immün baskılama yaparak özellikle T hücre yanıtlarını sekteye uğratır. Fare çalışmalarında MKBH'lerin dalak ve periferik kanda arttığı gösterilmiştir. İnsan çalışmalarında ise dalak dokusu ile yapılan çalışmalar çok nadirdir ve dalakta yerleşen MKBH'lerin fonksiyon ve karakteri hakkında bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada mide ve pankreas kanserli hastaların dalağındaki ve periferik kanındaki granülositik MKBH'ler immüfenotip, hücresel özellikler ve fonksiyon açısından karşılaştırılmıştır.

YÖNTEM: Onkolojik cerrahi sırasında splenektomi uygulanan 19 mide ve 9 pankreas kanseri hastalarının periferik kan ve dalak örnekleri toplandı. Sağlıklı kişilerin (n=30) periferik kanı ise kontrol olarak kullanıldı. Splenositler ve lökositler iki fazlı (1077 – 1119) yoğunluk ayrımı ile toplandı. Çokrenkli ile akım sitometri ile CD11b, CD33, CD66b, HLA-DR, CD14, CD15, CD10, LOX1 ve CD16 immüfenotiplendirme yapıldı. Düşük ve yüksek hücresel yoğunluk fazındaki CD11b+CD33dimCD66b+ hücreler MACS ve ardından FACS ile alt-popülasyonlarına saflaştırıldı. Hücre morfolojisi ve olgunlaşma derecesi sitolojik boyamalarla incelendi. ROS ve fagositoz kapasiteleri akım sitometrik testlerle araştırıldı. Bu hücrelerin T-lenfosit yanıtları (proliferasyon ve sitokin sentezi) üzerindeki düzenleyici etkileri ko-kültürlerde anti-CD3 ve mononükleer hücre uyarımı altında değerlendirildi.

BULGULAR: CD11b+CD33düşükCD66b+ hücreler hem mide hem de pankreas kanseri hastalarının hem kanında hem de dalağında yüksek düzeyde bulunmuştur. Ancak, immatür miyeloid hücre oranı (özellikle metamiyelositler ve miyelositler) dalakta daha fazladır. Ayrıca, CD11b+CD33yüksekHLA-DRdüşük/-CD66b monositik MKBH'ler ve CD11b+CD33+HLA-DR-CD66b- erken MKBH'lerin de hastaların kan ve dalak dokularında yığıldığı gözlemlenmiştir. Dalaktan izole edilen granülositik hücrelerin T-lenfosit yanıtlarını baskılama kapasitesi yüksektir.

SONUÇ: Dalağın kanser hastalarında immün baskılayıcı miyeloid-kökenli hücreler için bir depo alanı olarak görev görebileceğine dair bulgular elde edilmiştir.

Bu çalışma TÜBİTAK (Proje No: 216S264) tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kanser, miyeloid-kökenli baskılayıcı hücre, immün sistem

Kolorektal kanser hasta serumlarının T hücre çoğalması üzerine etkisinin araştırılması

Mubalda Parveen¹, Utku Horzum¹, Güneş Esendağlı¹, Kerim Bora Yılmaz², Derya Karakoç³, Erhan Hamaloğlu³

¹Hacettepe Üniversitesi, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Kanser hastalarının periferik kandan serum örneklerinden immün sistemin durumu hakkında bilgi edinmek amacıyla pek çok faktörün analiz edildiği çalışmalar mevcuttur. Ancak, tüm bu faktörlerin final hedefi immün sistem aktivasyonunu değiştirmek ve fonksiyonel farklılıklar yaratmaktır. Sadece sitokinler değil çeşitli büyüme faktörleri, enzimler ve glikoproteinlerin düzeyi de bireylerin sağlık durumlarına dair net bir fikire ulaşılmaz zaman izin vermez. T lenfositler ise kansere karşı verilen immün yanıtların en önemli bileşenidir ve hasta serumunda yer alan faktörlerin bu hücrelerin yanıtlarını nasıl etkilediği tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı, farklı evrelerdeki kolorektal kanser hastalarından izole edilen serumların CD3+ T hücre proliferasyon kapasitesi üzerine etkilerinin değerlendirilmesidir.

YÖNTEM: Sağlıklı bireylerden toplanan CD3+ T hücreleri FACS ile saflaştırıldı, CFSE ile boyandı ve insan monositik hücre hattı (THP-1) hücreleriyle ko-kültür yapıldı. Kostimülasyon sinyalleri THP-1 hücrelerinden, birinci sinyal ise anti-CD3 mAb ile sağlandı. Ek olarak rekombinant IL-2'nin de eklendiği koşullar da kullanıldı. Ko-kültürler fetal buzağı serumu, sağlıklı bireylerden (n=9) ve kolorektal kanser hastalarından (n=19) serumları ile 72 saat boyunca gerçekleştirildi. Analizler akım sitometri ile yapıldı. Farklı uyarımlar ve serum koşullarında T hücre proliferasyon değişimleri ve eğilimleri incelendi.

BULGULAR: Sağlıklı donörler, eğilimin daha düzensiz olduğu hasta örneklerine kıyasla proliferasyon hızında küçük sapma ile düzenli bir dağılım gösterdi. IL-2'ye olan yanıtlar hem hasta hem de sağlıklı serum ortamında anlamlı olarak izlendi.

SONUÇ: Bu çalışma hasta serumlarının T lenfosit yanıtlarını değiştirebileceği yönünde bilgi vermiştir. Bu ön-sonuçlar insan serum örnekleri ile yapılacak fonksiyonel analizlerin önemini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kolorektal kanser, T hücre, serum, Interleukin-2, insan monositik hücre hattı

Enflamatuvar ortamda fare meme kanseri hücrelerinde (4T1) immün kontrol noktası PD-L1 inhibisyonunun doksorubisin ile birlikte apoptoza etkisinin araştırılması

Busra Cakır¹, Ece Sarıyar¹, Elifsu Polatlı¹, Cenk Serhan Ozverel², Ayşe Nalbantsoy¹

¹Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

²Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İzmir

AMAÇ: Kanser hücrelerinin farklı ajanlara farklı tepki verdiği bilinmektedir. Kanser türlerinin genelinde PD-L1 mAb'ının apoptozu indüklediği görüldüğü de bazı kanser türlerinde apoptozu engellediği saptanmıştır. Bu çalışmada, fare kökenli PD-L1 mAb'ın 4T1 fare meme kanseri hücrelerini apoptoza sürüklemesine olan etkisi araştırılmıştır.

YÖNTEM: Yürütülen çalışmada iki ana deneme grubu oluşturulmuş olup, birinci grup 4T1 hücrelerine lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulacak enflamatuvar ortamda, ikinci grup ise 4T1 hücrelerine şartlandırılmış ortam ile oluşturulacak enflamatuvar ortamda apoptotik etkiye sahip doksorubisin varlığında PD-L1 inhibitörü mAb uygulandığında hücrelerin apoptoz sürüklenmesine olan etkisi denlenmiştir. Çalışmada kullanılan şartlandırılmış ortam, RAW 264.7 hücrelerinin lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenmesi ile hazırlanmış ve daha sonra 4T1 meme kanser hücreleri ile birlikte inkübe edilip enflamatuvar ortam yaratılmıştır. Çalışmada 4T1 hücrelerinin LPS, PD-L1 mAb, Doksorubisin, şartlandırılmış ortam ve farklı kombinasyonlarla 24 ve 48 saatlik inkübasyonları yapılmıştır. Inkübasyon sürelerinin ardından flow sitometri hücrelerin apoptoz oranı belirlenmiştir.

BULGULAR: LPS, Doksorubisin ve PD-L1 mAb ile 24 saatlik inkübasyonlarda özellikle PD-L1 mAb ve Doksorubisin uygulamalarında post-apoptoz ve nekroz oranları yüksek bulunmuştur. Bunun yanı sıra Doksorubisin ve PD-L1 mAb ile beraber uygulandığında post-apoptoz ve nekroz destekleyici etkisi olduğu görülmüştür. 4T1 hücrelerine şartlandırılmış ortam, PD-L1 mAb, Doksorubisin ile oluşturulan 24 saatlik inkübasyonlarda; PD-L1 mAb ve Doksorubisin'in şartlandırılmış ortam kombinasyonlarında yüksek nekroz oranı gözlemlenmiştir. Doksorubisin'in PD-L1 mAb ile kombinasyonunda ve Doksorubisin, PD-L1 mAb ve Şartlandırılmış Ortam kombinasyonunda yüksek oranda post apoptoz görülmüştür. Bu üç maddenin kombinasyonu ile hem post-apoptoz hem de nekroz oranının fazla çıktığı gözlemlenmiştir. 48 saatlik inkübasyonda gözlemlenen en önemli durum PD-L1 mAb uygulanan bütün kombinasyonlarda yüksek miktarda post apoptoz görülmüştür. Şartlandırılmış ortam ile hazırlanan kombinasyonlarda, şartlandırılmış ortam kullanılmayan kombinasyonlara göre post apoptoz miktarı daha fazla görülmüştür.

SONUÇ: Yapılan bu çalışma sonucunda, PD-L1 mAb'ı kullanılarak, 4T1 meme kanser hücrelerinin apoptoza sürüklediği bulgusuna rastlanmış ve enflamatuvar ortamda PD-L1 mAb'ının tümör üzerindeki etkisi ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: PD-L1, meme kanseri, doksorubisin, apoptoz, enflamasyon

Kanser antijeniyle ikili ligand yüklü eksozomların terapötik melanoma aşısı olarak kullanımı

Muzaffer Yıldırım, Tuğçe Canavar, Gözde Güçlüler, Banu Bayyurt, Tamer Kahraman, İrem Evcili, Gökberk Kaya, Naz Bozbeyoğlu, İhsan Gürsel
Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Ankara

AMAÇ: Son çalışmalar, eksozomların hücreler arası sinyal iletimini yönlendirmelerinin yanı sıra anti-kanser immünoterapideki önemli rollerini de ortaya çıkarmıştır. Dendritik hücre (DC) kökenli eksozomlar kanser immünoterapisinde kullanılmasına rağmen birden fazla ligandın eksozomlara yüklenmesi durumunda bu ligandlarla muamele edilen DClerin etkinleşerek eksozomların bu ligandlarla yüklenmeleri başarısız olmaktadır. Bu çalışmada, hücre hattı kökenli eksozomlara birden fazla ligandı yüksek verimle dışarıdan yükleyerek melanoma geliştirilmiş farelerdeki terapötik kanser aşısı potansiyelinin düzeyi belirlenmiştir.

YÖNTEM: Hücre süpernatantlarından izole edilen eksozomlara kanser antijeni olarak seçilen ovalbumin (OVA) ile TLR9 (CpGODN) ve İNKT (α -Galaktozil Seramid) ligantları yüklenmiştir. Bu eksozomların terapötik etkileri B16F10-OVA hücreleriyle melanoma geliştirilmiş farelerde test edildi. Tümör boyutları günlük olarak kaliperle ölçüldü. Deneyin sonunda tümör bölgesine göç eden lenfosit tipleri akan hücre ölçer ile analiz edildi. Eksozomların yol açtığı OVA'ya özgü antikor titreleri ELISA ile değerlendirildi. Ayrıca dalak hücreleri MHC-I spesifik peptit epitopuyla 72 saat muamele edildi ve CD8+ T-hücre spesifik IFN γ seviyesi ELISA ile değerlendirildi.

BULGULAR: Üçlü ligand yüklü eksozom enjekte edilen grubun, salin veya serbest karışımla tedavi edilen gruplara oranla tümör gelişimi önemli ölçüde gerilemiştir. İlk enjeksiyonundan sonra OVA'ya özgü antikor titreleri Th1 eğilimli anti-OVA bağışıklığının gelişimini gösterdi. Tümör bölgesine infiltre eden T hücre, CD4+ T-, CD8+ T-, NK, NKT, pan ve M1 benzeri makrofaj hücrelerinin miktarları; salin ve serbest karışımla tedavi edilen gruplara kıyasla ligand yüklü eksozomla tedavi edilen hayvanlarda anlamlı ölçüde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Nötrofilik MDSC'ler ve M2- makrofaj seviyeleri salin ve serbest karışımla tedavi edilen gruplarla karşılaştırıldığında ligand yüklü eksozomla tedavi edilen gruplarda farklı değildi. Ayrıca MHC-I özgü peptid epitopu dalak hücreleriyle birlikte inkübe edildiğinde ligand yüklü gruplardaki CD8+ T-hücreleri diğer gruplara kıyasla anlamlı ölçüde daha yüksek seviyede IFN γ üretmiştir.

SONUÇ: Sonuç olarak bu çalışma, eksozomların dışarıdan birden fazla biyomolekülle yüklenebildiğini ve bu eksozomların farelerde oluşturulmuş melanoma tümörünü geriletebilecek antijene-özümmün etkinleşmeyi sağladığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Eksozom, TLR Ligand, Kanser immünoterapi, α -Galaktozil Seramid

Apoptoz/Otofaji Kararında Yeni Bir Düzenleyici: BAG-1

Miray Türk, Gizem Alkurt Şal, Cansın Kırmacıoğlu, Gizem Dinler Doğanay
İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 34469, Sarıyer, İstanbul

AMAÇ: BAG-1 (Bcl-2 ilişkili anthanogen 1), apoptoz, otofaji ve hücre çoğalması gibi hücre mekanizmalarının kontrolünde görevli adaptör bir proteindir. Alternatif translasyon mekanizması ile N ucu farklı C ucu ortak üç farklı izoform sentezlenebilmektedir (S, M, L). İzofomlar hücrede farklı bölgelerde bulunurlar farklı hedef moleküllerle etkileşim kurarlar. Bu etkileşimler BAG-1'e pek çok yolağı kontrol edebilme kabiliyeti sağlar. Bcl-2, vasıtasıyla apoptoz ve otofaji mekanizmaları üzerinde kilit rol oynar. Beclin 1 memelilerdeki otofaji düzenleyici protein olarak kabul edilir ve aktivitesi Bcl-2 ile etkileşimi sonucu sıkı bir şekilde kontrol edilir. Çalışmamız kapsamında, Bcl-2'nin bilinen etkileşimlerinden yola çıkarak, BAG-1'in Bcl-2 ve Beclin 1 kompleksindeki olası varlığı ve bunun hücre davranışı üzerindeki etkisinin MCF-7 ve BT474 insan meme kanseri hücre hatlarında araştırılması amaçlanmıştır.

YÖNTEM: BAG-1-Bcl-2, Bcl-2-Beclin 1 ve BAG-1-Beclin 1 etkileşimleri bilgisayar ortamında modellenmiştir. Sonuçlar MCF-7 ve BT474 meme kanseri hücre hatlarında immünçöktürme yöntemi ile etkileşim analizi yapılarak doğrulanmıştır. BAG-1'in otofaji mekanizması üzerindeki etkisinin araştırılması için MCF-7 ve BT474 hücre hatlarında plasmid transfeksiyonu ile BAG-1 ifadesi artırılmış, siRNA transfeksiyonu ile BAG-1 ifadesi azaltılmıştır ve otofaji göstergesi olarak kabul edilen fosfo-Beclin 1 (T119) ve p62 seviyeleri immünblotlama tekniği ile analiz edilmiştir.

BULGULAR: Bilgisayar modellemeleri sonucu BAG-1'in Beclin 1 ile etkileşim kurabileceği öngörülmüştür. Literatürce bilinen BAG-1-Bcl-2 ve Bcl-2-Beclin 1 etkileşimleri immünçöktürme yöntemiyle doğrulanmış, BAG-1 ve Beclin 1'in etkileşimi yine immünçöktürme yöntemi ile her iki hücre hattında da gösterilmiştir. BAG-1'in aşırı ifade edildiği koşullar altında otofaji göstergesi olarak kabul edilen fosfo-Beclin 1 (T119) ve p62 seviyelerinin de her iki hücre hattında da kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak arttığı gözlemlenmiştir.

SONUÇ: Bcl-2'nin hem BAG-1 hem de Beclin 1 ile etkileşebilmesi bize BAG-1'in de katıldığı olası bir üçlü kompleksin varlığını düşündürmüştür. Bilgisayar modellemelerinden yola çıkılarak yapılan immünçöktürme ve immünblotlama çalışmaları, BAG-1-Bcl-2-Beclin 1 kompleksinin varlığını göstermektedir. İlerde yapılacak detaylı yapısal analizler, hücrenin ölüm ve sağkalım mekanizmaları arasındaki karar noktasının aydınlatılmasında literatüre katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, Otofaji, BAG-1

Bag-1-Hsp70 etkileşiminin ERAD yolağına etkisinin meme kanseri hücre hattında incelenmesi

Ezgi Bastürk, Nisan Denizce Can, Tuğba Kızıloğuşa Akgün, Baran Dingiloğuşu, Gizem Dinler Doğanay
İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 34469, Sarıyer, İstanbul

AMAÇ: Anti-apoptotik Bag-1 proteini apoptoz, hücre sağkalımı ve çoğalması, metastaz gibi kritik hücre yolaklarında görevlidir. Bag-1 ifadesinin farklı tümör tiplerinde, özellikle meme kanserinde normal hücrelere kıyasla daha fazla olduğu bilinmektedir. Bag-1 proteininin Hsp70 ve ubiquitin/proteazom sistemi ile etkileşimleri sonucu protein katlanması ve yıkım süreçleri ile ilişkili olabileceği saptanmıştır. Laboratuvarımızdaki çalışmalarda elde edilen ön bulgular, Bag-1 proteininin endoplazmik retikulum ilişkili yıkım (ERAD) proteinleriyle etkileştiğini göstermiş ve bu etkileşimlerin Hsp70 aracılığı ile gerçekleşebileceğini düşündürmüştür. Bag-1-Hsp70 etkileşiminin bozulmasını sağlayan nokta mutasyonları aracılığıyla Bag-1-ERAD proteinlerinin doğrudan etkileşimlerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Bag-1-Hsp70 etkileşiminin bozulmasını sağlayacak nokta mutasyonları (BAG domeni üzerinde yer alan R205D, R206E ve R237D) belirlenmiştir. Nokta mutasyonları, Protein Veri Bankası'ndan (PDB) elde edilen üç boyutlu BAG domeni yapısına uygulanmış ve mutasyonların Bag-1 protein etkileşimlerine olan etkisi in silico olarak PRISM web sunucusu aracılığıyla incelenmiştir. Belirlenen mutasyonlar yönlendirilmiş mutagenез yöntemiyle N-ucu TAP etiketli BAG-1S gen dizisine uygulanmış ve meme kanseri hücre hattı MCF-7 hücrelerine aktarılmıştır. TAP etiketi saflaştırma yöntemiyle kompleks halinde saflaştırılan proteinler kütle spektrometresiyle analiz edilerek tanımlanmıştır.

BULGULAR: İn silico analizler sonucunda BAG domeni üzerinde yer alan proteinlerin Bag-1 ile olası etkileşimleri incelenmiştir. Yapılan kütle spektrometresi analizleri sonucunda, mutant Bag-1 proteinlerinin Hsp70 şaperonuyla olan etkileşiminin azaldığı, buna ek olarak ERAD yolağı proteinleriyle etkileşiminin bozulmadığı gözlenmiştir.

SONUÇ: Bag-1 proteininin ERAD yolağı proteinleriyle olan etkileşiminin Hsp70 şaperonu aracılığı olmadan doğrudan da gerçekleşebileceği ihtimali doğmuştur. Devam etmekte olan çalışmalarımızın ışığında Bag-1 ve ERAD mekanizması proteinlerinin ilişkisi açıklık kazanarak, kanserde protein yıkım mekanizmalarının önemi vurgulanmış olacaktır. Bu yönüyle literatüre ve yeni hedef moleküllerin keşfine katkı sağlayacaktır.

Bu çalışma TÜBİTAK 115Z169 numaralı 1001 projesi tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, ERAD, BAG-1, Hsp70

Tümör Dokularında Sıcak Nokta Mutasyonlarının Tespiti ve Serbest Tümör DNA'sı Kullanılarak Karşılaştırılması

Gizem Alkurt¹, Fikret Ezberci², Ali Kılıç², Ebru Zemheri³, Gizem Dinler Doğanay⁵, Levent Doğanay⁴

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

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ümraniye Eğitim Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Kliniği, Ümraniye, İstanbul

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ümraniye Eğitim Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Ümraniye, İstanbul

⁴Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ümraniye Eğitim Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji ve Hepatoloji Kliniği, Ümraniye, İstanbul

⁵GLAB (Genomik Laboratuvar), İstanbul Kuzey Kamu Hastaneleri Genel Birliğı, Ümraniye & Maslak, İstanbul

AMAÇ: Günümüzün yaygın hastalığı olan kanserde, tümörün taşımakta olduğu mutasyonlar tedavinin başarılı olması açısından büyük bir önem taşımaktadır. Kanser gelişiminde önemli olan genlerde bulunan sıcak noktalara (hotspot) özgü hedef tedaviler ile kanser hastalarının sağkalım süresi artmaktadır. Ancak, özellikle metastatik evrede olan hastalarda, tümör dokularının solid biyopsi ile zor elde edilmesi nedeni ile son yıllarda likit biyopsi bir alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır. Likit biyopsi ile hastanın kanında bulunan serbest halde dolaşan tümör DNA'sı elde edilebilmektedir.

YÖNTEM: Tümörün taşımakta olduğu mutasyonların tespitinde, tümörden parçalanıp kana karışan serbest tümör DNA'sının kullanılabilirliğini görebilmek amacı ile öncelikli olarak kolon kanseri teşhisi ile operasyon geçirmiş 5 hastadan taze tümör dokusu alınmıştır. Bu dokulardan elde edilen DNA örnekleri ile kanser gelişiminde rol aldığı bilinen ve en sık mutasyon görülen genlerin (AKT, ALK, BRAF, CDKN2A, CTNNB1, DDR2, EGFR, ERBB2, ERBB4, FGFR2, FGFR3, H3F3A, HIST1H3B, HRAS, IDH1, IDH2, KIT, KRAS, MEK1, MET, NRAS, PDGFRA, PIK3R1, PIK3CA, PTEN ve STK11) dizileme işlemi yeni nesil dizileme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, likit biyopsi örneklerinden elde edilen serbest tümör DNA'sı ile gerçek zamanlı PCR çalışması yapılmıştır.

BULGULAR: Dizileme sonucunda 2 kolon kanseri hastasında saptanan KRAS genindeki sıcak nokta mutasyonu [c.G35>A (COSMIC: 521)], aynı hastalara ait likit biyopsi örneklerinden elde edilen serbest tümör DNA'sı ile gerçek zamanlı PCR çalışması yapılarak tespit edilmiştir.

SONUÇ: Yapılan çalışma ile elde edilen bulgu ışığında, serbest tümör DNA'sı kullanılarak kanser mutasyonlarının taranması ve bu mutasyonlara özgü hedef moleküllerin keşfi, kanser tedavisinde ümit verici bir yaklaşım oluşturmaktadır.

Bu çalışma İstanbul Kalkınma Ajansı tarafından desteklenen TR10/16/YN0144 numaralı proje ile gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: tümör sıcak nokta mutasyonları, serbest tümör DNA'sı, likit biyopsi

Süt çocukluğu döneminde inflamatuvar bağırsak hastalığı nedeni olarak IL-10 reseptör mutasyonu: Olgu sunumu

Esra Hazar Sayar¹, Ersin Sayar², Erik Oliver Glocker³

¹Alanya Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Alerji İmmünoloji Ünitesi, Antalya

²Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Gastroenteroloji BD, Antalya

³University Medical Center Freiburg, Almanya

GİRİŞ: İnterlökin-10 (IL-10) ve IL-10 reseptör (IL-10R) genindeki homozigot mutasyonlar çok erken başlangıçlı ciddi inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) kliniğine yol açarlar. Klinik seyirleri oldukça kötü olan çok erken başlangıçlı IBD için genellikle konvansiyonel tedavilere yanıtız olup, kemik iliği nakli küratif tedavidir.

OLGU: Kliniğe erken başlangıçlı şiddetli ishal, kilo alamama nedeniyle başvuran, IBD kliniği olan 10 aylık Suriyeli erkek hasta sunuldu. Akraba evliliği olan, 3 aylıktan itibaren ishali olan hasta, 10 aylık başvurusunda malnütreydi (Vücut ağırlığı 4.3 kg) ve perianal fistülleri mevcuttu. Laboratuvar parametrelerinde akut fazlarında yükseklik saptandı. IgG ve IgM değerleri normal, IgA değeri yüksek olan olgunun lenfosit alt grupları normaldi. Kolonoskopik incelemede tüm kolonu etkileyen diffüz hemorajik ülserasyonları vardı. Steroid ve azotioprinle tedaviye yanıt alınamadı. Hastanın çok erken başlangıçlı ve tedaviye dirençli IBD tablosu olması, akraba evliliği bulunması nedeniyle primer immün yetmezlik olabileceği düşünüldü. IL-10 yolağında defekt olması nedeniyle genetik analizi yapıldı. IL-10R kodlayan gende fonksiyon kaybına yol açan mutasyon saptandı. Hastanın kemik iliği nakli ile tedavi şansı olması nedeniyle aile içi doku taraması yapıldı, uyumlu verici saptanamadığı için akraba dışı donörden 9/10 uyumlu nakil yapıldı. Nakil sonrası ikinci yılında olan olgu sorunsuz izlenmektedir.

SONUÇ: Süt çocuğu döneminde başlayan, inflamatuvar bağırsak hastalığı bulgularıyla seyreden olgularda primer immün yetmezliklerin akılda tutulmasının önemi ve kemik iliği nakli ile kür şansı olabileceği açısından olgu sunuldu.

Anahtar Kelimeler: Primer immün yetmezlik, inflamatuvar bağırsak hastalığı, İnterlökin-10 reseptör

Erişkinde kombine immün yetmezlik

Handan Aksoy

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Erzincan

Astım tanısıyla takip edilen 70 yaşında erkek hasta son 1 yılda solunum fonksiyon testi değerlerinde hızlı bozulma, mantar enfeksiyonları, sık pnömoni geçirme nedeniyle tetkik edildi. İmmünglobulin düzeylerinde azalma ve PPD testi anejik saptandı. Hasta hematolojik maligniteler açısından (özellikle sekretuar olmayan multipl miyelom) incelendi ve olmadığı saptandı. Hücresel ve humoral immün yetmezlik tanısı ile IVIG başlandı. Erişkin yaşta immün yetmezlik vakası olması ve akciğerde mantar enfeksiyonlarının olduğu astım hastalarında immün yetmezlik tanısının düşünülmesi açısından sunum hazırlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: astım, immün yetersizlik, mantar enfeksiyonu

Primer İmmün Yetmezliklerin Genetik Defektler Yönünden Yeni Nesil Dizileme ile Araştırılması

Çağman Tan, Begüm Özbek, Deniz Nazire Çağdaş Ayvaz, Feyzi İlhan Tezcan
Hacettepe Üniversitesi Pediatrik İmmünoloji Bilim Dalı, Ankara

GİRİŞ: İmmün sistem, fizik bariyerler, hücreler ve serumda çözünür maddeleri içeren farklı savunma mekanizmalarından oluşur. Bu sistem, bireyin çevresindeki milyonlarca mikroorganizmaya karşı konağı iki taraftan savunur. Bunların ilki enfeksiyon etkeninin vücuda girmesiyle hemen başlayan özgül olmayan doğal immün yanıtken, ikincisi daha sonra patojene özgül gelişen edinsel (adaptif) immün yanıttır. Her ikisi de ardışık olarak görevlerini yaparak konağın hayatını sağlıklı sürdürmesini ve enfeksiyonlara direnç kazanmasını sağlar.

Birbirleri ile bir orkestranın uyumuna benzer şekilde çalışan iki sistemin bileşenlerinden herhangi bir hücre (T, B, NK, nötrofil, makrofaj ve dendritik hücreler), hücre reseptörü, sitokin, hücre içi uyarı proteinleri, bağlanma molekülleri, düzenleyici proteinler, kompleman sistemindeki proteinlerden birinden yoksun doğan bireylerde Primer İmmün Yetmezlik görülebilir. Primer immün yetmezliği olan hastalarda eksikliğe bağlı olarak enfeksiyonların denetimi sağlanamaz ve yineleyen enfeksiyonlar görülür.

METOD: PCR ile çoğaltılan DNA'lar uçlarına adaptör bağlanarak DNA'lar template aşamasına hazır hale getirildi. Template aşamasında emülsiyon bazlı PCR ile DNA'ların bead'ler(boncuklar) üzerinde çoğalması sağlandı. Sekans aşamasında, bağlanan nükleotidlerle ortama hidrojen iyonu salınımına bağlı olarak pH değişimi prensibine göre yüksek verimlilikte DNA dizileme işlemi yapılır. Ion Torrent Server ve online ION Reporter data analizi programları ile data analizleri gerçekleştirildi. Analizler Ion Reporter Software kullanılarak yapıldı. Genlerde bulunan mutasyonların patojenitesi, hastalık nedeni olup olmadığı Mutation Taster, ClinVar ve EXAC(Exome Aggregation Consortium)(EXAC; <http://exac.broadinstitute.org>) veri tabanları kullanılarak tespit edildi. POLyPhen ve SIFT veri tabanları mutasyonun patojenitesini değerlendirmede kullanıldı. Mutasyon olduğu tespit edilen veriler NIH OMIM veri tabanı kullanılarak doğrulandı.(Etik Kurul No: GO 15/370)

Çalışmamızda yeni nesil dizileme yöntemi ile primer immün yetmezliği olan hastaların çoğunda genetik eksikliği tespit ederek erken teşhis etkin tedavi sağlanmaktadır. 2 yıl süren çalışmaya alınan 180 hastadan 100 hastanın analizi tamamlanmıştır. Bu analizler sonucu belirlenen gen defektleri nadir hastalıkların aynı aile için nadir olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: NGS,Primer immün yetersizlik, Biyoinformatik analiz

LRBA eksikliğinde CTLA-4 analogunun (abatacept) lenfosit alt tipleri üzerine ex-vivo etkileri

Ayça Kıyıkım¹, İsmail Öğülür¹, Esra Dursun¹, Alişan Yıldırım², Aysen Uncuoğlu³, Sevgi Keleş⁴, Mustafa Yılmaz⁵, Necil Kütükçüler⁶, Şebnem Kılıç⁷, Elif Karakoç Aydın¹, Ahmet Özen¹, Safa Barış¹

¹Marmara Üniversitesi, Pediatrik Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul ²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Samsun ³Kocaeli Üniversitesi, Çocuk Gastroenteroloji Bilim Dalı, Kocaeli ⁴Necmettin Erbakan Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya ⁵Çukurova Üniversitesi, Pediatrik Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı, Adana ⁶Ege Üniversitesi, Pediatrik İmmünoloji Bilim Dalı, İzmir ⁷Uludağ Üniversitesi, Pediatrik Allerji-İmmünoloji Bilim Dalı, Bursa

AMAÇ: Lipopolysaccharide-responsive beige-like anchor (LRBA) inhibitör bir protein olan sitotoksik T lenfosit antijen-4 (CTLA4)'ün hücre içi trafiğinde rol oynar. LRBA eksikliği erken dönemde enfeksiyonlara yatkınlık, otoimmünite ve lenfoproliferyona yol açan ve otozomal çekinik kalıtım paterni gösteren primer immün yetersizliktir. Bu çalışmada, genetik olarak LRBA eksikliği tanısı alan hastalarımızda abatacept tedavisinin klinik bulgular ve lenfositler üzerine etkisinin incelenmesi amaçlandı.

YÖNTEM: Farklı immünoloji merkezlerinden genetik olarak LRBA mutasyonu tanımlanmış 13 hastanın klinik ve laboratuvar özellikleri prospektif olarak değerlendirildi. Hastaların abatacept tedavisine klinik yanıtları ve akan hücre ölçerinde saptanan immünolojik değişiklikleri her üç ayda bir takip edildi.

BULGULAR: LRBA eksikliği tanısı olan hastalarımızın (n=13) ortalama yaşı 16±8,4 yıl ve ortalama takip süreleri 36±26 ay idi. Hastaların çoğunda düşük IgG (66%), IgM (%58) ve IgA (%83) değerleri saptandı. Hastaların lenfosit alt grup mutlak sayıları akan hücre ölçer ile değerlendirildiğinde, dört hastada T hücre sayısında, beş hastada B hücre sayısında ve beş hastada NK hücre sayısında azalma görüldü. Abatacept tedavisi 10 (%77) olguya uygulandı ve semptomların tamamen kontrol altına alındığı (tam remisyon) hasta oranları sırasıyla: kronik ishal (n=7, %70), lenfoproliferyasyon (n=6, %60) ve immün disregülasyon (n=4, %40) idi. Klinik yanıtla birlikte, altı aylık abatacept kullanımı sonrası hastaların naif CD4+ T hücre sayılarının tedavi öncesine göre anlamlı olarak arttığı görüldü. Tedavi sırasında sağlıklı kontrollere göre LRBA hastalarında yüksek gözlenen foliküler T hücrelerin yüzdesinde anlamlı bir değişim gözlenmezken, PD1+ CD4 hücre yüzdelerinde, özellikle tedavinin ilk 3 ayında, azalma saptandı. **SONUÇ:** Abatacept LRBA eksikliğinde klinik bulguları kontrol etmede başarılı bir tedavi olarak karşımıza çıkmaktadır. İmmün disregülasyon bulguları, yüksek orandaki aktive olmuş PD1+ foliküler T hücrelerin varlığı ile kısmen açıklanabilir. Tedavi ile hastalık kontrolü sağlandıkça, aktivasyon belirteci olan PD1'in azalması bu mekanizmanın varlığını desteklemektedir. Yapmayı planladığımız yeni çalışmalarda LRBA eksikliğinin tanısında ve takibinde yol gösterebilecek biyobelirteçler bulmayı hedeflemekteyiz.

Anahtar Kelimeler: abatacept, CTLA4, LRBA, naif CD4, PD1

Rendu-Osler-Weber Sendromlu Hastada PI3K Yolağının TLR Tetiklemesine Olan Etkisi

Naz Bozbeyoğlu¹, Göksu Gökberk Kaya¹, Muzaffer Yıldırım¹, İrem Evcili¹, İhsan Cihan Ayanoğlu², Ömür Ardeniz³, Mayda Gürsel², İhsan Gürsel¹

¹Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara ²Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara ³Ege Üniversitesi, Alerji ve Klinik İmmunoloji Bilim Dalı, Tıp Fakültesi, İzmir

AMAÇ: Rendu-Osler-Weber (ROW), deri/mukoza bölgelerindeki vasküler dokuda lezyonlar gözlemlenen nadir otozomal dominant bir hastalıktır. Yaygın Değişken İmmün Yetersizlik (CVID), hastaların semptomları değişkenlik gösterse de nökseden enfeksiyonlar ve enflamasyonlarla kendini gösteren en yaygın primer immün-yetmezliktir. Bu çalışmada, Rendu-Osler-Weber teşhisi konmuş bireyin periferik kanından PI3K/AKT/mTOR yolağında farklılık olma ihtimali üzerine gen ifadesi, TLR yolaklarının uyarımı, plazma sitokin seviyeleri ve STAT fosforilasyonlarının değerlendirilmesi amaçlandı.

YÖNTEM: İzole edilen periferik mononükleer hücreleri PMA/Ionomycin, Pam3CSK4, Resiquimod, Zymosan, PGN ligandlarıyla uyarıldı; IL-10 ve IL-17 miktarları ELISA'yla ölçüldü. IL-10 seviyesindeki artışın kaynağını belirlemek amacıyla hücreler PMA ve LPS ile uyarıldıktan sonra hücre içi boyamasıyla incelendi. Plazma sitokin seviyeleri CBA'yla ölçüldü ve STAT1/3/5 fosforilasyonları akış sitometrisiyle saptandı. Hasta ve sağlıklı total RNA'lar kullanılarak Nanostring enflamasyon paneli çalışıldı.

BULGULAR: Hücreler PMA/Ionomycin ile uyarıldığında ROW'lu hasta IL-17 seviyesinin sağlıklıdan düşük olduğu gözlemlendi. Pam3CSK4, Zymosan, PGN, Resiquimod uyarımı sonrasında hastanın IL-10 seviyesinin sağlıklıdan yüksek olduğu saptandı. Hücre içi boyama sonucunda IL-10+ hücre popülasyonunun hem PMA hem LPS uyarımıyla arttığı gözlemlendi. STAT fosforilasyonları incelendiğinde IL-6 ile uyarılan sağlıklı hücrelerin STAT3 fosforilasyonunda artış görülürken hastada değişim görülmedi. IL-2 uyarımı sonrasında hasta hücrelerinde sağlıklıdan fazla STAT5 fosforilasyonu olduğu gözlemlendi. IFN- γ ve IP-10 seviyelerinin sağlıklılardan yüksek, IL-17A seviyesinin sağlıklıdan düşük olduğu CBA'yla saptandı. Nanostring analizlerinde TLR2, TLR4, TLR7/8, NF- κ B, Stat1 gen düzeylerinin sağlıklı bireylerden yüksek olduğu görülürken PI3K yolak analizinde RTK gen seviyelerinin arttığı, Ras, PKCs, ERK mRNA seviyelerininse azaldığı görüldü. Kemokin reseptörlerinin RNA seviyelerinin azaldığı halde yolağın alt kısmındaki STAT'ların ifadelerinin arttığı belirlendi.

SONUÇ: PI3K'in alt yollarındaki mRNA seviyelerindeki azalmalar ve RTK mRNA seviyesindeki artış, PI3K'in protein düzeyinde bir farklılık gösterdiği; bunun enfeksiyon durumlarında immün hücrelerini farklı etkilediği sonucuna varılmıştır. Ayrıca IL-10 yolağını hedeflemenin terapötik açıdan anlamlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: CVID, İmmün Yetmezlik, PI3K, Rendu-Osler-Weber

Otoimmün Bulgular İle Seyreden Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik Tanısı Alan Hastalarda HLA Sınıf I ve HLA Sınıf II Allellerinin Frekansının Araştırılması

Begüm Özbek¹, Çağman Tan¹, Can Koşukcu², Deniz Çağdaş Ayvaz¹, İlhan Tezcan¹

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

²Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyoinformatik Anabilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (YDİY), B-hücre farklılaşması ve antikor yapımında bozukluk ile seyreden, aşılara zayıf yanıt oluşması ve yinelenen enfeksiyonlar ile karakterize heterojen bir primer immün yetmezliktir (PİY). YDİY'li hastaların ancak %10'nunda monogenik genetik eksiklikler tanımlanabilmiştir. Hastaların önemli bir kısmında otoimmün tutulum olabilmekte ve bu da morbidite ve mortalite açısından önem taşımaktadır. Bu hastalık grubunun etiolojisi tam olarak bilinmemekle beraber toplumlar arasındaki prevalansın değişkenliği ve akraba evliliği olan ailelerde benzer eksikliklerin görülmesi, hastalığa duyarlı belirli gen bölgelerinin varlığını düşündürmektedir.

YÖNTEM: Bu çalışmada otoimmün bulgulara sahip YDİY hastalarında HLA Sınıf I ve Sınıf II allelleri çalışılarak hastalık ile ilişkili gen bölgeleri araştırılmış ve 300 sağlıklı kontrol ile karşılaştırma yapılarak hastalık yatkınlığına neden olabilecek alleller tespit edilmiştir. Örneklem ESID (European Society for Immunodeficiencies) kriterlerine göre YDİY tanısı alan 16 hasta dahil edilmiştir. Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi GO 17/570-04 kodu ile etik onay almıştır. HLA Sınıf-I (A,B,C) ve HLA Sınıf-II (DRB1) allelleri, DNA tabanlı-Sekans Spesifik Oligonükleotid (SSO) yöntemiyle çalışılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS.23 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR: Sağlıklı kontrollerde A*01 allelinin hasta grubuna göre daha yaygın gözlenmesi, YDİY hastalığı için bu allelin koruyuculuğuna işaret etmektedir. Sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında B*27 alleli hasta grubunda sağlıklı kontrollere göre daha sık olarak saptanmıştır. Hasta grubunda HLA-C allelleri için $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde fark bulunmamıştır. HLA Sınıf II grubundan DRB1 allelleri incelendiğinde, hasta grubunda DRB1*13 alleli sağlıklı kontrollere göre daha yüksek frekans göstermiştir. Sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında hasta grubunda DQB1*0254, DQB1*0302 ve DQA1*0201 alleli için $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde fark bulunmuştur.

SONUÇ: HLA-B*27 pozitifliği olan YDİY tanısı almış hastalar, otoimmün manifestasyonlar açısından dikkatle izlenmelidir. Sonuç olarak, karmaşık bir hastalık olan YDİY ile HLA allellerinin ilişkisinin belirlenmesi immünolojik mekanizmaların aydınlatılması açısından önem taşımakta olup, rasyonel tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: HLA, otoimmünite, YDİY

Makrofajlarda Neopterin ve IP-10 Üretimlerine İnterlökin-33'ün Etkileri

Rahime Aksoy¹, Cemalettin Aybay², Hüseyin Tutkak³, Vedat Bulut²

¹Ankara Üniversitesi, Hematoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

²Gazi Üniversitesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

³Ankara Üniversitesi, İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Doğal immün sistemin önemli hücrelerinden olan makrofajlar IL-33 reseptörü ST2L eksprese ederler ve IL-33 etkisinde M2 makrofaj kutuplaşması gösterirler. Makrofajlar, interferon- γ ile uyarıldıklarında bir kemokin olan interferon gama-uyarımlı protein 10 (IP-10) ve hücrel immün yanıtın erken biyobelirteci olarak kabul edilen neopterin üretirler. Bu çalışmada makrofaj hücre serisi J774.1'de, İL-33'ün, neopterin ve IP-10 üretimleri üzerine etkisini aydınlatmayı hedefledik. Daha önce İL-33'ün neopterin üretimi üzerine makrofajlardaki etkileri araştırılmamıştır ve bu alanında yapılan ilk çalışmadır.

YÖNTEM: Çalışmada J774.1 makrofaj hücre hattı kullanılarak makrofajların M1, M2a ve M2c yönüne kutuplaşması için önce IL-4, IL-10, IL-13 gibi sitokinlerle muamele edilmiş ve kutuplaşma sonrası IL-33 eklenerek yangısal biyobelirteçler olan neopterin ve IP-10 düzeyindeki değişimler ELISA ile ölçülmüştür. Eş zamanlı olarak nitrit (NO₂) düzeyleri Griess yöntemiyle ölçülmüştür.

BULGULAR: İL-33'ün (100ng/mL) tek başına uzun süreli uyarımı J774.1 hücre hattında istatistiki önemli yüksek neopterin üretimine neden oldu. IP-10 üretimleri ise etkilenmedi. İFN γ , İL-4, İL-10 ve İL-13 gibi sitokinler ve LPS kullanarak plastisitelerini etkilediğimiz hücrelerde İL-33'ü farklı sürelerle uyguladık İL-33 sitokini İFN- γ (40 U/ml) +LPS (10ng/mL) uyarımlı hücrelerde NO üretimini inhibe etmesine karşın, neopterin düzeylerini artırdı (p<0,001). İL-4, İL-10 ve İL-13 gibi sitokinlerle 24 ve 48 saatlik ön muameleye tabi tutulan makrofajlarda neopterin ve IP-10 düzeylerinde herhangi bir değişim gözlenmedi. Bu sitokinlerle uyarım sonrasında hücrelerde İL-33 farklı zamanlarda eklendi. İL-33 uygulamasından 24 (p<0,01) saat ve 48 saat (p<0,001) sonrasında neopterin düzeylerinde artışlara yol açtı. Tüm deneylerimizde IP-10 düzeylerinde değişiklik mevcut değildi.

SONUÇ: İL-33'ün uyarımsız ve plastisitesi etkilenmiş J774.1 hücrelerde önemli ölçüde neopterin üretimi artışına neden olduğu tespit edildi. Tüm deneylerde IP-10 düzeylerinde değişiklik mevcut değildi. Neopterin ve IP-10 düzeyleri arasında karşılıklı bir ilişki olduğu gözlemlenmedi.

Anahtar Kelimeler: İnterlökin-33, Makrofaj, Neopterin

Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) Hastalarda STAT3 protein ve IL-10 Sitokin Düzeylerinin Araştırılması

Ozden Ozcan¹, Metin Gelmez¹, Suzan Çınar¹, Gunnur Deniz¹, Melih Aktan²

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

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

Kronik lenfositik lösemi (KLL) kemik iliği ve kanda CD5+CD19+ B hücrelerinin birikimiyle karakterizedir. Güncel çalışmalar KLL'li hastalarda IL-10, AID ve mir-155 gibi genlerin ekspresyon düzeylerinin arttığını göstermektedir. STAT3 her üç genin de ekspresyonlarının düzenlenmesinde rol almaktadır. CD5+CD19+ regülatör B (Breg) hücreleri IL-10 salgılayarak immün sistemi baskırlarlar. KLL hücreleri Breg hücreler ile benzer immünotipik özellik göstermekle birlikte aynı zamanda fonksiyonel olarak da benzediği düşünülmektedir. Çalışmamızda KLL hasta periferik kan örneklerinde STAT3 ve IL-10 içeren CD5+CD19+ hücrelerin düzeyleri araştırılmıştır. KLL tanısı almış 24 hasta ve 14 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Periferik kandan elde edilen mononükleer hücreler (1x10⁶ cell/ml) IL-10 düzeyinin belirlenmesi için 48 saat CpG (Sitozin Fosfat Guanozin) (1 ug/ml) ile, STAT3 düzeyinin belirlenmesi için ise PMA (20 ng/ml) ile 15 dakika uyarılmıştır. STAT3 ve IL-10 seviyeleri akan hücre ölçer ile araştırılmış, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. 48 saat CpG ile uyarım sonrası KLL'li hastaların lenfosit ve CD19+ kapısında, CD19+IL-10+ hücre oranları yüksek bulunmuştur. CD5+CD19+ kapısında ise uyarımsız şartlarda KLL'li hastaların IL-10 düzeyleri sağlıklı kontrollere göre düşük saptanırken uyarım sonrası yanıtta anlamlı fark saptanmamıştır. Lenfosit kapısında uyarımsız ve uyarımlı şartlarda KLL'li hastaların STAT3+CD19+ hücre oranları sağlıklı kontrollere göre yüksek oranda bulunmasına karşılık, CD19+ kapısında anlamlı bir fark görülmemiştir. CD5+CD19+ lenfosit kapısında ise uyarım sonrası KLL'li hastaların STAT3+CD19+ hücre oranlarının sağlıklı bireylerden düşük olduğu saptanmıştır. Elde edilen bulgular KLL hastalarında IL-10 ve STAT3 düzeylerinin normal B hücrelerinden farklı olduğunu ve KLL'nin biyolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. KLL hücrelerinde saptanan yüksek hücre içi IL-10 içeriğinin, hastalığın klinik seyirinde etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Bulgularımız CD5+CD19+ KLL hücrelerinin Breg hücre popülasyonuna benzerlik gösterdiğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: KLL, IL-10, STAT3

Farklı Büyüme Faktörlerine Karşı Geliştirilen Aptamerlerin Yüzey Plazmon Rezonansı İle Seçilmesi

Alp Ertunga Eyüpoğlu¹, Meral Yüce², Tolga Sütlü²

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

²Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji ve Uygulama Merkezi

AMAÇ: Aptamerler, Systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) tekniği kullanılarak *in vitro* elde edilen, hedefine özgü kısa tek zincirli DNA, RNA veya peptit dizileridir. Hedefine özgü aptamerlerin belirlenebilmesi için DNA, RNA veya peptit zincirlerinden oluşan bir havuz kullanılır. Primer bağlanma bölgeleri haricinde kalan kısımları tamamen rastgele olan bu dizilerden hedefine karşı afiniteye sahip olabileceklerin SELEX yöntemi aracılığıyla diğerlerinden ayrılması sağlanır. Bu çalışmada zincir sayısı daraltılmış havuzdan en yüksek afiniteye sahip oligonükleotitlerin yüzey plazmon tekniği yardımıyla izole edilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Yüzey plazmon rezonans (SPR) tekniği ile moleküllerin bağlanma ve ayrılma etkinliklerini etiketsiz (label-free) ve yüksek hassasiyet ile ölçülebilmesi ve eş zamanlı olarak bu etkileşimlerin takip edilebilmesi sağlanmaktadır. SPR yöntemi optik sistem, metal yüzey ve yüzey üzerinden çözeltinin geçebilmesini sağlayacak akış yolağı ile çalıştırılır. Metal yüzey (genellikle altın) üzerinden geçen çözelti içerisindeki moleküllerden yüzeye bağlanma ve ayrılma olduğunda metal çevresindeki serbest elektronların durumları değişir ve bu da yüzeye optik sistem tarafından gönderilen ışığın yansıma açısının değişmesine sebep olur. Prizmadan geçerek yüzeye gelen ve yüzeyden yansıyarak algılayıcıya giden ışığın kırılma endeksi bilgisayar tarafından anlaşılandırılır.

BULGULAR-SONUÇ: SPR çipi üzerine immobilize edilmiş farklı büyüme faktörleri üzerinden geçirilen SELEX oligonükleotitlerinin yüzeydeki faktörlere bağlandığı görülmüştür. Bu afinite kullanılarak havuz içinden düşük afiniteye sahip olanlar veya bağlanma göstermeyen zincirlerin gerçek zamanlı olarak elenmesi sağlanabilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aptamer, Büyüme Faktörü, Kinetik, Yüzey Plazmon Rezonans

HUVEC hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonunda çeşitli büyüme faktörlerinin etkisinin gerçek zamanlı hücre analiziyle ölçümü

Mertkaya Aras¹, Alp Ertunga Eyüpoğlu¹, Cevriye Pamukcu¹, Emine Duygu Dağlıkoca³, Yılmaz Çapan³, Batu Erman¹, Tolga Sütlü²

¹Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Sabancı Üniversitesi, İstanbul

²Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, İstanbul

³İLKO ARGEM Bioteknoloji Merkezi, Teknopark İstanbul

AMAÇ: Primer insan umbilikal damar endotelial hücrelerinin (HUVEC) kültürü için farklı büyüme faktörlerine ihtiyaç vardır. Kültür ortamında kullanılan bu büyüme faktörleri, HUVEC hücrelerinin davranış ve fenotipini, dolayısıyla da yapılan deneysel çalışmaların sonucunu etkileyebilmektedir. Bu nedenle, hücre kültürü kaynaklı etkileri en düşük seviyeye getirebilmek için, hücrelerin farklı koşullardaki davranışları incelenmelidir.

Gerçek zamanlı hücre analiz sistemi olan xCelligence, hücre proliferasyonu başta olmak üzere, spesifik bir ajanla işaretlenmeye ihtiyaç duymadan, hücre temelli birçok deneyin gerçek zamanlı olarak takip edilmesine olanak sağlar. Bu çalışmamızın amacı, xCelligence cihazını primer HUVEC hücrelerinin proliferasyonunu ve migrasyonunu doğru bir şekilde gözlemleyebilmek için gerekli olan koşullara optimize etmektir.

YÖNTEM: xCelligence sistemi kullanılarak, primer HUVEC hücrelerinin proliferasyon ve migrasyon aktivitelerinin ölçümü, 4 farklı büyüme faktörünün (İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), Epidermal büyüme faktörü (EGF), Fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)) değişen konsantrasyonlarında incelenmiştir ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda hücre kültürü için optimum şartlar belirlenmiştir.

BULGULAR: HUVEC hücrelerinin proliferasyonunda FGF ve VEGF'in birlikte etkiği olduğu, migrasyonunda ise sadece VEGF' in yeterli olduğu gösterilmiştir. Proliferasyon deneylerinde FGF ve VEGF optimum konsantrasyonları 5 ng/ml olarak belirlenmiştir. Yüksek dozda (20 ng/ml) VEGF kullanılması durumunda ise FGF yokluğunda dahi hücre ölümü gerçekleşmeden hücre migrasyonunun takip edilebildiği görülmüştür. IGF-1 ve EGF' in ise HUVEC hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonunda kısa dönemde bir etki göstermediği tespit edilmiştir.

SONUÇ: Bu sonuçlara göre optimize edilen şartlar altında gerçek zamanlı hücre analizi sayesinde HUVEC hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonu ile ilgili testlerin yapılabileceği gösterilmiştir.

*Bu proje 115G074 no'lu TÜBİTAK projesi kapsamında desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: HUVEC, IGF-1, EGF, FGF, VEGF

Trombositten zengin plazmanın gastrik serozal yüzeydeki neomukoza oluşumuna etkileri: deneysel kemirgen modeli

Pınar Kasapoğlu¹, Sinan Binboğa²

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, İstanbul

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi, İstanbul

AMAÇ: Ototolog trombositten zengin plazma (TZP), plazmadaki trombositlerden elde edilen trombosit konsantrasyonudur. İyileşme sürecinde, trombositler aktive olur ve sonra inflamatuvar kaskad ve iyileşme sürecini uyaran maddeleri granüllerinden salarlar. Trombosit kökenli büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGFβ), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) hücre yenilenmesinde kullanılan değerli belirteçlerdir. Bu çalışmanın amacı, kısa bağırsak sendromlu hastalarda (KBS) intestinal yüzey alanını arttırmak için kullanılan potansiyel bir teknik olan neomukoza oluşumunda TZP uygulamasının olası etkilerini araştırmaktır.

YÖNTEM: Otuz iki erkek Wistar-Hannover sıçan, şam, kontrol ve TZP uygulanan ve TZP hazırlanan gruplara ayrıldı (n=8). VEGF, TGFβ, EGF, ve FGF plazma düzeyleri ELISA

ile belirlendi. Anastomotik parçaların en-blok rezeksiyonu gerçekleştirildi ve hematoksilen-eozin ile boyandı.

BULGULAR: VEGF, TGFβ, EGF ve FGF düzeylerinin TZP-uygulanan grupta diğerlerine göre belirgin bir şekilde arttığı bulundu (P<0.001). Neomukoza oluşumu deneysel gruplarda

gözlemlendi fakat diğer gruplarla karşılaştırıldığında neomukoza oluşum alanı TZP grubunda belirgin şekilde arttı (P<0.001).

SONUÇ: KBS'lu hastaların gastrointestinal anastomozlarında TZP tedavisi gerçekten faydalı ve cerrahi olarak uygulanabilir bir tedavidir.

Anahtar Kelimeler: Büyüme faktörü, kısa bağırsak sendromu, sıçan, neomukoza, trombositten zengin plazma

Kronik Böbrek Yetmezliği bulunan hastalarda PRA pozitifliği ile serum IL-17, IL-16, IL-12 ve IL-21 sitokin düzeyleri arasındaki ilişki

Nurten Sayın Ekinci¹, Şule Darbaş¹, Nil Hizay Akıncı², Burcu Karakuş¹, Habibe Sema Arslan¹, Fahri Uçar¹

¹Akdeniz Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

²Akdeniz Üniversitesi Doku Tipleme Laboratuvarı

AMAÇ: IL-17A, IL-21, IL-12 ve IL-16 nin insan proksimal tübül hücrelerinde IL-6, CXCR8, CCL2 üretimini artırarak inflamatuvar yanıtın gelişimine katkıda bulunduğu belirtilmiştir. Böbrek nakillerindeki akut ve kronik humoral hasarlar grafitin reddine sebep olur. Klinik, immünolojik ve histolojik bulgular Panel reaktif antikor varlığı ile değerlendirilir. Bu çalışmanın amacı PRA klas I ve II pozitifliğinin IL-17A, IL-21, IL-12 ve IL-16 gibi nötrofil ağırlıklı yangı yapan bu sitokinler ile ilişkisini araştırmaktır.

YÖNTEM: Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Organ Nakli merkezi tarafından takip edilen KBY tanılı 20 böbrek hastasının ve 20 kontrol grubunun serum PRA yüzdeleri LUMINEX yöntemi ile belirlendi. Bu serumlarda ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay) metodu ile IL-17A, IL-21, IL-12 ve IL-16 sitokinlerinin düzeyleri tespit edildi.

BULGULAR: PRA yüzdeleri belirlenen hastalar HLA KlasI ve HLA KlasII pozitifliğine göre üç gruba ayrıldı: 10 hasta HLA-KlasI(+), HLA-KlasII (+), 5 hasta HLA-KlasI(+), HLA-KlasII (-), 5 hasta HLA-KlasI(-), HLA-KlasII (+) ve 20 kontrol PRA (-). Bu grupların hepsinin serumlarındaki IL-17A, IL-21, IL-12 ve IL-16 düzeylerini ELISA testi ile belirledik. Elde ettiğimiz sonuçlar gösterdi ki PRA ları HLA-KlasI(+), HLA-KlasII (+), HLA-KlasI(+), HLA-KlasII (-) ve HLA-KlasI(-), HLA-KlasII (+) hasta gruplarının IL-17A, IL-21, IL-12 ve IL-16 düzeyleri PRA(-) kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0.01).

SONUÇ: IL-17A, IL-21, IL-12 ve IL-16 pozitifliğinin humoral rejeksiyonda bir gösterge olabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Panel Reaktif Antikor, IL-17A, IL-21, IL-12 ve IL-16



İMMÜNOLOJİDE MOLEKÜLLER SEMPOZYUMU



18 - 21 Ekim 2018

Paloma Pasha Resort - Özdere / İzmir

BİLİMSEL SEKRETERYA

Dr. Tolga Sütü

Sabancı Üniversitesi

Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi

Tel: +90 216 4839887

E-posta: tolgasutlu@sabanciuniv.edu

ORGANİZASYON SEKRETERYASI



D Event Turizm Organizasyon Hizmetleri

Küçükbakkalköy Mh. Albay Sk. No:24

34750 Ataşehir - İstanbul

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

E-posta: info@immunoloji.org

www.immunoloji.org