

# ACTA MEDICA

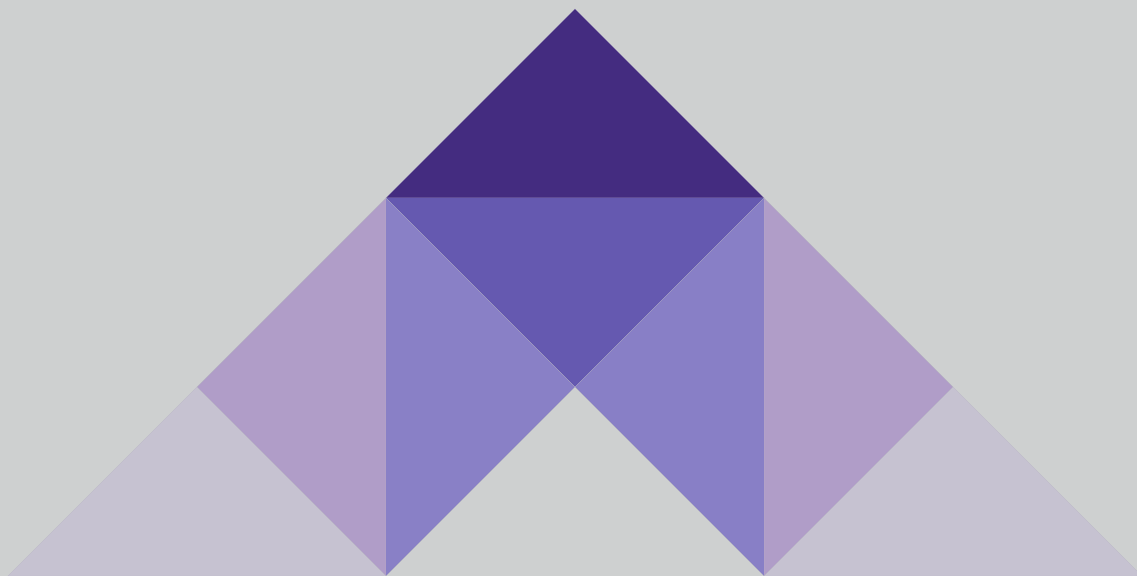
Vol 52 • Supp 3 • 2021

*formerly*  
Hacettepe  
Medical  
Journal



*from the seniors to the students*

Abstracts of XVII. Congress of Medical Biology and Genetics



# **ACTA MEDICA**

formerly Hacettepe Medical Journal

[www.actamedica.org](http://www.actamedica.org)

**2021 · Vol 52 · Supplement 3**  
**Abstracts of XVII. Congress of**  
**Medical Biology and Genetics**

e-ISSN: 2147-9488

## **ACTA MEDICA**

e-ISSN: 2147-9488

www.actamedica.org

Cilt 52, Ek Sayı 3, 2021

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi adına sahibi  
Deniz Demiryürek

**Sorumlu Yazı İşleri Müdürü**  
Fazıl Tuncay Akı

**Yayının Türü**  
Yaygın Süreli Yayının

**Yayının Şekli**  
Üç aylık İngilizce

**Baş Editör**  
Fazıl Tuncay Akı

**Yardımcı Editörler**  
Ülkücan Kaplan

**Editöryal İletişim**  
Hacettepe Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanlığı  
06100 Sıhhiye - Ankara  
E-posta: editor@actamedica.org

**Yayınlayan**  
Hacettepe Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanlığı  
06100 Sıhhiye - Ankara  
Telefon: 0 312 305 10 80  
Belgeç (faks): 0 312 310 05 80  
E-posta: tipmaster@hacettepe.edu.tr

## **ACTA MEDICA**

e-ISSN: 2147-9488

www.actamedica.org

Vol 52, Supplement 3, 2021

Owner on behalf of the Hacettepe Medical School  
Deniz Demiryürek

**Administrator**  
Fazıl Tuncay Akı

**Publication Type**  
Peer-reviewed journal

**Publication Frequency and Language**  
Quarterly, English

**Editor-in-Chief**  
Fazıl Tuncay Akı

**Associate Editors**  
Ülkücan Kaplan

**Editorial Office**  
Hacettepe University  
Hacettepe Medical School  
06100 Sıhhiye - Ankara  
E-mail: editor@actamedica.org

**Publisher**  
Hacettepe University  
Hacettepe Medical School  
06100 Sıhhiye - Ankara  
Phone: +90 312 305 10 80  
Fax: 0 312 310 05 80  
E-mail: tipmaster@hacettepe.edu.tr

# XVII. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

## 28-31 Ekim 2021

### Online

#### Dernek Yönetim Kurulu

Prof. Dr. Turgut Ulutin (Başkan)  
Prof. Dr. Ece Konaç (II. Başkan)  
Prof. Dr. Matem Tunçdemir (Genel Sekreter)  
Prof. Dr. Ayhan Deviren (Sayman)  
Prof. Dr. Ersan Kalay (Üye)  
Prof. Dr. Didem Dayangaç Erden (Üye)  
Prof. Dr. Neslihan Abacı (Üye)

#### Kongre Başkanı

Prof. Dr. Turgut Ulutin

#### Kongre Bilim Kurulu

Prof. Dr. Didem Dayangaç Erden  
(Bilim Kurulu Başkanı)

Prof. Dr. Neslihan Abacı  
Prof. Dr. Neşe Atabey  
Doç. Dr. Çığır Biray Avcı  
Prof. Dr. Ayhan Deviren  
Prof. Dr. Esra Erdal  
Prof. Dr. Sezgin Güneş  
Doç. Dr. Gamze Güney Eskiler  
Prof. Dr. Ersan Kalay  
Prof. Dr. Murat Kasap  
Prof. Dr. Ece Konaç  
Prof. Dr. Fatma Savran Oğuz  
Prof. Dr. Meral Özgüç  
Prof. Dr. Melek Öztürk  
Prof. Dr. Salih Şanlıoğlu  
Prof. Dr. Berrin Tunca  
Prof. Dr. Matem Tunçdemir  
Prof. Dr. Turgut Ulutin  
Prof. Dr. Abdullah Yalçın  
Prof. Dr. Akın Yılmaz  
Prof. Dr. Mehmet Bertan Yılmaz  
Prof. Dr. Selma Yilmazer

*\*Soyadı alfabetik sıralanmıştır.*

**Kongre Düzenleme Kurulu**  
Prof. Dr. Ayhan Deviren  
(Düzenleme Kurulu Başkanı)

**Doç. Dr. Burcu Balcı Hayta**  
Prof. Dr. Didem Dayangaç Erden  
Prof. Dr. Erdinç Dursun  
Doç. Dr. Duygu Gezen Ak  
Prof. Dr. Ece Konaç  
Prof. Dr. Banu Peynircioğlu  
Prof. Dr. Turgut Ulutin  
Öğr. Gör. Dr. Ayşe Yüzbaşıoğlu  
*\*Soyadı alfabetik sıralanmıştır.*



# ACTA MEDICA

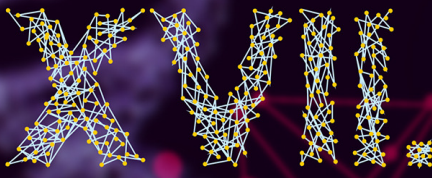
formerly Hacettepe Medical Journal

Volume 52; Supplement 3; 2021

## CONTENTS

Congress Programme / Kongre Programı .....	vii
Invited Speeches / Davetli Konuşmalar .....	1
Oral Presentations / Sözlü Bildiriler .....	43
Poster Presentations / Poster Sunumları .....	301





www.tbkg2021.org

# TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

28-31 Ekim 2021  
ONLINE



28 Ekim 2021 Perşembe / 28 October 2021 Thursday

## SALON A - HALL A

### AÇILIŞ TÖRENİ / OPENING CEREMONY

#### TIBBİ BİYOLOJİNİN DÜNYÜ, BUGÜNÜ

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Didem DAYANGAÇ ERDEN

11:30 - 12:00 **Prof. Dr. Turgut Ulutin**  
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Derneği ve Kongre Başkanı / Medical Biology and Genetics Association and Congress Chair

### SÖZLÜ SUNUMLAR / ORAL PRESENTATIONS

Oturum Başkanları \ Session Chairs:

Prof. Dr. Banu PEYNİRCİOĞLU, Doç. Dr. Yelda TARKAN ARGÜDEN

*CEBPB transkripsiyon faktörünün MN1 ekspresyonu üzerindeki etkisi - Zeliha Emrence*

*Meme Kanseri Hücrelerini Membran Reseptörleri Aracılığıyla Tanımlayan Kuartz Kristal Mikrodenge (QCM) Temelli Biosensör Sistemleri - Ayşe Keşer Özden*

*Beaxotene U251 hücrelerinde endoplazmik retikulum stresini yoluyla antiproliferatif etkiler gösterdi - Ceyhan Hacıoğlu*

*Osteosarkomların metastatik potansiyeli ile in vitro biyolojik özellikleri arasındaki ilişkinin incelenmesi - Sezen Atasoy*

*Resveratrol ile önkoşullamanın ardından FL118 uygulamasının üçlü negatif meme kanseri hücre dizilerinde epitelyal mezankimal geçiş üzerindeki etkisi - Atiye Seda Yar Sağlam*

*Borik asit ve disodyum oktaborat tetrahidrat'ın glioblastoma hücre hatlarında hücre ölümü üzerindeki etkilerinin araştırılması - Ayşe Gül Dalmızrak*

*Kolajinazıninhibitor seçili genlerin potansiyel biyobelirteç rollerinin hesaplamalı yaklaşımla yeniden gözden geçirilmesi - Asli Kutlu*

*Meme Kanseri Sık Görülen Gen Mutasyonlarının Tamoksifenle Yanıt İlişkisi ve Prognostik Önemi - Tuba Avcılar*

*Meme kanseri tanı ve tedavisi için olası anahtar mikroRNA'lar ve hedef genlerin etilediği moleküler mekanizmanın in silico analiz yöntemleriyle belirlenmesi - Pelin Telkoparan Akıllılar*

*Mide kanseri hücrelerinin agresifliğinin başlanmasında olea europaea yaprak ekstresi ile 5-fluorourasil ve cisplatin kombin tedavilerinin etkileri - Çağla Tekin*

*Nek2 Kinaz Hedeflerinin Sentrozom Kümelenmesi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması - Batuhan Mert Kalkar*

*Tedaviye yönelik yaklaşımlar için RAS proteinlerinin G12D izoformunu ifade eden kanser hücrelerinin oluşturulması - Ramazan Kaşmer*

*Glioblastomada temozolomid tedavisine bağlı olarak kanser hücrelerinde gelişen yaşlanma sürecinde olea europaea yaprak özütünün koruyucu etkisi - Melis Mutlu Erçelik*

14:00 - 14:10 **ARA / BREAK**

### UYDU SEMPOZYUMU / SATELLITE SYMPOSIUM GEN ERA DİAGNOSTİK A.Ş.

14:10 - 14:35 **Xavier DAVID**  
*Enhanced Tumor Classification Using DNA Methylation Signatures*

14:35 - 14:45 **ARA / BREAK**

### KONFERANS 1 / CONFERENCE 1:

#### KANSER GENETİĞİ ve BİYOLOJİSİ / CANCER GENETICS and BIOLOGY

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Neşe ATABEY

14:45 - 15:20 **Doç. Dr. Özgür ŞAHİN**  
*Kanser İlaç Direnç Mekanizmalarından İlaç Keşfine Doğru Bir Yolculuk / A Journey from Mechanisms of Cancer Drug Resistance to Drug Discovery*

15:20 - 15:50 **ARA / BREAK**

### KONFERANS 2 / CONFERENCE 2:

#### KANSER GENETİĞİ ve BİYOLOJİSİ / CANCER GENETICS and BIOLOGY

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Neşe ATABEY

15:50 - 16:25 **Dr. Semir BEYAZ**  
*Rejenerasyon, Kanser ve Bağışıklıkta Beslenme - Gen Etkileşim Mekanizmaları / Mechanisms of Nutrient - gene Interactions in Regeneration, Cancer and Immunity*

16:25 - 16:40 **ARA / BREAK**

### KONFERANS 3 / CONFERENCE 3:

#### MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ / MOLECULAR NEUROSCIENCE

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Selma YILMAZER

16:40 - 17:15 **Prof. Dr. Alexei VERKHRATSKY**  
*Astroglia and Aging*

### KONFERANS 4 / CONFERENCE 4:

#### MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ / MOLECULAR NEUROSCIENCE

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Selma YILMAZER

17:15 - 17:50 **Prof. Dr. Takeshi İMALI**  
*Fluorescence Imaging of Neuronal Circuits*

17:50 - 18:05 **ARA / BREAK**

### PANEL 1 / PANEL 1:

#### KANSER GENETİĞİ ve BİYOLOJİSİ / CANCER GENETICS and BIOLOGY

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Berin TUNCA, Prof. Dr. Gizem DÖNMEZ YALÇIN

18:05 - 18:30 **Prof. Dr. Nuri ÖZTÜRK**  
*DNA Hasar Cevabı ve Sirkadiyen Saat Arasındaki Moleküler İlişki / Molecular Link Between the Circadian Clock and DNA Damage Responses*

18:30 - 18:55 **Prof. Dr. Soner DOĞAN**  
*Kalori Kısıtlamasının Kanser Gelişimi Üzerine Olan Etkisinde Epigenetik Modifikasyonların Rolü / The Roles of Epigenetic Modifications in the Effects of Calorie Restriction on Cancer Development*

## SALON B - HALL B

### SÖZLÜ SUNUMLAR / ORAL PRESENTATIONS

Oturum Başkanları \ Session Chairs:

Doç. Dr. Tuba DİNÇER, Doç. Dr. Ayyla SOLMAZ AVCIKURT

12:00 - 14:00

*NF-kB bağımlı miR-8078 C2CD2'yi hedefleyerek KHDAK hücre invazyonunu artırır - Şakir Akgün*

*VS-5584'ün akciğer adenokarsinom hücrelerinde WNT sinyal yolağına etkisinin incelenmesi - Buket Özel*

*Metastatik prostat kanseri için redoks adaptasyonu geliştirilmiş bir in vitro model oluşturulması ve karakterize edilmesi - İşli Ezgi Eryılmaz*

*Cabazitaxel'in prostat kanserindeki apoptotik etkinliğinin proksidan etkileri ile ilişkisi - İşli Ezgi Eryılmaz*

*İmidazol nükleusunun hepatoselüler karsinoma hücre dizilerinde antikanser etkileri - Erkan Kahraman*

*Maksiler sinüs skuamöz hücreli karsinomunun genomik profili - Bakiye Göker Bağca*

*Juvenile Myelomonositik Lösemi'de Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile Vaka Çözümü - Nihat Buğra Ağaoğlu*

*Hepatoselüler kanserde YAP proteini hedefli yeni bileşimlerin belirlenmesi - Sezen Güntekin Ergün*

*Abemaskilibin yüksek derceli seröz over kanserinde terapötik etkisinin araştırılması - Ayten Hacıefendi*

*Hematolojik Malignansilerle Y Kromozom Kaybı Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi - Tuba Kahraman Mercan*

*Uc.112'nin düzenlenmesinde tümör baskılayıcı miRNA-15a'nın olası rolü - İbrahim Bozgeyik*

*Wnt/β-katenin yolak inhibitörü niklozamid ile kemoterapötik ajan kombinasyonlarının prostat kanseri hücrelerinde sitotoksik ve apoptotik etkilerinin değerlendirilmesi - Elif Ertürk*

*Quercetin: Meme kanseri hücrelerinde DNA hasarını etkileyen bir antioksidan - Gülçin Yavuz Turel*

### PANEL 2 / PANEL 2:

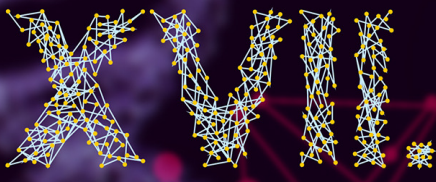
#### MOLEKÜLER SİNİR BİLİMİ / MOLECULAR NEUROSCIENCE

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Doç. Dr. Çiğır BIRAY AVCI, Prof. Dr. Sibel ÖĞÜZKAN BALCI

18:05 - 18:30 **Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN**  
*İskemik İnmede Beyin Mikro Dolaşımının Rolünü Anlamak / Understanding the Role of Cerebral Microcirculation in Ischemic Stroke*

18:30 - 18:55 **Doç. Dr. Deniz ATASOY**  
*Central Pathways of Counterregulation and Their Contribution to Hypoglycemia Unawareness*





www.tbkg2021.org

# TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

## 28-31 Ekim 2021

### ONLINE



29 Ekim 2021 Cuma / 29 October 2021 Friday

#### SALON A - HALL A

##### PANEL 3 / PANEL 3:

#### EPIGENETİK MEKANİZMALAR / EPIGENETIC MECHANISMS

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Mehmet Bertan YILMAZ, Prof. Dr. Gülşah ÇEÇENER

10:20 - 10:45	<b>Prof. Dr. Ece KONAÇ</b> Agresif Tümör Biyolojik Davranışında DNA Metiltransferazlar ve Epi-miRNA'lar Arasındaki Dinamik Etkileşim / <i>The Dynamic Interaction between DNA Methyltransferases and Epi-miRNAs in Aggressive Tumor Biological Behavior</i>
10:45 - 11:10	<b>Prof. Dr. Sezgin GÜNEŞ</b> Sperm Epigenomundaki Epigenetik Mekanizmalar: Güncel Gelişmeler ve Gelecekteki Beklentiler / <i>Epigenetic Mechanisms within the Sperm Epigenome: Current Progress and Future Prospects</i>
11:10 - 11:35	<b>Prof. Dr. Banu BALCI PEYNİRCİOĞLU</b> Epigenetik Bakış Açısıyla Otoinflamatuar Hastalıklar: İnflamasyon ile İlişkili miRNA'lar ve Patogeneze Etkileri / <i>Autoinflammatory Diseases from Epigenetic Perspective: Inflammation-associated miRNAs and Their Impact on Disease Pathogenesis</i>
11:35 - 12:00	<b>Doç. Dr. Çiğir BİRAY AVCI</b> Glioblastoma Multiforme Epigenetiği: Moleküler Mekanizmalardan Terapötik Yaklaşımlara / <i>Epigenetics of Glioblastoma Multiforme: From Molecular Mechanisms To Therapeutic Approaches</i>

#### 12:00 - 12:15 ARA / BREAK

#### SÖZLÜ SUNUMLAR / ORAL PRESENTATIONS

Oturum Başkanları \ Session Chairs:  
Doç. Dr. Burcu BALCI HAYTA, Doç. Dr. Meral URHAN KÜÇÜK

	<i>Intramembran Spastik Parapleji Proteinlerinin Drosophila Aksonal ER ve ER-mitokondri Temaslarındaki Rolü - Zeynep Öztürk</i>
	<i>Alzheimer Hastalığında mi24-3p ve mi26-5p Ekspresyon Düzeylerinin Endotel ve Trombosit Fonksiyonları Üzerine olan Etkisinin İncelenmesi - Gülsel Ayaz</i>
	<i>Atak ve iyileşmelerle giden multiple skleroz hastalığında inflamasyonun değerlendirilmesi - Nur Damla Korkmaz</i>
	<i>İnsan Astositlerinde Alfa Sinüklein Aşırı Ekspresyonunun İnflamasyon Parametreleri Üzerine Etkisi - Büşra Şengül</i>
	<i>Obsesif Kompulsif Bozuklukta SLC1A1 ve DLGAP1 Genlerinin Rolünün İncelenmesi - Ebru İrem Akkuş</i>
	<i>Alzheimer, Hafif Kognitif Bozukluk ve Frontotemporal Demans Hastalarına ait beyin omurilik sıvılarında HSP90AA1, CHIP (STUB1) ve HSPA4 şaparon protein seviyelerinin belirlenmesi - Pelin Sordu</i>
	<i>Şaparonlan fibriller alfa-sinükleinin hücre içi davası üzerine etkileri - Tuğay Çamoğlu</i>
	<i>HEK293T hücrelerinde <math>\alpha</math>-sinüklein proteininin aşırı üretiminin transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu üzerine etkileri - Ebru Keskin</i>
	<i>Amiloid beta 1-42'nin mitokondriyal DNA ile olası etkileşiminin araştırılması - Zuhâl Yurttaş</i>
	<i>Serotonerjik sistemi potansiyel olarak modüle eden CpG adaklarının ve miRNA'ların araştırılması: Hesaplamalı yaklaşımlar - Ayşenur Şen</i>
	<i>Alzheimer hastalığı ile kortikosteroid yolları arasındaki ilişkinin beyin organotipik kesit kültüründe incelenmesi - Merve Alaylıoğlu</i>
	<i>Kainik Asite Bağlı HücreSEL Eksitotoksikite Modelinde HSF1 (Heat Shock Factor 1) Ribonükleoprotein Kompleksinin Aktivatyonunun Araştırılması - Ayşenur Akkulaç</i>
	<i>PI3K/AKT/mTOR sinyal yolunun düzenlenmesinde potansiyel olarak rol oynayan DNA metilasyonu ve mikroRNA'ların analizi - Ayşenur Şen</i>
	<i>Vazoaktif İntestinal Peptidin MPTP, Hidrojen Peroksit ve Mikrogliyal Sekretorum Toksik Etkilerine Karşı Nöronal Hücreler Üzerindeki Koruyucu Rolü - Zeynep Hilal Durkaya</i>
	<i>Glukozilseramidaz-Beta Gen Mutasyonlarının İndüklendiği Pluripotent Kök Hücre Kaynaklı Dopaminerjik Nöronlarda sinüklein Birikimi ve Salınımına Etkisi - Gizem Onal</i>
	<i>Primer Mikrocefali Hasta Kohortunda Genetik Etiyolojinin Araştırılması - Aybek Türkyılmaz</i>

#### 14:45 - 15:00 ARA / BREAK

#### UYDU SEMPOZYUMU / SATELLITE SYMPOSIUM

##### QIAGEN / ATQ Biyoteknoloji

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Çetin KOCAEFE

15:00 - 15:25	<b>Dr. Arif Abdel NOUR</b> QIAcuity: The Next Generation dPCR from Qiagen
---------------	------------------------------------------------------------------------------

#### PROF. DR. ASİM CENANİ GENÇ ARAŞTIRMACI ÖDÜLÜ SUNUMLARI / YOUNG RESEARCHERS AWARD PRESENTATIONS

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. İbrahim KESER, Prof. Dr. Matem TUNÇDEMİR

15:25 - 15:40	<b>Emir BOZKURT</b> - Birincilik Ödülü
15:40 - 15:55	<b>Evin İŞCAN</b> - İkincilik Ödülü
15:55 - 16:10	Soru-Cevap

#### 16:10 - 16:25 ARA / BREAK

##### KONFERANS 5 / CONFERENCE 5:

#### KÖK HÜCRE BİYOLOJİSİ / STEM CELL BIOLOGY

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Ece KONAÇ

16:25 - 17:00	<b>Prof. Dr. Andre J. VAN WIJNEN</b> Epigenetic Strategies to Regulate Stem Cell Differentiation in Regenerative Medicine
---------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### 17:00 - 17:15 ARA / BREAK

##### PANEL 4 / PANEL 4:

#### KÖK HÜCRE BİYOLOJİSİ / STEM CELL BIOLOGY

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Abdullah YAĞCIN, Prof. Dr. Mehtap KILIÇ EREN

17:15 - 17:40	<b>Prof. Dr. Çetin KOCAEFE</b> "Tamir Edecektim, Bozverdim" Doku Hasarı ve Tamirinde Somatik Kök Hücrelerin Önemi / <i>"Screwed Up Trying to Repair": Role of Somatic Stem Cells in Tissue Repair and Damage</i>
17:40 - 18:05	<b>Doç. Dr. Emre SAYAN</b> Yeni Kinas İnhibitörlerinin Kanser Kök Hücreleri Üzerindeki Seçici Aktiviteleri / <i>Novel Kinase Inhibitors With Selective Activity on Cancer Stem Cells</i>
18:05 - 18:30	<b>Doç. Dr. Tamer ÖNDER</b> Somatik Hücrelerin Yeniden Programlanmasında Rol Alan Yeni Moleküllerin Belirlenmesi / <i>Chemical Biology-Based Identification of Novel Regulators of Somatic Cell Reprogramming</i>

18:30	<b>CUMHURİYET BAYRAMI KUTLAMASI &amp; ÖDÜL TÖRENİ / REPUBLIC DAY CELEBRATION &amp; AWARD CEREMONY</b>
-------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### SALON B - HALL B

#### SÖZLÜ SUNUMLAR / ORAL PRESENTATIONS

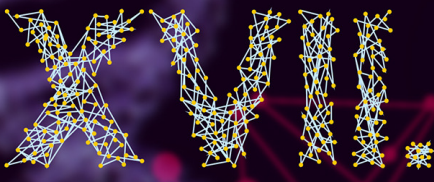
12:15 - 14:45	Oturum Başkanları \ Session Chairs: Dr. Öğr. Üyesi Aysel YÜZBAŞIOĞLU, Doç. Dr. Tuğçe BALCI OKCANOĞLU
	<i>Histon deasetilaz inhibitörlerinin lipopolisakarit ile indüklenebilir makrofaj hücrelerinde sınıf II transkriptör (CIITA) ekspresyon seviyeleri ve antijen sunumu üzerine etkisi - Zülfinaz Betül Çelik</i>
	<i>ALL hücre hatlarında tümör başlatıcı aktivitesi olan miRNA'ların analizi - Sinem Firtına</i>
	<i>PI3K/mTOR inhibisyonu lösemi kök hücrelerindeki disegüle lncRNA ekspresyon profilini yeniden düzenler - Çağla Kayabaşı</i>
	<i>Spinal müsküler atrofi'li Drosophila melanogaster modelinde rpd3 proteini ve histon asetilasyon düzeylerinin araştırılması - Cem Hazır</i>
	<i>Lokal/lokal ileri ve metastatik prostat kanserli hastalarda epi-miRNA ekspresyon seviyelerinin karşılaştırmalı analizi - Venhar Gürbüz</i>
	<i>Metastatik Prostat Kanseri miR-148a/miR-152/miR-200b- aracı ve DNMT1-PTEN hedefli düzenleme - Venhar Gürbüz</i>
	<i>Farklı şekillerde uygulanan kalori kısıtlamasının fare beyindeki Sirtuin 1 DNA metilasyonu ve mRNA ekspresyonu üzerindeki etkisi - Elif Yılmaz</i>
	<i>Kistik fibrozis hastalığında klinik heterojeniteye sebep olabilecek aday miRNA'lar ve hedefleriyle ilişkili yollar - Merve Atalay</i>
	<i>Kolorektal kanserde epigenetik bir çalışma: LINE-1 retrotranspozonunda 5' UTR metilasyon değişimlerinin araştırılması - Fatima Zehra Şipşak</i>
	<i>CYP3A4'ü Hedefleyen miR-505-5p'in Kolajine Dirençli Akdeniz Ateşi Hastalarında Değişken İfadeleri - Tayfin Hilmi Akkaba</i>
	<i>Epigenetik yeniden programlama yoluyla MLL-AF9 lösemilerinin tedavisi için yeni bir yaklaşım olarak LSD1/HDAC6'yı hedefleyen ikili inhibitörlerin kullanımı - İpek Bulut</i>
	<i>Histon deasetilaz inhibitörleri ve otofaji modülatörlerinin kolanjioinsinoma üzerine anti-proliferatif etkileri - Emel Başak Gencer Akçok</i>
	<i>Cisplatin Direncini Kırmak İçin Hedefli Yaklaşımlar: Lizozomal Atılımın Epigenetik Regülasyonu - Barış Sergi</i>
	<i>lncRNA NEAT1'in İmatinib Direncindeki ve KML Patogeneziindeki Rolünün Araştırılması - Zeynep Mutlu</i>
	<i>Taksan dirençli prostat kanserlerinde direncin kırılmasında rol oynayan BRPF1/2 proteinlerinin moleküler etki mekanizmasının incelenmesi - Beyza Dedeoğlu</i>
	<i>PRMT5 proteininin prostat kanserinde taksan direncini nasıl genilediğinin moleküler mekanizmasının araştırılması - Naz Uzunalıoğlu</i>

##### PANEL 5 / PANEL 5:

#### PROTEOMİK VE UYGULAMALARI / PROTEOMICS AND ITS APPLICATIONS

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Murat KASAP, Prof. Dr. Figen CELEP EYÜPOĞLU

17:15 - 17:40	<b>Prof. Dr. Emine KOÇ</b> Src Tirozin Kinazının Mitokondriyal Protein Sentezinin Regülasyonundaki Rolü ve Kanser Proteomik Çalışmaları / <i>Regulation of Mitochondrial Protein Synthesis by Src Family Kinases in Cancer</i>
17:40 - 18:05	<b>Doç. Dr. Nurhan ÖZLÜ</b> Böbrek Kanseri Proteomik ve Fosfoproteomik Analizi / <i>Proteomic and Phosphoproteomic Analysis of Kidney Cancer</i>
18:05 - 18:30	<b>Doç. Dr. Gürler AKPINAR</b> Meme Kanseri Proteomik Yaklaşımlar Kullanılarak Biyobelirteç Arayışları / <i>Search for Breast Cancer Biomarkers Using Proteomic Approaches</i>



www.tbkg2021.org

# TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

28-31 Ekim 2021

ONLINE



30 Ekim 2021 Cumartesi / 30 October 2021 Saturday

## SALON A - HALL A

### SÖZLÜ SUNUMLAR / ORAL PRESENTATIONS

10:35 - 12:50	Oturum Başkanları \ Session Chairs: Dr. Öğr. Gör. Gözde ÖZTAN, Doç. Dr. Hayriye ŞENTÜK
	<i>Akalazya hastalığının özofagus epitel özelliklerinin elektrofizyolojik ve moleküler yöntemleri ile belirlenmesi - Sezgin Kıpçak</i>
	<i>Yeni Nesil Dizileme ile Nadir HLA Alellerinin Türk Popülasyonunda Belirlenmesi - Yeliz Ögret</i>
	<i>Spinal Musküler Atrofi Hastalarının Fibroblastlarında Mikrotübül Stabilitesi ile İlişkili Alfa Tübülün Post-Translasyonel Modifikasyonlarının Araştırılması - Pelin Zorbağlı Özer</i>
	<i>CRISPR genom mühendisliği ile zigot evresi embriyolardan transgenik fare modellerinin üretimi - Muhammed Kasım Dini</i>
	<i>Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığında PPAR-alfa geni L162V varyasyonunun etkisi - Özlem Kumaz Gömleksiz</i>
	<i>Alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2 geninde yeni saptanan bir varyantın patojenik etkisinin araştırılması - Ayşe Yeşbek Kaymaz</i>
	<i>Gen şebeke varyantlarının hesaplamalı biyoloji ve makine öğrenmesi yardımıyla analizi - Yelda Tarkan Argüden</i>
	<i>Sporadik ALS patogenezinde iskelet kasına özgü iki farklı miRNA profilinin tanımlanması - Evrim Aksu Mengeş</i>
	<i>HIV Pozitif Hastalarda HLA-B Sinyal Peptid Dizisi ve HLA-E Polimorfizmi - Yeliz Ögret</i>
	<i>Gençlerin Eriskin Başlangıcı (Dişabeti (MODY)inde Düşük hs-CRP Düzeyleri ile HNF1A rs1800574 (p.Ala98Val) Mutasyonu Arasındaki İlişki - Deniz Kanca Demirci</i>
	<i>Kronik gastrit hastalığı ile tat reseptör tip 1 gen polimorfizmi ilişkisi - Gülşah Koç</i>
	<i>Hiperlipidemi ve Hiperlipidemi Kaynaklı Oksidatif Stresin Endotel Disfonksiyonu Üzerine Etkileri - Deniz Gücenmez</i>
	<i>Konjenital Pituiter Sap Kesi Sendromu (PSS) Olgularında Tüm Ekzom Dizi Analizi Verilerinin Değerlendirilmesi - Ecem Elendi Erdem</i>
	<i>Sağlıkta ve Hastalıkta İskelet Kası Hücre Dışı Matrisin Düzenlenmesinde TEAD Transkripsiyon Faktörü Ailesinin Rolü ve Öneminin Multi-omik Yöntemlerle İncelenmesi - Hasan Basri Kılıç</i>
	<i>Epitel doku fizyolojisinin temel düzenleyicilerden Wnt sinyal yolağı ve Klf5 transkripsiyon faktörünün mezenkimal doku idamesindeki rolü ve önemi - Duygu Sevim</i>

## 12:50 - 13:05 ARA / BREAK

### KONFERANS 6 / CONFERENCE 6:

#### BİLİM VE İNOVASYONDA ALTERNATİF GELECEKLER, DENEYİM PAYLAŞIMI VE UFUK TURU / ALTERNATIVE FUTURES IN SCIENCE AND INNOVATION, EXPERIENCE SHARING AND HORIZON SCANNING

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Didem DAYANGAÇ ERDEN

13:05 - 13:50	<b>Prof. Dr. Vural ÖZDEMİR</b> Placebogenomik Ufuk Turu: Bazen B Planı Çok Daha İyi'dir   Placebogenomics Horizon Scanning: Sometimes Plan B is Much Better
---------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### PANEL 6 / PANEL 6:

#### 2020 EMBO KURULUM DESTEĞİ ALAN GENÇ ARAŞTIRMACILARIN GELECEĞE BAKIŞLARI / 2020 EMBO INSTALLATION GRANTEES: PERSPECTIVES FROM YOUNG SCIENTISTS

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Turgut ULUTIN, Prof. Dr. Zafer ÇETİN

13:50 - 14:15	<b>Dr. Öğr. Üyesi Serkan BELKAYA</b> Çocuklarda Akut Karaciğer Yetmezliğinin Genetik ve İmmüнопатолоjik Mekanizmaları   Genetic and Immunopathological Mechanisms of Acute Liver Failure in Children
14:15 - 14:40	<b>Dr. Öğr. Üyesi Onur ÖZTAŞ</b> DNA Hasarı ve Tamirinin Yeni-Nesil Dizileme ile Genom Haritasının Çıkarılması   Genome-Wide Maps of DNA Damage and Repair
14:40 - 15:05	<b>Doç. Dr. Güneş ÜNAL</b> Sistem Sinirbilimi: Temel Beyin Araştırmalarında Moleküler ve İşlevsel Tekniklerin Birleşmesi   Systems Neuroscience: Combination of Molecular and Functional Techniques in Basic Brain Research

## 15:05 - 15:20 ARA / BREAK

### UYDU SEMPOZYUMU / SATELLITE SYMPOSIUM

#### MEDSANTEK Laboratuvar Malzemeleri

15:20 - 15:45	<b>Ergün Çakar</b> Multiplex Western Blot Analizi ve Kantitatif Western Blot Analizi
---------------	-----------------------------------------------------------------------------------------

## 15:45 - 16:00 ARA / BREAK

### KONFERANS 7 / CONFERENCE 7:

#### HASTALIKLARIN MOLEKÜLER VE GENETİK TEMELİ / MOLECULAR AND GENETIC BASIS OF DISEASES

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Neşe ATABEY, Prof. Dr. Meral ÖZGÜÇ

16:00 - 16:35	<b>Prof. Dr. Ioannis RAGOUSIS</b> Identification of Therapeutic Approaches and Drug Targets by Single Cell Genomics
---------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## 16:35 - 16:50 ARA / BREAK

### PANEL 7 / PANEL 7:

#### İŞLEVSEL GENOMİK YAKLAŞIMLARI / FUNCTIONAL GENOMICS APPROCHES

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Esra ERDAL, Prof. Dr. Belgin ATAÇ

16:50 - 17:15	<b>Dr. Vanja NAGY</b> Using Forward and Reverse Genetics to Understand Molecular and Cellular Pathologies in Neurodevelopmental Disorders
17:15 - 17:40	<b>Doç. Dr. Tunca DOĞAN</b> Gen-Yolak-Hastalık-İlaç İlişkilerinin Geniş Çaplı ve Hesaplamalı Analizi   Large Scale and Computational Analysis of Gene-Pathway-Disease-Drug Relationships

### PANEL 8 / PANEL 8:

#### ORGANOİD TEMELLİ HASTALIK MODELLEMELERİ ve KİŞİLEŞTİRİLMİŞ TIP / ORGANOİD BASED DISEASE MODELLING AND PERSONALISED MEDICINE

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Ayhan DEVİREN, Prof. Dr. Tuba EDGÜNLÜ

17:40 - 18:05	<b>Dr. Carla VERISSIMO</b> HUB Organoids as a New Diagnostic Platform to Improve Patient Treatment
18:05 - 18:30	<b>Prof. Dr. Esra ERDAL</b> Hastalıkların Modellenmesinde Yeni Bir Araç Olarak İnsan Organoidleri   Human Organoids: A New Tool for Disease Modelling

#### UYDU SEMPOZYUMU - ORGANOİD TEMELLİ HASTALIK MODELLEMELERİ ve KİŞİLEŞTİRİLMİŞ TIP / SATELLITE SYMPOSIUM - ORGANOİD BASED DISEASE MODELLING AND PERSONALISED MEDICINE

#### NOVAGENTEK Laboratuvar Ürünleri

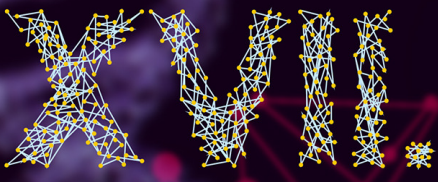
Oturum Başkanları \ Session Chairs: Altan ASLANTAŞ (NovagenteK Laboratuvar Ürünleri Genel Müdürü)

18:30 - 18:55	<b>Dr. Glauro R. SOUZA</b> Manipulating and Analysing Cells with Magnetic 3D Bioprinting
---------------	---------------------------------------------------------------------------------------------

## SALON B - HALL B

### SÖZLÜ SUNUMLAR / ORAL PRESENTATIONS

10:35 - 12:50	Oturum Başkanları \ Session Chairs: Doç. Dr. Burcu BAYOĞLU, Doç. Dr. Emrah YÜCESAN
	<i>Quercetin meme kanseri hücre hattında DNA hasarına sebep olur mu? - Dilek Ağçı Çelik</i>
	<i>Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Genetik Olmayan Osimertinib Direnç Mekanizmasının CRISPR Tarama Aracıyla Araştırılması - Bengisu Uluata Dayanç</i>
	<i>Hedefe yönelik tedavi seçimi için üçlü negatif meme kanseri alt tipinden luminal androjen reseptörü (LAR) alt tipinin belirlenmesi - Havva Tezcan Ünlü</i>
	<i>Miyeloid maligniteli hastalarda TET2 gen varyasyonları - Aynur Dağlar Aday</i>
	<i>4T1 meme kanseri hücre hattında capcitabine ve metformin kombinasyonunun Pten/PI3K/Akt sinyal yolağı üzerine etkisinin araştırılması - Hacer Kaya Çakır</i>
	<i>Bir antibiyotik olarak tistreptonun üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde toll benzeri reseptör ekspresyonu üzerindeki etkilerinin in vitro olarak belirlenmesi - Funda Demirtaş Korkmaz</i>
	<i>PANC-1 pankreas kanseri hücre hattında juglon-selenyum kombinasyonunun anti-metastatik etkilerinin değerlendirilmesi - Fatma Gökürk</i>
	<i>Kanser Käküllük Kinaz İnhibitörü Amcasertib Meme ve Over Kanseri Hücrelerinde Yüksek Oranda Apoptozu Uyarır - Hale Güler Kara</i>
	<i>İnsan prostat kanseri hücrelerinde FOXD1 geni susturulmasının proliferasyon, migrasyon, invazyon ve epitelial-mezenkimal transizyon üzerindeki etkileri - Çiğdem Dönmez</i>
	<i>Yeni Sentezlenen Flavonoid Türevi Bileşiklerin Akciğer Adenokarsinoma Hücrelerinde Jak/STAT Yolağı Üzerinden Antiproliferatif Etkilerinin Araştırılması - Haluk Uluc</i>
	<i>Epitelial over kanserinde miR-451a ifade düzeyinin araştırılması - Khanga Jabbarlı</i>
	<i>Papiller tiroid kanseri gelişimi ve klinikopatolojik özellikleri ile SOX2OT, DANCR ve TINCR uzun kodlamayan RNA ekspresyonları arasındaki ilişki - Fadime Mutlu İğduygu</i>
	<i>Çeşitli Mantar Ekstraktlarının Kolorektal Kanser Hücre Hatlarında Genotoksik, Apoptotik, Sitotoksik ve Gen Ekspresyonu Üzerine Etkisi - Ahmet Yasin Keleş</i>
	<i>Meme kanserinde demir homeostazıyla ilgili genlerin ekspresyonu - Tuba Mutlu</i>
	<i>Karsinogenezde fosfoinozitolid 3-kinaz (PI3K) izomorf bağımlılığının moleküler mekanizmaları - Onur Çizmeciöglü</i>



www.tbkg2021.org

# TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

28-31 Ekim 2021

ONLINE



31 Ekim 2021 Pazar / 31 October 2021 Sunday

## SALON A - HALL A

### KONFERANS 8 / CONFERENCE 8:

#### İMMUNOLOJİ ve COVID-19 İLİŞKİLİ MOLEKÜLER YOLAKLAR/ IMMUNOLOGY AND COVID-19 RELATED MOLECULAR PATHWAYS

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Neslihan ABACI

10:30 - 11:05 **Prof. Dr. Cemri AKDIŞ**  
COVID-19 İmmun Patogenesi ve Ağır Hastalık Nedenleri / Immunology of COVID-19, Pathogenesis and Risk Factors of Severe Disease

### ARA / BREAK

### PANEL 9 / PANEL 9:

#### İMMUNOLOJİ ve COVID-19 İLİŞKİLİ MOLEKÜLER YOLAKLAR/ IMMUNOLOGY AND COVID-19 RELATED MOLECULAR PATHWAYS

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ, Doç. Dr. Gamze GÜNEY ESKİLER

11:20 - 11:45 **Prof. Dr. Mayda GÜRSEL**  
Vip Temelli SARS-CoV-2 Ağısı

11:45 - 12:10 **Prof. Dr. Günnur DENİZ**  
COVID-19 İmmüнопатoloji / COVID-19 Immunopathology

12:10 - 12:35 **Dr. Marco ANDREANI**  
HLA and COVID-19

### ARA / BREAK

### SÖZLÜ SUNUMLAR / ORAL PRESENTATIONS

Oturum Başkanları \ Session Chairs:

Öğr. Gör. Dr. Ayşegül DALMIZRAK, Dr. Öğr. Üyesi Yaprak YALÇIN

COVID-19 hastalığında tedavi öncesindeki ve tedavi sonrasında girelin seviyelerinin araştırılması - Ceyhan Hacıoğlu

PCR (-) COVID-19 hastalığında MBL2 ve NOS3 fonksiyonel gen varyantlarının araştırılması - Yasemin Oyacı

Türkiye'deki olgu örneklerinde SARS-CoV-2 enfeksiyonunda rol alan aday immünite gen varyantlarının incelenmesi ve popülasyonlar arasında karşılaştırılması - Aslı Karacan

Probiyotik bakteriyel hücre dışı faktörler, insan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin immün baskılayıcı özelliklerini destekler - Gizem Yılmaz

Bein Kanseri Kök Hücrelerinde ve Sağlıklı Bein Kök Hücrelerinde Yes-assoiated Protein 1 (YAP1) In Vitro İnhibisyonu: Ferroptozu İndükler ve Adhezyon, EMT ve Migrasyon özelliklerini baskılayarak glioblastoma ilelemesini önler - Neslihan Pınar Özateş

Mikroakışkan biyoreaktörler kullanılarak dinamik kültür koşullarında osteojenik niş geliştirilmesi - Sinan Güven

Hedefli ilaç/çerçer biyonanoprobilann hazırlanması ve tedavi edici potansiyellerinin araştırılması - Sezen Atasoy

COVID-19 hastalığına karşı SARS-CoV-2 spike geni taşıyan lentiviral tabanlı aşıl plazmidinin oluşturulması - Fulya Erendor

Ex-Vivo Gen Terapisiyle Hipoparatiroidizm Tedavisi Modeli Oluşturma - Öykü Zeybek

Dejeneratif retinal gen tedavi çalışmaları kullanılmak üzere kimyasal ajan indükli yeni deney hayvan modelinin geliştirilmesi - Elif Özgecan Şahin

SARS-CoV-2'ye karşı aşıl olarak spike kodlayan birinci jenerasyon insan adenoviral vektörün tasarımı ve üretimi - Elif Özgecan Şahin

Yeni den programlama faktörlerini kodlayan kodon-optimize mini intronik plazmidler aracılığıyla insan embriyonik böbrek hücrelerinden uyarılmış pluripotent kök hücre üretimi - Gizem Şeker

Sustunulan UVIRAG (UV Radiation Resistance Associated Gene) geni meme kanser hücrelerinde siklin ve siklin bağımlı kinazların (CDK) düzenleyerek hücre proliferasyonunu baskılar - Sevide Şencan

Mikroglialın Vazoaktif Bağışırak Peptidi ile tedavisi, mikroglia ile ilişkili nörotoksisteye karşı koruma sağlar - Fatma Gonca Koçano

CRISPR/Cas9 gen düzenleme ile toksin direnci oluşturularak kanser hücrelerinin hedeflenmesi - Ozan Topçu

### ARA / BREAK

### KONFERANS 9 / CONFERENCE 9:

#### GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ / GENE AND CELL THERAPY

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Salih ŞANLIOĞLU

15:35 - 16:10 **Prof. Dr. Paul B. MCCRAY**  
Gene Therapy Strategies for the Treatment of Cystic Fibrosis Lung Disease

### KONFERANS 10 / CONFERENCE 10:

#### GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ / GENE AND CELL THERAPY

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Salih ŞANLIOĞLU

16:10 - 16:45 **Prof. Dr. Fatma BOSCH TUBERT**  
Translational Gene Therapy Approaches to Treat Mucopolysaccharidosis

### ARA / BREAK

### KONFERANS 11 / CONFERENCE 11:

#### ORGANELOPATİ ve HÜCRE ÖLÜMÜ / ORGANELLOPATHIES AND CELL DEATH

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK

17:00 - 17:35 **Doç. Dr. Jerry Edward CHIPUK**  
Mitochondrial Contributions to Cancer Biology: Causes and Consequences

### KONFERANS 12 / CONFERENCE 12:

#### ORGANELOPATİ ve HÜCRE ÖLÜMÜ / ORGANELLOPATHIES AND CELL DEATH

Oturum Başkanı \ Session Chair: Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK

17:35 - 18:10 **Prof. Dr. Hülya BAYIR**  
Redox Biology of Lipid Peroxidation in Ferroptosis

### ARA / BREAK

### PANEL 10 / PANEL 10:

#### GEN ve HÜCRE TEDAVİSİ / GENE AND CELL THERAPY

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Ersan KALAY, Prof. Dr. Müjgan CENGİZ

18:25 - 18:50 **Doç. Dr. Erçüment DİRİCE**  
Tip 1 Diyabette Pankreatik Beta Hücre Heterojenitesi / Interrogating Beta-Cell Heterogeneity in Type-1 Diabetes

18:50 - 19:15 **Dr. Bilge Esin ÖZTÜRK**  
Retinal Hastalıklarda Gen Tedavisi / Gene Therapy for Retinal Diseases

19:15 - 19:40 **Dr. Öğr. Üyesi Cihan TAŞTAN**  
Tanı ve Tedavide CRISPR Gen Düzenleme Yaklaşımları / CRISPR Gene Editing Approaches for Diagnostics and Therapeutics

19:40 **KAPANIŞ / CLOSING**

## SALON B - HALL B

### SÖZLÜ SUNUMLAR / ORAL PRESENTATIONS

Oturum Başkanları \ Session Chairs:

Prof. Dr. Çiğdem KEKİK ÇINAR, Doç. Dr. Hasibe VERDİ

12:50 - 15:20 **İnsan Meme Kanseri Hücre Hatlarında Glycyrrhizin'in Antikanser Etkisinin Proteomik Olarak Analizi - Sevgi Geziç**

**Moleküler Yanaştırma (Docking) Tabanlı Ters Sanal Tarama ve Moleküler Dinamik Simülasyon ile Kanakrol'un Potansiyel Anti-Diyabetik Özelliğinin Analizi - Güven Yenniş**

**İnsan Uyanmış Pluripotent Kök Hücrelerden Lakrimal Bez Organoidlerinin Geliştirilmesi - Gamze Koçak**

**Maküler Kornea Distrofisinin Mikroakışkan Platformda In Vitro Hastalık Modellenmesi - Sinan Güven**

**In vitro Translasyon ile Ribozom İşlev Tayini - Hasan Basri Kılıç**

**Eksüdatif yaşı bağılı makula dejenerasyonunun etyopatogenezinin aydınlatılması amacıyla ARPE-19 hücre hattında CoCl<sub>2</sub> ile indüklenen hipoksi modeli oluşturulması - Seda Süsgün**

**Behçet Hastalığında Entegre Stres Yanıtının Rolü - İrem Coşkun**

**MB-COMT ve DRD2 Gen Varyantları ve Metilasyon Durumuna İlişkin Madde Kullanım Bozukluklarının Eğilimini Öngörmeye Bilgi Kazanım Sınıflandırması - Yasemin Oyacı**

**Fumaraz enziminin Shewanella putrefaciens bakterisinden üretimi ve biyokimyasal tanı kriterlerinde kullanılması - Ceyhan Toruntay**

**Kuantum Noktalı Bazı Jel Elektroferez Görüntüleme - Sema Şabançelebi**

**Diyabetik Farelere Exendin-4 Uygulanması Tatlı Tat Reseptörü Sinyalizasyonu Baskılayarak Kan Glikoz Seviyelerini İndirir - Mevce Erçin**

**İnsan Holo-TFID Kompleksinde TAF2'nin Yapısal ve Fonksiyonel Karakterizasyonu ve Nörodejenatif Hastalıklar Üzerindeki Etkisi - Duygu San Ak**

**Bein küçük damar hastalığında manyetik rezonans görüntüleme ve endotel disfonksiyonunu gösteren serum belirteçlerinin karşılaştırılması - Uygur Tannverdi**

**Vajinal mikrobiyota ile insan papilloma virüsü arasındaki ilişkinin metagenomik analiz ile belirlenmesi - Samet Uçak**

**Fibromiyalji sendromlu hastalarda vasküler endotel disfonksiyonu ile ilişkili belirteçlerin serum düzeyleri nöropatik ağrı şikayetine belirlenir mi? - Nihal İnandıklıoğlu**

**Protein miktar tayininde yeni nesil kapiller immunoelktroferez sistemi - Duygu Sevim**

### PANEL 11 / PANEL 11:

#### ORGANELOPATİ ve HÜCRE ÖLÜMÜ / ORGANELLOPATHIES AND CELL DEATH

Oturum Başkanları \ Session Chairs: Prof. Dr. Mustafa AKKIPRIK, Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK

18:25 - 18:50 **Prof. Dr. Serap DÖKMECİ**  
Nörolojik Hastalıklarda Hücre Ölümünün Moleküler Mekanizmaları / The Molecular Mechanisms of Cell Death in Neurological Disorders

18:50 - 19:15 **Dr. Öğr. Üyesi Emir BOZKURT**  
TRAIL Sinyal Yolu, Entosis ve Kolorektal Kanseri / TRAIL Signaling, Entosis and Colorectal Cancer

19:15 - 19:40 **Dr. Öğr. Üyesi Hasan DEMİRCİ**  
Oda Sıcaklığında Seri Femtosaniye X-Işını Kristallografisi Kullanarak HIV-1 e Karşı "Uyandır ve Öldür" Yapabilecek Yeni Nesil İlaç Geliştirilmesi / New Generation "Kick and Kill" Drug Development Against HIV-1 by Using Serial Femto-second X-ray Crystallography



*ell* **Davetli Konuşmalar** *ell*

*ell* **Invited Speeches** *ell*



## Fluorescence imaging of neuronal circuits

Takeshi Imai

 ABSTRACT 

Neurons in the brain communicate with each other at synapses. A typical pyramidal neuron in the brain receives inputs from >10,000 synapses. Many of the excitatory synapses are formed at a small protrusion of dendrites, known as dendritic spines. However, their distribution on a whole-neuron scale has not been fully established due to technical limitations. We previously developed a tissue clearing agent, SeeDB2, which is optimized for high-resolution fluorescence imaging. Combined with super-resolution microscopy, our strategy allows for large-scale analyses with a constant spatial resolution of ~150 nm in x-y and ~300 nm in z, which is sufficient to quantify the number and size of dendritic spines unambiguously. Here we performed comprehensive high-resolution mapping of dendritic spines in layer 5 cortical pyramidal neurons in mice and found that the spine density is highly biased along apical dendrites, forming a spine density “hotspot”. The spine density at the hotspot increased during adolescence, when other parts of the dendrites underwent a moderate reduction. Spine accumulation to the hotspot was specifically impaired in some mutant animals related to neuropsychiatric diseases. Thus, the spine density is dynamically controlled during adolescence to form mature cortical circuits.

**References:** Aihara *et al.* Cell Rep 35, 109276 (2021); Sakaguchi *et al.* eLife, e40350 (2018); Iwata *et al.* Neuron 96, 1139-1152 (2017); Ke *et al.* Cell Rep 14, 2718-2732 (2016); Ke *et al.* Nat Neurosci 16, 1154-1161 (2013)

Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan.

# Therapeutic Strategies and Logistics for Mesenchymal Stem Cells in Musculoskeletal Regenerative Medicine

Andre J. van Wijnen

ABSTRACT

## Introduction

Active but aging individuals frequently develop pain in their articulating joints due to acute tissue ruptures, repetitive strain injuries or chronic degeneration of the principal joint tissues (e.g., bone, cartilage, meniscus, synovium, ligament, tendon and muscle). MSCs have emerged as major biological agents that support clinical approaches for treatment of musculoskeletal injuries and degeneration, including (i) in tissue engineering approaches to restore lost tissues and (ii) as living drugs that attenuate inflammatory responses and support remodeling of injured tissues. This presentation will focus on recent insights into the molecular mechanisms and cellular pathways that control MSC functions, as well as consider a range of environmental conditions that are relevant to clinical applications of MSCs in stem cell therapies

## Architectural Functions of MSCs in Tissue Engineering and Repair

MSCs which represent a heterogeneous group of pericyte-like immature fibroblastic cells that are found in the stromal compartment of blood vessels throughout the body, including bone marrow and adipose tissue. Ideas about the biological functions and translational applications of MSCs initially followed concepts developed for pluripotent embryonic stem cells (ESCs). ESCs are derived from the inner cell mass of blastocysts and can truly form all somatic and germ line tissues in mammals such as mice and humans and are routinely used in generation of transgenic mouse models, but have no direct clinical utility. MSCs are not pluripotent but rather multipotent and have the ability to differentiate into a diverse range of musculoskeletal cell types that form skeletal tissues (e.g., bone and cartilage) and important connective tissues (e.g., ligament and tendon). Differentiation of MSCs in culture or on specialized biomaterials is not particularly efficient and time consuming, while cells also become senescent with continued passage. Hence, significant optimization of protocols for self-renewal and differentiation of MSC protocols is required to ensure the realistic application of these cells in human tissue engineering.

## Clinical Applications for MSCs in Cell Therapy as Immunomodulatory Live Drugs

MSCs secrete a large number of cytokines, growth factors and morphogenetic proteins, and is further evidenced by the virtual secretome of MSCs based on transcriptome analysis by RNA-seq. The secretome of MSCs may synchronize proliferative expansion during self-renewal, autophagy and apoptosis, as well as differentiation of endogenous stem cells. The major clinical potential of MSCs resides in their use as cell-based drugs that act as potent attenuators of inflammatory reactions that are activated by platelets upon tissue injury. The latter ability represents the conceptual basis for stem cell therapies to mitigate joint pain (e.g., knee and hip).

Department of Biochemistry, University of Vermont Medical School, Burlington, VT, USA.

**Environmental Factors that Influence MSC Based Stem Cell Therapies**

Clinical delivery of MSCs requires consideration of many logistic and environmental parameters. For example, cells are cultured at body temperature, stored on ice, delivered at room temperature and then back to body temperature. Nutrients and inflammatory factors present in compartment in which MSCs are injected also impact the molecular and therapeutic properties of MSCs. Furthermore, application of local anesthetics, contrast agents in ultrasound guided injections, as well as needle passage may all alter the phenotypic properties of MSCs and their effective dosing as live anti-inflammatory drugs. Hence, clinical applications for MSCs should not only focus understanding their immunomodulatory conditions, but also consider all physical and physiological conditions that could affect MSC function.



## Plasebogenomik Ufuk Turu: Bazen B Planı Çok Daha İyidir

Vural Özdemir

ÖZET

1980 yılında David Collingridge teknoloji yönetimine dair oldukça ileri görüşlü ve bugün halen geçerliliğini koruyan bir kitap yazmıştı. Yeni teknolojilerin laboratuvarından çıkıp toplumdaki uygulamalara dönüşme sürecinde, karmaşık bir sosyal, ekonomik ve politik karşılıklı bağımlılık ağına sabitlendiğine (ki buna ahbap çavuş ilişki ağları da eklenebilir) dair zekice bir gözlemde bulunmuştu. Teknolojinin sabitlenmesi, bilimde bir bu kadar veya daha da fazla potansiyeli olan alternatif geleceklere dair kör noktalar geliştirmemize neden olur. Dolayısıyla, teknolojik sabitlenmeden çıkaracağımız ders şudur: bilimde popülerite abartılabilmektedir ve gerçekten yenilikçi fikirler sıklıkla ana akım uzlaşımın dışında ortaya çıkmaktadır. Yani, “yıkıcı inovasyon” için ‘A Planı’nın dışından düşünmekte yarar vardır. Bu bildiride, plasebo - genomik adı verilen yeni alana dair bir ufuk turu sunacağım. Tüm ilaç ve sağlık müdahalelerinde yüksek derecede değişken ve genetik altyapılar barındıran plasebo bileşenleri mevcuttur. İlaç, aşı ve besinlerin etkilerinin öngörü ve optimizasyon süreçlerinde plasebo-genomik yeni bakış açılarının yanı sıra, bilim ve tıp alanında heyecan verici kariyer olanakları sunuyor.

Bağımsız Düşünür - Yazar: Bilim, Teknoloji ve İnovasyonda Demokratikleşme, Toronto, Kanada.

Anahtar Kelimeler: Plasebogenomik, Ufuk Turu, Uzgörü Çalışmaları, İnovasyonda Demokratikleşme, Ar-GE Stratejisi ve Siyaset Teorisi

## Placebogenomics Horizon Scanning: Sometimes Plan B is Much Better

Vural Özdemir

ABSTRACT

In 1980, David Collingridge wrote a prescient book on technology governance that remains relevant to date. He made the astute observation that new technologies become entrenched in a complex web of social, economic and political interdependencies, and one might add, clientelism, as technologies transition from laboratory to applications in society. Technology entrenchment creates blind spots on alternative futures in science that are equally or more promising. Therefore, a lesson from technology entrenchment is that popularity can be overrated in science, and that truly innovative ideas often reside outside the mainstream conventions. That is, to achieve disruptive innovation, it is helpful to think outside the 'Plan A'. I will present a horizon scanning of the new field of placebogenomics. All drugs and health interventions have placebo components that are highly variable and have genetic underpinnings. To forecast and optimize drug, vaccine, nutritional outcomes, placebogenomics offers veritable prospects, not to mention for an exciting career in science and medicine.

Independent Scholar and Writer on Democratization of Science, Technology and Innovation, Toronto, Canada.

Keywords: Placebogenomics, Horizon-Scanning, Foresight studies, Democratization of Innovation, Political Theory and R&D Strategy

## Immunology of COVID-19, Pathogenesis and Risk Factors of Severe Disease

Cezmi A. Akdis

### ABSTRACT

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) has affected over 400 million people worldwide since first cases reported in Wuhan, China in December 2020. The scientist community contribute biggest efforts to acquire knowledge of newly emerged virus named severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), and its interaction in humans. Many risk factors have been identified in the progression of COVID-19 into a severe and critical stage, including old age, male gender, underlying comorbidities such as hypertension, diabetes, obesity, chronic lung disease, heart, liver and kidney diseases, tumors, clinically apparent immunodeficiencies, local immunodeficiencies, such as early type-I interferon secretion capacity, and pregnancy. Possible complications include acute respiratory distress syndrome, shock, disseminated coagulopathy, acute kidney injury, pulmonary embolism, and secondary bacterial pneumonia. The development of lymphopenia and eosinopenia are laboratory indicators of COVID-19. Laboratory parameters to monitor disease progression include lactate dehydrogenase, procalcitonin, high-sensitivity C-reactive protein, proinflammatory cytokines such as interleukin (IL)-6, IL-1b, Krebs von den Lungen-6 (KL-6) and ferritin. The development of a cytokine storm and extensive chest computed tomography imaging patterns are indicators of a severe disease. In addition, socioeconomic status, diet, lifestyle, geographical differences, ethnicity, exposed viral load, day of initiation of treatment, and quality of health care have been reported to influence individual outcomes. In this review, we highlight the scientific evidence on the risk factors of COVID-19. In addition, I am going to discuss the prevalence of COVID-19 in allergic subjects and prevalence of asthma, hereditary angioedema (HAE), anaphylaxis and other allergic diseases during COVID-19. Underlying mechanisms revealed protective role of allergy in COVID-19, including eosinophilia, SARS-CoV-2 related receptors, interferon responses, etc. Disease evaluation and management during COVID-19 has changed a lot, nevertheless allergy care does not stop during COVID-19 pandemic. European Academy of Allergy & Clinical Immunology (EAACI) launched series of statements, position papers providing guidance of organization of allergy clinic, handling of allergen immunotherapy (AIT), drug hypersensitivity, allergic rhinitis, asthma and other allergic diseases. Biological therapy in allergy has also been discussed during COVID-19 pandemic. Allergic reactions, even severe anaphylaxis, have been reported with COVID-19 vaccination. In addition I will discuss the culprit components, immunological mechanisms, management and practical consideration of COVID-19 vaccines.

Swiss Institute of Allergy and Asthma Research, Davos, Switzerland.

## Translational Gene Therapy Approaches to treat Mucopolysaccharidosis

Fatima Bosch

ABSTRACT

Mucopolysaccharidosis Type II (MPSII), Hunter Syndrome, and Type III (MPSIIIA-D), Sanfilippo Syndrome, comprises 5 autosomic recessive disorders caused by mutations in genes that encode for enzymes involved in the stepwise degradation of glycosaminoglycans (GAGs). Accumulation of GAGs in lysosomes leads to lysosomal pathology, and affected patients undergo severe neurodegeneration with mild somatic disease, and usually die during adolescence. There is no cure and MPS diseases constitute an unmet medical need. This presentation will discuss the potentiality of intracerebrospinal fluid adenoassociated viral (AAV) vector-mediated gene therapy to counteract neurologic and somatic MPS. The results of these studies provide strong evidence supporting the clinical translation of the approach not only for MPS but also for other genetic diseases that course with neurodegeneration.

Center of Animal Biotechnology and Gene Therapy,  
Universitat Autònoma Barcelona and CIBERDEM, Spain.

## DNA Hasar Cevabı ve Sirkadiyen Saat Arasındaki Moleküler İlişki

Nuri Öztürk

### ÖZET

Endojen bir sirkadiyen saat tarafından oluşturulan sirkadiyen ritimler davranış, fizyoloji ve metabolizmadaki 24 saatlik döngüleri oluşturmaları sayesinde organizmaların çevresel değişimleri tahmin ederek adapte olmasını sağlarken aynı zamanda içsel olayların senkronize olmasını sağlarlar. Moleküler sirkadiyen saat, bir transkripsiyon-translasyon geri besleme döngüsüne (TTFL) dayanır. TTFL'nin pozitif kolunda, transkripsiyon faktörleri olan Bmal1 ve Clock proteinleri sirkadiyen saatçe düzenlenen genlerin (CCG'ler) anlatımını aktive eder. Daha sonra bu CCG'lerden ikisi olan *Cryptochrome* ve *Period*'un ürünleri Bmal1/Clock aktivitesini inhibe eder. Diğer yollar ve transkripsiyon sonrası düzenlemeler bu aktivasyon ve inhibisyon tarafından oluşturulan osilasyonu yaklaşık 24 saate ayarlar ve CCG ürünlerinin aktiviteleri yoluyla birçok günlük olay düzenlenir.

Çekirdek sirkadiyen saat, hem hücre döngüsünün hem de DNA hasar yanıtlarının (DDR) kontrolünde rol oynamaktadır. Üç ana DNA hasar yanıt ağı, DNA onarımı, DNA hasarı kontrol noktaları ve apoptoz sirkadiyen saatten etkilenir. Bu nedenle, hem kemoterapi hem de radyasyon tedavisinin tek başına veya kombinasyon halinde (kombinasyon tedavisi) etkinliklerinin, uygulama için uygun sirkadiyen zamanlamasını bularak veya çekirdek sirkadiyen sistemini modüle ederek geliştirilebileceği önerilmektedir.

Bu konuşmada, sirkadiyen saat ile DNA hasar cevabı arasındaki moleküler bağlantının bir özeti verildikten sonra çekirdek saat bileşenleri ile etkileşime giren ancak şimdiye kadar klasik teknikler kullanılarak tanımlanamayan yeni DNA hasar cevabı faktörlerini keşfetmek için yeni metodolojiler veya stratejiler tartışılacaktır. Laboratuvarımızda elde edilen saat ve DNA hasar cevabı arasındaki yeni bağlantılar hakkında temsili çalışmalar sunulacaktır.

Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kocaeli, Türkiye.

## Molecular Link Between the Circadian Clock and DNA Damage Responses

Nuri Öztürk

### ABSTRACT

Circadian rhythms are approximately 24-hour cycles in behavior, physiology and metabolism that enable organisms to predict and adapt to cyclical environmental changes as well as synchronize internal events that are generated by the action of an internal circadian clock. The molecular circadian clock is based on a transcription-translation feedback loop (TTFL). In the positive arm of the TTFL, two transcription factors Bmal1 and Clock activate the expressions of circadian clock-regulated genes (CCGs). Then products of two of these CCGs, *Cryptochrome* and *Period*, inhibit Bmal1/Clock activity. This activation and inhibition generates an oscillation that is set to about 24 hours by other pathways and post-transcriptional regulations to regulate many daily events through the activities of the products of CCGs.

The core circadian clock have been implicated in the control of both the cell cycle and DNA damage responses (DDR). Three major DNA damage response networks, DNA repair, DNA damage checkpoints, and apoptosis, are affected by the circadian clock. Therefore, it was suggested that the efficiencies of both chemotherapy and radiation therapy alone or in combination (combination therapy) can be improved by finding the appropriate circadian timing for delivery or by modulating the core circadian system.

In this talk, a summary of the molecular link between the circadian clock and DNA damage responses will be given. Then, novel methodologies or strategies will be discussed to discover novel DNA damage response factors which interact with the core clock components but could not have been described so far using classical techniques. Representative works will be presented on the novel links between the clock and DNA repair responses that have been obtained in our laboratory.

Gebze Technical University, Molecular Biology and Genetics, Kocaeli, Turkey.

## İskemik İnmede Beyin Mikrodolaşımının Rolünü Anlamak

Müge Yemişçi Özkan

Ö Z E T

İnme, dünyada ikinci sıradaki mortalite nedenidir. Günümüzde iskemik inme için onaylanmış tek tedavi yöntemi tıkalı beyin damarlarının açılmasına yöneliktir. Kısa tedavi penceresi ve yan etkilerin yanında, tıkalı ana beyin damarlarında rekanalizasyon sağlanmasına karşın mikrodolaşım düzeyinde kan akımının düzelmemesi ve reperfüzyon sağlanamaması gibi olumsuz yönleri bulunmaktadır. Çok sayıda hastada gözlenen bu olumsuz etkiler uzun yıllardır araştırılmaktadır. Yaptığımız deneysel çalışmalar ve literatür, bu süreçte beyin mikrodolaşımının ve özellikle kapiller düzeydeki damarları sararak mikrodolaşımın düzenlenmesinden sorumlu perisit hücrelerinin rolü olduğunu göstermiştir. Mikrodolaşım bakımından beyne benzerlik gösteren ve vücuttaki perisit yoğunluğu fazla olan retinada da benzer patofizyolojik süreçler gözlenmiştir. Perisitler kasılma özelliğine sahiptir. İskemi sürecinde kasılan perisitlerin proksimal büyük arterlerde rekanalizasyon sağlanmasına rağmen gevşeme göstermeyip mikrodolaşımı olumsuz yönde etkilediği ilk defa çalışmalarımızla gösterilmiştir. Son yıllardaki deneysel çalışmalarımızda ise beyin ve retinadaki kapillerlerde bulunan ve iskemi/reperfüzyon patofizyolojisinde önemli rol oynayan perisitlerin kasılma özelliklerini sağlayan proteinlerden birisinin alfa düz kas aktin olduğu saptanmıştır. Serebro-retinal iskemi alanındaki deneysel çalışmalarımızda mikrodolaşımın rolünü anlamak ve olası yeni tedavi hedefleri saptayabilmek için farmakolojik tedaviler yanında in vivo alfa düz kas aktin hedeflenmiş small interfering RNA (siRNA) kullanılması, literatürde ilk defa gerçekleştirilen yöntemlerden bazılarıdır. Beyin ve retina mikrodolaşımının fizyolojik ve patolojik koşullarda incelenmesi, iskemi dışında nörodejeneratif hastalıklarda ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi bakımından gereklidir.

Hacettepe Üniversitesi, Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü, Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, Nörobilim ve Nöroteknoloji Mükemmeliyet Ortak Uygulama ve Araştırma Merkezi (NÖROM), Ankara, Türkiye.

## Understanding The Role Of Cerebral Microcirculation In Ischemic Stroke

Müge Yemişçi Özkan

### ABSTRACT

Stroke is the second cause of mortality in the world. Currently, the only approved treatments for ischemic stroke aim to open blocked cerebral vessels. However, the treatment window is short and these therapeutic modalities have side effects. Besides, in many patients, recanalization of main cerebral vessels, may not improve the blood flow at the microcirculatory level and provide reperfusion. Experimental studies and literature have revealed the importance of brain microcirculation in this process. Specifically, it was shown that the pericytes, which are responsible for the regulation of microcirculation by wrapping the vessels at the capillary level, play a crucial role in this interplay. Similar pathophysiological processes were observed in the retina, which is similar to the brain in terms of microcirculation and has the highest pericyte density in the body. Pericytes are contractile. Our studies have shown for the first time that pericytes contract during ischemia, and do not relax despite recanalization in the proximal great arteries, hence adversely affect microcirculation. Recently in our experimental studies, alpha smooth muscle actin has been found to be one of the proteins that provide the contractile properties of pericytes. In order to understand the role of microcirculation in cerebro-retinal ischemia, and to identify possible new treatment targets, in addition to pharmacological treatments, for the first time in the literature we used in vivo alpha smooth muscle actin targeted small interfering RNA (siRNA). Examination of brain and retinal microcirculation under physiological and pathological conditions is essential for neurodegenerative diseases other than ischemia, and for the development of new treatment approaches.

Hacettepe University, Institute of Neurological Sciences and Psychiatry, Faculty of Medicine, Department of Neurology, Neuroscience and Neurotechnology Center of Excellence (NÖROM), Ankara, Turkey.



## Agresif Tümör Biyolojik Davranışında DNA Metiltransferazlar ve Epi-miRNA'lar Arasındaki Dinamik Etkileşim

Ece Konaç

ÖZET

Epigenetik, nükleotid dizide herhangi bir değişiklik olmaksızın gen ifadesindeki değişiklikler olarak tanımlanır. DNA metilasyonu, kovalent histon modifikasyonu, histon varyantları ile kromozom yeniden düzenlenmeleri ve küçük kodlanmayan RNA'lar gibi kovalent olmayan mekanizmaları içeren epigenetik işlemler, gen ifadesinin düzenlenmesinde ve diğer hücrel aktivitelere önemli rol oynar. Tümör baskılayıcı genlerin ve proto-onkogenlerin regülasyonunun bozulması kanserde merkezi rol oynadığı bilinmektedir. Ayrıca, DNA metilasyonu gibi epigenetik faktörleri kontrol eden genler de bu süreçte yer alır. Epigenom - genomla etkileşime giren ve genomu düzenleyen kimyasal bileşiklerin tamamı - tümör oluşumuna ve kanser ilerlemesine yol açan onkogen ifade artışı ve tümör baskılayıcı genlerin ifadesinin azalması ile ilişkili miRNA-aracılı transkripsiyon sonrası değişikliklere uğrayabilir. Epi-miRNA'lar, bu epigenetik mekanizmada yer alan enzimleri baskılayan yeni bir miRNA sınıfı olarak tanımlanmaktadır. Epi-miRNA'lar, DNA metiltransferazlar (DNMT'ler) ve histon deasetilazlar (HDAC'ler) gibi epigenetik temel aracı genlerin ifadesini modüle ederek, genom çapında gen ifadesini düzenlerken, kendileri de epigenetik mekanizmalar tarafından kontrol edilir. miRNA'lar ve epigenetik düzenleyiciler arasındaki bu karşılıklı etkileşim çeşitli insan kanserlerinde miRNA'ların anormal ifadesinde önemli ölçüde rol oynamaktadır. miRNA-epigenetik geri besleme döngüsünün bozulması, hücrenin normal fizyolojik süreçlerini bozarak malign hale geçmesine katkıda bulunur. Epigenetik etkileşimler, metilasyon ve miRNA verileri entegre edilerek tespit edilebilen yeni diagnostik, prognostik ve prediktif biyobelirteç adaylarıdır. Ayrıca, miRNA'lar ile epigenom arasındaki ilişkinin keşfedilmesi, anormal miRNA ifadesinin tümör oluşumuna nasıl ve ne düzeyde etkide bulunabileceği öngörüsüne yardımcı olabilir. Kanser dahil birçok insan hastalığının epigenetik etiyolojilere sahip olması, epigenetiğin günümüz tedavi stratejilerine dahil edilmesi fikrini ön plana çıkarmıştır. Epigenetik belirteçlerin kullanımı kanser tespiti, tedavi takibi ve yüksek riskli taramada umut verici bir stratejidir. Ayrıca epigenetik terapi, kemoterapi gibi sağlıklı hücrelere zarar veren bir tedavi yerine yan etkileri en aza indiren yeni bir tedavi seçeneğinin geliştirilmesine yol açmıştır. Kanser davranışında, miRNA-epigenetik dinamikleri hakkında kapsamlı araştırmalar, yeni anti-kanser terapötiklerinin keşfi için gereklidir. Bu konuşmada, kanser metastazı ve ilaç direncinde diagnostik, prognostik, prediktif ve terapötik hedefler olarak miRNA'lar ve DNMT'ler arasındaki "epi-miR-epi" üçlü düzenleyici geri besleme ilişkisinin klinik potansiyeli vurgulanacaktır. Ayrıca, prostat tümörlerinde biyobelirteç olarak kullanılacak potansiyel epi-miRNA'lar ile ilgili güncel çalışmamızdan elde edilen bulgular da tartışılacaktır.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

## The Dynamic interaction between DNA Methyltransferases and Epi-miRNAs in Aggressive Tumor Biological Behavior

Ece Konaç

ABSTRACT

Epigenetics is defined as changes in gene expression without any changes in nucleotide sequence. Epigenetic mechanisms, including DNA methylation, covalent histone modification, histone variants and chromosomal re-arrangements, and non-covalent mechanisms such as small non-coding RNAs, play an important role in the regulation of gene expression and other cellular activities. It is known that the regulation of tumor suppressor genes and proto-oncogenes plays a central role in cancers. It is further known that genes controlling epigenetic factors such as DNA methylation are also involved in this process. The epigenome - all of the chemical compounds that interact with and edit the genome - may undergo miRNA-mediated post-transcriptional changes associated with increased oncogene expression and decreased expression of tumor suppressor genes, leading to tumorigenesis and cancer progression. Epi-miRNAs are defined as a new class of miRNAs that suppress the enzymes involved in this epigenetic mechanism. While epi-miRNAs regulate genome-wide gene expression by modulating the expression of epigenetic key mediator genes such as DNA methyltransferases (DNMTs) and histone deacetylases (HDACs), they are themselves controlled by epigenetic mechanisms. This interplay between miRNAs and epigenetic regulators is crucial for the aberrant expression of miRNAs in various human cancers. Disruption of the miRNA-epigenetic feedback loop can disrupt the normal physiological processes of the cell and add to its malignancy. Epigenetic interactions are candidates for new diagnostic, prognostic and predictive biomarkers that can be detected by integrating methylation and miRNA data. In addition, the discovery of the relationship between miRNAs and the epigenome may help predict how and to what extent abnormal miRNA expression may impact tumorigenesis. The fact that many human diseases, including cancer, have epigenetic etiologies has brought to the forefront the idea of including epigenetics in modern-day treatment strategies. The use of epigenetic markers is a promising strategy in cancer detection, treatment follow-up and high-risk screening. Moreover, epigenetic therapy has led to the development of a new therapeutic option which minimizes side effects, instead of a treatment that damages healthy cells, such as chemotherapy. Comprehensive research on miRNA-epigenetic dynamics in cancer behavior is essential for the discovery of new anti-cancer therapeutics. This presentation will highlight the clinical potential of the "epi-miR-epi" tripartite regulatory feedback relationship between miRNAs and DNMTs as diagnostic, prognostic, predictive and therapeutic targets in cancer metastasis and drug resistance. In addition, findings from our recent study on potential epi-miRNAs that can be used as biomarkers in prostate tumors will also be elaborated.

Department of Medical Biology and Genetics, Gazi University, Ankara, Turkey.

## Sperm Epigenomundaki Epigenetik Mekanizmalar: Güncel Gelişmeler ve Gelecekteki Beklentiler

Sezgin Güneş

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.

### ÖZET

Erkek infertilitesi, genetik ve epigenetik temelli yaygın ve kompleks bir bozukluktur. Gen ifadesinin epigenetik kontrolü, sperm fonksiyonu ve fertilizasyon yeteneğinde önemli rol oynamaktadır. Epigenetik düzenleme çevresel faktörler, yaşam tarzı, beslenme ve stres gibi eksternal ve internal faktörlerden biri ya da ikisi ile değiştirilebilir. Birçok çalışma, gelişim ve genomik imprinting genlerindeki DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kısa kodlamayan RNA'lar gibi epigenetik modifikasyonların idiyopatik erkek infertilitesinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Spermatozoada, DNA metilasyonu yaşla birlikte artar, ayrıca infertil erkekler fertil olanlarla karşılaştırıldığında daha yüksektir. Spermatozoada DNA metilasyonu değişimleri ve histon modifikasyonları tekrarlayan gebelik kayıpları olan çiftlerde de görülmektedir. Bu konuşma epigenetiğin erkek infertilitesi, gebelik kayıpları, embriyo gelişimi ve yardımcı üreme başarısındaki rolü özetlenecektir.

### INVITED SPEECH ABSTRACT

## Epigenetic Mechanisms within the Sperm Epigenome: Current Progress and Future Prospects

Sezgin Güneş

Ondokuz Mayıs University, Medical Faculty, Medical Biology, Samsun, Turkey.

### ABSTRACT

Male infertility is common and complex condition with a strong genetic and epigenetic background. Epigenetic control of gene expression plays a crucial role in both sperm function and fertilising ability. Epigenetic regulation might be changed by external and internal factors or both, including environmental factors, lifestyle choices, nutrition and stress. In this regard, epigenetics has emerged as one of the promising research areas in understanding male infertility. Many studies have indicated that epigenetic modifications, including DNA methylation in imprinted and developmental genes, histone tail modifications and short non-coding RNAs in spermatozoa have a role in idiopathic male infertility. DNA methylation in sperm increases as men age and is higher in infertile men compared to fertile controls. Altered DNA methylation and associated histone retention in sperm has also been found in couples suffering from recurrent pregnancy loss. This talk will summarise the latest evidence concerning the role of epigenetics in understanding the role of sperm epigenome in male infertility, pregnancy loss, embryo development and assisted reproductive technology outcomes.

## Epigenetik Bakış Açısıyla Otoinflamatuvar Hastalıklar: İnflamazom ile İlişkili miRNA'lar ve Patogeneze Etkileri

Banu Peynircioğlu

Ö Z E T

Sistemik otoinflamatuvar hastalıklar (SAID) doğal immün sistemde oluşan disregülasyon ile karakterize edilir. SAID hastalarında görülen sistemik inflamasyon bulguları 'otoinflamasyon' mekanizması ile açıklanmaktadır. İnflamazom aracılı interlökin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) sitokin salınımı, otoinflamasyon bağlantılı temel mekanizmalardan biridir ve bu durum monogenik otoinflamatuvar hastalıklarla da ilişkilendirilir. SAID grubu içerisinde IL-1 $\beta$  üretimi ile ilişkilendirilen en yaygın olarak görülen hastalıklar; ailevi Akdeniz ateşi (AAA), TNF reseptör-aracılı periyodik sendrom (TRAPS), kriyopyrin aracılı periyodik sendrom (CAPS), ve mevalonate kinaz eksikliği (MKD)dir. Genetik faktörlere ek olarak epigenetik faktörlerin de bu hastalıkların patofizyolojisinde etkili olduğu bilinmektedir. Epigenetik faktörler içerisinde yer alan miRNA'ların, mRNA'lar üzerinden, inflamasyonun da içinde olduğu birçok biyolojik yolak üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Araştırmalarımızda öncelikli olarak en sık görülen otoinflamatuvar hastalık olan AAA'da, devamında ise SAID grubu içerisindeki diğer hastalıkların da dahil edilmesiyle, 'otoinflamasyon' mekanizmasına etki edebilecek birçok miRNA gösterilmiştir. Bu miRNA'lardan, hastalarda azaldığı tespit edilen sırasıyla miRNA 197-3p'nin ve miRNA30e-3p'nin anti-inflamatuvar etkisi fonksiyonel analizlerle aydınlatılmıştır. miRNA-hedef gen bağlantı analizine yönelik olarak yapılan lusiferaz deneyleri ile miRNA197-3p'nin hedef geninin interlökin 1 beta reseptör 1 (IL-1 $\beta$ R1), miRNA30e-3p'nin hedef geninin IL-1 $\beta$  olduğu gösterilmiştir. Elde edilen miRNA verileri, ortak birçok fenotipin görüldüğü SAID grubu hastalarında, bu moleküllerin esas olarak inflamasyon açısından önemli olan interlökin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) sitokin salınımı ile ilişkili yolağı etkilediğine işaret etmiştir. Bu miRNA'lar biyobelirteç olarak önümüzdeki yıllarda SAID grubu hastalıkların takip ve tedavi stratejileri için kullanılabilirlerdir.

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,  
Ankara, Türkiye.

## Autoinflammatory Diseases from Epigenetic Perspective: Inflammasome-associated miRNAs and Their Impact on Disease Pathogenesis

Banu Peynircioğlu

### ABSTRACT

Systemic autoinflammatory diseases (SAID) are mainly characterized by the dysregulation of innate immune system. Many forms of systemic inflammation are explained by the concept of autoinflammation, the main mechanism of SAID. Inflammasome-mediated production of the cytokine IL-1 $\beta$  is one of the main mechanisms linked to autoinflammation; and thus to monogenic autoinflammatory diseases. The most common SAIDs related with high IL-1 $\beta$  production are; familial Mediterranean fever (FMF), TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS), cryopyrin-associated periodic syndromes (CAPS), and mevalonate kinase deficiency (MKD). In addition to genetic factors, epigenetic factors are also known to be effective in the pathophysiology of these diseases. miRNAs, as one of the epigenetic factors, are known to contribute to many biological processes including inflammation, through their interference with mRNAs. In our research, many miRNAs that can affect the phenotype associated with the 'autoinflammation' mechanism have been shown, primarily in AAA disease, which is the most common autoinflammatory disease, followed by the inclusion of other diseases in the SAID group. Of these miRNAs, the anti-inflammatory effect of miRNA 197-3p and miRNA30e, which were found to be decreased in patients, was clarified by functional analysis. Luciferase experiments for miRNA-target gene linkage analysis showed that the target gene of miRNA197-3p is interleukin 1 beta receptor 1 (IL-1 $\beta$ R1), and the target gene of miRNA30e is IL-1 $\beta$ . These miRNA data indicated that in SAID group patients with many common phenotypes, these molecules mainly affect the pathway associated with the release of interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) cytokine, which is important for inflammation. These molecules may serve as biomarkers to define the course of the disease and offer new therapeutic strategies for monogenic SAIDs associated with IL1 activation in the near future.

Department of Medical Biology, Hacettepe University  
Faculty of Medicine, Ankara, Turkey.

## Glioblastoma Multiforme Epigenetiği: Moleküler Mekanizmalardan Terapötik Yaklaşımlara

Çığır Biray Avcı

### Ö Z E T

Glioblastoma multiforme (GBM), değişken histopatoloji, agresiflik, kötü klinik seyir ve prognoz ile karakterize edilen, medyan genel sağ kalımın iki yıldan az olduğu, cerrahi rezeksiyon, radyasyon ve kemoterapi gibi standart multimodal tedavilere dirençli, yetişkinlerde en sık görülen primer beyin tümörü ve en ölümcül glioma formudur. Son on yılda, GBM' nin farklı moleküler ve genetik profillerine ilişkin çok sayıda bulgu, çeşitli terapötik yaklaşımların ortaya çıkmasına yol açmıştır. Ne yazık ki, bunların hiçbirinin GBM ilerlemesine ve tekrarına karşı etkili olduğu kanıtlanmamıştır. Temozolomid (TMZ) şu anda GBM için en iyi kemoterapi ajanı olmakla birlikte yanıtın dayanıklılığı epigenetik bağımlı ve kısa ömürlü olup, sıklıkla direnç ortaya çıkmaktadır.

GBM'de tedaviye adaptif direnç gelişiminde epigenetik modifikasyonların bilinmektedir. Epigenetik değişiklikler olan DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, kromatin yeniden modellenmesi ve kodlamayan RNA'ların, çoğalmayı teşvik etme, hücre ölümünü baskılama, köklülüğü indüklemeye, DNA hasar onarımını inhibe etme, otofaji ve epitelyal-mezenkimal geçişi stimüle etme gibi farklı mekanizmalar yoluyla, terapötik direnç ve GBM öldürücülüğünde kritik roller oynayan genlerin transkripsiyonel aktivasyonu için erişilebilirliği artıran mekanizmalara katkıda buldukları gözlenmektedir. Bu nedenle, GBM hastaları için sonuçları iyileştirebilecek etkili tedaviler oluşturmak için epigenetik değişikliklerin hedeflenmesi son derece önceliklidir.

Kromatin yapısı ve gen transkripsiyonu epigenetik mekanizmalar tarafından düzenlenmektedir. DNA metil transferaz (DNMT), histon asetiltransferaz (HAT), ve histon metiltransferazlar (KMT), DNA'ya veya histon kuyruklarına epigenetik grupların eklenmesini katalize ederken, histon deasetilaz (HDAC) ve histon demetilazlar bu epigenetik grupları uzaklaştırmakta, ISWI ve SWI/SNF kompleksi, histon modifikasyonlarına göre kromatin yapısını yeniden şekillendirmektedir. Bu düzenleyiciler baz alınarak KMT, DNMT ve HDAC inhibitörlerini içeren epigenetik ajanlar GBM tedavisinde klinik araştırmalar ile desteklenmektedir. Histon ve genomik değişikliklere ek olarak, kromatin yeniden modelleme de ilaç direncinde kritik bir rol oynarken bu mekanizmaların kritik bir enzimi olan poli (ADP-riboz) polimeraz 1 (PARP1)'in inhibitörleri FDA onaylı Oliparib ve Veliparib keşfi ile çekici hale gelmiştir. Hedefe yönelik tedaviler ve immünoterapideki gelişmeler çeşitli kanserlerde hızla iyileşmeye neden olurken; beyin bariyeri, immünosupresif ortam, tümör heterojenliği, plastisite ve glioma kök hücreleri gibi faktörler, GBM tedavisini zorlaştırmaktadır.

Sonuç olarak GBM de, tümör sınıflandırması, prognoz ve tedavide ilaç hedeflemesi için biyobelirteç potansiyeli taşıyan temel epigenetik oyuncular, sistemik toksisiteyi en aza indirirken eş zamanlı TMZ yanıtını iyileştirmeyi hedefleyen en iyi yaklaşım olarak dikkat çekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Glioblastoma, Temozolomid, Epigenetik, Direnç

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İzmir.

## Glioblastoma Multiforme Epigenetics: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Approaches

Çiğır Biray Avcı

### ABSTRACT

Glioblastoma multiforme (GBM) is the most common primary brain tumor in adults, characterized by variable histopathology, aggressiveness, poor clinical course, and prognosis; and It is the deadliest form of glioma with a median overall survival of less than two years, and universally resistant to standard multimodal treatments such as surgical resection, radiation, and chemotherapy. In the last decade, numerous findings regarding the different molecular and genetic profiles of GBM have led to the emergence of a variety of therapeutic approaches. Unfortunately, none of them has proven to be effective against GBM progression and recurrence. Temozolomide (TMZ) is currently the best chemotherapy agent for GBM, but the durability of the response is epigenetic dependent and short-lived, with resistance often emerging.

Epigenetic modifications are known in the development of adaptive resistance in treatment of GBM patients. Epigenetic changes such as DNA methylation, histone modifications, chromatin remodeling, and non-coding RNAs contribute to therapeutic resistance through different mechanisms, including promoting proliferation, suppressing cell death, inducing stemness, inhibiting DNA damage repair, stimulating autophagy and epithelial-mesenchymal transition; and contribute to mechanisms that increase accessibility for transcriptional activation of genes that play critical roles in GBM lethality. Therefore, targeting epigenetic changes is of utmost priority to create effective treatments that can improve outcomes for GBM patients.

Chromatin structure and gene transcription are regulated by epigenetic mechanisms. DNA methyltransferase (DNMT), DNA methyl transferase (DNMT), histone acetyltransferase (HAT), and histone methyltransferases (KMT) catalyze the addition of epigenetic groups to either DNA or histone tails, while histone deacetylase (HDAC) and histone demethylases remove these epigenetic groups; ISWI and SWI/SNF complex could remodel chromatin structure according to histone modifications. Based on these regulators, epigenetic agents including KMT, DNMT and HDAC inhibitors are supported by clinical studies in GBM treatment. In addition to histone and genomic changes, chromatin remodeling also plays a critical role in drug resistance, and poly (ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1), a critical enzyme involved in chromatin remodeling mechanisms, has emerged as an attractive target, and there are currently two FDA-approved PARP inhibitors, Oliparib and Veliparib. While developments in targeted therapy and immunotherapy causes the rapid developments in the improvement of various cancers; factors such as brain barrier, immunosuppressive environment, tumor heterogeneity, plasticity and glioma stem cells complicate GBM treatment.

In conclusion, in GBM, the main epigenetic players, which have the potential as biomarkers for drug targeting in tumor classification, prognosis and therapy, stand out as the best approach that aims to improve simultaneous TMZ response while minimizing systemic toxicity.

Keywords: Glioblastoma, Temozolomide, Epigenetics, Resistance

Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

## “Tamir Edecektim, Bozuverdim” Doku Hasarı ve Tamirinde Somatik Kök Hücrelerin Önemi

Çetin Kocaefe

Ö Z E T

Doku ve organ hasar tamiri, hemen her organda dokuya özgü somatik kök hücreler ve stroma hücrelerinin desteği ile sağlanmaktadır. Erişkin yaşamda, hasar tamiri hemen her zaman enflamasyon ve araçları ile başlar. Enflamatuar sitokinlerin tetiklediği hasar tamiri süreci somatik kök hücrelerin çoğalması ve işlevsel farklılaşması ile başlarken bu süreçte stromal hücreler salgıladıkları faktörler ve sitokinlerle destek olmaktadır. Memeli yaşamında yara iyileşmesinin evrensel düzenleyicisi TGF-beta olarak kabul edilmektedir. Akut doku hasarı ve izleyen yara iyileşmesi süreci, bölgesel enflamasyonun yatışması ile birlikte çoğalmakta olan somatik kök hücrelerin doku yapısını yeniden oluşturacak şekilde farklılaşması ve tamiri tamamlaması ile sonlanır. Temel doku iskeletinin bütünlüğünün korunabildiği tüm koşullarda ideal bir yara iyileşmesi sağlanabilmektedir. Doku hasarının kronik nitelik sergilediği durumlarda, hasar tamirinin kronik dejenerasyon bulguları ile sonlandığı dikkati çekmektedir. Enflamatuar sitokin uyarısının kronikleşmesi ve eşlik eden uzamış TGF-beta uyarımı, hemen her dokuda aktive olmuş kök hücrelerin doku özelliklerinden farklı yönde başkalaşmasına neden olmaktadır. Benzer şekilde, yara iyileşmesine destek olma amacıyla çoğalan stromal hücreler, tamamlanmayan hasar tamiri sürecinde myo-fibroblast fenotipi kazanarak doku yapısının bozulması, stromal elemanların çoğalması ve hücre dışı matriks elemanlarının birikimi ile fibrozis gelişimi ile sonuçlanmaktadır. Fibrozis, karaciğer, böbrek, kalp, iskelet kası, akciğer gibi tüm organlarda geri dönüşsüz işlev kaybına neden olmaktadır. Bu süreci durdurmak veya yavaşlatmak için, fibrozis sürecini başlatan ve sürdüren araçların ve yolakların iyi anlaşılması gereklidir. Pek çok dokuda hasar tamirine destek olan stroma hücreleri aynı zamanda mezenkimal kök hücre niteliği sergilemekle birlikte, fibrozis sürecinde de ortak düzenleyicileri ve yolakları paylaşmaktadır. Bu konuşma, hasar tamirine destek olmak amacıyla çoğalan, ancak kronikleşen hasar durumunda doku yapısını geri dönüşsüz olarak bozan stromal kök hücrelerin nitelikleri ve fibrozis sürecini durdurmaya yönelik olası hedefleri kapsamaktadır.

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,  
Ankara, Türkiye.



## “Screwed-up trying to repair” Role of Somatic Stem Cells in Injury Repair

Çetin Kocaefe

### ABSTRACT

In almost every tissue, injury repair is accomplished by tissue-specific somatic stem cells and the support of stromal cells. Injury repair process is initiated by inflammation and its' mediators in every tissue in adult life. Injury repair process is initiated by the inflammatory cytokines that activate the proliferation of somatic stem cells and tissue resident stromal cells that support this process by secreting several growth and differentiation factors. In mammalian life, TGF-beta is accepted as the universal mediator of injury repair. Acute issue damage and injury repair process is accomplished by re-construction of tissue architecture by the terminal differentiation of somatic stem cells following cessation of the local inflammation. A complete injury repair requires the preservation of fundamental tissue scaffold architecture. In case of chronic tissue damage, injury repair may exceptionally result in chronic degenerative changes. Chronic inflammatory cytokine stimuli accompanied by prolonged TGF beta signaling results in mis-differentiation of activated stem cells deviant from the original program. Likewise, along the incomplete repair, the activated stromal cells that proliferate to support the process also mis-differentiate to acquire myo-fibroblastic phenotype that results in deterioration of tissue structure, increase in stromal structures and deposition of extracellular matrix elements resulting in fibrosis. Regardless of the primary etiology, fibrosis causes irreversible functional impairment in all organs like liver, kidney, heart, skeletal muscle and lungs. To prevent or slow this irreversible process, the mediators and pathways leading to fibrosis must be well-understood. Almost universally, stromal cells that support injury repair also exhibit mesenchymal stem cell characteristics sharing common mediators and signaling pathways in fibrosis. This talk will be covering common features of the stromal stem cells that initially proliferate to support injury repair, but also contribute to irreversible tissue damage along with chronic damage repair, as well as potential intervention targets to halt the fibrogenic process.

Department of Medical Biology, Hacettepe University  
Faculty of Medicine, Ankara, Turkey.

## Src Tyrosine Kinazların Mitokondriyal Protein Sentezinin Regülasyonundaki Rolü ve Kansere Proteomik Çalışmaları

Emine C. Koç

Hasan Koç

Marshall University.

### ÖZET

Src Familyası Kinazların (SFK'lerin), mitokondride oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) komplekslerinin ve diğer metabolik enzimlerin fosforilasyonu yoluyla mitokondriyal enerji metabolizmasını düzenlediği gösterilmiştir. Son zamanlarda, bir SFK olan Fyn kinazın, mitokondriyal protein sentezi bileşenleri ile ilişkisini belirledik. OXPHOS komplekslerinin 13 mitokondri proteininin sentezi için kendi temel genomuna ve protein sentezi sistemine sahiplerdir. Mitokondriyal protein sentezinin SFK'ye bağlı fosforilasyon tarafından regülasyonu henüz keşfedilmemiştir. Çalışmalarımızda, bir SFK üyesi olan cSrc'nin aşırı ekspresyonunun hepatosellüler karsinomda (HCC) mitokondriyal protein sentezini düzenlediğini gösterdik. Fyn ve Src kinazları tarafından mtEF-Tu'nun fosforilasyonunun mitokondriyal protein sentezinin düzenlenmesi için gerekli olduğunu gösterdik. Biyokimyasal ve kütle spektrometrisi tabanlı proteomik yaklaşımları kullanarak, HCC biyopsilerinde ve hücre hatlarında SFK'ler tarafından enerji metabolizmasının yeniden şekillenmesi ve mitokondriyal protein sentezi hakkında daha fazla bilgi edinmeye devam ediyoruz. Bulgularımız HCC'deki SFK'ye bağlı mitokondriyal protein sentezinin ve OXPHOS'un regülasyonu yanında diğer tümörlerdeki mitokondriyal metabolizma değişikliklerine de ışık tutacaktır.

## Regulation of Mitochondrial Protein Synthesis by Src-Family Kinases in Cancer Using Proteomics Approaches

Emine C. Koç<sup>1</sup>

Hasan Koç<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Marshall University Joan C. Edwards School of Medicine, Departments of Biological Sciences.

<sup>2</sup>Marshall University School of Pharmacy Department of Pharmaceutical Research and Science.

### ABSTRACT

Src Family Kinases (SFKs) have been shown to regulate mitochondrial energy metabolism through phosphorylation of oxidative phosphorylation (OXPHOS) complexes and other metabolic enzymes in mitochondria. Mitochondria have their own essential genome and translation machinery for the synthesis of 13 proteins of the OXPHOS complexes. We have recently discovered that Fyn kinase, an SFK, was associated with the components of mitochondrial translation machinery. However, the regulation of mitochondrial protein synthesis by SFK-dependent phosphorylation has yet to be discovered in health and disease. Our studies have also demonstrated that the overexpression of an SFK member, cSrc, regulates the mitochondrial protein synthesis in hepatocellular carcinoma (HCC). We have further shown that the phosphorylation of mtEF-Tu by Fyn and Src kinases is essential for the regulation of mitochondrial protein synthesis. Using biochemical and mass spectrometry-based proteomics approaches, we continue to gain further insights into the remodeling of energy metabolism and mitochondrial protein synthesis by SFKs in HCC biopsies and cell lines. We believe that our findings will help devise a mechanism for the SFK-dependent regulation of mitochondrial translation and OXPHOS not only in HCC but will also shed light into tumor metabolism in general.

## Böbrek Kanserinin Proteomik ve Fosfoproteomik Analizi

Nurhan Özlü

Ö Z E T

Berrak hücreli renal hücreli karsinom (ccRCC), ileri safada hastalarda 5 yıllık sağkalım oranı %10 olan üçüncü en yaygın ve en agresif ürolojik kanserdir. Son çalışmamız<sup>1</sup> ile hesaplamalı proteomik teknikler kullanarak, tümör ve komşu normal dokularda 10.160 protein tespit ettik ve 955 proteinin tümör ile anlamlı şekilde ifadesinin değiştiğini saptadık. Hücreden salınan dört biyobelirteç adayının, PLOD2, FERMT3, SPARC ve SIRPa tümörde aşırı ifadesini doğrularak, tümör içi ve tümörler arası heterojenlikten etkilenmediğini gösterdik. Ayrıca SPARC'ın, ccRCC'li hastaların idrar örneklerinde önemli bir artış göstermesi, bu proteini vücut sıvılarından hastalığın tespiti için umut verici bir belirteç haline getirmektedir. Paralel olarak, ccRCC tümörünün fosforilasyon ile düzenlenen sinyal yolları ve moleküler mekanizmalarını aydınlatmak için, kapsamlı bir fosfoproteomik analiz gerçekleştirdik. Tümör ve komşu normal dokularda 16.253 fosfopeptit tanımladık ve 9.000'den fazla fosfopeptitin miktarlarını sayısal olarak karşılaştırdık. Derinlemesine analizimiz, tümör ve komşu normal dokular arasında farklı şekilde düzenlenen 1.336 fosfopeptit tespit etti. Ayrıca, moleküler ekspresyon profillerine dayanarak ccRCC tümörlerini iki ana gruba ayırdık. İki grup arasında ölüm riski neredeyse üç kat fark göstermektedir. Bu iki grubu ayıran bir biyobelirteç paneli önermekteyiz ve bunların 13'ü FDA onaylı ilaçların hedefleridir. Geniş kapsamlı proteomik çalışmamız, ccRCC tedavisi için umut verici tanısal ve tümör ayırt edici biyobelirteç adayları ve terapötik hedefler sunmaktadır.

<sup>1</sup>Senturk A, Sahin AT, Armutlu A, Kiremit MC, Acar O, Erdem S, Bagbudar S, Esen T, Tuncbag N, Ozlu N. Quantitative Proteomics Identifies Secreted Diagnostic Biomarkers as well as Tumor-Dependent Prognostic Targets for Clear Cell Renal Cell Carcinoma. Mol Cancer Res. 2021 Aug;19(8):1322-1337.

Koç Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye.

## Quantitative Proteomic and Phosphoproteomic Analysis of Renal Carcinoma

Nurhan Özlü

### ABSTRACT

Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) is the third most common and most malignant urological cancer, with a 5-year survival rate of 10% for patients with advanced tumors. Our recent study<sup>1</sup> identified 10,160 unique proteins by in-depth quantitative proteomics, of which 955 proteins were significantly regulated between tumor and normal adjacent tissues. We verified four putatively secreted biomarker candidates, namely, PLOD2, FERMT3, SPARC, and SIRP $\alpha$ , as highly expressed proteins that are not affected by intratumor and intertumor heterogeneity. Moreover, SPARC displayed a significant increase in urine samples of patients with ccRCC, making it a promising marker for the detection of the disease in body fluids. In parallel, to elucidate the underlying molecular mechanisms orchestrated by phosphorylation modifications, we performed a comprehensive phosphoproteomics characterization of ccRCC tumor and normal adjacent tissues. Here, we identified 16,253 phosphopeptides and quantified more than 9,000 phosphopeptides. Our in-depth analysis revealed 1,336 phosphopeptides to be differentially regulated between tumor and normal tissues.

Furthermore, based on molecular expression profiles, we propose a biomarker panel for the robust classification of ccRCC tumors into two main clusters, which significantly differed in patient outcome with an almost three times higher risk of death for cluster 1 tumors compared with cluster 2 tumors. Moreover, among the most significant clustering proteins, 13 were targets of repurposed inhibitory FDA-approved drugs. Our rigorous proteomics approach identified promising diagnostic and tumor-discriminative biomarker candidates which can serve as therapeutic targets for the treatment of ccRCC.

<sup>1</sup>Senturk A, Sahin AT, Armutlu A, Kiremit MC, Acar O, Erdem S, Bagbudar S, Esen T, Tuncbag N, Ozlu N. Quantitative Proteomics Identifies Secreted Diagnostic Biomarkers as well as Tumor-Dependent Prognostic Targets for Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Mol Cancer Res.* 2021 Aug;19(8):1322-1337.

Department of Molecular Biology and Genetics, Koc University, Istanbul, Turkey.

## Meme kanserinde proteomik yaklaşımlar kullanılarak biyomarker arayışları

Gürler Akpınar



### ÖZET

Gelişen teknolojiye rağmen meme kanserinin erken tanısına yönelik halen yeteri kadar yol alınamamıştır. Erken tanıya yönelik bu eksiklikler ise meme kanseri insidansını ve buna bağlı ölümlerin oranını arttırmaktadır. Bu çalışmanın amacı, proteomik yaklaşımlar kullanarak meme kanseri dokusunda meydana gelen küresel protein değişimlerini takip ederek yeni, kullanılabilir potansiyel tanı veya prognostik belirteçleri keşfetmektir. Bu amaç doğrultusunda, meme kanseri ve kontrol doku örnekleri toplandı. ER, PR, HER2 ve Ki-67 proteinlerinin ekspresyon paternlerine göre tümör dokuları, Luminal A (ER+ ve/veya PR+, HER2-, Ki-67<%15); Luminal B (Her2-) (ER+ ve/veya PR+, HER2-, Ki-67≥%15); Luminal B-benzeri (HER2+) (ER+ ve/veya PR+, HER2+, Ki-67≥%15); Her2 ile zenginleştirilmiş (ER-, PR-, HER2+) ve üçlü negatif BC (TNBC) (ER-, PR-, HER2-) grupları olacak şekilde gruplandı. Toplam 100 meme kanseri ve bunlara karşılık gelen 100 sağlıklı kontrol dokuları, klasik iki boyutlu jel elektroforezi (2-DE) ve iki boyutlu elektroforez floresan fark jeli (DIGE) kullanılarak karşılaştırmalı proteomik analizlerine tabi tutuldu. Fark gözlenen protein spotlarından elde edilen peptitler matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon-uçuş kütle spektrometrisi (MALDI-TOF/TOF) ile analiz edilerek tanımlandı. Tanımlanan proteinlerin 2DE jellerde göstermiş oldukları ifade değişiklikleri Western blot analizi ile doğrulandı. Yaptığımız biyoinformatik analizler, dikkatimizi triaçilgliserit (TAG) metabolizmasında meydana gelen değişikliklere çekti ve bu metabolizmadaki iki proteini, yani gliserol-3-fosfat dehidrojenaz 1 (GPD1) ve monoasilgliserol lipazı (MAGL) ön plana çıkardı. Bu iki proteinin ifade düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede tüm meme kanseri alt gruplarında azalmış olarak gözlemlendi. Bu kapsamlı proteomik çalışmamız ile ilk defa GPD1 ve MAGL'in meme kanseri alt grupları ile ilişkisini göstererek doku bazında bu iki proteinin potansiyel biyobelirteç olabileceğine ilişkin umut verici veriler ortaya koymuş olduk.

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,  
Kocaeli, Türkiye.

## Search for breast cancer biomarkers using proteomic approaches

Gürler Akpınar

 ABSTRACT 

Despite developing technologies, early diagnosis of breast cancer is still a major challenge for the physicians. Lack of early diagnosis, unfortunately, increases the incidence rates of breast cancer (BC) mortalities and morbidities around the globe. Thus, discovery of a biomarker(s) for the early diagnosis of BC has utmost importance. The aim of this study was to discover novel potential diagnostic or prognostic BC protein markers via monitoring the changes in protein expression profiles in breast cancer tissues with respect to their controls using a robust proteomics approach. For this purpose, breast cancer and control tissue samples were collected and grouped into five subtypes, namely Luminal A (ER+ and/or PR+, HER2-, Ki-67<15%); Luminal B (Her2-) (ER+ and/or PR+, HER2-, Ki-67≥15%); Luminal B-like (HER2+) (ER+ and/or PR+, HER2+, Ki-67≥15%); Her2-enriched (ER-, PR-, HER2+); triple negative BC (TNBC) (ER-, PR-, HER2-). A total of 100 BC tissue samples and 100 corresponding controls were processed for comparative proteome analysis using two-dimensional gel electrophoresis (2-DE) and two-dimensional electrophoresis fluorescent difference gel (DIGE). Over 30 differentially regulated proteins were identified by matrix assisted laser desorption/ionization-flight mass spectrometry (MALDI-TOF/TOF). Expression changes of the identified proteins in 2DE gels were confirmed by Western blot analysis for selected proteins. Bioinformatics analysis highlighted changes occurring in triacylglyceride (TAG) metabolism and underlined the importance of two proteins, namely glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 (GPD1) and monoacylglycerol lipase (MAGL). The expression levels of these two proteins were significantly decreased in all breast cancer subtypes when compared to the control group. Not only GPD1 and MAGL allowed discrimination of BC samples from the controls, these two proteins let identification of TNBC samples indicating that they have the potential use in subtyping of BC. In overall, this study unveiled the presence of two putative BC biomarkers that have strong potential for use in BC diagnosis/prognosis.

Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Kocaeli, Turkey.

## Çocuklarda Akut Karaciğer Yetmezliğinin Genetik ve İmmünopatolojik Mekanizmaları

Serkan Belkaya

ÖZET

Karaciğer, birçok sistemik durumda hafif veya geçici enzim yüksekliğinden, akut karaciğer yetmezliğine kadar değişen şiddette hasarın görülebildiği hassas bir organdır. Karaciğer hasarı uzun süreli tıbbi tedavi ve/veya karaciğer nakli gerektirebilir ve hatta ölümlü sonuçlanabilir. Bu nedenle, insanlarda karaciğer hastalığı patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması büyük klinik önem ve gereklilik taşımaktadır. Nadir hastalık durumlarında hepatik hasarın altında yatan yeni genetik etiyolojilerini ve immünopatolojik mekanizmalarını keşfetmeyi amaçlıyoruz. Viral enfeksiyon veya bilinmeyen nedenlere bağlı gelişen akut karaciğer yetmezliği olan pediatrik vakaları çalışmaktayız. Bu hastalarda aday patojenik varyasyonları tüm ekzom dizileme ile saptayıp ve mutant alellerin patolojik etkisini, çeşitli biyokimyasal ve hücre analizlerle, hastaların hücrelerinde ve ilgili hücre hatlarında araştırıyoruz. Buna paralel olarak, in vitro hastalık modelleri oluşturmak için virüs enfeksiyon ve ko-kültür sistemleri kullanmaktayız. Bu araştırmanın geniş kapsamlı temel ve klinik çıkarımları olacaktır. Elde edeceğimiz proje çıktıları, (i) insanlarda karaciğer hasarının patogenezi için yeni bakış açıları sağlayacak, (ii) hastalara moleküler tanı ve aileleri için genetik danışmanlığın temelini oluşturacak ve (iii) gelecekte yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

İhsan Doğramacı Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara, Türkiye.



## Genetic and Immunopathological Mechanisms of Acute Liver Failure in Children

Serkan Belkaya

### ABSTRACT

Liver is a sensitive organ that may get damaged during the course of many systemic conditions in humans, with severity of injury ranging from mild, transient elevations in liver enzymes to acute liver failure. Affected individuals suffering from a poorly functioning liver may require long-term medical therapy and, in many cases, liver transplantation, or even die. Thus, a better understanding of liver disease pathophysiology in humans is of clinical significance and necessity. We aim to decipher novel genetic etiologies and immunopathological mechanisms underlying hepatic injury in the setting of various rare disease states. We study pediatric patients with acute liver failure due to a viral infection or indeterminate causes. We search for candidate disease-causing variations in such patients by whole exome sequencing and functionally investigate in vitro and ex vivo, characterizing the impact of mutant alleles in patients' samples, where feasible, and relevant cell lines by various biochemical and cellular assays. In parallel, we establish in vitro disease models utilizing virus infection and co-culture systems. Consequently, this investigation will have far-reaching basic and clinical implications, by (i) providing new insights to the pathogenesis of liver injury in humans, (ii) underlying the basis of molecular diagnosis in patients and genetic counseling for their families, and (iii) providing a rationale for the development of new therapeutic approaches in future.

Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science, Bilkent University, Ankara, Turkey.

## HLA and susceptibility to COVID-19

Marco Andreani

### ABSTRACT

The current COVID-19 pandemic has remarked the importance of science and medicine approach to public health, in our modern societies; in particular showing how genetics and genomics might be central in discovering variations in virus strains, but also underlying their impact on patients' susceptibility of the triggering and progression of the disease. COVID-19 is a severe acute respiratory syndrome caused by SARS-CoV-2 that affected in the last few months millions of individuals around the world (<https://covid19.who.int/>). Although many studies have been addressed to elucidate the genetics and genomics characteristics of the virus, different aspects of the disease are still unknown, such as its impact on patient's susceptibility, the progression and the clinical outcome of the disease.

Ongoing researches are trying to elucidate the mechanisms potentially responsible for inducing the immune response against SARS-Cov-2, including the role of HLA alleles in the affected individuals that are known to orchestrate the immune regulation. The HLA complex constitutes a specific group of molecules expressed on the cell surface, crucial for the recognition of non-self-molecules by the acquired immune system. Their essential function is to bind and display antigens derived from pathogens on the cell surface and present them to the appropriate T lymphocytes, triggering an immune response.

With the aim to individuate alleles that may reflect a higher susceptibility to the disease, in an early phase of the pandemic, we analysed the HLA allele frequency distribution in a group of 99 Italian patients affected by a severe or extremely severe form of COVID-19. After the application of Bonferroni's correction for multiple tests, a significant association was found for HLA-DRB1\*15:01, -DQB1\*06:02 and -B\*27:07, after comparing the results to a reference group of 1017 Italian individuals, previously typed in our laboratory. The increased frequencies observed for DRB1\*15:01 and DQB1\*06:02, in strong linkage disequilibrium with each other, in the 99 severe affected COVID-19 Italian patients, confirmed those published by Kaghuri et al. identifying these two alleles among 7 HLA susceptibility alleles. The small sample size might represent a risk for a false positive finding, although we believe that our observations may be interesting to share for contributing to verify the potential relevance of specific HLA alleles interacting with SARS-CoV-2.

Up to date, conflicting results were reported in literature. A study by Ellinghaus et al, investigating a large cohort of COVID-19 patients from Italy and Spain, using a genome-wide association study approach, did not show any significant evidence of HLA involvement. On the contrary Kaghuri et al in the version of the manuscript posted on 7 May 2020, in med-Rxiv, identified seven HLA susceptibility alleles. A recent study run by Shachar et al in the Israeli population comparing 72912 healthy individuals from the Ezer Mizion Bone Marrow Registry with 6413 positive patients for SARS-CoV-2 by PCR showed no significant association for any HLA allele or haplotype.

Transplantation Immunogenetics Laboratory, Bambino Gesù' Children's Hospital, IRCCS, Rome, Italy.

With the primary objective to contribute to the understanding of the potential association between HLA alleles and haplotypes and COVID-19 infection we are participating to a larger study that enrolled 3877 adult Italian individuals with confirmed positivity for SARS-CoV-2. The aim of the ongoing study is to calculate the antigen load for the prediction of immunogenetic viral peptide based on self-similarity and of class-I and -II presentation of viral peptides. The preliminary data of the ongoing study on antigen load suggest a weak impact of the width of the presented repertoire on clinical outcome, possibly more pronounced for Class-II than Class-I.

## Tip 1 Diyabette Pankreatik Beta Hücre Heterojenitesi

Ercüment Dirice



ÖZET

Organa-spesifik otoimmün hastalıklara klasik bir örnek olan Tip 1 Diyabet (T1D) hastalığının, insülin üreten  $\beta$  hücrelerinin tümüyle kaybı sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Hastalığın ilerleyen evresinde  $\beta$  hücrelerinin tamamen kaybedildiği ortak bir görüş olsa da, bu her zaman doğru değildir. 50 yılı aşkın süredir T1D olan bireyler de dahil olmak üzere, diyabet olan hastaların pankreas dokularında yapılan çalışmalarda  $\beta$  hücrelerin, sağkalım ve proliferasyon kapasitelerini koruduğu gösterilmiştir. Bu bulgular  $\beta$  hücrelerinin immün hücrelerinden “saklanıp” ya da “kaçıp” hücre ölümüne dirençli olduğu hipotezini oluşturmaktadır. Bu hipotezi araştırmak amacıyla, mevcut çalışmamızda yeni oluşturduğumuz karaciğer-spesifik insülin reseptörü knock-out NOD (NOD-LIRKO) fare modelini kullandık. NOD-LIRKO fareler aşırı  $\beta$  hücre proliferasyonu ve immün hücre saldırısına karşı korunması bakımından özgün bir modeldir. Dişi NOD-LIRKO farelerin kontrol NOD-Lox hayvanlara oranla yaklaşık iki kat uzun hayatta kaldığını belirledik. Pankreas kesitleri incelendiğinde, NOD-Lox hayvanların adacıklarında yüksek oranda immün hücre infiltrasyonu (insulitis) gözlenirken NOD-LIRKO farelerde yok denecek kadar az insulitis bulunmuştur. “Diyabetin Adoptif Transferi” deneylerinde diyabet NOD farelerden elde edilen eşit sayıdaki splenositler (immün hücreler) kontrol NSG (*NOD scid gamma*) hayvanlara verildiğinde 3 hafta içerisinde diyabet gelişirken, NOD-LIRKO hayvanlarda diyabet gelişmediği gözlenmiştir. Adacık nakil deneyleri, NOD-LIRKO adacıklarının diyabet NOD farelere nakledildikten sonra immün ataklardan korunduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın ana hedefi başta immün hücrelere karşı olmak üzere  $\beta$  hücre direncinde  $\beta$  hücre heterojenitesinin önemli bir rol oynadığının kanıtlanmasıdır. Bu amaçla, NSG, NOD-Lox ve NOD-LIRKO hayvanlardan izole edilen adacıklardan  $\beta$  hücrelerini ayrıştırıp dirençli  $\beta$  hücre alt popülasyonlarını ve hastalığı geciktiren ya da önleyen mekanizmaların tanımlaması için tek hücreli gen ekspresyon profillemesi yaptık. Günümüzde farklı hücre yüzey markırlarına sahip çeşitli  $\beta$  hücre grupları tanımlanmakla birlikte  $\beta$  hücre heterojenitesi çalışmalarına ilgi giderek artmaktadır. Ancak  $\beta$  hücre alt grupları arasında mevcut olan farklılıklardan dolayı ilave çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle NOD-LIRKO gibi özgün bir fenotipe sahip hayvanların  $\beta$  hücreleri kullanılarak yapılacak tek hücreleri RNA sekanslaması sonuçları,  $\beta$  hücre heterojenitesinin  $\beta$  hücre direncindeki rolünün daha iyi anlaşılmasına yardımcı olacaktır.

New York Medical College, Department of Pharmacology.

## Interrogating Beta-Cell Heterogeneity in Type-1 Diabetes

Ercüment Dirice

 ABSTRACT 

Type 1 diabetes (T1D) is a classic example of an organ-specific autoimmune disease and is considered to result from an irreversible loss of insulin-producing  $\beta$  cells. Despite the widespread thought that  $\beta$  cells are completely lost in the later stages of the disease, this belief is not always true. Studies in humans indicate that  $\beta$  cells can retain their capacity to survive and proliferate, even in patients who have had T1D for more than 50 year. These findings raise the hypothesis that some  $\beta$  cells can “hide” or “escape” from immune cells, and can be resistant to cell death. To test our hypothesis we took advantage of the Non-Obese Diabetic – Liver Specific Insulin Receptor Knockout (NOD-LIRKO) mouse model that we recently generated. The NOD-LIRKO mouse model of T1D is unique due to its robust  $\beta$  cell proliferation and protection from immune infiltration. We demonstrated prolonged survival (~2-fold) of female NOD-LIRKO mice contrasted by NOD-Lox deaths ~20 weeks old. We observed mild to severe insulinitis in islets of NOD-Lox animals, but none in NOD-LIRKO over a year of frequent examination. Adoptive transfer of diabetes experiments showed development of diabetes in NSG (*NOD scid gamma*) mice within 3 weeks after transfer of diabetogenic NOD mouse splenocytes (SPLs), while all NOD-LIRKO mice receiving equal numbers of SPLs from the same NSG donors remained diabetes-free. Transplanted islets from NOD-LIRKO mice into immunodeficient animals showed no infiltration, which demonstrated significantly prolonged graft survival compared to animals grafted with control islets. The main goal of this study is to provide proof-of-principle that  $\beta$  cell heterogeneity plays a critical role in  $\beta$  cell resistance to exogenous stressors, especially immune-mediated cellular stress/death. Therefore, we used double sorted  $\beta$  cells from NSG (control healthy islets), NOD-Lox, and NOD-LIRKO islets, and examined the single-cell gene expression profile (*scRNA-seq transcriptomics*) of these groups to identify resistant  $\beta$  cell subpopulations and the underlying mechanisms leading to delay/protection from T1D development.  $\beta$  cell heterogeneity has been receiving increasing attention, as  $\beta$  cell subpopulations with distinct surface marker expression have been identified. However, the variable distribution of  $\beta$  cells between subpopulations in individuals warrants additional studies. Therefore, single-cell transcriptomics results from double sorted  $\beta$  cells, and testing/validating candidate molecules and molecular pathways on human islets, will provide a better understanding of the role of islet  $\beta$  cell heterogeneity in immune/stress resistant  $\beta$  cells.

New York Medical College, Department of Pharmacology.

## scAAVengr: Tasarlanmış AAV'lerin insan olmayan primat retinasında tek hücreli transkriptom bazlı kantitatif değerlendirilmesi

Bilge Esin Ozturk

### ÖZET

Adeno-associated virüs (AAV) aracılı gen tedavileri klinik kullanım yolunda hızla ilerlemektedir. Artan sayıda klinik çalışma, retinal dejenerasyonları tedavi etmek için AAV aracılı gen terapilerini kullanmaktadır. AAV mühendisliği, terapötik genleri iletme yeteneği artırılmış vektörler oluşturulmasını sağlamıştır. Vektör seçimi kritik olmasına rağmen, özellikle büyük hayvanlarda AAV'lerin kantitatif karşılaştırması zorlu olmaya devam etmektedir. Bu sorunları çözmek için, tek bir hayvanda paralel olarak bir dokudaki tüm farklı hücre tiplerinde yeni tasarlanmış AAV kapsid varyantlarından transgen ekspresyonunun hızlı, kantitatif ve in vivo karşılaştırılması için scRNA-seq aracılı AAV mühendisliği (scAAVengr) metodu geliştirdik.

Bu metodu geliştirmek ve doğrulamak için önce, büyük hayvan gözlerine genleri iletme kabiliyeti artırılmış yeni serotipler oluşturmak için köpek retinasında yönlendirilmiş evrim (directed evolution, DE) uygulayarak yeni AAV vektörleri tasarladık. Daha sonra, köpek retinasında DE aracılığıyla oluşturulan AAV varyantlarının primat retinasındaki retina hücre tiplerini enfekte etme performansını, primat retinasında DE aracılığıyla oluşturulan önceden tasarlanmış AAV varyantlarıyla ve ayrıca çoklu parental kontrolleriyle karşılaştırmak ve değerlendirmek için scAAVengr metodunu kullandık. AAV vektörleri aynı havuzda toplandı ve intravitreal olarak primat retinalarına enjekte edildi. GFP ekspresyon eden retinalardan örnekler toplandı, ve retina dokusu tek hücre süspansiyonlarına ayrıldı. Her hücrenin transkriptomunu yakalamak üzere scRNA-Seq için bir 10X mikroakışkan denetleyicisi kullanıldı ve her hücrenin ekspresyon profilindeki AAV ve serotipe özgü barkodlar ölçüldü.

Sonuçlarımız, köpek retinaları ve primat retinaları kullanılarak DE aracılığıyla tasarlanan varyantların, farklı hücre tiplerinde ve periferik ve maküler retinada AAV2 ve AAV2 tirozin mutantlarından belirgin şekilde daha iyi performans gösterdiğini gösterdi. Test edilen tüm varyantlar arasında, yeni oluşturulan varyant K912, farklı hücre tipleri arasında en iyi performans gösteren varyant olarak bulundu. K912 varyantı daha sonra primat retinasına SaCas9'un gönderilmesi ve rodopsin geninin düzenlenmesi için kullanıldı. Bu işlem sonucunda scAAVengr metodu tarafından tespit edilen enfeksiyon oranlarına benzer düzenleme verimliliği elde edildi. scAAVengr metodu, insanlara benzer gözlerle sahip büyük hayvan modelinde foveal ve periferik retinadaki tüm retinal hücre tiplerinde birden fazla lider adayın klinik potansiyelinin kantitatif olarak değerlendirilmesine olanak sağlamıştır. Sonuçlarımız, klinik kullanım için AAV vektörlerinin tanımlanması ve geliştirilmesi için güçlü bir yöntem olarak scAAVengr'ı doğrulamaktadır.

University of Pittsburgh, Department of Ophthalmology.

## scAAVengr: Single-cell transcriptome-based quantification of engineered AAVs in non-human primate retina

Bilge Esin Ozturk

### ABSTRACT

Adeno-associated virus (AAV)-mediated gene therapies are rapidly advancing to the clinic. A growing number of clinical trials are using AAV-mediated gene therapies to treat retinal degenerations. AAV engineering has resulted in vectors with increased ability to deliver therapeutic genes. Although the choice of vector is critical, quantitative comparison of AAVs, especially in large animals, remains challenging. To address these problems, we have developed a single cell RNA-seq AAV engineering (scAAVengr) pipeline for rapid, quantitative in vivo comparison of transgene expression from newly engineered AAV capsid variants across all different cell types in a tissue in parallel, and in the same animals.

In order to develop and validate our pipeline, we first engineered AAV vectors by implementing directed evolution (DE) in the context of the canine retina to create new serotypes with improved ability to deliver genes to large animal eyes. We then used the scAAVengr pipeline to evaluate and compare the performance of AAV variants created through DE in canine retina to previously engineered AAV variants created through DE in primate retina, as well as to multiple parental controls to infect retinal cell types in primate retina. AAV vectors were pooled and injected intravitreally into primate retinas. Samples from GFP-expressing retinas were collected, retinal tissue was dissociated into single cell suspensions. A 10X microfluidics controller was used for single-cell RNA-Seq to capture the transcriptome for each cell and quantified the AAV and serotype-specific barcodes in every cell's expression profile.

Our results showed that variants engineered through DE using canine retinas and primate retinas markedly outperformed AAV2 and AAV2 tyrosine mutants across cell types and in peripheral and macular retina. Of all the variants tested, newly created variant K912 was the top performer across cell types. K912 variant was then used to deliver SaCas9 and edit the rhodopsin gene in macaque retina, resulting in editing efficiency similar to infection rates detected by the scAAVengr workflow. The scAAVengr pipeline allowed us to quantitatively evaluate the clinical potential of multiple lead candidates across all retinal cell types, in the foveal and peripheral retina, in a large animal model with eyes similar to humans. Our results validate scAAVengr as a powerful method for identification and development of AAV vectors for clinical translation.

University of Pittsburgh, Department of Ophthalmology.

## Nörolojik Hastalıklarda Hücre Ölümünün Moleküler Mekanizmaları

Serap Dökmeci

Ö Z E T

Hücre ölümü mekanizmaları, hücresel gelişme ve homeostazın normal ve temel bir bileşeni olsa da, bu mekanizmalarda görülen bozukluklar kanser, otoimmünite ve nörodejenerasyon dahil olmak üzere çoğu hastalık patolojisi ile ilişkilendirilmektedir. Sinir sisteminin mimarisinin ve işlevlerinin şekillenmesinde de hücre ölüm mekanizmaları ile ilişkili sinyal yolları önemli görevlere sahiptir. Özellikle apoptoz, nekroptoz, piroptoz gibi iyi tanımlanmış hücre ölüm mekanizmalarının yanı sıra, bazı durumlarda otofajiye bağımlı hücre ölümü olarak bilinen farklı bir süreç ortaya çıkmaktadır. Otofaji mekanizması ilk keşfedildiğinde alternatif bir hücre ölüm mekanizması olarak kabul edilse de, günümüzde hem hücrelerde homeostazın sağlanmasında önemli bir mekanizma hem de yaşlanma ve hastalıklarla ilişkili metabolik zorluklar karşısında devreye giren önemli bir sitoprotektif yanıt mekanizması olarak kabul edilmektedir. Lizozomal substrat birikimi ile karakterize olan lizozomal depo hastalıklarının nörodejenerasyon ile ilişkisinin temelinde de otofaji mekanizmasındaki bozukluklar yer almaktadır. Nörodejenerasyon sürecinde, otofajinin farklı aşamalarındaki bozulma, birikime yatkın patojenik proteinlerin ve hasarlı organellerin birikmesine yol açarak patolojiyi tetiklemektedir. Lizozomal depo hastalığı olan Gaucher hastalığı ile ilişkili GBA1 enziminin Parkinson hastalığı için en önemli risk faktörü olduğu bilinmektedir. Çalışmalarımızdan elde edilen veriler, GBA1 mutasyonlarının hasta kaynaklı indüklenmiş pluripotent kök hücre kaynaklı dopaminerjik nöronlarda otofajik yıkım mekanizmalarını etkileyerek  $\alpha$ -sinüklein birikimi ve salınımına sebep olduğu ve nörodejenerasyonda rol oynadığı gösterilmiştir. Bu bozukluklar için gelecekteki terapötik stratejiler, otofajik süreçteki aksaklıkların nörodejeneratif hastalıklar üzerindeki çok yönlü etkisinin anlaşılmasıyla yönlendirilecektir.

Anahtar Kelimeler: hücre ölümü, otofaji, nörodejenerasyon

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.



## Molecular Mechanisms of Cell Death in Neurological Diseases

Serap Dökmeci

### ABSTRACT

Although cell death mechanisms are common and essential components of cellular development and homeostasis, disturbances in these mechanisms are associated with many disease related pathology, including cancer, autoimmunity, and neurodegeneration. Signaling pathways associated with cellular death mechanisms have important roles in the architecture and functions of the nervous system. In addition to well-defined cell death mechanisms such as apoptosis, necroptosis, and pyroptosis, in some cases, a different process known as autophagy-dependent cell death may occur. Although autophagy was considered an alternative cell death mechanism when it was first discovered, it is now accepted as an important cytoprotective response mechanism in the face of metabolic challenges associated with aging and diseases by maintaining homeostasis in cells as an important. Defects in the autophagy mechanism are common pathological features of the lysosomal storage diseases, which are characterized by lysosomal substrate accumulation, and strongly associated with neurodegeneration. In the process of neurodegeneration, disturbances at different stages of autophagy leads to the accumulation of aggregation prone pathogenic proteins and damaged organelles, triggering pathology. GBA1 gene associated with Gaucher disease, a lysosomal storage disease, is known to be the most important risk factor for Parkinson's disease. The data obtained from our studies have shown that GBA1 mutations cause  $\alpha$ -synuclein accumulation and release and play important role in neurodegeneration by affecting autophagic clearance mechanisms in patient-induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic neurons. Future therapeutic strategies for these disorders will be guided by an understanding of the multifaceted impact of disruptions in the autophagic process on neurodegenerative diseases.

Keywords: cell death, autophagy, neurodegeneration

Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Ankara, Turkey.

## TRAIL sinyal yolağı, entozis ve kolorektal kanser

Emir Bozkurt

Ö Z E T

Entozis, bir hücrenin Rho/ROCK sinyal yolağı aracılı olarak aynı tipten başka bir hücrenin içine girdiği bir hücre-içinde-hücre olayıdır. Fagositozun aksine içerideki hücre giriş işlemi sırasında ve sonra hayattadır, hatta başarılı bir şekilde hücre bölünmesini tamamlayabilir veya hücreden salınabilir. Ancak, içerideki hücreler çoğunlukla entotik hücre ölümü olarak bilinen, otofajik lipidasyon aracılı lizozomal bir hücre ölüm mekanizması üzerinden yıkıma uğrar. Entotik hücre ölümü, çoğunlukla içerideki hücrelerin ölümüne yol açsa da entozisin stress koşullarında popülasyon düzeyinde hücre sağkalımına katkı sağladığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, TRAIL sinyal yolağının, apoptozis aktivasyonuna ek olarak, kolon kanseri hücrelerinde entozis mekanizmasını aktive ettiği gösterilmiştir. Hem apoptozis hem de entozisin aktivasyonu için TRAIL ölüm reseptörleri DR4 ve DR5'in gerekli olduğu saptanmıştır. Apoptozis ve entozis aktivasyonun Kaspaz-8 üzerinde ayrıldığı, enzimatik aktivasyonun apoptozis için gerekli olduğu, entozis için ise Kaspaz-8'in yapısal olarak bulunmasının yeterli olduğu gösterilmiştir. Apoptozis ve entozis hem morfolojik hem de biyokimyasal olarak farklı mekanizmalar olmasına karşın, kaspaz inhibisyonu veya Bax ve Bak genlerinin sessizleştirmesinin her iki mekanizma için de hücre ölümünü azalttığı, içerideki hücrelerin hayatta kalımını ve salınımını ise arttırdığı saptanmıştır. Kolorektal kanser hasta örneklerinde yapılan analiz sonrası TRAIL sinyal yolağı ile hücre-içinde-hücre fenotipi arasında ilişki ortaya çıkarılmıştır. Son olarak, kolorektal tümörlerinin invaziv ön bölümünde hücre-içinde-hücre fenotipinin bulunmasının kötü prognozla ilişkili olduğu ortaya çıkarılmıştır.

İzmir Ekonomi Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,  
Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İzmir, Türkiye.

## TRAIL signalling, entosis and colorectal cancer

Emir Bozkurt

Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering, Izmir University of Economics, Izmir, Turkey.

### ABSTRACT

Entosis is a form of cell-in-cell phenomenon where one cell invades into another cell of the same type by a Rho/ROCK signalling dependent pathway. Unlike phagocytosis, inner cells are initially alive after invaded into another cell, can undergo cell division inside the outer cell or they can be released. However, the vast majority of inner cells undergo degradation inside outer cells by an autophagic lipidation-dependent lysosomal cell death mechanism known as entotic cell death. Even though entotic cell death can result in elimination of cells at the individual level, entosis can confer a survival advantage to the outer cells under stress conditions. Here we find that, besides inducing apoptosis, TRAIL signalling is a potent activator of entosis in colon cancer cells. Initiation of both apoptosis and entosis requires TRAIL receptors DR4 and DR5, however, induction of apoptosis and entosis diverges at Caspase-8, as its structural presence is sufficient for induction of entosis but not apoptosis. Although apoptosis and entosis are morphologically and biochemically distinct, knockout of Bax and Bak, or inhibition of caspases also inhibits entotic cell death and promotes survival and release of inner cells. Analysis of colorectal cancer tumours reveals a significant association between TRAIL signalling and CIC structures. Finally, the presence of CICs in the invasive front regions of colorectal tumours shows a strong correlation with adverse patient prognosis.

## Oda Sıcaklığında Seri Femtosaniye X-Işını Kristallografisi Kullanarak HIV-1 e Karşı “Uyandır ve Öldür” Yapabilecek Yeni Nesil İlaç Geliştirilmesi

Hasan Demirci

ÖZET

HIV-1, AIDS'in ilk kez Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından tanınmasından bu yana küresel bir sağlık sorunu olmaya devam ediyor. Yalnızca 2019'da HIV-1 ile enfekte olan 38 milyon insan ve 1,5 milyon ölüm olduğu tahmin edilmektedir. Virionu serbest bırakmak ve daha fazla oligomerizasyon için membrana Pr55Gag bağlanmasını içeren HIV geç evre yaşam döngüsünün ayrıntılarının daha iyi anlaşılması, bize potansiyel tedavi için yeni yollar sağlayacaktır. İnositol heksakifosfat (IP6) bol miktarda endojen siklitol molekülüdür ve bağlanması, MA alanı yoluyla Pr55Gag'ın oligomerizasyonuna bağlanmıştır. Ancak, IP6'nın MA üzerindeki bağlanma bölgesi bilinmiyordu ve bu etkileşimin yapısal detayları eksikti. Burada, bağlanma modunu ortaya çıkarmak için MA alanının üç yüksek çözünürlüklü kristal yapısını IP6 molekülleri ile kompleks halinde sunuyoruz. Ek olarak, kriyo ve ortam sıcaklığında X-ışını kristallografisi ve hesaplama biyolojisi ile birleştirilmiş kapsamlı Diferansiyel Taramalı Florimetri analizi, IP6 bağlanmasına katılan anahtar kalıntıları tanımlar. Verilerimiz, IP6'nın Pr55Gag'ın zar bağlanması için gerekli bir fosfoinositid olan PIP2 ile etkileşimini içeren çok katmanlı HIV-1 virion montaj süreci hakkında yeni bilgiler sağlar. IP6 ve PIP2, aynı yüksek düzeyde bazik bölge (18-33) içinde komşu alternatif bağlanma bölgelerine sahiptir. Bu, IP6 ve PIP2 bağlanmalarının birbirini dışlamadığını ve virion partiküllerinin membran lokalizasyonunu koordine etmede önemli bir rol oynayabileceğini gösterir. Üç farklı IP6-MA kompleks kristal yapımıza dayanarak, montaj ve tomurcuklanma sırasında dış MA ve iç CA alanı 2D katmanlarının oligomerizasyonunun IP6 koordinasyonunu içeren yeni bir model öneriyoruz.

Koç Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,  
İstanbul, Türkiye.

## New Generation “Kick and Kill” Drug Development Against HIV-1 by Using Serial Femtosecond X-ray Crystallography

Hasan Demirci

ABSTRACT

HIV-1 continues to be a global health concern since AIDS was first recognized by the World Health Organization (WHO). It is estimated that there were 38 million people infected with HIV-1 and 1.5 million deaths in 2019 alone. A better understanding of the details of the HIV late-stage life cycle, involving Pr55Gag attachment to the membrane for the further oligomerization to release virion, will provide us new avenues for potential treatment. Inositol hexakisphosphate (IP6) is an abundant endogenous cyclitol molecule and its binding was linked to the oligomerization of Pr55Gag via the MA domain. However, the binding site of IP6 on MA was unknown and the structural details of this interaction were missing. Here, we present three high-resolution crystal structures of the MA domain in complex with IP6 molecules to reveal its binding mode. Additionally, extensive Differential Scanning Fluorimetry analysis combined with cryo- and ambient-temperature X-ray crystallography and computational biology identify the key residues that participate in IP6 binding. Our data provide novel insights about the multilayered HIV-1 virion assembly process that involves the interplay of IP6 with PIP2, a phosphoinositide essential for the membrane binding of Pr55Gag. IP6 and PIP2 have neighboring alternate binding sites within the same highly basic region (residues 18-33). This indicates that IP6 and PIP2 bindings are not mutually exclusive and may play a key role in coordinating virion particles' membrane localization. Based on our three different IP6-MA complex crystal structures, we propose a new model that involves the IP6 coordination of the oligomerization of outer MA and inner CA domain 2D layers during assembly and budding.

Department of Molecular Biology and Genetics, Koc University, İstanbul, Turkey.

*~ ~ ~* **Sözlü Bildiriler** *~ ~ ~*

*~ ~ ~* **Oral Presentations** *~ ~ ~*



## CEBPB transkripsiyon faktörünün MN1 ekspresyonu üzerindeki etkisi

Zeliha Emrence  
Melda Sarıman  
Burcu Salman Yaylaz  
Neslihan Abacı  
Sema Sırma Ekmekci

### ÖZET

Transkripsiyonel düzenleyici olarak rol oynayan yüksek MN1 gen ekspresyonunun in vivo fare modelinde myeloproliferatif hastalık (MPD) gelişimine, yüksek MN1 ekspresyonu birlikte CBFb-MYH11 varlığının ise akut miyeloid lösemi (AML) gelişimine neden olduğu gösterilmiştir. UCSC Genome Browser'da meningioma1 (MN1) bazal promoter bölgesini analiz ettiğimizde ENCODE projesi kapsamında HeLa hücrelerinde CHIP dizileme ile CCAAT enhancer binding beta (CEBPB) transkripsiyon faktörüne ait bir peak saptanmıştır. Fakat CEBPB'nin bu bölgeye bağlandığı doğrulanmamış ve fonksiyonel önemi araştırılmamıştır. Bu çalışma ile CEBPB geninin MN1 ekspresyonu üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yüksek seviyede MN1 ekspresyon eden servikal hücre soyu olan HeLa ve AML hücre soyu olan NB4 kullanıldı. CEBPB bu hücrelerde siRNA ile baskılanarak, 24., 36., 48., 72. ve 96. saatlerde MN1 ekspresyonu üzerinde değişikliğe neden olup olmadığı kantitatif gerçek zamanlı PCR yöntemiyle araştırıldı.

24, 36, 48. saatlerde HeLa hücrelerinde CEBPB'nin baskılanmasının MN1 ekspresyonu üzerinde etkisi olmadığını göstermiştir. 72. ve 96. saatte ise MN1 ekspresyonun 1,5 kat arttığı gösterilmiştir (Spearman korelasyon testi,  $p < 0,01$ ). NB4 hücrelerinde ise 48. saatte etkisi olmadığı ve 72. saatte 1,4 ve 96. saatte 1,3 kat arttığı göstermiştir (Spearman korelasyon testi,  $p < 0,01$ ).

Bu sonuçlar CEBPB baskılanmasının MN1 ekspresyonu üzerinde geç ve düşük düzeyde etkisinin olduğunu göstermiştir. Elde ettiğimiz bu bulguların reporter deneyleri gibi daha ileri analizlerle doğrulanması gerekmektedir. Bu çalışma, CEBPB'nin indirekt olarak veya koregulator olabilecek başka faktörlerle kompleks oluşturup, MN1 transkripsiyonunu düzenleyebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akut miyeloid lösemi, CEBPB, MN1

İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp  
Araştırma Enstitüsü, Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul,  
Türkiye.



## Effect of the transcription factor CEBPB on MN1 expression

Zeliha Emrence  
Melda Sarıman  
Burcu Salman Yaylaz  
Neslihan Abacı  
Sema Sırma Ekmekci

Department of Genetics, Istanbul University, Aziz  
Sancar Institute of Experimental Medicine, Istanbul,  
Turkey.

### ABSTRACT

The high meningioma1 (MN1) gene expression plays a transcriptional regulatory role, which causes the development of myeloproliferative disease (MPD) in vivo mouse model. The presence of CBFb-MYH11 with high MN1 expression is one reason for developing acute myeloid leukemia (AML). When we analyzed the MN1 basal promoter region in the UCSC Genome Browser, a peak of the CCAAT enhancer-binding beta (CEBPB) transcription factor was detected by ChIP-sequencing according to the result of ENCODE project. However, the functional significance of CEBPB binding to this region has not been investigated. This study aims to examine the effect of CEBPB on MN1.

The cervical cancer cell line HeLa and the AML cell line NB4 expressing high levels of MN1 were used. CEBPB expression was knockdown by siRNA in these cells. We were investigated MN1 expression levels in CEBPB knockdown cells by real-time quantitative PCR method at 24., 36., 48., 72. and 96 hours.

It was determined that CEBPB knockdown did not affect MN1 expression until the 72nd hour in HeLa cells. However, the knockdown of CEBPB caused 1.5 fold increase in MN1 expression at 72nd and 96th hours. The same pattern was shown in NB4 cells; MN1 expression increased 1.4 times at 72 hours and 1.3 times at 96 hours (Spearman correlation test,  $p < 0.01$ ).

The knockdown of CEBPB has a late and low-level effect on MN1 expression. Our study suggests that CEBPB indirectly regulates MN1 expression or interacting with co-regulatory factors. These findings need to be confirmed by further analysis as reporter assays.

Keywords: Acute myeloid leukemia, CEBPB, MN1

## Histon deasetilaz inhibitörlerinin lipopolisakkarit ile indüklenen makrofaj hücrelerinde sınıf II transaktivatör (CIITA) ekspresyon seviyeleri ve antijen sunumu üzerine etkisi

Zülfinaz Betül Çelik<sup>1</sup>  
Caner Günaydin<sup>2</sup>

### ÖZET

Histon asetilasyonu inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rol alan önemli epigenetik mekanizmalardan biridir. Bu nedenle çalışmamızda, RAW264.7 makrofaj hücrelerinde lipopolisakkarit (LPS)-ile indüklenen inflamasyon benzeri model ile histon deasetilaz inhibitörleri (HDACi) kullanılarak histon asetilasyon seviyelerinin, MHC-II ekspresyonunun master regülatörü olan Sınıf II transaktivatör (CIITA) ekspresyon seviyelerinin ve hücre sıvılarındaki IL-16, IFN- $\gamma$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerinin belirlenmesi amaçlandı.

Makrofaj hücreleri LPS (1 $\mu$ L/ml) ile muamele edildi. Ayrıca, hücrelere histon deasetilaz inhibitörleri olan TMP-195 ve CUDC-907 uygulandı. Sonrasında, hücreler tripsin-EDTA ile kaldırılarak total RNA izolasyonu yapıldı ve CIITA ekspresyon seviyeleri qRT-PCR ile analiz edildi. Hücre mediumlarındaki IL-16, IFN- $\gamma$  ve IL-1 $\beta$  seviyeleri ELISA ile belirlendi. Total HDAC aktivitesi ise kolorimetrik HDAC activity assay kiti ile 405 nm'de ölçüldü.

LPS IL-1 $\beta$ , IL-16 ve IFN- $\gamma$  (p<0.001) seviyelerinde önemli bir artışa neden oldu. CUDC-907 ve TMP-195 uygulanması ile IL-16 ve IFN- $\gamma$  seviyelerindeki bu artış önemli ölçüde güçlendi (p<0.001). LPS histon deasetilasyon aktivitesini azalttı. Ayrıca, hem CUDC-907 hem de TMP-195, histon deasetilasyon aktivitesindeki LPS kaynaklı düşüşü güçlendirdi. LPS CIITA ekspresyonunu kontrole kıyasla 3.5 kat artırdı (p<0.001). CUDC-907 (p<0.001) ve TMP-195(p<0.001), CIITA ekspresyonunda LPS kaynaklı artışı önemli ölçüde güçlendirdi.

LPS histon deasetilaz aktivitesini azaltırken, CIITA ekspresyonunda ve inflamatuvar sitokin seviyelerinde artışa neden olmuştur. Sonuçlarımız, LPS'in, inflamasyon modelinde makrofaj hücrelerinin antijen sunumunu artırdığını ve histon asetilasyonunun antijen sunumunda ve inflamasyonda önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: CIITA, makrofaj, histon asetilasyonu, inflamasyon

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.

<sup>2</sup>Samsun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.

## Effect of histone deacetylase inhibitors on class II transactivator (CIITA) expression levels and antigen presentation in lipopolysaccharide-induced macrophage cells

Zülfinaz Betül Çelik<sup>1</sup>  
Caner Günaydin<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Histone acetylation is one of the important epigenetic mechanisms involved in the pathogenesis of inflammatory diseases. Therefore, in our study, with the lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation-like model in RAW264.7 macrophage cells, using histone deacetylase inhibitors (HDACi), it was aimed to determine histone acetylation levels and Class II transactivator (CIITA) expression levels, which is the master regulator of MHC-II expression, and IL-16, IFN- $\gamma$ , and IL-1 $\beta$  levels in cell fluids.

Macrophage cells were treated with LPS (1 $\mu$ L/ml). Additionally, cells were treated with HDACi TMP-195 and CUDC-907. Following LPS and HDACi treatments, cells were detached with trypsin-EDTA for total RNA isolation, then CIITA expression levels were analyzed by qRT-PCR. IL-16, IFN- $\gamma$ , and IL-1 $\beta$  levels in cell mediums were determined by the ELISA. Total HDAC activity was measured at 405 nm with the colorimetric HDAC activity assay kit.

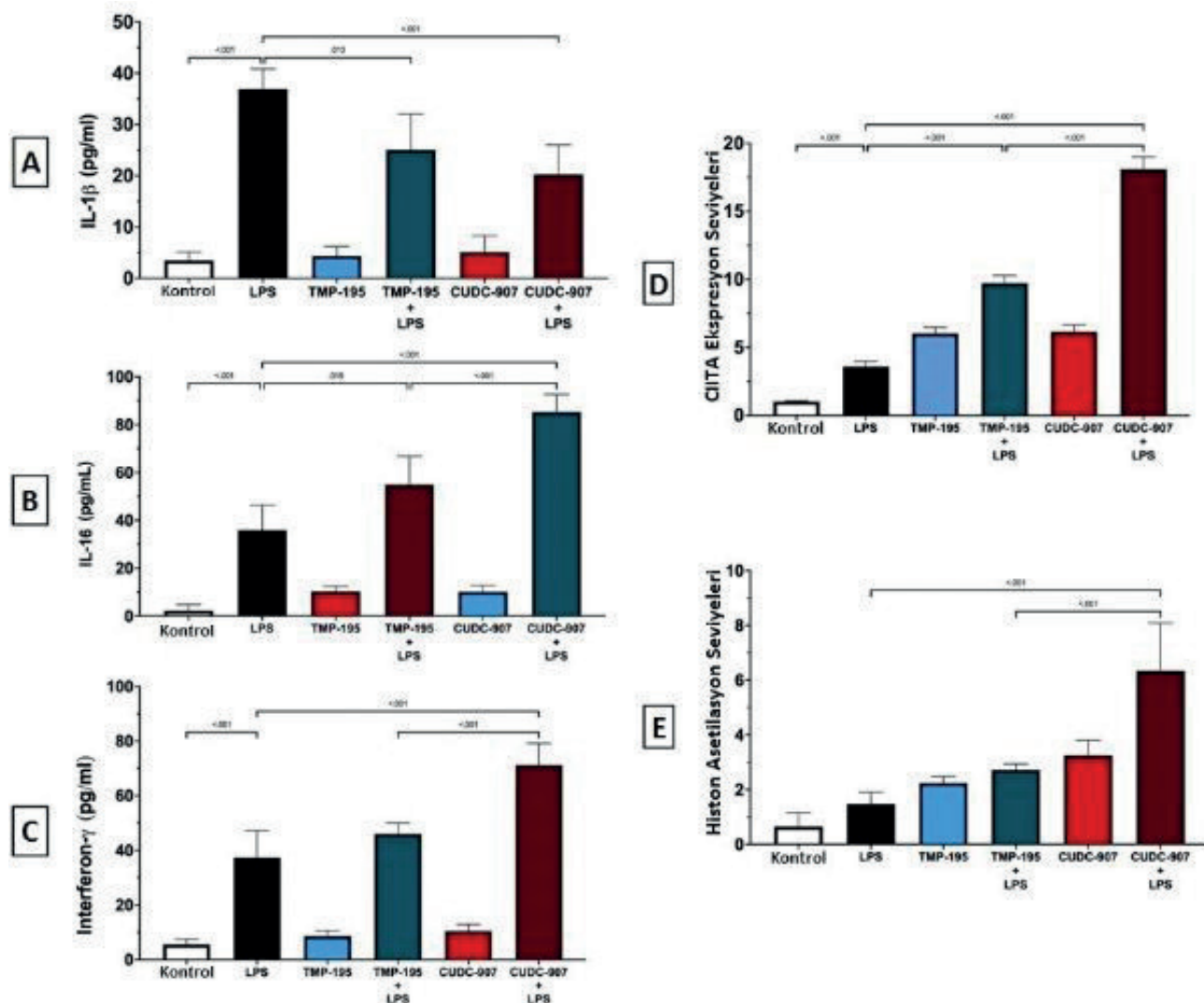
LPS caused a significant increase in the IL-1 $\beta$ , IL-16 and IFN- $\gamma$  ( $p < 0.001$ ) levels. This increase was significantly enhanced by CUDC-907 and TMP-195 treatments in the IL-16 and IFN- $\gamma$  levels ( $p < 0.001$ ). LPS decreased histone deacetylation activity. Moreover, both CUDC-907 and TMP-195 exacerbated LPS-induced decrease in the histone deacetylation activity. LPS increased CIITA expression levels by 3.5-fold compared to control ( $p < 0.001$ ). CUDC-907 ( $p < 0.001$ ) and TMP-195 ( $p < 0.001$ ) significantly enhanced LPS-induced increase in CIITA expression.

While decreasing histone deacetylase activity, LPS caused an increase in the CIITA expression and inflammatory cytokine levels. To conclude, LPS increases antigen presentation of macrophage cells in the inflammation model and histone acetylation plays an important role in inflammation and antigen presentation.

Keywords: CIITA, macrophage, histone acetylation, inflammation

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Samsun University, Samsun, Turkey.



**Şekil 1.** Histon deasetilaz inhibitörlerinin lipopolisakkarit ile indüklenen makrofaj hücrelerinde IL-1 $\beta$  (A), IL-16 (B) ve IFN- $\gamma$  (C) seviyeleri, CIITA ekspresyon seviyesi (D) ve histon asetilasyonuna (E) etkisi

**Figure 1.** Effect of histone deacetylase inhibitors on IL-1 $\beta$  (A), IL-16 (B), and IFN- $\gamma$  (C) levels, CIITA expression level (D), and histone acetylation (E) in lipopolysaccharide-induced macrophage cells

## Meme Kanseri Hücrelerini Membran Reseptörleri Aracılığıyla Tanımlayan Kuartz Kristal Mikrodenge (QCM) Temelli Biyosensör Sistemleri

Ayşe Kevser Özden<sup>1</sup>  
Seda Atay<sup>2</sup>  
Monirah Bakhshpour<sup>2</sup>  
Merve Yılmaz<sup>3</sup>  
Adil Denizli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lokman Hekim Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Ankara, Türkiye.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Ankara, Türkiye.

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Ankara, Türkiye.

### ÖZET

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen ve tüm kanserlerde de ikinci sırada yer alan bir hastalıktır. Tedavi konusunda önemli gelişmeler olmasına rağmen, özellikle gelişmekte olan ülkelerde metastatik meme kanserinin tedavisi halen önemli sağlık problemlerden birisidir. Meme kanserinde erken tanı ve metastazın izlenmesi ölümleri azaltacağı için tümör hücrelerinin dolaşımında saptanması ve tanımlanması tedavi açısından oldukça önemlidir. Meme kanseri hücrelerinin moleküler özelliklerini bilmek hem prognoz hem de tedavi açısından bilgi vericidir. Hızlı biçimde kanser hücrelerini saptamak için kuartz mikro denge (QCM) temelli biyosensörler tasarlanıp geliştirilmiştir. Bunun için, QCM'in altın mikroçip yüzeyi membran reseptörlerine özgül transferrin, Notch 4 antikor ve Her 2/neu antikor gibi ligant veya antikorlarla modifiye edilerek işlevselleştirilmiştir. Çalışmalarda yüksek metastatik potansiyele sahip MDA MB 231 ve HER 2/neu pozitif SKBR meme kanseri hücreleri, kontrol olarak da düşük metastatik potansiyele sahip olan MCF 7 ve fare fibroblast hücreleri kullanılmıştır. Altın yüzey öncelikle yüzey alanını genişletmek ve protein tutunmasını sağlamak amacıyla poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA) nanopartiküllerle kaplanmıştır. Miniemülsiyon yöntemi ile oluşturulan nanopartiküller ve nanopartikül kaplı çip yüzeyi zeta ölçer ve atomik güç (AFM) mikroskobu ile incelenmiştir. Ligant ve antikorlarla işlevselleştirilmiş çip yüzeyi de aynı şekilde AFM, FTIR, elipsometri ve kontak açısı tayini ile incelenmiştir. Sistemden geçirilen hücrelerin 10 hücre/ml hassasiyetle tanımlandığı kütle artışına bağlı frekans değişimi olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, meme kanseri hücrelerini özgül, hassas ve yüksek afinite ile kısa sürede tanımlayan, girişimsel olmayan ve düşük maliyetli bir sensör sistemi geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, reseptör, kuartz kristal mikrodenge, biyosensör

## Quartz Crystal Microbalance (QCM) based Biosensor Systems Detecting Breast Cancer Cells via Membrane Receptors

Ayşe Kevser Özden<sup>1</sup>  
Seda Atay<sup>2</sup>  
Monirah Bakhshpour<sup>2</sup>  
Merve Yılmaz<sup>3</sup>  
Adil Denizli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lokman Hekim University, Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Hacettepe University, Faculty of Science, k ltesi, Biochemistry Department, Ankara, Turkey.

<sup>3</sup>Hacettepe University, Faculty of Medicine, Medical Biochemistry Department, Ankara, Turkey.

### ABSTRACT

Breast cancer is the most common cancer of women and the second most common cancer overall. Despite major developments in treatment, metastatic breast cancer treatment is still one of the major health problems, especially in developing countries. As early diagnosis and monitoring metastasis decreases mortality, detection and characterization of circulating tumor cells is crucial in breast cancer treatment. Thorough knowledge on tumor cells is informative for both diagnosis and treatment. To detect cancer cells, Quartz Crystal Microbalance (QCM) based biosensors are designed and developed. Therefore, the gold chip surface of QCM was functionalised by the attachment of ligands and antibodies, namely transferrin, Notch 4 receptor and Her2/neu receptor antibodies, specific for membrane receptors. MDA-MB-231 with high metastatic potential, SKBR with Her2/neu expression and MCF-7 with low metastatic potential and mouse fibroblasts cells were used as control. The gold surface was first coated with poly(2-hydroxyethyl methacrylate)(PHEMA) nanoparticles iFor increasing surface area and enabling protein attachment to the chip. Nanoparticles formed by miniemulsion technic and the nanoparticle coated surface was analysed by zeta sizer and atomic force microscope (AFM). The QCM chip surface functionalized with ligand and antibodies was also analysed by AFM, FTIR, ellipsometry and contact angle measurements. Binding of the cells flowing over chip surface are detected as frequency change due to mass increase is detected with a sensitivity of 10 cells/ml. It is concluded that, a non invasive, cost effective and rapid sensor system for detecting breast cancer cells with high specificity, sensitivity and high affinity is developed.

Keywords: Breast cancer, receptor, quartz crystal microbalance, biosensor

## Eksüdatif yaşa bağlı makula dejenerasyonunun etiopatogenezinin aydınlatılması amacıyla ARPE-19 hücre hattında CoCl<sub>2</sub> ile indüklenen hipoksi modeli oluşturulması

Seda Süsgün<sup>1</sup>  
Nur Damla Korkmaz<sup>1</sup>  
Işıl Kutlutürk<sup>2</sup>  
Fahri Akbaş<sup>1</sup>  
Mehmet Hakan Özdemir<sup>3</sup>  
Ahmet Elbay<sup>3</sup>

### ÖZET

Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu (YBMD) 60 yaş üzeri insanlarda geri dönüşümsüz görme kaybının önde gelen nedenlerindedir ve kuru tip/atrofik ve yaş tip/eksüdatif YBMD olmak üzere iki grupta incelenir. YBMD patogenezinde oksidatif stres önemli rol oynar ve eksüdatif YBMD hastalarında retinada anormal damarlanma gözlenmektedir. Sunulan çalışmada eksüdatif YBMD hastalık modellemesinde ARPE-19 hücre hattı kullanılarak hipoksik koşul oluşturulması ve hastalığın patogenezinin ve diyagnostik biyobelirteçlerinin *in-vitro* koşullarda belirlenmesi amaçlanmıştır.

ARPE-19 hücre hattı %10 FBS ve %0,2 Primosin içeren DMEM-F12 medyumunda kültüre edilmiştir. Hipoksik ortamın taklidi için CoCl<sub>2</sub> uygulaması farklı dozlar için denenmiş (sırasıyla 0,1, 0,2, 0,4 ve 0,8 mM) ve 24 saat sonunda hücrelerden süpernatantlar toplanarak ortama salınan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) miktarları ELISA yöntemi kullanılarak ölçülmüştür.

ARPE-19 hücre hattında 0,4 mM CoCl<sub>2</sub> dozu uygulanan grup hücrelerde toksik etki yaratmadan hipoksiye neden olan ve kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı (p<0,0001) VEGF miktarı artan en uygun doz olarak belirlenmiştir.

Tartışma: YBMD'de retina pigment epitelinde (RPE) hasar, oksidatif stres nedenli patogenezin erken bir aşamasında meydana gelir ve eksüdatif tipinde hızlı ilerler. ARPE-19 hücre hattında hipoksik ortam oluşturmak hastalığı doğru şekilde taklit edebilecek bir modeldir. Çalışmanın bir sonraki adımında *in-vitro* ortamda eksüdatif YBMD'nin erken tanısı için seruma salınan potansiyel miRNA biyobelirteçleri RNA dizileme yöntemi ile araştırılacaktır.

Eksüdatif YBMD patogenezi ve diyagnostik biyobelirteçlerin araştırılmasında, CoCl<sub>2</sub> muamelesi sonucunda hipoksik koşullara maruz kalan ARPE-19 hücre hattının uygunluğu *in-vitro* olarak gösterilmiştir.

Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: 20200604).

Anahtar Kelimeler: ARPE-19, CoCl<sub>2</sub>, Hücre Kültürü, Makula Dejenerasyonu, VEGF

<sup>1</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

## CoCl<sub>2</sub> induced hypoxia modeling in ARPE-19 cell line to elucidate the etiopathogenesis of exudative age-related macular degeneration

Seda Süsgün<sup>1</sup>  
Nur Damla Korkmaz<sup>1</sup>  
Işıl Kutlutürk<sup>2</sup>  
Fahri Akbaş<sup>1</sup>  
Mehmet Hakan Özdemir<sup>3</sup>  
Ahmet Elbay<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Age-Related Macular Degeneration (AMD) is the leading cause of irreversible blindness in people over 60 years, and is examined in two groups, dry type/atrophic and wet type/exudative. Oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of AMD and abnormal vascularity is observed in the retina of patients with exudative-AMD. Present study was aimed to create hypoxic condition using ARPE-19 cell line for exudative-AMD modeling and investigating the pathogenesis and diagnostic biomarkers *in-vitro*.

ARPE-19 cell line was cultured in DMEM-F12 medium containing 10% FBS, 0.2% Primocin. CoCl<sub>2</sub> treatment was applied for different doses (0.1, 0.2, 0.4, and 0.8 mM, respectively) to simulate hypoxic conditions, and after 24 hours, supernatants were collected to detect secreted Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) by ELISA.

0.4 mM CoCl<sub>2</sub> treatment group in ARPE-19 was determined as the most appropriate dosage that caused hypoxia without causing toxic effects on the cells and increased the amount of VEGF statistically significant ( $p < 0.0001$ ) compared to the control group.

Discussion: Damage to retinal pigment epithelium in AMD occurs at early stage of oxidative stress-induced pathogenesis and progresses rapidly in the exudative type. Creating a hypoxic environment in ARPE-19 is a model that can accurately mimic the disease. In the next step of study, potential miRNA biomarkers released into the serum will be investigated by RNA-seq for early diagnosis of exudative-AMD *in-vitro*.

In the investigation of exudative-AMD pathogenesis and diagnostic biomarkers, the convenience of ARPE-19 exposed to hypoxic conditions as a result of CoCl<sub>2</sub> treatment has been demonstrated *in-vitro*.

This study was supported by Bezmialem Vakif University Scientific Research Projects Unit (Project no: 20200604).

Keywords: ARPE-19, Cell Culture, CoCl<sub>2</sub>, Macular Degeneration, VEGF

<sup>1</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>University of Health Sciences, Ümraniye Training and Research Hospital, Clinic of Ophthalmology, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology, Istanbul, Turkey.



## Probiyotik bakteriyel hücre dışı faktörler, insan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin immün baskılayıcı özelliklerini destekler

Gizem Yılmaz  
Suray Pehlivanoğlu

### ÖZET

İnsan kemik iliği-kaynaklı mezenkimal kök hücreleri (Kİ-MKH), farklılaşma kabiliyetlerinin yanı sıra güçlü immünomodülatör ve rejeneratif özelliklere sahiptir.Kİ-MKH'ler, salgıladıkları faktörler ile immün sistemi düzenleyebilmektedir. Ayrıca, probiyotik bakterilerin de immün sistem üzerindeki düzenleyici ve yararlı etkileri kanıtlanmıştır.Genellikle Lactobacillus ve Bifidobacterium cinsleri, bağırsağın doğal florasında yüksek oranda bulunurlar.Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda, probiyotikve patojenik bakterilerin hücre dışı faktörlerinin insan Kİ-MKH'leri üzerindeki olası immünomodülatör etkilerini araştırmayı amaçladık.

Probiyotik (Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus ve Lactobacillus paracasei subsp. paracasei) ve patojenik bakteri suşları (Staphylococcus aureus ve Enterococcus faecalis) uygun koşullarda kültüre edildi ve hücre dışı faktörlerini içeren supernatant örnekleri toplandı. İnsan Kİ-MKH'leri filtre edilmiş süpernatantlar ile 72 saat boyunca kültüre edildi. Sonrasında, %0,2 FBS içeren koşullandırılmış besiyerleri toplandı. Bu örneklerde, ELISA yöntemi ile TGF- $\beta$ 1, PGE-2, IL-10, NGF ve Netrin-1 düzeyleri belirlendi. Bakteriyel hücre dışı faktörlerin insan Kİ-MKH'lerinin hücre göçü kabiliyetleri üzerindeki etkisi in vitro yara iyileşmesi deneyi ile saptandı. Ayrıca periferik kan mononükleer hücrelerinin proliferasyonu üzerindeki etkisi incelendi.

Bulgularımıza göre, probiyotik bakteri supernatantları ile muamele edilen insan Kİ-MKH'lerin, kontrole göre,immün baskılayıcı sitokinler olan TGF- $\beta$ 1 (1.8-kat), PGE-2 (1.3-kat), IL-10 (1.9-kat) ve ayrıca NGF (2.3-kat) üretimini artırdığını, Netrin-1 üretimini ise değiştirmedini belirledik. Buna ilave olarak, söz konusu probiyotik bakteri süpernatantları mononükleer hücre proliferasyonunu ve Kİ-MKH'lerin migrasyonunu azalttığını belirledik.

Sonuç olarak, probiyotik bakterilerin hücre dışı faktörleri aracılığıyla insan Kİ-MKH'lerin immün baskılayıcı özelliklerinin desteklenebileceği ve hücre tedaviler açısından yararlı bir yaklaşım olabileceği kanısındayız. Ayrıca, bu şekilde NGF üretiminin indüklenmesinin, nörodejeneratif etkilerin baskılanabilmesi açısından önemli olabileceğini ileri sürmekteyiz.

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 201315001 nolu proje ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İmmünomodülasyon, mezenkimal kök hücreler, probiyotik bakteriler

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi,  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Konya, Türkiye.

## Probiotic bacterial extracellular factors trigger immunosuppressive properties of human bone marrow derived mesenchymal stem cells

Gizem Yılmaz  
Suray Pehlivanoğlu

### ABSTRACT

Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells (hBM-MSCs) show strong immunomodulatory and regenerative properties as well as the ability to differentiation. hBM-MSCs could regulate the immune system with their secreted factors. Additionally, it have been proven the regulatory and beneficial effects of probiotic bacteria on the immune system. Generally, Lactobacillus and Bifidobacterium genus are found in high incidence of the intestine. In line with this information, we aimed to investigate the possible immunomodulatory effects of extracellular factors of probiotic and pathogenic bacteria on human hBM-MSCs.

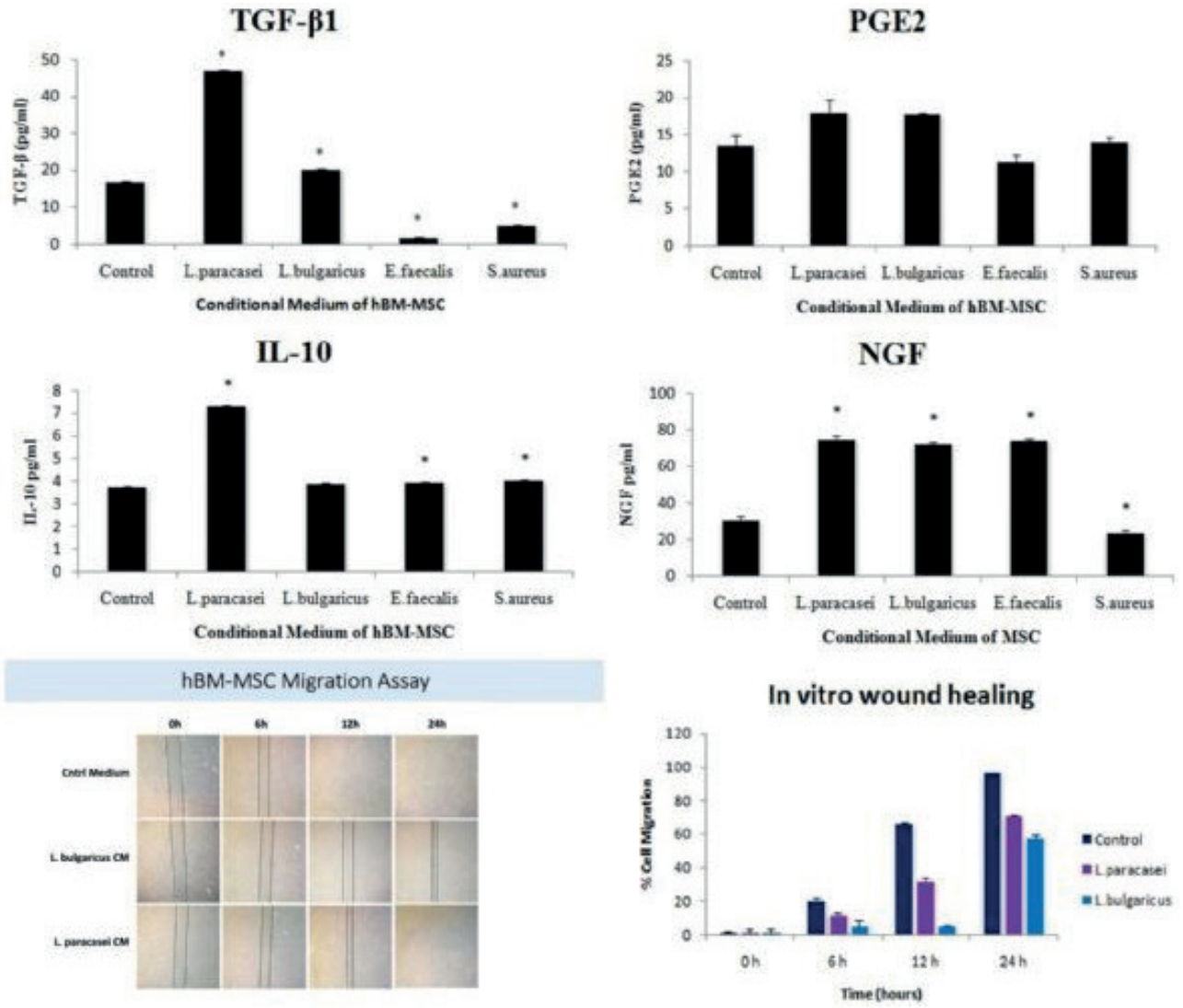
Probiotic (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*) and pathogenic bacterial strains (*Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*) were cultured and its supernatants were collected. Then, hBM-MSCs were cultured with these filtered supernatants for 72 h. Afterwards, 0.2 %FBS conditioned media samples were collected. The TGF- $\beta$ 1, PGE-2, IL-10, NGF and Netrin-1 levels were determined using ELISA. The effects of these factors on the migration capabilities of hBM-MSCs were determined. Also, its proliferative effects on peripheral blood mononuclear cells were examined.

According to our findings, immunosuppressive cytokines TGF- $\beta$ 1 (1.8-fold), PGE-2 (1.3-fold), IL-10 (1.9-fold), and also NGF (2.3-fold) produced from hBM-MSCs were increased in treated cells, but did not change Netrin-1 production, compared to control. In addition, we determined that these supernatants reduced mononuclear cell proliferation and hBM-MSCs' migration.

In conclusion, we believe that the immunosuppressive properties of hBM-MSCs can be supported by the probiotic extracellular factors and may be useful in cellular therapeutic approaches. We further suggest that by inducing NGF production may be important in suppressing neurodegenerative effects.

Keywords: Immunomodulation, mesenchymal stem cell, probiotic bacteria

Necmettin Erbakan University, Faculty of Science,  
Department of Molecular Biology and Genetics, Konya,  
Turkey.



**Şekil 1.** Mezenkimal kök hücreler üzerine probiyotik bakteri hücre dışı faktörlerinin uygulanması immünmodülör sitokin üretimini değiştirmektedir.

**Figure 1.** Application of probiotic bacterial extracellular factors on mesenchymal stem cells changes the production of immunomodulatory cytokines.

## Bexarotene U251 hücrelerinde endoplazmik retikulum stresini yoluyla antiproliferatif etkiler gösterdi

Ceyhan Hacıoğlu

### ÖZET

Gliomalar merkezi sinir sisteminde agresif tümörlerinden olup ve kötü prognoza sahiptir. Retionid X reseptörü agonisti olan bexarotene sinaptik netvörkte rol alan yeni nesil anti kanser ilacıdır. Bu çalışmada, bexarotene'in U251 insan gliolastoma hücreleri üzerinde apoptozla ilişkili endoplazmik retikulum stres (ERS) yanıtı üzerinden sitotoksik etkilerini araştırdık.

İlk olarak, U251 hücrelerin 0-160  $\mu\text{M}$  bexarotene konsantrasyonları ile 24 saat süreyle inkübe edildi. Ardından, bexarotene'in U251 hücreleri üzerindeki sitotoksik konstrasyonları MTT analizi ile belirledik. Sonrasında, bexarotene'in U251 hücrelerindeki glukozla düzenlenen protein 78 (GRP78), transkripsiyon faktörü C/EBP-homolog protein (CHOP) ve kaspaz 4 (CASP4) seviyeleri üzerindeki etkilerini ELİSA yöntemi ile belirledik.

5  $\mu\text{M}$  bexaroten tedavisi U251 hücre proliferasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe neden olmamıştır ( $P>0,05$ ). Beksaroten tedavisi (10  $\mu\text{M}$  ve üzeri konsantrasyonlar), konsantrasyona bağlı bir şekilde U251 hücre proliferasyonunu azalttı ( $P<0,05$ ). MTT sonuçlarına göre, U251 hücrelerindeki bexarotene'in IC50 konsantrasyonunu 65,8  $\mu\text{M}$  olarak tespit ettik. Beksaroten tedavisi, U251 hücrelerinde GRP78 seviyelerinde bir düşüşe ve CHOP seviyelerinde bir artışa neden oldu ( $P<0,05$ ). Ek olarak, bexarotene ile tedavi edilen U251 hücrelerinde CASP4 seviyelerinde bir artışın olduğunu belirledik.

Beksarotene, U251 hücrelerinde ERS sinyal yolu aracılığıyla GRP78, CHOP ve CASP4 seviyelerini düzenleyerek hücre canlılığını azalttı. Bexarotene, glioblastoma tedavisi sırasındaki kemo- ve radyoterapiye direncin önlenmesi için potansiyel bir terapötik olabilir.

Anahtar Kelimeler: Bexarotene, endoplazmik retikulum stres, U251 hücreleri

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye.

## Bexarotene showed anti-proliferative effects through endoplasmic reticulum stress in U251 cells

Ceyhan Hacıoğlu

### ABSTRACT

Gliomas are aggressive tumors of the central nervous system and have a poor prognosis. Bexarotene, a retinoid X receptor agonist, is a new generation anti-cancer drug that plays a role in the synaptic network. In this study, we investigated the cytotoxic effects of bexarotene on U251 human gliolastoma cells on the endoplasmic reticulum stress (ERS) response associated with apoptosis.

First, U251 cells were incubated with 0-160  $\mu\text{M}$  bexarotene concentrations for 24 hours. Subsequently, we determined the cytotoxic concentrations of bexarotene on U251 cells by MTT analysis. Next, we investigated the effects of bexarotene on the glucose-regulated protein 78 (GRP78), transcription factor C/EBP-homologous protein (CHOP), and caspase 4 (CASP4) levels in U251 cells by ELISA method.

5  $\mu\text{M}$  bexarotene treatment did not cause a statistically significant decrease in U251 cell proliferation ( $P > 0.05$ ). Bexarotene treatment (10  $\mu\text{M}$  and above concentrations) decreased U251 cell proliferation in a concentration-dependent manner ( $P < 0.05$ ). According to MTT results, we determined the IC<sub>50</sub> concentration of bexarotene in U251 cells as 65.8  $\mu\text{M}$ . Bexarotene treatment induced a decrease in GRP78 levels and an increase CHOP levels in U251 cells ( $P < 0.05$ ). Additionally, we found an increase in CASP4 levels in U251 cells treated with bexarotene.

Bexarotene reduced cell viability via the ERS signaling pathway by regulating the GRP78, CHOP and CASP4 levels in U251 cells. Bexarotene may be a potential therapeutic for the prevention of resistance to chemo- and radiotherapy during the treatment of glioblastoma.

Keywords: Bexarotene, endoplasmic reticulum stress, U251 cells

Duzce University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Duzce, Turkey.

## Behçet Hastalığında Entegre Stres Yanıtının Rolü

İrem Coşkun<sup>1</sup>  
Ferda Paçal<sup>1</sup>  
Ahmet Gül<sup>2</sup>  
Sema Sırma Ekmekçi<sup>1</sup>  
Neslihan Abacı<sup>1</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Romatoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

### ÖZET

Aktive edilmiş doğal bağışıklık, Behçet Hastalığı (BH) patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Entegre Stres Yanıtı (ESY), doğal bağışıklığı düzenleyen sinyal yollarından biridir ve bu yolaktaki anomaliler çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir. Bu çalışmanın amacı, ESY sinyali yolağında bulunan *eIF2α*, *PERK*, *HRI*, *HSPB8* ve *ATF4* genlerinin BH ile ilişkisini araştırmaktır. Literatürde ESY yolağında bulunan hedef genler ile BH arasındaki etkileşime dair bir veri bulunmamaktadır.

83 BH hastası ile 33 sağlıklı bireye ait monosit RNA bankasındaki örneklerden cDNA sentezi gerçekleştirilerek gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PZR) yöntemi ile *eIF2α*, *PERK*, *HRI*, *HSPB8* ve *ATF4* genlerinin ifade düzeyleri incelenmiştir. Delta Delta Ct ( $\Delta\Delta Ct$ ) yöntemi ile normalize edilen ham veriler, GraphPad Prism 8.0.2 istatistik programı ile analiz edilmiştir.

Kan örneklerinden elde edilen *eIF2α* ( $p<0,0001$ ), *PERK* ( $p=0,0222$ ), *HRI* ( $p=0,0097$ ), *HSPB8* ( $p<0,0001$ ) ve *ATF4* ( $p<0,0001$ ) genlerinin ifadelerinde BH hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı değişiklikler saptanmıştır.

BH'de ESY aktivasyonu, hücrel stres yanıtları için literatür ile uyumludur. Bu çalışma, hedeflenen genlerin ifade düzeylerinin BH patogenezinde araştırıldığı ilk çalışmadır. ESY yolağında bulunan *eIF2α*, *PERK*, *HRI*, *HSPB8* ve *ATF4* gen ifadelerinin BH hastalarında anlamlı seviyede değiştiğini saptanmıştır. Sonuç olarak, *PERK* ve *HRI* aracılı ESY aktivasyonunun BH patogenezinde rol oynadığı ve hastalığın tanı ve tedavisinde hedeflenebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma, İÜBAP tarafından desteklenmiştir. Proje No:36168.

Anahtar Kelimeler: Behçet Hastalığı, ISR, PERK, HRI, ATF4

## The Role of Integrated Stress Response in Behçet's Disease

İrem Coşkun<sup>1</sup>  
Ferda Paçal<sup>1</sup>  
Ahmet Gül<sup>2</sup>  
Sema Sırma Ekmekçi<sup>1</sup>  
Neslihan Abacı<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Aziz Sancar Research Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of Rheumatology, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Activated innate immunity plays an important role in the pathogenesis of Behçet's Disease (BD). Integrated Stress Response (ISR) is one of the signaling pathways that regulates innate immunity. The aim of this study is to investigate the relationship of *eIF2α*, *PERK*, *HRI*, *HSPB8* and *ATF4* in the ISR signaling pathway with BD. There is no data in the literature on the interaction between target genes in the ISR pathway and BD.

The expression levels of *eIF2α*, *PERK*, *HRI*, *HSPB8* and *ATF4* genes were investigated by real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) method by performing cDNA synthesis from monocyte RNA bank samples of 83 BD patients and 33 healthy individuals.

Significant changes were observed in the expression values of *eIF2α* ( $p < 0.0001$ ), *PERK* ( $p = 0.0222$ ), *HRI* ( $p = 0.0097$ ), *HSPB8* ( $p < 0.0001$ ) and *ATF4* ( $p < 0.0001$ ) obtained from blood samples in BD patients compared to healthy controls.

ISR activation in BD is consistent with the literature for cellular stress responses. This is the first study to investigate the expression levels of target genes in the pathogenesis of BD. It was determined that target genes expressions in the ISR pathway changed significantly in BD patients. In conclusion, *PERK* and *HRI*-mediated ISR activation play a role in the pathogenesis of BD and it is thought that it can be targeted in the diagnosis and treatment of the disease.

This present work was supported by IUBAP. Project No: 36168.

Keywords: Behçet's Disease, ISR, PERK, HRI, ATF4

## İnsan Meme Kanseri Hücre Hatlarında Glycyrrhizin'in Antikanser Etkisinin Proteomik Olarak Analizi

Sevgi Gezici

### ÖZET

Glisirizin, Glycyrrhiza glabra Linn. bitkisinin kökünden izole edilen, yüzyıllardır iltihaplanma, alerji ve bazı kanser türlerinin tedavisinde kullanılan bir saponindir. Bu çalışmada, glisirizinin MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine karşı anti-kanser ve antiproliferatif etki mekanizmalarının, proteomik ve biyoinformatik analizlere dayalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. MCF-7 insan meme kanseri hücreleri, %10 fetal sıgır serumu, 100mg/ml streptomisin antibiyotik, %1 L-glutamin ile desteklenmiş DMEM içinde kültüre alınmıştır. Glisirizinin, MCF-7 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi MTT yöntemiyle analiz edilmiştir. Glisirizin ile muamele edilmiş MCF-7 hücrelerindeki apoptotik cisimler ışık mikroskobu ile incelenmiş, ardından PI ve Annexin V boyanan hücreler flow sitometresi ile analiz edilmiştir. Ayrıca, kaspaz-3 aktivitesi kolorimetrik analiz kitleri kullanılarak ölçülmüştür. 2DE kullanılarak proteomik analizler yapılmış ve proteinler MALDI-TOF/TOF-MS ile belirlenmiştir. Peptidleri haritalamak için Maskot arama motorları, Swiss-Prot ve NCBI'nin veri tabanları kullanılmıştır. Proteom analizinden elde edilen protein paternlerinin doğrulanması, Western-blot analizleriyle gerçekleştirilmiştir. Doza bağlı olarak glisirizinle muamele edilen MCF-7 hücrelerinde artan sitotoksikite ve apoptoz gözlenmiştir. TRAIL, kaspaz 3, siklin H, BTG3, HSP70, MAPK13 ve N-glikosil DNA ligaz proteinleri, glisirizinle muamele edilmiş MCF-7 hücrelerinde aşırı eksprese edilmiş proteinler; BCL-2, IL-1 reseptörü, Ruv B-like 2, Src, c-myc ve çinko parmak proteinleri ise glisirizinle muamele edilmiş MCF-7 hücrelerinde düşük eksprese edilmiş proteinler olarak belirlenmiştir. Bu çalışma, glisirizin ile muamele edilmiş ve muamele edilmemiş MCF-7 hücreleri arasındaki proteom farklılıklarını ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, meme kanseri gelişimi ile ilişkili olabilecek bazı proteinlerin ekspresyon seviyeleri hakkında önemli bilgiler sunmaktadır.

Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Gaziantep, Türkiye.

Anahtar Kelimeler: Proteomik, meme kanseri, kütle spektrometrisi, glisirizin, biyoinformatik



## Proteomics Analysis of the Anti-cancer Effect of Glycyrrhizin in Human Breast Cancer Cell Line

Sevgi Gezici

### ABSTRACT

Glycyrrhizin, isolated from the root of *Glycyrrhiza glabra* Linn. Is a saponin that has been currently used for treating inflammation, allergy and some kind of cancers for centuries. In the current research, mechanisms of anti-cancer and antiproliferative effect of glycyrrhizin was aimed to evaluate based on proteomics and bioinformatics analyses against MCF-7 human breast cancer-cells. The cells were cultured in DMEM, supplemented with 10% fetal bovine serum, 100mg/ml streptomycin antibiotics, 1% L-glutamine. Cytotoxic effect of glycyrrhizin against MCF-7 cells was analyzed using MTT assay. Apoptotic bodies in glycyrrhizin-treated MCF-7 cells were examined with a light microscope, and the cells were stained with PI and Annexin V, then the stained cells were analyzed with a flow cytometer. Additionally, caspase-3 activity was measured by colorimetric assay kits. Proteomic analysis was performed using 2DE, and proteins were identified by MALDI-TOF/TOF-MS. Mascot search engines were employed, the Swiss-Prot and NCBI nr data-bases were searched to map the peptides. Western-blot was carried out for validation expression patterns of proteins obtained from proteome analysis. Increased cytotoxicity and apoptosis were observed in glycyrrhizin-treated MCF-7 cells in a dose dependently. TRAIL, caspase 3, cyclin H, BTG3, HSP70, MAPK13, and N-glycosyl DNA lyase were determined the up-regulated proteins, whilst BCL-2, IL-1 receptor, Ruv B-like 2, Src, c-myc and zinc finger proteins were found the down-regulated proteins in glycyrrhizin-treated MCF-7 cells. This study revealed proteome level differences between glycyrrhizin-treated and -untreated MCF-7 cells. The findings provide valuable information about the expression levels of some proteins may be associated to breast cancers.

Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep, Turkey.

Keywords: Proteomics, breast cancer, mass spectrometry, glycyrrhizin, bioinformatics

## COVID-19 hastalarında tedavi öncesindeki ve tedavi sonrasındaki ghrelin seviyelerinin araştırılması

Ceyhan Hacıoğlu  
Fatih Davran

### ÖZET

Koronavirus hastalığı-2019 (COVID-19), şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2'nin (SARS-CoV-2) neden olduğu viral bir enfeksiyondur. COVID-19 enfeksiyonu ACE2 reseptörleri üzerinde hedef hücreleri istila ederek tat ve koku alma kaybı, sitokin fırtınası ve oksidatif hasara neden olmaktadır. Ghrelin, nöroendokrin mekanizmalarla birlikte hipotalamusu ve hipokampusu etkileyerek besin alımı, nörojenez ve tat alma gibi birçok fonksiyon üzerinde etkilidir. Bu çalışmada, COVID-19'lu hastalardaki tedavi öncesindeki ve sonrasındaki ghrelin seviyelerinde değişimi araştırmayı amaçladık.

Polimeraz zincir reaksiyonu ve bilgisayarlı tomografisi pozitif olan 40 (20 kadın ve 20 erkek) COVID-19'lu hasta çalışmaya dahil edildi. Bu hastalardan hastaya yattıkları gün ve taburcu oldukları gün kan alındı. Bu hastaların serum numularında ghrelin, tümör nekroz faktör alfa (TNF $\alpha$ ) ve total oksidan (TOS) seviyeleri ELİSA yöntemi ile ölçüldü.

Tedavi öncesi ghrelin seviyeleri (551,6 $\pm$ 32.5 pg/ml), tedavi sonrası ghrelin seviyelerine (785,2 $\pm$ 49,3 pg/ml) göre artış gösterdi. ELİSA sonuçlarına göre, tedavi sonrada COVID-19'lu hastaların ghrelin seviyeleri %42,8 oranında artış göstermiştir (p <0,0001). Öte yandan, hastalarda tedavi öncesi TNF $\alpha$  ve TOS düzeyleri tedavi sonrası değerlere göre sırasıyla %40,7 ve %55,2 azalmıştır (p<0,0001).

Sonuçlarımız COVID-19'lu hastalarda tedavi sonrasında ghrelin seviyeleriyle birlikte inflamatuvar ve oksidatif mekanizmalarda önemli değişikliklerin olduğunu göstermiştir. Ghrelin COVID-19 komplikasyonları için anti-inflamatuvar ve anti-oksidan etkileri sayesinde potansiyel bir terapötik olabilir.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, ghrelin, inflamasyon, oksidatif stres

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya  
Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye.

## Investigation of ghrelin levels pre- and post-treatment in COVID-19 patients

Ceyhan Hacıoğlu  
Fatih Davran

### ABSTRACT

Coronavirus disease-2019 (COVID-19) is a viral infection caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. COVID-19 infection causes loss of taste and smell, cytokine storm and oxidative damage by invading target cells on ACE2 receptors. Ghrelin affects many functions such as food intake, neurogenesis and taste by affecting the hypothalamus and hippocampus together with neuroendocrine mechanisms. In this study, we aimed to investigate the change in ghrelin levels before and after treatment in patients with COVID-19.

Forty COVID-19 patients (20 women and 20 men) with positive polymerase chain reaction and computed tomography, were included in the study. Blood was drawn from these patients on the day of hospitalization and discharge. In serum samples of these patients, ghrelin, tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ) and total oxidant (TOS) levels were measured by ELISA method.

The pre-treatment ghrelin levels ( $551.6 \pm 32.5$  pg/ml) showed an increase compared to the post-treatment ghrelin levels ( $785.2 \pm 49.3$  pg/ml). According to the ELISA results, the ghrelin levels of patients with COVID-19 enhanced by 42.8% after post-treatment ( $p < 0.0001$ ). On the other hand, when the pre-treatment TNF $\alpha$  and TOS levels in the patients reduced by 40.7% and 55.2%, compared with the post-treatment values, respectively ( $p < 0.0001$ ).

Our results showed that there are significant changes in inflammatory and oxidative mechanisms along with ghrelin levels after treatment in patients with COVID-19. Ghrelin could be a potential therapeutic for COVID-19 complications thanks to its anti-inflammatory and anti-oxidant effects.

Keywords: COVID-19, ghrelin, inflammation, oxidative stress

Duzce University, Faculty of Medicine, Department of  
Medical Biochemistry, Duzce, Turkey.

## Spinal müsküler atrofi hastalarının fibroblastlarında mikrotübül stabilitesi ile ilişkili alfa tübülün post-translasyonel modifikasyonların araştırılması

Pelin Zobaroglu Özer  
Hayat Erdem Yurter  
Gamze Bora

### ÖZET

Spinal müsküler atrofi (SMA), motor nöron kaybı ve kas atrofisi ile karakterize olan, çoğunlukla çocukları etkileyen otozomal resesif kalıtılan nörodejeneratif bir hastalıktır. Survival of motor neuron 1 (SMN1) genindeki delesyonlar, tüm hücrelerde sentezi bulunan SMN proteininin kaybına neden olmaktadır. SMN eksikliğinde, hücre iskeletinin tüm elemanlarında hatalar bulunmakta olup, SMA modelleri ile gerçekleştirdiğimiz önceki çalışmalarda, mikrotübül-asosiye proteinlerin ifadelerinde ve alfa ( $\alpha$ ) tübülün proteininin post-translasyonel modifikasyonlarında değişiklikler saptanarak mikrotübül stabilitesinin azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, farklı ciddiyetteki iki SMA hastasına (tip I ve II) ait fibroblast hücrelerinde mikrotübül stabilitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu hücrelerde, mikrotübül stabilite belirteçleri olan asetillenmiş ve detirozinlenmiş  $\alpha$ -tübülün düzeyleri Western blot yöntemiyle araştırılmıştır.

Hasta hücrelerde detirozinlenmiş  $\alpha$ -tübülün düzeyinde anlamlı bir değişiklik saptanmazken, asetillenmiş  $\alpha$ -tübülün düzeyinin, özellikle tip I hasta hücrelerinde kontrol hücrelere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde 1.7 kat azaldığı gösterilmiştir ( $p<0.05$ ). Hücrelerdeki temel tübülün deasetilaz olan HDAC6 düzeyi de aynı yöntemle analiz edilmiş, tip I hasta hücrelerinde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde 1.3 katlık bir artış saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Bu hücrelerle gerçekleştirilen immünfloresan boyama çalışmaları, asetilli  $\alpha$ -tübülünün floresan şiddetinin özellikle çekirdek etrafında anlamlı şekilde azaldığını göstermiştir ( $p<0.0001$ ). Asetilli stabil mikrotübül ağ yapısı Sholl analizi ile incelendiğinde, tip I hastalarda kontrole göre ağ yapısının bozulduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Bulgularımız, hasta hücrelerinde meydana gelen HDAC6 ifade artışının stabil mikrotübül belirteci olan  $\alpha$ -tübülünün asetilasyonunda azalmaya neden olduğunu göstermiş olup stabilite kaybında rolü olabileceğine işaret etmiştir.

Sonuçlarımız SMA hastalığında görülen mikrotübül hatalarının moleküler mekanizmasının anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından desteklenmiştir (Proje No:TYL-2019-18351)

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından desteklenmiştir (Proje No: TYL-2019-18351).

Anahtar Kelimeler: Spinal müsküler atrofi, mikrotübül stabilitesi, tübülün post-translasyonel modifikasyonları

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

## Investigation of alpha tubulin post-translational modifications associated with microtubule stability in fibroblasts of spinal muscular atrophy patients

Pelin Zobaroglu Ozer  
Hayat Erdem Yurter  
Gamze Bora

Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Turkey

### ABSTRACT

Spinal muscular atrophy (SMA) is an autosomal recessive neurodegenerative disease predominantly affecting children. Deletions in Survival of motor neuron 1 (SMN1) gene lead to the absence of ubiquitously expressed SMN protein, which results in lower motor neuron loss in the spinal cord and progressive muscle atrophy. SMN deficiency causes alterations in all cytoskeletal elements. We previously showed significant alterations in microtubule-associated proteins as well as alpha ( $\alpha$ ) tubulin post-translational modifications and demonstrated reduced microtubule stability in SMA models. In this study, we utilized fibroblast cells of two different SMA patients (type I and II) to investigate microtubule stability.

Acetylated and detyrosinated  $\alpha$ -tubulin levels were analyzed as stability markers by Western blot.

We did not detect significant alterations in detyrosinated  $\alpha$ -tubulin levels, however, a prominent decrease was found in acetylated  $\alpha$ -tubulin levels in patient cells, especially in type I, compared to controls (1.7 fold,  $p < 0.05$ ). Moreover, we detected significant increase in the level of major tubulin deacetylase, HDAC6, in type I cells (1.3 fold,  $p < 0.05$ ). Subsequent immunofluorescence analysis showed that fluorescence intensity of acetylated  $\alpha$ -tubulin was significantly decreased in the perinuclear area, besides, Sholl analysis indicate that acetylated microtubule network is impaired in type I cells ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ). Our results suggest that HDAC6 upregulation leads to the loss of  $\alpha$ -tubulin acetylation which may contribute to impaired microtubule stability in SMA.

Our findings will help to understand underlying mechanisms of microtubule dysregulations in SMA.

This study is supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit (Project number:TYL-2019-18351)

Keywords: Spinal muscular atrophy, microtubule stability, post-translational tubulin modifications

## Osteosarkomların metastatik potansiyeli ile in vitro biyolojik özellikleri arasındaki ilişkinin incelenmesi

Sezen Atasoy<sup>1</sup>  
Tuğçe Kıran<sup>2</sup>  
Sema Sırma Ekmekçi<sup>3</sup>  
Ayhan Deviren<sup>4</sup>

### ÖZET

Osteosarkom (OS), primitif osteojenik mezenkim kökenli primer kemik tümörüdür. OS hastalarında metastaz en önemli mortalite sebebidir ve tedavisinde kemoterapi yetersizdir. Sağkalımların yükseltilmesi için etkili hedef moleküllerin belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla, hücre bölünmesinde rol oynayan sitokinezin protein düzenleyicisi 1'in (PRC1) tümör transformasyonunu indüklemeye ve proliferasyon üzerindeki etkisi araştırılarak, hastalığın gelişimi ve ilerlemesindeki öneminin belirlenmesi amaçlandı.

PRC1 gen ve protein ekspresyon seviyeleri OS ve metastatik OS (MOS) hastalarının parafin gömülü dokularında qRT-PCR ve immünohistokimya yöntemleriyle karşılaştırıldı, genel sağkalım analizleri yapıldı. PRC1 genini içeren 15. kromozomun sayısal anomalileri FISH yöntemiyle belirlendi. In vitro deneylerle Saos-2 ve hFOB1.19 hücrelerinde PRC1 geni susturulup, hücre döngüsü, canlılığı, migrasyonu, invazyonu ve apoptoz üzerindeki etkileri immüno blotlama, akım sitometri ve floresan mikroskopisi analizleri ile belirlendi.

Normal ve tümör dokuları (n=17) karşılaştırıldığında, PRC1 gen ve protein ekspresyonlarındaki artış istatistik olarak anlamlı (sırasıyla p<0,0001 ve p=0,0011) bulundu. Metastatik hastalardaki ekspresyon seviyelerinin daha yüksek olduğu ve artmış ekspresyon seviyelerinin kısa sağkalım süresi ile ilişkili olduğu gözlemlendi. Olguların %43'ünde 15. kromozomda sayısal artış görüldü. In vitro deneylerde PRC1 susturulmasının tümör hücrelerinin canlılığını ve invazyonunu azalttığını, G2/M fazında birikmenin ve apoptozun indüklendiğini gösterdi.

İncelediğimiz OS olgularında, PRC1'in aşırı ekspresyonunun hem mRNA hem de protein seviyeleri ile ilişkili olması OS'de agresif tümör gelişimi ve kötü prognozla bağlantısını göstermektedir. Sitokinezde önemli rol oynayan PRC1'in yokluğunda ise tümör hücrelerinin proliferasyonunun baskılanması ve apoptozla gitmesi özellikle invazyon ve metastazda önemli rol oynadığını düşündürmektedir. Klinikopatoloji ve metastaz ile ilişkisinin gösterilmesiyle PRC1'in OS'de prognostik bir belirteç ve yeni tedavi stratejileri için potansiyel taşıdığı gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Osteosarkom, Metastaz, Prognoz

<sup>1</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>4</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

## Investigation of the relationship between metastatic potential and in vitro biological properties of osteosarcomas

Sezen Atasoy<sup>1</sup>  
Tuğçe Kıran<sup>2</sup>  
Sema Sırma Ekmekçi<sup>3</sup>  
Ayhan Deviren<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Istanbul.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Istanbul.

<sup>3</sup>Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul.

<sup>4</sup>Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul.

### ABSTRACT

Osteosarcoma (OS) is a primary bone tumor originating from primitive osteogenic mesenchymal cells. Metastasis is an important cause of mortality in patients and chemotherapy is insufficient. Effective target molecules need to be identified to increase survival. For this purpose, the effect of Protein Regulator Of Cytokinesis 1 (PRC1), which plays roles in cell division, on inducing tumor transformation and proliferation was aimed to determine.

PRC1 gene and protein expression levels were compared in OS tissues by qRT-PCR and immunohistochemistry, also survival analyzes were performed. Numerical abnormalities of chromosome 15 were determined by FISH. PRC1 was silenced in Saos-2 and hFOB1.19 cells and cell cycle, viability, migration, invasion and apoptosis were determined using immunoblot, flow cytometry and fluorescence microscopy.

The comparison of OS tissues (n=17) showed that PRC1 gene and protein overexpressions was statistically significant ( $p < 0.0001$  and  $p = 0.0011$ , respectively). It was observed that expression levels were higher in metastatic patients and increased expression levels were associated with shorter survival time. Numerical increase in chromosome 15 was seen in 43% of the cases. In vitro experiments showed that silencing PRC1 reduced the viability and invasion of tumor cells, induced G2/M arrest and apoptosis.

Examined OS cases revealed that the overexpression of PRC1 is associated with aggressive tumor development and poor prognosis. In the absence of PRC1, which plays an important role in cytokinesis, suppression of proliferation and apoptosis of tumor cells suggested that it has an important role in invasion and metastasis. With its relevance to clinicopathology and metastasis, PRC1 has been shown to be a prognostic marker and potential for new treatment strategies in OS.

Keywords: Osteosarcoma, Metastasis, Prognosis

## Hedefli ilaç/gen içeren biyonanoprobların hazırlanması ve tedavi edici potansiyellerinin araştırılması

Sezen Atasoy<sup>1</sup>  
Beyza Göncü<sup>2</sup>  
Gülşah Yiğit Erdem<sup>3</sup>  
Pınar Sinem Omurtag Özgen<sup>4</sup>  
Aydan Dağ<sup>5</sup>

### ÖZET

Meme kanseri kadınlarda en sık rastlanan kanser olmasına rağmen farklı alt tipleri ve ilaç direnci tedavisini zorlaştırmaktadır. Konvansiyonel kemoterapötiklerin seçiciliğinin olmaması ve ciddi yan etkileri, hedefli ilaç ve taşıyıcı sistem uygulamalarının önünü açmıştır. Bu sebeple; çalışmamızda yeni, biyoaktif bileşenlerle etiketlenmiş ve biyoyumlu bir nanoplatform hazırlanarak tedavi için ideal ilaç/gen taşıma sistemi geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Biyoyumlu, biyobozunur, yüksekgen (anti-Bcl2-siRNA) ve kemoterapötik (doksorubisin; Dox) taşıma kapasitesine sahip, glikopeptid polimerlerle kaplanmış hedefli nanopartiküller (NP) hazırlandı, karakterizasyonu gerçekleştirildi. Östrojene duyarlı (MCF7) ve duyarsız (MDA-MB-231) hücre hatlarında tedavi edici potansiyellerinin belirlenmesi için hücre içi alım ve apoptotik profiller; floresans mikroskopisi ve akım sitometrisiyle, taşıma potansiyelleri; qRT-PCR ve Western blot ile, sitotoksiteleri ise MTT metoduyla araştırıldı.

Hücre içi alımın 6. saatte başladığı ve 12. saatte %70'e ulaştığı gözlemlendi. siRNA-hedefli-NP'lere konjuge edilen Dox'un internalizasyonunun arttığı, hücreleri apoptoza yönlendirdiği ve yalnızca siRNA ile Dox uygulanan gruplarla kıyaslandığında, siRNA-hedefli-NP'lerin istatistiksel olarak anlamlı şekilde Bcl-2 gen ve protein ekspresyonunu baskıladığı ( $p < 0,0001$ ) gözlemlendi. IC50 değerinden beş kat daha az olan dozun NP ile daha spesifik etki gösterdiği ve Bcl-2 gen bölgesini hedefleyerek anti-apoptotik genin aktivitesini baskıladığı bulundu.

Meme kanseri hücrelerinde anti-apoptotik direnç oluşturan Bcl-2 geninin siRNA'yla baskılanması sonucu, dirençleri azalan kanser hücrelerinin NP'lere yüklenmiş Dox ile etkili bir şekilde apoptoza yönlendirilmesi sağlandı. Tedavide, hedefli ikili taşıma sisteminin antikanser etkinliğinin yalnızca Dox'a göre üstünlüğü ortaya konuldu. İlaç taşıyıcı sistemlerin hedeflenen kanser hücrelerinde kontrollü olarak etken maddelerini bırakmaları ve hücre öldürme yetisini arttırmaları multifonksiyonel uygulamalarını sağlamakta, güvenli ve etkili birer kanser tedavi aracı olarak kullanılmalarına izin vermektedir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, ilaç taşıyıcı sistemler, doksorubisin, glikopeptid polimerler, GLUT

<sup>1</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Sağlık Hizmetleri ve Teknikleri Bölümü, İstanbul.

<sup>3</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Programı, İstanbul.

<sup>4</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>5</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.



## Development of targeted drug/gene bio-nanoprobes and investigation of their therapeutic potential

Sezen Atasoy<sup>1</sup>  
Beyza Göncü<sup>2</sup>  
Gülşah Yiğit Erdem<sup>3</sup>  
Pınar Sinem Omurtag Özgen<sup>4</sup>  
Aydan Dağ<sup>5</sup>

### ABSTRACT

Breast cancer is a common cancer among women, although different subtypes and drug resistance complicates treatment. The lack of selectivity and serious side effects of conventional chemotherapeutics lead researchers for targeted drug and delivery system approaches. In our study, it was aimed to develop an ideal drug/gene delivery system by preparing a new, biocompatible nanoplateform labeled with bioactive components.

Targeted nanoparticles (NP) coated with glycopeptide polymers, which are biocompatible, biodegradable, carrying gene (anti-Bcl2-siRNA) and chemotherapeutic (doxorubicin; Dox) were prepared and characterized. Therapeutic potential in estrogen-sensitive (MCF7) and insensitive (MDA-MB-231) cell lines were determined. Intracellular uptake and apoptosis by fluorescence microscopy and flow cytometry, cytotoxicity by MTT and targeting abilities by qRT-PCR and Western blot were investigated.

It was observed that intracellular uptake started at 6th hour and reached 70% at 12th. Dox-conjugated siRNA-targeted-NPs increased internalization, driven cells to apoptosis, and siRNA-targeted-NPs significantly suppressed Bcl-2 gene and protein expression compared to only siRNA-only Dox groups ( $p < 0.0001$ ). It was found that five times less dose had more specific effect with NPs and suppressed the activity of the anti-apoptotic gene by targeting the Bcl-2 gene region.

Suppression of the Bcl-2 gene with Dox-carrying NPs reduced drug-resistance and directed cells to apoptosis. The anticancer efficacy of the targeted dual delivery system was demonstrated to be superior than Dox alone. Drug delivery systems releasing their active substances in targeted cancer cells in a controlled manner and increasing cell-killing ability provides multifunctional applications and allows them to be used as a safe and effective cancer treatment tool.

**Keywords:** Breast cancer, drug delivery systems, doxorubicin, glycopeptide polymers, GLUT

<sup>1</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Istanbul.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakif University, Vocational School of Health Services, Department of Medical Services and Techniques, Istanbul.

<sup>3</sup>Bezmialem Vakif University, Institute of Health Sciences, Department of Biotechnology, Istanbul.

<sup>4</sup>Istanbul Medipol University, Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, Istanbul.

<sup>5</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Istanbul.

## Akalazyaya hastalığının özofagus epitel özelliklerinin elektrofizyolojik ve moleküler yöntemler ile belirlenmesi

Sezgi Kıpçak<sup>1</sup>  
Pelin Ergün<sup>2</sup>  
Nur Selvi Günel<sup>1</sup>  
Serhat Bor<sup>3</sup>

### ÖZET

İdiopatik akalazyaya, insidansı 1-10/100.000 olan nadir bir hastalıktır. Hastalığın etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış olup, bugüne kadar yapılan çalışmalarda, genetik olarak eğilimli kişilerde otoimmunitiyi artıran nedenlerle ile başladığı öne sürülmüştür. Araştırmanın amacı akalazyanın özofagus epitel bariyer fonksiyonunu elektrofizyolojik ve moleküler yöntemler ile değerlendirmek ve hücre sinyalizasyonunda önemli sinyal yollarının akalazyaya hastalığındaki aktivasyon durumlarını belirlemektir.

Çalışmaya 37 (14E- 23K) akalazyaya hastası ve 15 (9E-6K) sağlıklı gönüllü (SG) dahil edilmiştir. Araştırma gruplarının endoskopileri sırasında 7 özofagus biyopsisi alınmış, 4 tanesi ile ussing çember sistemi kullanılarak doku direnci ve permeabilite ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Alınan diğer biyopsiler ise 150 genin ve 15 proteinin ekspresyon düzeylerini incelenmesinde kullanılmıştır. Gen ekspresyon düzeyleri qRT-PCR yöntemi, protein düzeyleri ELISA ve Multiplex ELISA yöntemleri ile belirlenmiştir.

Akalazyaya hastalarının (187,3  $\Omega$ ; 35,76 pmol) doku dirençleri ve permeabilite özellikleri SG (166,8  $\Omega$ ; 36,9 pmol) grubuyla benzer bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Epitel bariyer fonksiyonunda önemli olduğu bilinen sıkı bağlantı noktaları ile ilişkili gen ekspresyon seviyeleri incelendiğinde ise (CDH1, TJP1, TJP2, CLDN1, CLDN4, OCLN) SG'lere kıyasla anlamlı yüksek ekspresyon edilmiştir. Hücre sinyalizasyonu ile ilişkili genlerin 25 tanesinde iki grup arasında anlamlı ekspresyon farkı mevcuttur (Şekil). Hücre sinyalizasyonu ile ilişkili 6 proteinin ekspresyon düzeyleri akalazyaya hastalarında anlamlı düşük düzeydedir (Tablo). Bu veriler ışığında hücre sinyalizasyonunda önemli olduğu bilinen MAPK, PI3K/AKT/mTOR ve JAK/STAT yollarının akalazyaya hastalarında SG'lere kıyasla daha az aktif olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamız akalazyaya özofagus epitelinin elektrofizyolojik ve moleküler özelliklerinin detaylı olarak araştırıldığı ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Bu nedenle akalazyaya gibi nadir görülen bir hastalığın moleküler düzeydeki araştırmalarına katkı sağlayacağı görüşüdeyiz.

Anahtar Kelimeler: Akalazyaya, özofagus epiteli, doku direnci

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir.

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, İzmir.

## Determination of esophageal epithelial properties of achalasia disease by electrophysiological and molecular methods

Sezgi Kıpçak<sup>1</sup>  
Pelin Ergün<sup>2</sup>  
Nur Selvi Günel<sup>1</sup>  
Serhat Bor<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Idiopathic achalasia is a rare disease with an incidence of 1-10/100,000. The etiopathogenesis of the disease has not been fully elucidated, and it has been suggested in studies to date that it starts with reasons that increase autoimmunity in genetically predisposed individuals. The aim of the study is to evaluate the esophageal epithelial barrier function of achalasia by electrophysiological and molecular methods and to determine the activation states of important cell signaling pathways in achalasia.

37 achalasia patients and 15 healthy volunteers (HV) were included in the study. 7 esophageal biopsies were taken, and tissue resistance and permeability measurements were performed with 4 of them using the ussing chamber system. Other biopsies taken were used to examine gene and protein expression levels. Gene expression levels were determined by the qRT-PCR method, protein levels were examined by ELISA and Multiplex ELISA methods.

Tissue resistance and permeability characteristics of patients with achalasia were similar to HVs ( $p>0.05$ ). There was a significant difference in expression between the two groups in 25 of the genes associated with cell signaling (Figure). Expression levels of 6 proteins associated with cell signaling are significantly lower in achalasia patients (Table). According to these data, it was concluded that MAPK, PI3K/AKT/mTOR and JAK/STAT pathways, are less active in achalasia patients compared to HVs.

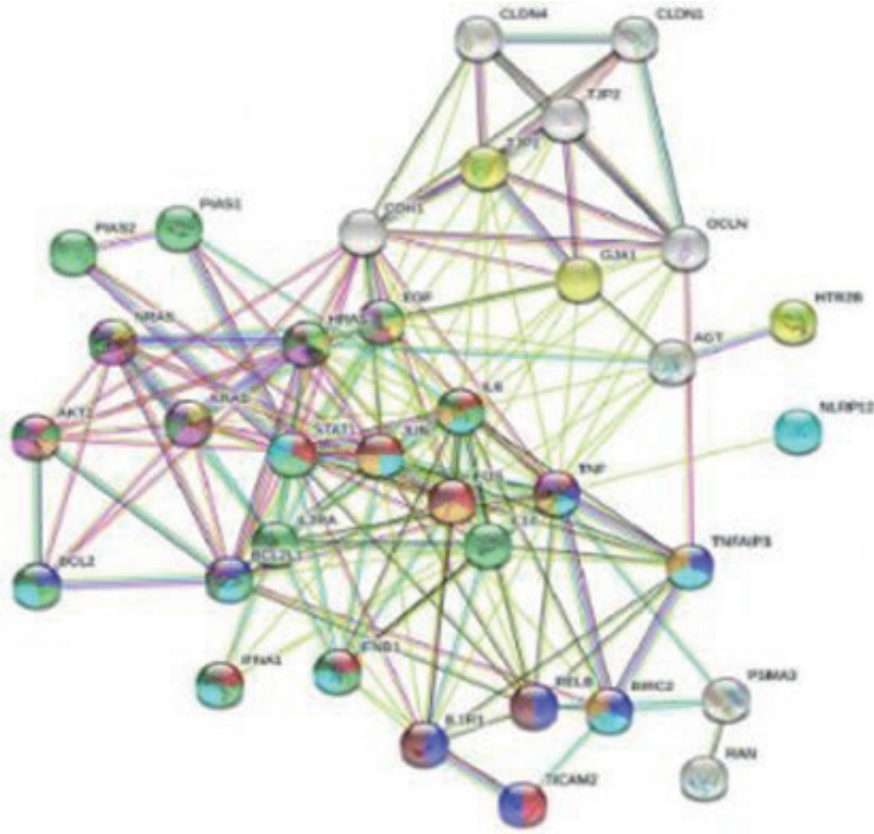
Our study is the first to investigate the properties of the achalasia esophageal epithelium in detail. For this reason, we believe that our study will contribute the achalasia molecular studies.

Keywords: Achalasia, esophageal epithelium, tissue resistance

<sup>1</sup>Ege University Medical School, Department of Medical Biology, İzmir.

<sup>2</sup>Ege University Medical School, Department of Medical Biochemistry, İzmir.

<sup>3</sup>Ege University Medical School, Department of Gastroenterology, İzmir.



Yolak No	Yolak Adı	Gen Sayısı	Yanlış Saptama Oranı
hsa04620	Toll Like Reseptör	9	4.93e-12
hsa04064	NF-kappa B	8	9.98e-11
hsa04630	Jak-STAT	13	8.57e-17
hsa04540	Gap Junction	7	2.57e-09
hsa04621	NOD-like Reseptör	11	2.26e-13
hsa04668	TNF sinyalizasyon	7	8.03e-09
hsa04010	MAPK	10	8.51e-10
hsa04150	mTOR	5	1.63e-05
hsa04151	PI3K-Akt	11	2.07e-10
hsa04014	Ras	6	8.12e-06

**Şekil 1.** Akalazya ve sağlıklı gönüllü grupları arasından ekspresyon farkı olan hücre sinyalizasyonu ile ilişkili genlerin STRING yolak analizi

**Figure 1.** STRING pathway analysis of cell signaling-related genes with a difference in expression between groups of achalasia and healthy volunteers

**Tablo 1.** Araştırma grupları arasında, gen ve protein düzeyinde anlamlı fark olan moleküller

Gen	Kat Değişimi	p Değeri
CDH1	3,81	0,002
TJP1	3,85	0,001
TJP2	5,90	0,003
CLDN1	3,40	0,023
CLDN4	3,28	0,046
OCLN	2,97	0,045
BCL2L1	31,72	0,047
IFNA1	25,82	0,036
IL10	20,58	0,026
IFNB1	17,72	0,030
NLRP12	16,87	0,034
IL6	13,05	0,035
IL2RA	8,21	0,044
IL1R1	5,73	0,012
AGT	4,89	0,040
RELB	4,16	0,033
HTR2B	3,76	0,015
AKT2	3,62	0,038
TICAM2	3,44	0,042
TNFAIP3	2,98	0,041
BIRC2	2,61	0,015
BCL2	2,44	0,024
GJA1	2,45	0,001
TNF	2,42	0,049
EGF	-2,74	0,019
RAN	-2,95	0,049
FOS	-3,49	0,006
PSMA3	-3,73	0,008
NRAS	-3,77	0,005
HRAS	-4,01	0,001
STAT1	-5,72	0,045
Protein	Akalazya-Sağlıklı Gönüllü	p Değeri
TJP2 (ng/ml)	2,61 - 1,06	0,001
AKT (Ser 473) (FI)	18 - 19,75	0,009
c-Jun (Ser 63) (FI)	31,0 - 50,5	0,001
ERK1/2 (Th202/Tyr204) (FI)	32,5 - 48,75	0,021
IκB-α (Ser32/Ser36) (FI)	21,0 - 76,5	0,001
MEK1 (Ser217/Ser221) (FI)	13 - 102,5	0,001
mTOR (ser2448) (FI)	23,0 - 72,5	0,001

**Table 1.** Molecules with significant differences in gene and protein levels between research groups

Gene	Fold Change	p Value
CDH1	3.81	0.002
TJP1	3.85	0.001
TJP2	5.90	0.003
CLDN1	3.40	0.023
CLDN4	3.28	0.046
OCLN	2.97	0.045
BCL2L1	31.72	0.047
IFNA1	25.82	0.036
IL10	20.58	0.026
IFNB1	17.72	0.030
NLRP12	16.87	0.034
IL6	13.05	0.035
IL2RA	8.21	0.044
IL1R1	5.73	0.012
AGT	4.89	0.040
RELB	4.16	0.033
HTR2B	3.76	0.015
AKT2	3.62	0.038
TICAM2	3.44	0.042
TNFAIP3	2.98	0.041
BIRC2	2.61	0.015
BCL2	2.49	0.024
GJA1	2.45	0.001
TNF	2.42	0.049
EGF	-2.74	0.019
RAN	-2.95	0.049
FOS	-3.49	0.006
PSMA3	-3.73	0.008
NRAS	-3.77	0.005
HRAS	-4.01	0.001
STAT1	-5.72	0.045
Protein	Achalasia-Healthy Volunteer	p Value
TJP2 (ng/ml)	2.61 - 1.06	0.001
AKT (Ser 473) (FI)	18 - 19.75	0.009
c-Jun (Ser 63) (FI)	31.0 - 50.5	0.001
ERK1/2 (Th202/Tyr204) (FI)	32.5 - 48.75	0.021
I $\kappa$ B- $\alpha$ (Ser32/Ser36) (FI)	21.0 - 76.5	0.001
MEK1 (Ser217/Ser221) (FI)	13 - 102.5	0.001
mTOR (ser2448) (FI)	23.0 - 72.5	0.001

## Resveratrol ile önkoşullamanın ardından FL118 uygulamasının üçlü negatif meme kanseri hücre dizilerinde epitelyal mezenkimal geçiş üzerindeki etkisi

Atiye Seda Yar Sağlam<sup>1</sup>  
Handan Kayhan<sup>2</sup>  
Ebru Alp<sup>3</sup>  
Hacer İlke Önen<sup>1</sup>

### ÖZET

Yeni bir kamptotesin sentetik türevi olan FL118'in antitümör aktivitesi irinotekan ve topotekan gibi FDA onaylı diğer kamptotesin analoglarından çok daha üstündür. Bu nedenle, Resveratrol (RSV)'ün insan üçlü negatif meme kanseri (TNBC) hücrelerini FL118 ile indüklenen hücre ölümüne, epitelyal mezenkimal geçişe (EMT), invazyona ve migrasyona karşı duyarlı hale getirip getiremeyeceğini araştırmayı amaçladık.

RSV ve FL118'in MDA-MB-436 ve MDA-MB-468 hücreleri üzerindeki sıralı uygulamasının etkileri, hücre canlılığı, sitotoksitesite, apoptoz, hücre döngüsü dağılımı, aktif kaspaz-3/7 seviyeleri, göç ve istila açısından değerlendirildi. Ayrıca EMT ile ilişkili genlerin ve proteinlerin mRNA ve protein seviyeleri de değerlendirildi.

RSV ve FL118'in sıralı uygulanması, her iki TNBC hücre hattında hücre canlılığını inhibe etti. Bu arada, RSV ve FL118'in sıralı uygulanması da göç ve istila yeteneklerini önemli ölçüde azalttı, ayrıca her iki TNBC hücrelerinde de EMT sürecini tersine çevirdi. Ayrıca, RSV ve FL118'in sıralı uygulanması, apoptotik hücrelerin yanı sıra aktif kaspaz-3/7 seviyelerinde önemli bir artışa yol açtı, TNBC hücrelerinin G1 fazında birikmesine neden oldu ve N-cadherin,  $\beta$ -katenin, Vimentin, Snail ve Slug'un mRNA ve protein seviyelerini ve ayrıca E-cadherin genlerinin mRNA ve protein ifadenme düzeylerini arttırırken, Fibronektin, Twist1, Twist2, Zeb1 ve Zeb2 genlerinin mRNA seviyelerini önemli ölçüde aşağı regüle etti.

RSV, apoptozu, migrasyonu, invazyonu ve EMT'yi kolaylaştırarak ve FL118'in hücre içi tutulmasını artırarak TNBC hücrelerini FL118'e duyarlı hale getirdi. Sonuçlarımız, bir duyarlılaştırıcı olarak FL118 ile birleştirilen RSV'nin, TNBC hücrelerinde antikanser tedavisinin etkinliğini artırmak için yeni bir strateji olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Epitelyal mezenkimal geçiş, FL118, Resveratrol, Üçlü Negatif Meme Kanseri

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara, Türkiye.

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Erişkin Hematoloji Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara, Türkiye.

<sup>3</sup>Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun, Türkiye.

## Effect of FL118 administration after preconditioning with Resveratrol on epithelial to mesenchymal transition in triple negative breast cancer cell lines

Atiye Seda Yar Sağlam<sup>1</sup>  
Handan Kayhan<sup>2</sup>  
Ebru Alp<sup>3</sup>  
Hacer İlke Önen<sup>1</sup>

### ABSTRACT

FL118, a novel camptothecin synthetic derivative, antitumor activity is much superior to that of FDA-approved other analogs of camptothecin, such as irinotecan and topotecan. Therefore, we aimed to investigate whether resveratrol (RSV) could sensitize human triple-negative breast cancer (TNBC) cells to FL118-induced cell death, epithelial to mesenchymal transition (EMT), invasion, and migration.

The effects of sequential administration of RSV and FL118 on MDA-MB-436 and MDA-MB-468 cells were evaluated in terms of cell viability, cytotoxicity, apoptosis, cell cycle distribution, active caspase-3/7 levels, migration and invasion. Furthermore, mRNA and protein levels of EMT associated genes were determined.

The viability in both TNBC cells decreased significantly after sequential administration of RSV and FL118. Moreover, sequential administration of RSV and FL118 also considerably reduced the migratory and invasive capabilities, and also reversed the EMT process in both TNBC cells. Additionally, sequential administration of RSV and FL118 led to a significant increase of apoptotic cells and active caspase-3/7 levels, TNBC cells accumulating in the G1 phase, and markedly suppressed the mRNA and protein levels of N-cadherin,  $\beta$ -catenin, Vimentin, Snail, and Slug, and also significantly downregulated mRNA levels of Fibronectin, Twist1, Twist2, Zeb1, and Zeb2 genes, while enhanced the mRNA and protein levels of E-cadherin genes.

RSV sensitized TNBC cells to FL118 via facilitating apoptosis, migration, invasion, and EMT and enhancing intracellular entrapment of FL118. Our results suggest that RSV, combined with FL118, as a sensitizer may be a new strategy to augment the efficacy of anticancer therapy in TNBC cells.

**Keywords:** Epithelial to mesenchymal transition, FL118, Resveratrol, Triple Negative Breast Cancer

<sup>1</sup>Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Gazi University, Besevler, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Adult Hematology, Faculty of Medicine, Gazi University, Besevler, Ankara, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Giresun University, Giresun, Turkey.



## Alzheimer Hastalığında mir24-3p ve mir26-5p Ekspresyon Düzeylerinin Endotel ve Trombosit Fonksiyonları Üzerine olan Etkisinin İncelenmesi

Güsel Ayaz<sup>1</sup>  
 Pelin Sordu<sup>1</sup>  
 Merve Alaylıoğlu<sup>1</sup>  
 Bedia Samancı<sup>2</sup>  
 Başar Bilgiç<sup>2</sup>  
 Haşmet Ayhan Hanağası<sup>2</sup>  
 Hakan Gürvit<sup>2</sup>  
 Duygu Gezen Ak<sup>1</sup>  
 Erdiç Dursun<sup>3</sup>  
 Turgut Ulutin<sup>1</sup>

### ÖZET

Alzheimer Hastalığı (AH)'nın patofizyolojisinde vasküler risk faktörlerinin önemli rol aldıkları ve trombositlerin bu süreçte etkili oldukları ileri sürülmektedir. Bu çalışmada Alzheimer hastalarında ve sağlıklı bireylerde trombosit fonksiyonlarını ve trombositlerin endotel ile olan ilişkisini belirlemek amacıyla von Willebrand Faktör (VWF) ile Glikoprotein 1b (GP-1b) proteinlerinin plazma düzeyini araştırmayı planladık. Trombosit ve endotel arasında ilişki kuran GP-1b proteininin aktivasyonunun düzenlenmesini moleküler seviyede incelemek için bu yolakta etkili olabileceğini düşündüğümüz miRNA'lerden mir26a-5p ve von Willebrand Faktör'ü moleküler seviyede araştırmak için mir24-3p miRNA'larının düzeylerini qRT-PCR ile belirleyip, hastalıkla olan ilişkilerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Trombosit fonksiyonları, ADP uyararı verilerek lumiagregometre cihazı ile çalışılmıştır. Plazma vWF ve GP1b seviyeleri ELISA yöntemi ile saptanmıştır. Örneklerden total RNA izolasyonunu takiben cDNA elde edilerek, miR24-3p ve miR26a-5p düzeyleri qRT-PCR ile tespit edilmiştir.

Çalışmamızda Alzheimer tipi demansda, trombosit fonksiyonları ile birlikte araştırdığımız hsa-mir24-3p ve hsa-miR26a-5p'nin hasta gruplarımızda düşük düzeyde ifade edildiğini bulduk. Trombosit fonksiyon belirteçlerinden, trombosit agregasyon eğim (TAE-Ω) değerleri ile hsa-mir24-3p ve hsa-miR26a-5p göreceli ekspresyon seviyeleri incelendiğinde, hasta ve kontrol gruplarında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır.

Bulgulara göre hasta ve kontrol gruplarında trombosit agregasyon eğim (TAE-Ω) değerlerinin, hsa-miR24-3p ve hsa-miR26a-5p ile pozitif korele olması, araştırdığımız her iki miRNA'nın hastalıktan bağımsız olarak, trombositlerin adezyon ve sekresyon fonksiyonları üzerine etkili olabileceğini göstermektedir.

Bu proje İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2018-30745

Anahtar Kelimeler: Alzheimer Hastalığı, Trombosit, Endotel, miR24-3p, miR26-5p

<sup>1</sup>İ.Ü. Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>İ.Ü. Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

## Investigation of the Effect of mir24-3p and mir26-5p Expression Levels on Endothelial and Platelet Functions in Alzheimer's Disease

Gülsel Ayaz<sup>1</sup>  
Pelin Sordu<sup>1</sup>  
Merve Alaylıoğlu<sup>1</sup>  
Bedia Samancı<sup>2</sup>  
Başar Bilgiç<sup>2</sup>  
Haşmet Ayhan Hanağası<sup>2</sup>  
Hakan Gürvit<sup>2</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>1</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>3</sup>  
Turgut Ulutin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Neurology, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Istanbul University-Cerrahpaşa, Institute of Neurological Sciences, Department of Neuroscience, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

It is suggested that vascular risk factors play an important role in the pathophysiology of Alzheimer's Disease (AD) and platelets are effective in this process. In this study, we planned to investigate the plasma levels of von Willebrand Factor (VWF) and Glycoprotein 1b (GP1b) proteins in AD patients and healthy individuals to determine platelet functions and the relationship of platelets with endothelium. In order to investigate the regulation of GP-1b activation which is one of the proteins that associate between the endothelium and platelet, at the molecular level, we detected mir26a-5p, which we think may be effective in this pathway, and the von Willebrand Factor at the molecular level, by detecting mir24-3p levels with qRT-PCR, and determining their relationship with the disease, intended to be determined.

Platelet functions were studied with a lumiagregometer device by giving ADP stimulus. Plasma vWF and GP1b levels were determined by ELISA. miR24-3p and miR26a-5p levels were determined by qRT-PCR.

In our study together with platelet functions in AD hsa-mir24-3p and hsa-miR26a-5p which we investigated, had low levels in our patient groups. Platelet function markers, platelet aggregation slope (PAS- $\Omega$ ) and relative expression levels of hsa-mir24-3p and hsa-miR26a-5p analyzed, there was a significant positive correlation in the patient and control groups.

According to findings, platelet aggregation slope (PAS- $\Omega$ ) values in the patient and control groups were positively correlated with hsa-miR24-3p and hsa-miR26a-5p, shows that both miRNAs that we investigated may have an effect on the adhesion and secretion functions of platelets independently of the disease.

Keywords: Alzheimer's Disease, Platelet, Endothelium, miR24-3p, miR26-5p

## ALL hücre hatlarında tümör baskılayıcı aktivitesi olan miRNAların anlatım seviyeleri

Sinem Firtına<sup>1</sup>  
Eda Sun<sup>2</sup>  
Khusan Khodzhaev<sup>2</sup>  
Müge Sayitoğlu<sup>2</sup>

### ÖZET

MikroRNA'lar (miRNA'lar), mesajcı RNA'yı (mRNA) hedefleyerek transkripsiyon sonrası seviyede gen ekspresyonunu düzenleyen kısa kodlama yapmayan RNA'lardır. Hücre proliferasyonu, apoptoz, metastaz ve anjiyogenez gibi kanser biyolojisinde rol oynayan onkomiR veya tümör baskılayıcı miRNAların kanserli dokudaki ekspresyon paterni, kanser tipi, evresi veya diğer klinik değişkenlerle ilişkilidir, bu nedenle miRNA profili, kanser teşhisi ve prognozu için bir araç olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada daha önce yeni nesil transkriptom dizileme ile T-ALL hücre serilerinde anlamlı derecede azaldığı tespit edilen hsa-miR-1248, hsa-miR-28-5p ve hsa-miR-1182'nin ALL (T-, B-ALL, AML) hücre hatlarındaki anlatımı Stem-Loop Revers Transkriptaz-Kantitatif Gerçek Zamanlı PZR yöntemi ile tespit edilmiştir. Çalışmada, 4 T-ALL (CEM, JURKAT, MOLT4, RPMI8402), 2 B-ALL (FLEB14-4, REH ) ve 2 AML (K562, DND41) hücre hattının RNA örneklerinden Stem-Loop Ters Transkriptaz cDNA sentezi gerçekleştirilmiş, kantitatif eş zamanlı PZR ile hücre hatlarındaki anlatımları incelenmiştir. Ayrıca miRNAların hedef genlerinin anlatımı yeni nesil RNA dizileme verisinde tekrar analiz edilmiş ve aralarındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmamızda, Yeni Nesil RNA dizileme analizlerinde anlamlı derecede azaldığı tespit edilen miRNAların T-ALL, B-ALL ve AML hücre serilerinde sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir. ALL hücre hatlarında onkogenleri düzenleyen hsa-miR-1248, hsa-miR-28-5p ve hsa-miR-1182'nin anlatımı bu çalışma ile ilk defa araştırılmıştır. Tümör baskılayıcı miRNAların hedef genlerinin anlatımlarını incelendiğinde onkogenik aktivite gösteren hedef genlerinin anlatımlarının anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışma tümör baskılayıcı miRNAların lösemi patogeneziye katkısı olduğunu göstermiş ve bu miRNAların hastalarda incelenmesi ve fonksiyonel etkilerinin araştırılması gibi ileri çalışmalar için bizlere öncü bulgular sunmuştur. Bu çalışma İstinye Üniversitesi BAP (2020/B17) birimi tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: miRNA, akut lösemi, stem-loop PZR

<sup>1</sup>İstinye Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sanca Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul.

## Tumor Suppressor miRNAs in Acute Lymphoblastic Leukemia

Sinem Firtına<sup>1</sup>  
Eda Sun<sup>2</sup>  
Khusan Khodzhaev<sup>2</sup>  
Müge Sayitoğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istinye University, Engineering and Natural Sciences Faculty, molecular Biology and Genetics Department, Istanbul.

<sup>2</sup>Istanbul University, Aziz Sancar Enstitute for Experimental Medicine Research, Genetics Department, Istanbul.

### ABSTRACT

MicroRNAs (miRNAs) are short non-coding RNAs that regulate gene expression at the post-transcriptional level by targeting the messenger RNA (mRNA). The expression pattern of oncomiR or tumor suppressor miRNAs plays a role in cancer biology such as cell proliferation, apoptosis, metastasis, and angiogenesis. Expression of miRNAs is associated with cancer type, stage, or other clinical variables, so miRNA profiling is used as a tool for cancer diagnosis and prognosis. In this study, hsa-miR-1248, hsa-miR-28-5p, and hsa-miR-1182, which were found to be significantly reduced in ALL by next-generation transcriptome sequencing, was determined by Stem-Loop Reverse Transcriptase-Quantitative Real-Time PCR in T-,B-ALL and AML cell lines. In the study, Stem-Loop cDNA synthesis was performed from RNA samples of 4 T-ALL (CEM, JURKAT, MOLT4, RPMI8402), 2 B-ALL (FLEB14-4, REH) and 2 AML (K562, DND41) cell lines and expression levels were examined by stem-loop qPCR. In addition, the expression of the target genes was reanalyzed in the RNA sequencing data. In our study, target miRNAs were found to be significantly reduced in T-ALL, B-ALL, and AML cell lines compared to healthy controls. Expression of hsa-miR-1248, hsa-miR-28-5p, and hsa-miR-1182 was investigated for the first time in leukemic cell lines in this study. The expression of target genes was examined and observed that the expression of target oncogenes has significantly increased. In conclusion, this study showed that tumor suppressor miRNAs contribute to the pathogenesis of leukemia. This study was supported by Istinye University BAP (2020/B17) unit.

Keywords: miRNA, acute leukemia, stem-loop PCR

## Borik asit ve disodyum oktaborat tetrahidrat'ın glioblastoma hücre hatlarında hücre ölümü üzerindeki etkilerinin araştırılması

Ayşegül Dalmızrak<sup>1</sup>  
Burcu Erbaykent Tepedelen<sup>2</sup>  
Ezgi Ersöz<sup>3</sup>  
Burak Çelik<sup>3</sup>  
Mehmet Korkmaz<sup>3</sup>

### ÖZET

Bu çalışmada, borik asit (BA) ve disodyum oktaborat tetrahidrat'ın (Etidot-67, EDT-67) glioblastoma hücre hatları üzerindeki (U-87 MG ve T98G) sitotoksik, apoptotik ve otofajik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

BA ve EDT-67'nin U-87 MG ve T98G hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, BA ve EDT-67'nin apoptotik ve otofajik etkileri sırasıyla Annexin V ve LC-3 antikor temelli yöntemlerle belirlenmiştir.

Sonuç olarak, 72 saatlik inkübasyon süresinin ardından, IC50 değerleri 4.8 mM (U-87 MG, BA), 4.9 mM (U-87 MG, EDT-67), 3.5 mM (T98G, BA) ve 2.4 mM (T98G, EDT-67) olarak tespit edildi. Akım sitometrisi analizlerine göre, kontrol grubuna kıyasla U-87 MG hücre hattındaki apoptoz oranlarının 2.4- kat (4.8 mM BA), 3.25- kat (9.6 mM BA), 5.6- kat (4.9 mM EDT-67) ve 9.8- kat (9.8 mM EDT-67) arttığı saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). T98G hücre hattında ise apoptoz oranlarının yaklaşık 1.7- kat (3.5 mM BA ve 7 mM BA) ve 2.6- kat (2.4 mM EDT-67 ve 4.8 mM EDT-67) arttığı belirlenmiştir ( $p < 0,001$ ). Öte yandan, her iki ajanın da her iki hücre hattında otofaji indüksiyon hızını değiştirmedeği saptanmıştır.

Sonuç olarak, ön sonuçlarımız, her iki ajanın da otofajiden ziyade apoptozu tetiklediği, EDT-67'nin BA'dan daha etkili olduğunu göstermektedir. Her iki ajanında glioblastoma tedavisinde potansiyel ajanlar olarak değerlendirilebileceği kanaatindeyiz.

Çalışma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. (2015-184)

Anahtar Kelimeler: Borik asit, disodyum oktaborat tetrahidrat, glioblastoma, apoptoz, otofaji

<sup>1</sup>Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Balıkesir.

<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Bursa.

<sup>3</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Manisa.

## Investigating the effects of boric acid and disodium octaborate tetrahydrate on cell death in glioblastoma cell lines

Ayşegül Dalmızrak<sup>1</sup>  
Burcu Erbaykent Tepedelen<sup>2</sup>  
Ezgi Ersöz<sup>3</sup>  
Burak Çelik<sup>3</sup>  
Mehmet Korkmaz<sup>3</sup>

### ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the cytotoxic, apoptotic and autophagic effects of boric acid (BA) and disodium octaborate tetrahydrate (Etidot-67, EDT-67) in glioblastoma cell lines (U-87 MG and T98G).

Cytotoxic effect of BA and EDT-67 in U-87 MG and T98G cell lines was evaluated by using the MTT method. Besides, apoptotic and autophagic effects of BA and EDT-67 were determined by Annexin V and LC-3 antibody based methods, respectively.

As a result, IC50 values obtained after 72 hour of incubation were 4.8 mM (U-87 MG, BA), 4.9 mM (U-87 MG, EDT-67), 3.5 mM (T98G, BA) and 2.4 mM (T98G, EDT-67). According to the flow cytometry analysis, apoptosis rate increased by 2.4- fold (4.8 mM BA), 3.25- fold (9.6 mM BA), 5.6- fold (4.9 mM EDT-67) and 9.8- fold (9.8 mM EDT-67) in U-87 MG cell line compared to the untreated control group ( $p < 0,001$ ). Furthermore, apoptosis rate also increased approximately by 1.7- fold (3.5 mM BA and 7 mM BA) and 2.6- fold (2.4 mM EDT-67 and 4.8 mM EDT-67) in T98G cell line ( $p < 0,001$ ). On the other hand, no autophagy induction rate was determined in both cell lines for both agents.

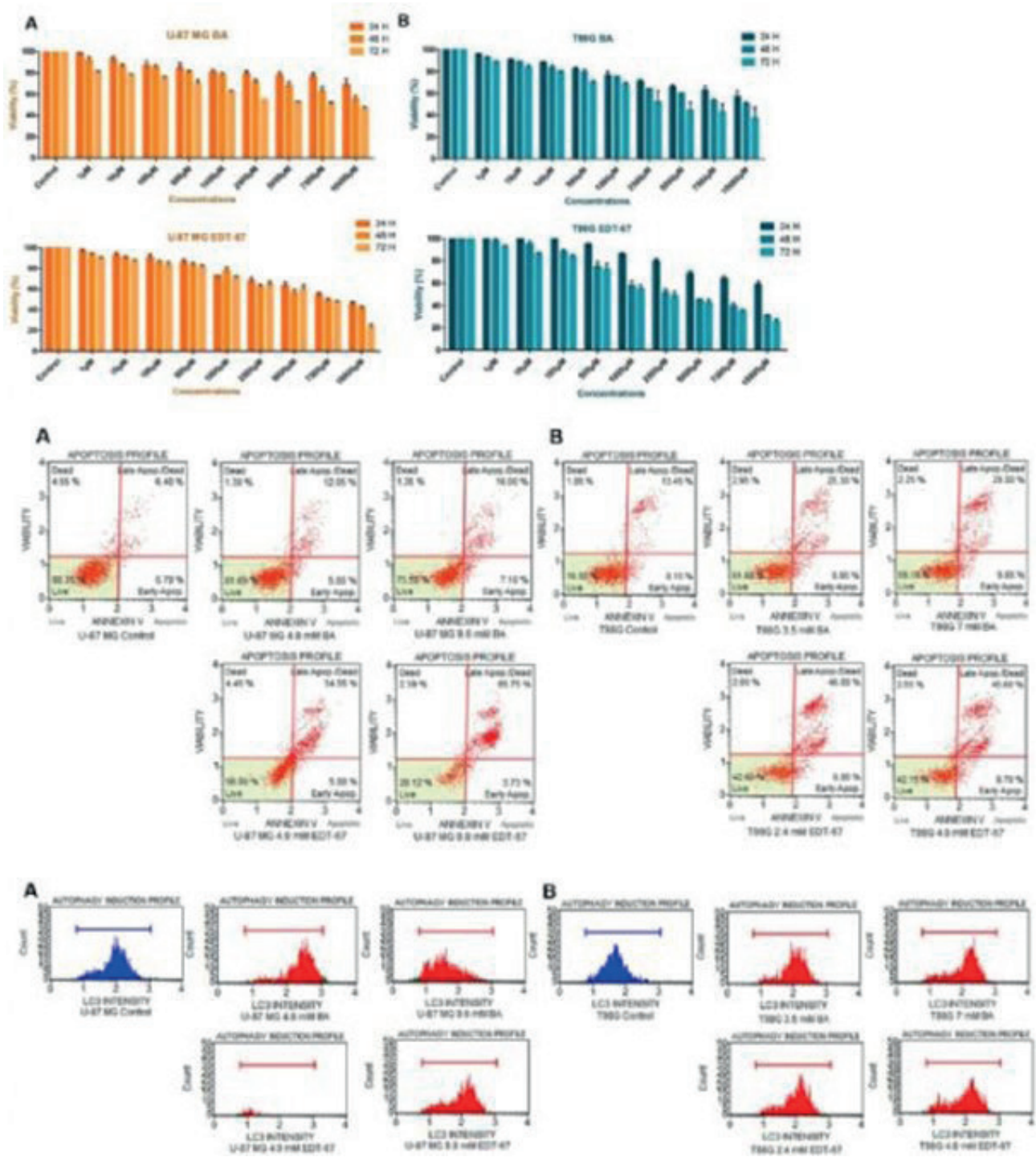
In conclusion, our preliminary results showed that although both agents induced apoptosis rather than autophagy, EDT-67 was found to be more effective than BA. As a conclusion both agents might be considered as potential agents in the treatment of glioblastoma.

**Keywords:** Boric acid, disodium octaborate tetrahydrate, glioblastoma, apoptosis, autophagy

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Balıkesir University, Balıkesir.

<sup>2</sup>Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science and Art, Uludağ University, Bursa.

<sup>3</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Manisa Celal Bayar University, Manisa.



**Şekil 1.** Sitotoksinite, apoptoz, otofaji sonuçlarının şekilleri  
**Figure 1.** Figures of cytotoxicity, apoptosis, autophagy results

## Kolanjiokarsinomda seçili genlerin potansiyel biyobelirteç rollerinin hesaplamalı yaklaşımla yeniden gözden geçirilmesi

Aslı Kutlu

ÖZET

Nadir kanser türlerinden biri kolanjiyokarsinom, hücre içi veya dışı olarak görülebilen bir safra yolları kanseridir. Tümörün oluştuğu yere bağlı olarak çok agresif seyredabilen bu kanser türünde terapi seçenekleri ile ilgili kısıtlı bilgilerin olması nedeniyle, erken tanı veya tedavi yanıtının değerlendirilmesini hedefleyen biyobelirteç keşfi çalışmaları önemlidir. Bu çalışmada, kolanjiyokarsinom hastalarına ait gen ifade profillerini içeren veri setleri ile (GSE132305, GSE45001, GSE76311 & GSE76297) istatistiksel analizler gerçekleştirilmiş ve anlatımı yüksek veya düşük olan genlerin kolanjiyokarsinom ile ilişkisi tartışılmıştır. Çalışmaya 229 yetişkin kolanjiyokarsinom vakası (40 tane hücre içi ve 189 tane hücre dışı kolanjiyokarsinom) dahil edilmiş, istatistiksel olarak anlamlı ( $p \leq 0.05$ ) genlerin anlatım seviyelerinin veri setleri arasında tutarlı olup olmadığı araştırılmıştır. Ayrıca aday genlerin yolak analizleri yapılarak hedef genleri ve kanser patogenezindeki rolü incelenmiştir. Biyoinformatik tabanlı araçlar ile literatür bilgilerini bir araya getirerek, elde edilen farklılıkların moleküler mekanizmasını araştırarak 'prediktif' veya 'prognostik' biyobelirteç olabilme potansiyelleri değerlendirilmiştir. Veri setleri içerisinde tutarlı olmayan regülasyon motifleri bulunan 5 adet gen (LAMC2, POSTN, ANXA2, COL10A1, HAO2 ve AKR1D1) listelenmiştir. İlk olarak LAMC2, POSTN ve COL10A1 genlerinin GSE132305 (hücre dışı kolanjiyokarsinom) veri seti içerisinde yukarı regüle olurken GSE45001 (hücre içi kolanjiyokarsinom) veri seti içerisinde aşağı regüle olduğu saptanmıştır. Belirtilen genlerin hücre dışı matris üzerindeki görevleri düşünüldüğünde, kolanjiyokarsinomun bölge spesifik oluşumu ile ilgili önemli bilgi verebileceği düşünülmüştür. HAO2 ve AKR1D1 genleri ise hücre içi kolanjiyokarsinom tanısı almış hastalarda farklı anlatım seviyeleri göstermektedir. Bu çalışmada kolanjiyokarsinomda klinik olarak aynı tanıyı alan hastalar arasında genetik altyapının değişken olduğunu ve bu tip genetik heterojeniteye sahip kanser türlerinde kişisel markerlerin daha önemli olduğunu vurgulamaktadır.



İstinye Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyoinformatik ve Genetik Bölümü.

Anahtar Kelimeler: Kolanjiyokarsinoma, Biyobelirteç, Nadir kanser, Kişiselleştirilmiş Tıp



## Revisiting the potential roles of selected genes in cholangiocarcinoma as a biomarker via computational approach

Aslı Kutlu

 ABSTRACT 

Cholangiocarcinoma is a type of rare cancer existing as intra- and extra-cellular cholangiocarcinoma. Since it has a very aggressive progression by depending on the locations of existing tumor and there is limited therapeutic strategies, it is crucial to define the biomarker(s) for its early prediction or for prognostic purposes if possible. In this study, we performed statistical analysis with gene expression data of CCA that are deposited to literature as GSE132305, GSE45001, GSE76311 and GSE76297. Our cohort is composed of 229 patients where 40 out of 229 are defined as ICC and 189 out of 229 are defined as ECC. As being smaller than 0.05, the gene expression results are filtered according to p-values. Their gene expression profiles are classified as being up- or down- regulated. This comparison has pointed out that 5 genes (LAMC2, POSTN, ANXA2, COL10A1, HAO2 and AKR1D1) present inconsistent regulation patterns within our data set. Then, we aim to understand the molecular basis of this inconsistency. The first finding is that the LAMC2, POSTN and COL10A1 are up-regulated in GSE132305 (ECC patient set) whereas down-regulated within GSE45001 (ICC patient set). Since they are playing roles in extracellular matrix, this result would indicate the locational specificity of cholangiocarcinoma. For HAO2 and AKR1D1 genes, the patients are all ICC but the expression patterns are so different. By combining bioinformatic tools with literature in cholangiocarcinoma, we aim to elucidate the molecular basis of these differences to review the potential roles of these genes as a predictive or prognostic marker.

Istinye University, Faculty of Engineering & Natural Science, Bioinformatics & Genetics Department.

Keywords: Cholangiocarcinoma, Biomarker, Rare cancer, Personalized medicine

Gene name	GSE132305 Up Regulated		GSE45001 Down Regulated	
	P-value	LogFC	P-value	LogFC
LAMC2	7,01888E-18	1,004010668	0,019103934	-1,85
POSTN	1,81021E-10	1,187550033	0,006438856	-2,774
COL10A1	1,08033E-20	1,502487698	0,003219058	-2,859
Gene name	GSE45001 Up Regulated		GSE76311 Down Regulated	
	P-value	LogFC	P-value	LogFC
HAO2	0,004331605	2,632	1,7406E-79	-0,818024694
Gene name	GSE76297 Down regulated		GSE45001 Up regulated	
	P-value	LogFC	P-value	LogFC
AKR1D1	1,49918E-77	-3,167588068	0,008807009	2,238

Şekil 1. Gen ifade motifi

Figure 1. Gene expression pattern

## CRISPR genom mühendisliği ile zigot evresi embriyolardan transgenik fare modellerinin üretimi

Muhammed Kasım Diril<sup>1</sup>  
Kerem Esmen<sup>2</sup>  
Tuğba Şehitoğulları<sup>3</sup>

<sup>1</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi; Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü; Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

<sup>2</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi; Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

<sup>3</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi; Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir.

### ÖZET

Gen ve protein fonksiyonlarının incelendiği temel moleküler hücre biyolojisi çalışmalarında olduğu gibi insan hastalıklarının in vivo koşullarda modellenmesinde de yaygın olarak kullanılan kaynaklardan birisi transgenik fare modelleridir. Etkili bir bilimsel çalışmanın gerçekleştirilebilmesi, ardından saygın uluslararası dergilerde yayınlanabilmesi için sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak, kullanıcı talebi doğrultusunda transgenik fare üreten ve araştırmacılara sunan bir transgenik teknolojileri hizmet platformu ülkemizde yoktur. Amacımız bu tip bir oluşumun geliştirilmesi, hızlı ve seri olarak transgenik farelerin üretilmesiyle ulusal bilimsel çalışmaların desteklenmesidir.

İstenen genlerde knockout ve knockin mutasyonlarının hızlı bir şekilde yapılabilmesi için CRISPR genom mühendisliği teknikleri kullanılmaktadır. Cas9 enzimi ile kompleks halindeki sgRNA'lar (RNP: ribonükleoprotein partikülleri) ve tek şeritli donör DNA oligoları (ssODN), birlikte, zigot aşamasındaki fare embriyolarına elektroporasyon yöntemiyle aktarılmaktadır. Blastosist aşamasına kadar kültürlenmiş embriyolar, taşıyıcı farelere aktarılarak transgenik fare hatları oluşturulmaktadır.

Embriyolarda yaptığımız in vitro çalışmalarda, çeşitli genlerde knockout ve knockin mutasyonları oluşturmayı başardık. Kullandığımız teknik ile kolaylıkla ve oldukça yüksek verimde gen knockout yapabilmekteyiz. DNA donörü kullanılarak genomik lokusa nokta mutasyonlarının eklenmesi ise göreceli olarak daha zor olmasına rağmen yapılabilmektedir.

Tekniğin laboratuvarımızda oturtulmasının ardından, yaşam bilimleri alanında çalışan ve projelerinde in vivo modeller geliştirmek ve kullanmak isteyen araştırmacılara işbirliği ile destek vermek istiyoruz.

120S396 nolu TÜBİTAK 1005 projesi ile desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Transgenik fare modelleri, CRISPR, genom mühendisliği, knockout, knockin

## Generation of transgenic mouse models from zygote stage embryos by CRISPR genome engineering

Muhammed Kasım Diril<sup>1</sup>  
Kerem Esmen<sup>2</sup>  
Tuğba Şehitoğulları<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Transgenic mouse models constitute an important biological resource category commonly used in basic molecular cellular biology studies where gene/protein functions are investigated and/or when modelling of human disease needs to be done under in vivo conditions. To carry out an effective scientific study and subsequently publish the results in elite journals, often genetically modified mouse models need to be used. However, a demand based transgenic technologies service provider that generates and provides transgenic mice to researchers, is not present in Turkey. Our aim is to establish such a platform and support national scientific studies by producing transgenic animals rapidly through an efficient pipeline.

CRISPR genome engineering tools are utilized to create the desired knockout or knockin mutations rapidly. sgRNAs in complex with Cas9 enzyme (RNP: Ribonucleoprotein particles) and single strand donor DNA oligos (ssODN) are transferred to zygote stage mouse embryos by electroporation. Embryos are cultured until the blastocyst stage and transferred to host mice to generate transgenic lines.

By in vitro studies using embryos, we have successfully generated knockout and knockin mutations in several genes. Our technique allows gene knockout with high efficiency and ease. Addition of point mutations to the genomic loci by donor DNA templates is relatively difficult, nevertheless doable.

After setting up the technology in our laboratory, we will provide collaborative support to researchers in life sciences who are interested in developing and using in vivo models for their projects.

Keywords: Transgenic mouse models, CRISPR, genome engineering, knockout, knockin

<sup>1</sup>Izmir Biomedicine and Genome Centre; Izmir International Biomedicine and Genome Institute; Department of Medical Biology, Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey.

<sup>2</sup>Izmir Biomedicine and Genome Centre; Department of Medical Biology, Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey.

<sup>3</sup>Izmir Biomedicine and Genome Centre; Izmir International Biomedicine and Genome Institute, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey.

## Meme Kanseri Sık Görülen Gen Mutasyonlarının Tamoksifene Yanıt İle İlişkisi ve Prognostik Önemi

Tuba Avcılar<sup>1</sup>  
Tuğba Akın Telli<sup>2</sup>  
Esra Arslan Ateş<sup>3</sup>  
Gözde Girgin Özgümüş<sup>1</sup>  
Mustafa Ümit Uğurlu<sup>4</sup>  
M. Bahadır Güllüoğlu<sup>4</sup>  
Perran Fulden Yumuk<sup>2</sup>  
A. İlter Güney<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, İstanbul.

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji AD, İstanbul.

<sup>3</sup>Marmara Üniversitesi, Tıbbi Genetik AD, İstanbul.

<sup>4</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD, İstanbul.

### ÖZET

Meme kanseri kadınlarda görülen kanserler arasında prevalansı en yüksek kanserdir. Östrojen reseptörü pozitif (ER+) hastaların adjuvan tedavisinde tamoksifen standart tedavi olarak kullanılmaktadır ve CYP2D6 enzimi tarafından metabolize edilir. Bu projenin amacı, ER+ tamoksifen kullanan ve tamoksifen dirençli hastalarda, CYP2D6 allelik gruplarında, meme kanseri gelişiminde rol aldığı düşünülen TP53, GSTP1, BRCA1/2 gen polimorfizmleri ile tamoksifenin etkinliği arasındaki ilişkinin belirlenmesidir.

Çalışmaya katılan 43 hastadan alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu sonrası CYP2D6 allelik gruplarının ve GST polimorfizmlerinin belirlenmesi için gerçek zamanlı qPCR yöntemi uygulanmıştır. p53 5-8 ekzonlarının taranması için PZR-HRM ve dizi analizi yapılmıştır. BRCA1/2 gen polimorfizmleri yeni nesil dizileme yöntemi ile taranmıştır.

Çalışmamızda tamoksifen dirençli ve tamoksifen kullanan hastalar arasında BRCA1/2 ve GSTP1 polimorfizmleri ve CYP2D6 \*2, \*3, \*4, \*10, \*17 allelik varyantları arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. p53 geni 12383 (T>A) ve 12495 (G>C) varyasyonları tamoksifen dirençli grupta anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0,045 ve p= 0,045).

Çalışmamız tamoksifen kullanan ve dirençli hasta gruplarında CYP2D6 allelik varyantlarının ve BRCA1/2, p53 ve GSTP1 polimorfizmlerinin birlikte incelendiği ilk çalışmadır. p53 geni varyasyonlarının tamoksifen dirençli grupta anlamlı bir şekilde yüksek görülmesi tamoksifen tedavisine başlanmadan önce ilaca direnci gösteren bir belirteç olarak kullanılabilmesi yönünde öngürülebilir. Popülasyondaki örneklem sayısı artırılarak ileri çalışmalarla verilerin desteklenmesi amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, CYP2D6, p53, tamoksifen

## The Relationship of Common gene Mutations in Breast Cancer with Response to Tamoxifen and Its Prognostic Importance

Tuba Avcılar<sup>1</sup>  
Tuğba Akın Telli<sup>2</sup>  
Esra Arslan Ateş<sup>3</sup>  
Gözde Girgin Özgümüş<sup>1</sup>  
Mustafa Ümit Uğurlu<sup>4</sup>  
M. Bahadır Güllüoğlu<sup>4</sup>  
Perran Fulden Yumuk<sup>2</sup>  
A. İlder Güney<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Breast cancer has the highest prevalence among cancers seen in women. Tamoxifen is used as standard therapy in the adjuvant therapy of ER+ patients and is metabolised by the CYP2D6 enzyme. The aim of this study is to determine the relationship between TP53, GSTP1, BRCA1/2 gene polymorphisms, which are thought to play a role in the development of breast cancer in CYP2D6 allelic groups, and the efficacy of tamoxifen in ER+ patients using tamoxifen and resistant to tamoxifen.

Real time qPCR method was used to determine CYP2D6 allelic groups and GST polymorphisms after DNA isolation from blood samples obtained from 43 patients participating in the study. PCR-HRM and sequence analysis were performed to screen p53 exons 5-8. BRCA1/2 gene polymorphisms were screened by next generation sequencing-NGS method.

In our study, no significant difference was found between BRCA1/2 and GSTP1 polymorphisms and CYP2D6 \*2,\*3,\*4,\*10,\*17 allelic variants between tamoxifen resistant and tamoxifen using patients. The p53 12383(T>A) and 12495(G>C) mutation rates were found to be significantly higher in the tamoxifen-resistant group (p=0.045 and p=0.045, respectively).

Our study is the first study investigating CYP2D6 allelic variants and BRCA1/2, p53 and GSTP1 polymorphisms in tamoxifen-using and tamoxifen-resistant patient groups. The fact that p53 gene mutations were found to be significantly higher in the tamoxifen-resistant group shows in this study that it can be used as a marker to predict resistance before starting tamoxifen treatment. The accuracy of the data obtained should be verified by increasing the number of samples in the population.

Keywords: Breast Cancer, CYP2D6, p53, tamoxifen

<sup>1</sup>Department of Medical Biology and Genetics, Marmara University Enstitue of Health Science, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Medical Oncology, Marmara University Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Medical Genetics, Marmara University, Istanbul, Turkey.

<sup>4</sup>Department of General Surgery, Marmara University Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey.

## PI3K/mTOR inhibisyonu lösemi kök hücrelerindeki disregüle lncRNA ekspresyon profilini yeniden düzenler

Çağla Kayabaşı  
Cumhur Gündüz

### ÖZET

Normal hematopoietik kök hücreler (HKH) gibi kendini yenileme ve farklılaşma kapasitene sahip olan lösemi kök hücreleri (LKH), mutasyonlar ve epigenetik değişiklikler nedeni ile malign özelliktedirler. Hematopoez dahil birçok biyolojik süreçte rol alan lncRNA'ların bozulmuş ekspresyonları hastalıklarla yakından ilişkilidir. Çalışmamızda HKH ve LKH popülasyonları arasında farklılık gösteren lncRNA profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca LKH'lerde sağkalım ve proliferasyonda seçici avantaj sağlayan PI3K/Akt/mTOR sinyalizasyonunun baskılanmasının, LKH'lerinde disregüle olduğunu belirlediğimiz lncRNA'ların ekspresyonlarında meydana getirdiği değişikliklerin tanımlanması hedeflenmiştir.

LKH ve HKH modelleri olarak LSC (CD34+/Oct4+/CD44+/CD133+/CD38-) ve HSC (CD34+/CD117+/CD38-) hücreleri (Celprogen) kullanıldı. PI3K/Akt/mTOR sinyalizasyonu yolağın spesifik dual-inhibitörü (0,6µM VS-5584) ile baskılandı. lncRNA ekspresyonlarında meydana gelen değişiklikler qRT-PCR ile kantite edildi.

Sağlıklı HKH'lere kıyasla, LKH'lerde 26 lncRNA'nın ekspresyonlarının +2 kat arttığı, 25 lncRNA'nın ekspresyonlarının +2 kat azaldığı belirlendi. En yüksek artışlar UCA1, GOMAFU, L1PA16, E2F4-antisense (sırasıyla 13,18; 10,44; 10,18; 10,10 kat) ve en belirgin azalmalar anti-NOS2A, SNHG4 (sırasıyla 8,46; 5,57 kat) ekspresyonlarında saptandı. PI3K/mTOR inhibisyonu sonrasında, LKH'lerinde aşağı düzenlendiğini belirlediğimiz lncRNA'lardan Zeb2NAT 6,57 kat, antiPeg11 6,44 kat, kanser hücrelerinin köklülüğü inhibe ettiği bilinen SRA 12,35 kat, aşırı-ekspresyonu PTEN artışına neden olan SNHG4 6,38 kat artmıştır. LKH'lerinde ekspresyonunun arttığını belirlediğimiz lncRNA'lardan; Myc ile düzenlenen H19 ve L1PA16 sırasıyla 17,36 ve 9,18 kat, onkogenik CREB1 ifadesini modüle eden IGF2AS 7,58 kat ve lösemi hücre proliferasyonunu arttırdığı ve imatinib direncine neden olduğu bilinen SNHG5 5,59 kat azalmıştır. PI3K/mTOR baskılanması normal HKH'ler üzerinde daha az etkiye sebep olmuştur.

LKH'lerde disregüle olan lncRNA'ların tanımlanmasının ve lökomogenezdaki major onkogenik yolaklardan PI3K/Akt/mTOR ile ilişkilendirilmesinin LKH eliminasyonunda yeni terapötik hedeflerin belirlenmesine katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: lncRNA, Lösemi kök hücre, PI3K/Akt/mTOR yolağı

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

## PI3K/mTOR inhibition alters dysregulated lncRNA expression profile in leukemia stem cells

Çağla Kayabaşı  
Cumhur Gündüz

### ABSTRACT

Leukemia stem cells (LSCs) have the capacity to self-renewal and differentiation such as hematopoietic stem cells (HSC), but they are malignant due to mutations and epigenetic changes. Dysregulations of lncRNAs, which are involved in many biological processes including hematopoiesis, are related to diseases. It was aimed to determine the lncRNA profiles that differ between HSCs and LSCs. Also, it was aimed to define the changes in the lncRNA expressions by the suppression of PI3K/Akt/mTOR signaling, which provides a selective advantage in the survival and proliferation of LSCs.

In experiments, LSC (CD34+/Oct4+/CD44+/CD133+C/D38-) and HSC (CD34+/CD117+/CD38-) cells (Celprogen) were used. PI3K/Akt/mTOR signaling was suppressed by pathways' specific dual-inhibitor (0.6µM VS-5584). Changes in lncRNA expressions were quantified by qRT-PCR.

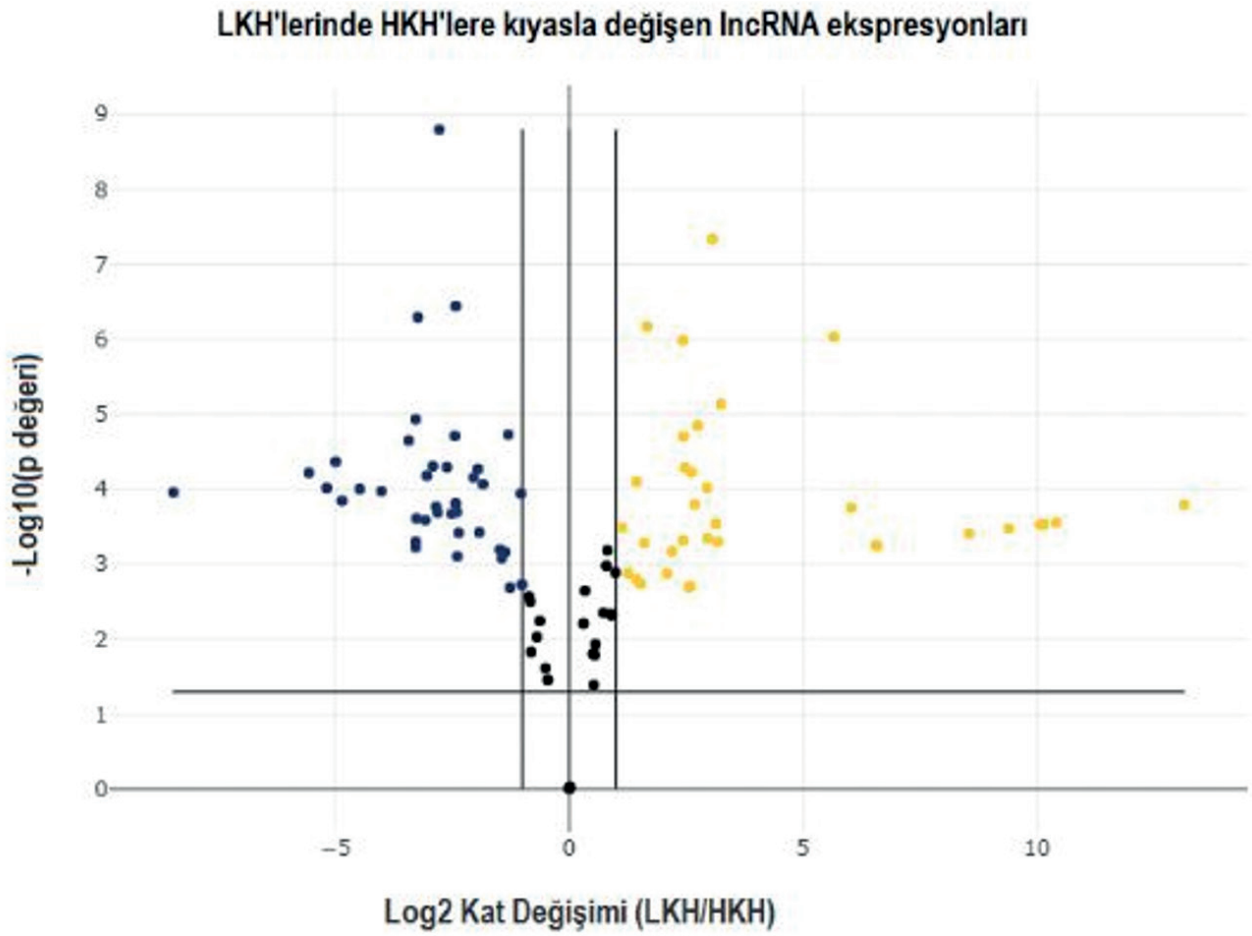
The expressions of 26 lncRNAs were increased and 25 lncRNAs were decreased in LSCs compared to HSCs. The highest increases were detected in UCA1, GOMAFU, L1PA16, E2F4-antisense (13.18; 10.44; 10.18; 10.10-fold), the most significant decreases were detected in anti-NOS2A, SNHG4 (8.46; 5.57-fold). After PI3K/mTOR inhibition, we observed upregulation in Zeb2NAT (6.57-fold), antiPeg11 (6.44-fold), SRA which inhibits stemness of cancer cells (12.35-fold), SNHG4 whose overexpression causes an increase in PTEN (6.38-fold). We detected down-regulation in Myc-regulated H19 and L1PA16 (17.36-fold, 9.18-fold), IGF2AS which modulates oncogenic CREB1 expression (7.58-fold), SNHG5 which increases proliferation and causes imatinib-resistance (5.59-fold). PI3K/mTOR inhibition had less effect on HSCs.

lncRNAs identified to be dysregulated in LSCs and associated with PI3K/Akt/mTOR signaling, one of the major oncogenic pathways in leukemogenesis, may contribute to the identification of novel therapeutic targets to eliminate LSCs.

Keywords: lncRNA, Leukemia stem cell, PI3K/Akt/mTOR pathway

Ege University, Faculty of Medicine, Medical Biology  
Department, Izmir.





**Şekil 1.** LKH'lerinde HKH'lere kıyasla disregüle edilen lncRNA'lar

**Figure 1.** Disregulated lncRNAs in LSCs compared to HSCs

HSC hücrelerine kıyasla LSC hücrelerinde lncRNA ekspresyon seviyelerindeki farklılıklar ve p değerleri volcano plot olarak özetlenmiştir. Differences in lncRNA expression levels in LSC cells compared to HSC cells and their p-values are summarized as a volcano plot.

**Tablo 1.** PI3K/mTOR inhibisyonu sonrasında lncRNA ekspresyonlarındaki değişimler

LKH'lerinde düzenlenen lncRNA'lar	kat değişimi (log2)	p değeri	HKH'lerinde düzenlenen lncRNA'lar	kat değişimi (log2)	p değeri
SRA	12,35	0,000021	E2F4 antisense	6,52	0,000561
ZEB2NAT	6,57	0,000048	Nespas	5,96	0,000008
antiPeg11	6,44	0,000045	p53 mRNA	5,05	0,000229
Evf1 and EVF2	6,41	0,000375	CAR Intergenic 10	4,66	0,000169
SNHG4	6,38	0,000046	PSF inhibiting RNA	4,92	0,000123
NTT	3,24	0,00013	SRA	3,52	0,000475
TEA ncRNAs	2,94	0,000169	WT1-AS	2,96	0,000299
Xist	2,93	0,000174	MEG9	2,80	0,000035
DISC2	2,77	0,000067	HOTAIR	2,70	0,000040
p53 mRNA	2,67	0,000308	HULC	2,70	0,000361
TMEVPG1	2,60	0,00018	Xist	2,59	0,000394
UM9-5	2,56	0,000149	PR-AT2	2,43	0,000235
PTENP1	2,17	0,000058	TMEVPG1	-2,18	0,000165
GAS5	2,12	0,000004	PCGEM1	-2,40	0,000392
Emx2os	2,11	0,000118	Zfas1	-2,61	0,000288
ncR-uPAR	2,04	0,000237	AK023948	-2,88	0,000148
NEAT1	-2,39	0,0001	ZEB2NAT	-3,12	0,000138
NDM29	-2,44	0,000011	PRINS	-3,21	0,000131
UCA1	-2,44	0,00038	NTT	-9,13	0,000091
Alpha 280	-2,59	0,001649			
masRNA	-2,59	0,001649			
RNCR3	-3,35	0,000033			
SNHG5	-5,59	0,000577			
IGF2AS	-7,58	0,000393			
L1PA16	-9,18	0,000292			
CAR Intergenic 10	-9,52	0,000274			
PCGEM1	-9,82	0,000258			
H19	-17,36	0,000042			

LSC ve HSC hücrelerinde PI3K/Akt/mTOR sinyalizasyonunun baskılanmasıyla regüle edilen lncRNA'lar tabloda listelenmiştir. P değeri <0,05 ve lncRNA ifadesindeki  $\pm 2$  katlık değişiklikler anlamlı kabul edildi.

**Table 1.** Changes in lncRNA expressions after PI3K/mTOR inhibition

lncRNAs regulated in LSCs	Fold Change (log 2)	p value	lncRNAs regulated in HSCs	Fold Change (log 2)	p value
SRA	12.35	0.000021	E2F4 antisense	6.52	0.000561
ZEB2NAT	6.57	0.000048	Nespas	5.96	0.000008
antiPeg11	6.44	0.000045	p53 mRNA	5.05	0.000229
Evf1 and EVF2	6.41	0.000375	CAR Intergenic 10	4.66	0.000169
SNHG4	6.38	0.000046	PSF inhibiting RNA	4.92	0.000123
NTT	3.24	0.00013	SRA	3.52	0.000475
TEA ncRNAs	2.94	0.000169	WT1-AS	2.96	0.000299
Xist	2.93	0.000174	MEG9	2.80	0.000035
DISC2	2.77	0.000067	HOTAIR	2.70	0.000040
p53 mRNA	2.67	0.000308	HULC	2.70	0.000361
TMEVPG1	2.60	0.00018	Xist	2.59	0.000394
UM9-5	2.56	0.000149	PR-AT2	2.43	0.000235
PTENP1	2.17	0.000058	TMEVPG1	-2.18	0.000165
GAS5	2.12	0.000004	PCGEM1	-2.40	0.000392
Emx2os	2.11	0.000118	Zfas1	-2.61	0.000288
ncR-uPAR	2.04	0.000237	AK023948	-2.88	0.000148
NEAT1	-2.39	0.0001	ZEB2NAT	-3.12	0.000138
NDM2	-2.44	0.000011	PRINS	-3.21	0.000131
UCA1	-2.44	0.00038	NTT	-9.13	0.000091
Alpha 280	-2.59	0.001649			
masRNA	-2.59	0.001649			
RNCR3	-3.35	0.000033			
SNHG5	-5.59	0.000577			
IGF2AS	-7.58	0.000393			
L1PA16	-9.18	0.000292			
CAR Intergenic 10	-9.52	0.000274			
PCGEM1	-9.82	0.000258			
H19	-17.36	0.000042			

lncRNAs that are regulated by inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling in LSC and HSC cells are listed in the table. P value <0.05 and  $\pm 2$ -fold changes in lncRNA expression were considered significant.

## Meme kanseri tanı ve tedavisi için olası anahtar mikroRNA'lar ve hedef genlerin etkilediği moleküler mekanizmaların in silico analiz yöntemleriyle belirlenmesi

Pelin Telkoparan Akıllılar

### ÖZET

Erken tanı yöntemlerinin gelişmesi ve tedavilerdeki ilerlemelere rağmen, meme kanseri halen tüm dünyada insidansı ve mortalitesi en yüksek olan kanser tipidir. Meme kanserinde, miRNA profilinin düzensizliği, invazivlik ve metastaz aktivasyonu da dahil olmak üzere hastalık gelişim mekanizmaları ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada, kapsamlı bir meme kanseri-miRNA-gen etkileşim haritası oluşturuldu.

3 meme kanseri dokusu ve 3 komşu dokulardan elde edilen miRNA mikrodizi verileri, GSE143564, GEO veri tabanından indirildi. Hasta ve kontrol örneklerinde değişen miRNA ifadelerinin analizi için GEO2R (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>) web aracı kullanıldı. Farklı ve anlamlı şekilde ifade edildiği belirlenen miRNA'ların potansiyel mRNA hedefleri, miRWalk 2.0 biyoinformatik web aracı kullanılarak belirlendi. Anlamlı değişen miRNA'ların etkilediği sinyal yollarını araştırmak için KEGG pathway analizi, DIANA miRPath v.3 web tabanlı hesaplama aracı kullanıldı. Son olarak, miRNet yazılımı kullanılarak yukarı regüle edilmiş miRNA-hedef gen etkileşim ağı oluşturulmuştur.

GSE143564'ün mikrodizi verileri analizi sonucu 362 miRNA'nın anlamlı farklı şekilde ifade edildiği belirlendi. İfadesi anlamlı şekilde artan 10 miRNA ve azalan 10 miRNA, DIANA miRPath v.3 aracıyla analiz edildi ve 15 miRNA'nın, endoplazmik retikulumda protein işleme, TGF-beta sinyal yolu ve p53 sinyal yolu gibi kansere yol açan yollarda kritik rolü olan mRNA'ları hedeflediği bulundu.

Sonuç olarak bu çalışmada, meme kanserine özgü miRNA-gen ağı oluşturmak ve meme kanserinin tedavisi ve prognozu için yeni hedefler bulmak için entegre biyoinformatik analizi yapılmıştır. Elde edilen bu in silico veriler, meme hücre hatları çalışmalarıyla bu etkileşim ağı detaylı bir şekilde incelenecektir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, miRNA, biyobelirteç, in silico analiz

Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, Ankara.

## Identification of possible key microRNAs and molecular mechanisms affected by miRNA target genes for breast cancer treatment and diagnosis using in silico analysis methods

Pelin Telkoparan Akıllılar

### ABSTRACT

Despite the development of early diagnosis methods and advances in treatments, breast cancer is the leading cancer type with the highest incidence and mortality in women all over the world. In breast cancer, dysregulation of the miRNA profile has been associated with mechanisms of disease development, including invasiveness and metastasis activation. In this study, a comprehensive breast cancer miRNA-gene interaction map was constructed.

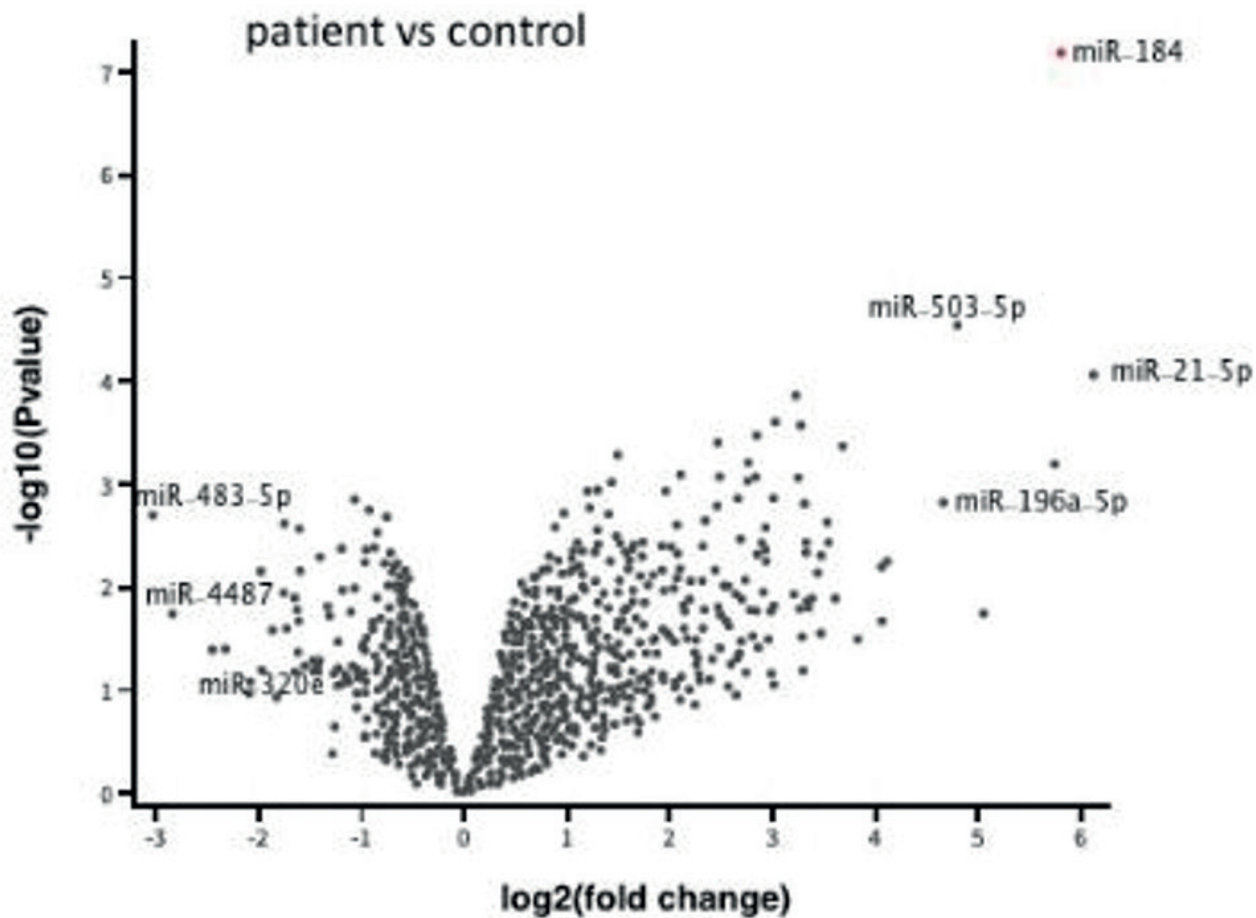
The miRNA microarray data, GSE143564, which contained 3 pairs of tissue samples, 3 breast tissues and 3 adjacent tissues from breast cancer samples were obtained from GEO database. The GEO2R (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>) web tool was used to identify differential miRNA expression analysis. The potentially mRNA targets of differentially expressed miRNAs were predicted using miRWalk 2.0 bioinformatic web tool. KEGG pathway analysis were performed by using the DIANA miRPath v.3 web-based computational tool to investigate signaling pathways related to miRNAs differentially expressed between breast cancer tissue and adjacent tissue samples. Finally, upregulated miRNA-target gene network was constructed using miRNet software.

362 differentially expressed miRNAs were found in miRNA from microarray data of GSE143564. Top 10 upregulated and downregulated differentially expressed miRNA were analyzed by DIANA miRPath v.3 tool and 15 miRNAs were found to target mRNAs that have critical role in cancer related pathways like, Protein processing in endoplasmic reticulum, TGF-beta signaling pathway and p53 signaling pathway.

In this study, integrated bioinformatics analysis was performed to construct breast cancer specific miRNA-gene network and to find new targets for the treatment and prognosis of breast cancer.

Keywords: Breast cancer, mRNA, biomarker, in silico analysis

Yuksekk Ihtisas University Faculty of Medicine,  
Department of Medical Biology, Ankara.



**Şekil 1.** Volcan grafiği GSE143564: meme kanseri ve komşu normal dokularda miRNA ekspresyon verileri (P<0.05)  
**Figure 1.** Volcano plot GSE143564: miRNA expression data in breast cancer and adjacent normal tissues (P<0.05)

## COVID-19 hastalığına karşı SARS-CoV-2 spike geni taşıyan lentiviral tabanlı aşı plazmidinin oluşturulması

Fulya Erendor<sup>1</sup>  
Elif Ozgecan Sahin<sup>1</sup>  
Bahar Akkaya<sup>1</sup>  
Atıl Bisgin<sup>2</sup>  
Devrim Demir Dora<sup>1</sup>  
Sadi Köksoy<sup>1</sup>  
Haluk Barbaros Oral<sup>3</sup>  
Salih Sanlioglu<sup>1</sup>

### ÖZET

COVID-19, Aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinde ortaya çıkarak tüm dünyayı etkisi altına alan pandemik bir hastalıktır. Yayılma hızı oldukça yüksek olan bu hastalık, enfekte bireylerin solunum yolunda ilerleyerek en çok akciğerleri etkiler. Bu nedenle SARS-CoV-2 virüsünün daha fazla yayılmasını önlemek için etkili bir aşının geliştirilmesine acilen ihtiyaç vardır. SARS ve MERS çalışmalarında gösterildiği gibi genetik immünizasyon, aşılama için en etkili araçlardan biridir.

Viral antijenlerin dentritik hücelere eks vivo transferi, enfeksiyöz hastalıklara karşı dentritik hücre-bazlı aşılamalarda kullanılan ilk metottür. Viral vektörlerin keşfi ile antijen kodlayan genlerin dentritik hücelere rekombinant virüsler aracılığıyla aktarılması sağlandı. Test edilen viral vektörler arasında gelişmiş biyogüvenlik profili sunan lentiviral vektörler, dentritik hücre transdüksiyon etkinlikleriyle öne çıkmaktadır. SARS-CoV-2 spike proteininin viral enfeksiyondaki rolü, SARS-CoV ve MERS-CoV ile ilgili çalışmalarda daha öncede gösterildiği gibi etkili immün yanıt oluşumunu indüklemekteki potansiyeli; spike proteinin antijen olarak seçilmesinde etkili olmuştur.

Bu amaçla, lentivirüs tabanlı spike geni taşıyan aşı vektörü oluşturmak için (pLentiSpike) multisite gateway LxR rekombinasyon reaksiyonu kuruldu. DNA sekanslama ve restriksiyon enzim analizleri kullanılarak transgenin sekans ve oryantasyonu doğrulandı. Daha sonra, transfekte hücrelerin anti-SARS-CoV-2 spike glikoprotein antikoru ile immünohistokimyasal boyamasıyla ekspresyon plazmidinden Spike protein ekspresyonu tespit edildi.

Transfer plazmidini başarıyla oluşturulmuş oldu. Transfer plazmidini ve paketleme plazmidlerinin 293T hücrelerine geçici transfeksiyonuyla spike proteini kodlayan geni taşıyan aşı vektörlerinin oluşması beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: SARS-CoV-2, COVID-19, Spike Glikoprotein, Entegrasyon Özürlü Lentivirüs, Aşılama

<sup>1</sup>Gen ve Hücre Tedavisi Anabilim Dalı, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye.

<sup>2</sup>AGENTEM (Adana Genetik Hastalıklar Tanı ve Tedavi Merkezi) & Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.

<sup>3</sup>İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bursa, Türkiye.

## Spinal müsküler atrofi'li *Drosophila melanogaster* modelinde rpd3 proteini ve histon asetilasyon düzeylerinin araştırılması

Cem Hazır<sup>1</sup>  
Memet Gözübüyük<sup>2</sup>  
Güzin Emecen<sup>2</sup>  
Gamze Bora<sup>1</sup>  
Ergi Deniz Özsoy<sup>2</sup>  
Hayat Erdem Yurter<sup>1</sup>

### ÖZET

DNA-histon ilişkisini etkileyerek transkripsiyonu aktive edebilen histon asetilasyonu histon asetil transferaz (HAT) ve histon deasetilaz enzimleri (HDAC) arasındaki denge ile kontrol edilmektedir. Spinal Müsküler Atrofi (SMA) gibi nörodejeneratif hastalıklarda bu dengenin bozulduğu ve HDAC enzimlerinin inhibisyonu yoluyla gen ifadesinin düzenlenebildiği gösterilmiştir. Günümüzde SMA tedavisiyle ilgili olarak kombine yaklaşımlar gündeme gelmiş HDAC inhibitörleriyle ilgili çalışmalar yeniden önem kazanmıştır. Bu nedenle bu çalışmada SMA'lı *Drosophila melanogaster* modelinden yararlanılarak HDAC inhibitörü uygulamaları için uygun koşulların belirlenmesi amaçlanmıştır. *D. melanogaster* kısa sürede çoğalabilmesi ve insan genlerinin birçoğunun ortologunu bulundurması nedeniyle nörodejeneratif hastalıkların modellenmesinde ve ilaç araştırmalarında sıklıkla kullanılan bir modeldir. Çalışmamızda SMA'lı ve yabancıl sineklerin larva ve ergin dönemlerinde HDAC1 enziminin ortoloğu olan Rpd3 proteininin ifade düzeyi Western blot yöntemi ile araştırılmış istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına ( $p>0.05$ ) rağmen Rpd3'ün ergin dönemdeki ifade düzeyinin larva dönemine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu nedenle ergin sineklere HDAC inhibitörü olan fenilbütirik asit 5 gün süreyle 5 mM ve 10 mM konsantrasyonda uygulanmış histon ekstraksiyonu sonrası gerçekleştirilen Western blot analizlerinde H3K18 asetilasyon düzeyinde kontrol sineklere göre değişiklik gözlenmezken ( $p>0.05$ ) H3K27 asetilasyon düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ( $*p<0.05$   $**p<0.01$ ) artış saptanmıştır. Fenilbütirik asit aynı konsantrasyonlarda 10 gün uygulandığında ise H3K27 ve H3K18 asetilasyon düzeyleri değişmemiş uzun süre uygulamaya bağlı ortaya çıkan adaptasyonun fenilbütirik asit duyarsızlığına neden olabileceğini düşündürmüştür. SMA'lı *D.melanogaster* modelinde gerçekleştirilecek HDAC inhibitör araştırmalarında; bileşiklerin ergin dönemde 5 gün süreyle uygulanarak H3K27 asetilasyonunun takip edilmesinin uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje numarası: TYL-2020-18470).

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster* histon asetilasyon fenilbütirik asit

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Ankara,Türkiye.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Fonksiyonel ve Evrimsel Genetik Laboratuvarı Ankara,Türkiye.



## Investigation of rpd3 protein and histone acetylation levels in *Drosophila melanogaster* model of spinal muscular atrophy

Cem Hazır<sup>1</sup>  
Memet Gözübüyük<sup>2</sup>  
Güzin Emecen<sup>2</sup>  
Gamze Bora<sup>1</sup>  
Ergi Deniz Özsoy<sup>2</sup>  
Hayat Erdem Yurter<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Histone acetylation, which is controlled by the balance between histone acetyltransferase (HAT) and histone deacetylase (HDAC) enzymes, leads to transcriptional activation by affecting histone-DNA relationship. This balance is impaired in neurodegenerative diseases, such in Spinal muscular atrophy (SMA), and gene expression can be modulated through HDAC inhibition. Currently, combination therapies regarding SMA are being discussed and HDAC inhibitors have regained importance. Therefore, here, it was aimed to determine appropriate conditions for HDAC inhibitor treatments using SMA *Drosophila melanogaster* model. *D.melanogaster* is a commonly used model for both neurodegenerative diseases and drug research since it reproduces in a short time and contains orthologs of several human genes. In our study, Rpd3 protein level, an HDAC1 ortholog, was investigated in both larval and adult stages of SMA as well as wild-type flies using Western blot. Although not statistically significant, Rpd3 level was higher in the adult than larval stage ( $p>0.05$ ), therefore, adult flies were treated with 5 mM and 10 mM phenylbutyric acid for 5 days. Subsequent to histone extraction, H3K18 and H3K27 acetylation levels were analyzed and Western blot studies showed significant increase in H3K27 (\* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ ) but not H3K18 ( $p>0.05$ ) acetylation levels compared to controls. The flies were also treated with same concentrations of phenylbutyric acid for 10 days, however acetylation levels of H3K27 and H3K18 remained unchanged, indicating possible adaptation and insensitivity due to long-term treatment. Our results suggest that treating adult flies for 5 days then analyzing H3K27 acetylation is the most appropriate condition for HDAC inhibition studies.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, histone, acetylation, phenylbutyric acid

<sup>1</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Hacettepe University Faculty of Science, Department of Biology, Functional and Evolutionary Genetics Laboratory, Ankara, Turkey.

## MB-COMT ve DRD2 Gen Varyantları ve Metilasyon Durumuna İlişkin Madde Kullanım Bozukluklarının Eğilimini Öngörmede Bilgi Kazanım Sınıflandırması

Yasemin Oyacı<sup>1</sup>  
Hasan Mervan Aytaç<sup>2</sup>  
İnci Zaim Gökbay<sup>3</sup>  
Pınar Çetinay Aydın<sup>4</sup>  
Sacide Pehlivan<sup>1</sup>

### ÖZET

Madde kullanım bozukluğu tanısı almış bireylerle yapılan bu çalışmada MB-COMT ve DRD2 gen varyantlarının ve metilasyon durumlarının çeşitli klinik parametrelerle eğilim oluşturma analizleri bir sınıflandırma algoritması olan karar ağaçları yöntemiyle incelenmiştir. Çalışmanın amacı sınıflandırma algoritmalarının daha öncesinde yapılan değerlendirmelerle ne derecede benzer sonuçlar çıkartacağı ve ilerleyen çalışmalarda bu tip davranışlar gösteren bireylerin makine öğrenmesi yöntemleriyle analiz edilerek bir öngörünün yapılabilirliğinin araştırılmasıdır

Veri tabanımız 18-51 yaş arası (ortalama:28,66) madde kullanım bozukluğu tanısı almış 211 erkek birey içermektedir. Gen varyantlarının analizi için PCR-RFLP metodu, metilasyon analizleri için MSP-PCR metodu kullanılmıştır. Çalışmamızda MB-COMT geninin Val158Met fonksiyonel varyantı ve metilasyon analizi ile DRD2 geninin -141C Ins/Del fonksiyonel varyantı ve metilasyon analizleri yapılmıştır. Çoklu madde kullanımı, ceza mahkumiyeti ve intihar girişiminin varlığı gibi klinik parametreler karar ağaçları sınıflandırma analizinde Bilgi Kazanımı bölünmüş kriteri kullanılarak incelenmiştir. Karar ağaçları algoritması bilginin en yoğun olduğu kökten başlayarak sonuca giden yolda ardışık olayların oluşmasının ağaç formunda gösterilmesine dayanmaktadır.

Analiz sonuçlarına göre çoklu madde kullanımı, adli öykü ve intihar teşebbüslerine ilişkin elde edilen doğruluk oranları sırasıyla %68,25, %46,03 ve %70,31'dir.

Bu çalışma bireylerin davranışlarının analizi için kullanılacak gen varyantlarına ilişkin analizlerde öngörme amaçlı bu yöntemlerin kullanabileceğini gösteren ilk çalışma niteliğindedir.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2019-34316

Anahtar Kelimeler: MKB, MB-COMT, DRD2, Bilgi Kazanımı, Karar Ağacı Analizi

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD., İstanbul.

<sup>2</sup>Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi, Psikiyatri Bölümü, İstanbul.

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi, Enformatik Bölümü, İstanbul.

<sup>4</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Psikiyatri, Nöroloji ve Nöroşirürji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Psikiyatri Kliniği, İstanbul.

## Information Gain Classification On Predicting Substance Use Disorders Tendency Related to Gene Variants and Methylation Status of MB-COMT and DRD2 Gene

Yasemin Oyacı<sup>1</sup>  
Hasan Mervan Aytaç<sup>2</sup>  
İnci Zaim Gökbay<sup>3</sup>  
Pınar Çetinay Aydın<sup>4</sup>  
Sacide Pehlivan<sup>1</sup>

### ABSTRACT

In this study conducted on individuals diagnosed with substance use disorder, the tendency analyzes of MB-COMT and DRD2 gene variants and methylation status with various clinical parameters were examined by the decision tree method, which is a classification algorithm. The aim of the study is to examine the extent to which the classification algorithms will produce similar results with the previous evaluations and to analyze the feasibility of a prediction by analyzing individuals who show such behaviors in future studies with machine learning methods.

Our database includes 211 male individuals aged 18-51 (mean:28.66) diagnosed with substance use disorder. PCR-RFLP method was used for analysis of gene variants and MSP-PCR method was used for methylation analysis. In our study, Val158Met functional variant and methylation analysis of MB-COMT gene and -141C Ins/Del functional variant and methylation analysis of DRD2 gene were performed. Clinical parameters such as multiple substance use, criminal conviction and suicide attempt were examined using the Information Gain split criterion in the decision tree classification analysis. Decision trees algorithm is based on showing the formation of sequential events on the way to the result, starting from the root with the most information, in tree form.

According to the results of the analysis, the accuracy rates of multiple substance use, criminal conviction and suicide attempts were 68.25%, 46.03% and 70.31%, respectively.

This study is the first to show that these methods can be used for predictive purposes in the analysis of gene variants to be used for the analysis of individuals' behavior.

Keywords: SUD, MB-COMT, DRD2, Information Gain, Decision Tree Analysis

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul.

<sup>2</sup>Department of Psychiatry, Basaksehir Cam and Sakura City Hospital, Istanbul.

<sup>3</sup>Informatics Department, Istanbul University, Istanbul.

<sup>4</sup>Department of Psychiatry, University of Health Sciences, Psychiatry Clinic, Bakirkoy Research and Training Hospital for Psychiatry, Neurology and Neurosurgery, Istanbul.

## PCR (-) COVID-19 hastalarında MBL2 ve NOS3 fonksiyonel gen varyantlarının araştırılması

Sacide Pehlivan<sup>1</sup>  
Murat Köse<sup>2</sup>  
Sevim Meşe<sup>3</sup>  
İstemi Serin<sup>4</sup>  
Naci Şenkal<sup>2</sup>  
Yasemin Oyacı<sup>1</sup>  
Alpay Medetalibeyoğlu<sup>2</sup>  
Mustafa Pehlivan<sup>5</sup>  
Gözde Yeşil Sayın<sup>6</sup>  
Ümmihan İşoğlu Alkaç<sup>7</sup>  
Tufan Tükek<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İstanbul.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, İstanbul.

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, İstanbul.

<sup>4</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hematoloji AD, İstanbul.

<sup>5</sup>Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hematoloji Bölümü, Gaziantep.

<sup>6</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, İstanbul.

<sup>7</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, İstanbul.

### ÖZET

Bu çalışmada, Covid-19 olduğu düşünülen ancak Covid-19 PCR sonucu negatif olan hastalarda MBL2 ile NOS3 genlerine ait fonksiyonel gen varyantlarının önceden çalışılan Covid-19 PCR sonucu pozitif olan hastalarımızdan farklı olup olmadığı araştırılmıştır.

Çalışmaya Covid olduğu düşünülen ancak Covid-19 PCR sonucu negatif olan 79 hasta ve 100 sağlıklı birey dahil edilmiştir. MBL2 ile NOS3 genlerine ait fonksiyonel gen varyantlarının analizi PCR ve/veya PCR-RFLP yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Hasta ve kontrol gruplarında MBL2-rs1800450 fonksiyonel gen varyantında hem genotip hem de allel sıklığı açısından anlamlı bir ilişkinin olduğu belirlenmiştir. Bu anlamlı ilişki önceden çalıştığımız Covid-19 PCR pozitif hastalarda da saptanmıştı. NOS3 geni fonksiyonel varyantlarının (rs1799983 ve NOS3-intron 4 VNTR) karşılaştırmasında ise anlamlı bir ilişki bulunmazken, önceden çalıştığımız Covid-19-PCR pozitif hastalarda rs1799983 varyantında hem genotip hem de allel sıklığı açısından anlamlı bir ilişki saptanmıştı.

Sonuç olarak akut cevapta önemli rolü olan MBL2 genine ait fonksiyonel gen varyantı, hem pozitif hem de negatif hastalarda BB genotipi açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir artış göstermiştir. Covid-19 hastalarında bu genotiplerin hastalığa yatkınlıkla ilişkili olabileceği ve daha fazla sayıda hastada aynı zamanda tüm genin analiz edilmesinin tedaviye de yardımcı olabilecek sonuçlar oluşturabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, MBL2, NOS3, PCR-RFLP, gen varyantı

## Investigation of MBL2 and NOS3 functional gene variants in Covid-19 Pcr (-) patients

Sacide Pehlivan<sup>1</sup>  
Murat Köse<sup>2</sup>  
Sevim Meşe<sup>3</sup>  
İstemi Serin<sup>4</sup>  
Naci Şenkal<sup>2</sup>  
Yasemin Oyacı<sup>1</sup>  
Alpay Medetalibeyoğlu<sup>2</sup>  
Mustafa Pehlivan<sup>5</sup>  
Gözde Yeşil Sayın<sup>6</sup>  
Ümmihan İşoğlu Alkaç<sup>7</sup>  
Tufan Tükek<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul.

<sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul.

<sup>3</sup>Department of Microbiology, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul.

<sup>4</sup>Department of Hematology, Istanbul Training and Research Hospital, University of Health Sciences, İstanbul.

<sup>5</sup>Department of Haematology, Gaziantep University, Faculty of Medicine, Gaziantep.

<sup>6</sup>Department of Medical Genetics, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul.

<sup>7</sup>Department of Physiology, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul.

### ABSTRACT

In this study, functional gene variants of MBL2 and NOS3 genes were studied in patients who were thought to have Covid19 but whose Covid19-PCR result was negative and it was investigated whether the results were different from our patients whose Covid19-PCR results were positive which were previously studied.

Seventy-nine patients who were thought to have Covid19 but whose Covid-PCR result was negative and 100 healthy individuals were included in the study. Analysis of functional gene variants of MBL2 and NOS3 genes was performed by PCR and/or PCR-RFLP method.

It was determined that there was a significant relationship in terms of both genotype and allele frequency in the MBL2-rs1800450 functional gene variant in the patient and control groups. This significant relationship was also detected in the Covid-19 PCR positive patients we studied previously. In the comparison of NOS3 gene functional variants (rs1799983 and NOS3-intron 4 VNTR), no significant relationship was found, while a significant relationship was found in terms of both genotype and allele frequency in the rs1799983 variant in the Covid-19-PCR positive patients we studied previously.

As a result, the functional gene variant of the MBL2 gene, which has an important role in acute response, showed a statistically significant increase in BB genotype in both positive and negative patients. It is thought that this genotype may be associated with susceptibility to the disease in Covid-19 patients, and analysis of the whole gene in more patients may produce results that may help treatment.

Keywords: COVID-19, MBL2, NOS3, PCR-RFLP, gene variant

## Ex-Vivo Gen Terapisiyle Hipoparatiroidizm Tedavisi Modeli Oluşturma

Öykü Zeybek<sup>1</sup>  
Fahri Akbaş<sup>2</sup>

### ÖZET

Hipoparatiroidi tedavisi için uzun vadeli ve yan etkisi olmayan konvansiyonel bir yöntem olmadığı gibi cerrahi yöntemlerle tedavisi için de donör bulma güçlüğü mevcuttur. Çalışmamızın amacı sıçanlar üzerinde gen terapisiyle hipoparatiroidi için yeni bir terapi metodunun uygulanabilirliğinin gösterilmesidir.

Çalışmamızda daha güvenli ve kontrollü olduğundan ex vivo gen terapisi metodu uygulanmıştır. Bir yandan insan PTH genini (hPTH) taşıyan 2. nesil lentiviral vektörlerin üretimi yapılmış, diğer yandan her bir sıçandan alınan dokular ayrı ayrı kültüre edilerek otolog primer hücre kültürleri oluşturulmuştur. Üretilen lentiviral vektörlerle primer hücreler transdükte edilmiş ve hedef gen kalıcı olarak hücrelerin genomuna entegre edilmiştir. Kültür ortamında hPTH üretimi biyokimyasal testler ve floresan görüntülemeyle tespit edildikten sonra, söz konusu otolog hücreler, dokunun alındığı bölgeye subkutan olarak geri enjekte edilmiştir.

Çalışmada 3 adet deney, 4 adet kontrol sıçanı ile çalışılmış olup, amaç gen terapisi sonrasında sadece serumdaki hPTH seviyesinin yükselme potansiyelinin gösterilmesi olduğundan, istatistiksel değerlendirmeye gidilmemiştir. Enjeksiyon sonrası her bir sıçandan 3., 14., 30., 45., ve 60. günlerde alınan serum PTH değerleri (pg/mL) incelendiğinde tüm deney sıçanlarının serumlarında hPTH üretiminin pozitif olduğu; tüm kontrol sıçanlarının serum hPTH seviyelerinin ise 0,0 pg/mL olduğu tespit edilmiştir.

Deney grubundaki tüm sıçanların serum hPTH seviyelerinin pozitif olmasına karşın, elde edilen değerler sıçanlar arasında ve günler bazında değişkenlik göstermektedir. Bunun sebebi her bir sıçanla ayrı ayrı çalışılması ve kullanılan tüm metodların henüz optimize edilememiş olmasıdır. Bununla beraber ex-vivo gen terapisinin optimize edilerek hipoparatiroidi tedavisinde kullanılacak yeni bir metod olabileceği gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: gen terapisi, hipoparatiroidi, lentiviral vektör, primer hücre kültürü

<sup>1</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji AD.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.

## Setting A Therapy Model for Hypoparathyroidism via Ex-Vivo Gene Therapy

Öykü Zeybek<sup>1</sup>  
Fahri Akbaş<sup>2</sup>

### ABSTRACT

As there is no long-term and no side-effect conventional therapy for hypoparathyroidism, it's also difficult to find a donor for surgical therapy. Our purpose is demonstrating gene therapy may be an effective new method for hypoparathyroidism in rats.

We preferred ex-vivo gene therapy due to its safety and ease of control. While we produced 2nd generational lentiviral vectors that includes human PTH gene (hPTH), we also cultured autologous primary cells from the tissues derived from each rat. Primary cells were transduced by lentiviral vectors and hPTH gene was inserted permanently into the genome of the cells. hPTH production was verified by biochemical analysis and fluorescent microscope views in the culture media and the cells were injected into rats subcutaneously.

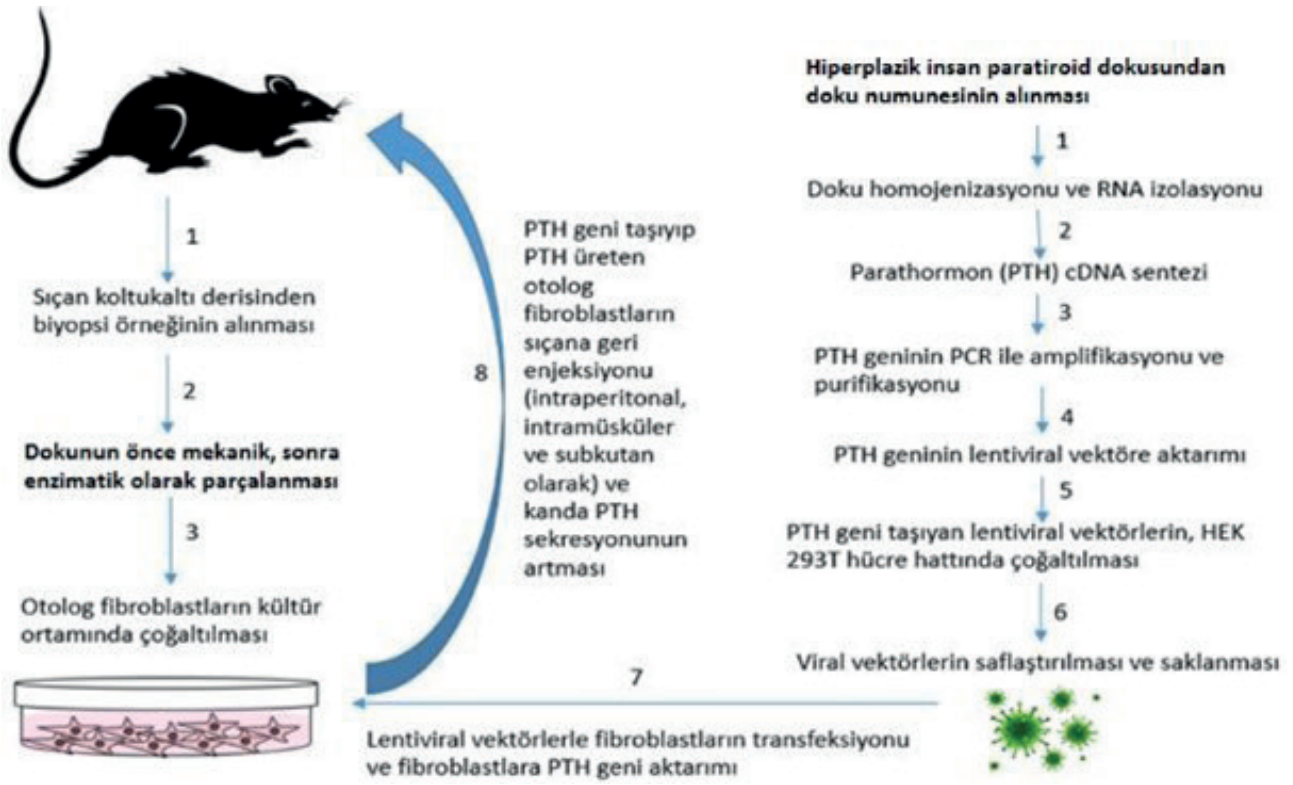
We studied with 3 rats and 4 control rats. As our aim was only demonstrating the increase of serum hPTH levels, the study doesn't include a statistical analysis. At the days of 3., 14., 30., 45., and 60. after injection, serum hPTH levels were analyzed and hPTH levels were positive in all study rats while negative (0,0 pg/ml) in all control rats.

As all hPTH levels were positive, the obtained hormone levels showed discrepancies between study rats. However these discrepancies were expected due to the fact that we couldn't optimize each step of the study. We could conclude that ex-vivo gene therapy may be a new method for hypoparathyroidism, if it's possible to optimize each step.

Keywords: gene therapy, hypoparathyroidism, lentiviral vector, primary cell culture

<sup>1</sup>Bezmialem Vakif University, Health Sciences Institute, Biotechnology.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakif University, Medical Faculty, Medical Biology.



Şekil 1. Çalışmanın genel özeti

Figure 1. Summary of the Study



## Mide kanseri hücrelerinin agresifliğinin baskılanmasında olea europaea yaprak ekstresi ile 5-fluorourasil ve cisplatin kombin tedavilerinin etkileri

Çağla Tekin<sup>1</sup>  
Berrin Tunca<sup>1</sup>  
Melis Mutlu<sup>1</sup>  
Seçil Ak Aksoy<sup>2</sup>  
Gülçin Tezcan<sup>3</sup>  
Ferah Budak<sup>4</sup>  
Gülşah Çeçener<sup>1</sup>  
Ünal Egeli<sup>1</sup>

### ÖZET

Mide kanseri (Gastrik kanser; GK), epidemiyolojik ve histopatolojik farklılıklarla karakterize olan kötü prognozla ilişkilendirilmiş gastrointestinal sistem tümörlerinden biridir. Mevcut çalışmada Olea europaea yapraklarından elde edilen ekstraktın (OLE), 5-Florourasil (5-FU) ve Cisplatin (Cis) kombin tedavisinde GK hücrelerinin biyolojik davranışlarına olan etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Bu kombinasyonların hücre ölümüne etkisi Annexin V analizi, tümör hücrelerinin agresifliğini baskılama üzerine olası etkileri koloni oluşumu, 3 Boyutlu (3B) hücre kültür yöntemleri, damar oluşumuna etkisi ex-vivo yöntem, Epideryal-Mezenkimal Geçiş (EMT), Kanser Kök Hücre (CSC) ile ilişkili etkileri gen ekspresyon seviyelerinin analizi ile ve bu süreçlerde etkili olan LncRNA moleküllerinin ekspresyon seviyelerinin analiziyle değerlendirildi.

OLE, OLE+5-FU, OLE+Cis tedavisinde, sırasıyla %24.7, %18.6, %11.0 apoptotik ölüm oranı belirlendi. OLE'nin kontrol hücrelerine kıyasla koloni sayısını 97,2 kat azalttığı ( $p<0,0001$ ) ve CD133 (-2,15 kat;  $p=0,0042$ ), NANOG (-2,27 kat;  $p=0,0053$ ) SOX2 (-2,13 kat;  $p=0,0317$ ) ve OCT4 (-5,11 kat;  $p=0,0112$ ) genlerinin ekspresyon seviyelerini azalttığı saptandı. OLE, OLE+5-FU CDH1 genini 2,09 ve 1,7 kat artırdığı, OLE'nin PVT1, MALAT1, ve SNHG16'nın ekspresyon seviyelerini azalttığı görüldü ( $p<0,05$ ). OLE'nin tümör hacmini 39,72 kat küçülttüğü, damar oluşumunu 15,3 kat azalttığı belirlendi ( $p<0,0001$ ).

Bulgular sonucunda OLE'nin apoptotik ölümü indüklediği, CSC'yi baskılayarak koloni oluşumunu azalttığı, tümör hacmini küçülttüğü, EMT'yi baskılayarak hücrelerin sıkı bağlantılarını koruyucu yönünde etkisi olduğu, damar oluşumunu baskıladı, LncRNA'ların ekspresyon seviyelerini azaltarak tümörün agresifliğini baskılanması yönünde etkili olabileceği gösterildi. İleri analizlerle desteklenmeye ihtiyaç duyulmakla birlikte GK'larda OLE'nin mevcut tedavi protokollerinin iyileştirilmesine yönelik yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde kullanılabilecek bir molekül olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: 5-Florourasil (5-FU), 3 Boyutlu (3B) hücre kültürü, Cisplatin (Cis), Gastrik Kanser, Olea europaea yaprak ekstrakt (OLE)

<sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Bursa, Türkiye.

<sup>2</sup>İnegöl Meslek Yüksekokulu, Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye.

<sup>3</sup>Diş Hekimliği Fakültesi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye.

<sup>4</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.

## The effects of olea europaea leaf extract and 5-fluorouracil and cisplatin combination treatments on suppressing the aggressiveness of gastric cancer cells

Çağla Tekin<sup>1</sup>  
Berrin Tunca<sup>1</sup>  
Melis Mutlu<sup>1</sup>  
Seçil Ak Aksoy<sup>2</sup>  
Gülçin Tezcan<sup>3</sup>  
Ferah Budak<sup>4</sup>  
Gülşah Çeçener<sup>1</sup>  
Ünal Egeli<sup>1</sup>

111

### ABSTRACT

Gastric cancer (GC) is one of the tumor types of gastrointestinal tract characterized by epidemiological and histopathological differences which is associated with poor prognosis. In this study the effects of OLE and OLE-5-Fu-Cis combinations on biological behavior of GC cells were aimed to be investigated.

The effect of these combinations on cell death, tumor aggressiveness, colony formation and vascularization of a GC cell line were analyzed using Annexin V, 3D culture and ex-vivo analyses, respectively. In addition, EMT, CSC and LncRNA were evaluated at gene expression levels.

Apoptotic mortality rates of OLE, OLE+5-FU, OLE+Cis treatments were determined as 24.7%, 18.6%, and 11.0%, respectively. OLE decreased the number of colonies 97.2-fold ( $p < 0,0001$ ) and decreased the expression levels of CD133 (-2,15-fold;  $p = 0,0042$ ), NANOG (-2,27-fold;  $p = 0,0053$ ) SOX2 (-2,13-fold;  $p = 0,0317$ ) and OCT4 (-5,11-fold;  $p = 0,0112$ ) compared to control cells. Additionally, OLE and OLE+5-FU treatments increased the expression level of CDH1 gene 2.09 and 1.7-fold, whereas OLE decreased the expression levels of PVT1, MALAT1, and SNHG16 ( $p < 0,05$ ) compared to control. Moreover, our findings showed that, OLE induced apoptosis whereas reduced colony formation by suppressing CSC, reduced tumor size (39.72-fold), suppressed tight junctions of cells by suppressing EMT, vascularization (15.3-fold), and tumor aggressiveness by reducing expression levels of these LncRNAs ( $p < 0,0001$ ).

Although validating further analysis are required, current findings suggests that, OLE could be molecule that to be used in the development of new treatment methods to improve existing treatment protocols in GCs.

Keywords: 5-Fluorouracil (5-FU), 3D cell culture, Gastric cancer, Cisplatin (Cis) Olea europaea leaf extract

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University, Bursa, Turkey.

<sup>2</sup>Inegol Vocation School, Bursa Uludag University, Bursa, Turkey.

<sup>3</sup>Faculty of Dentistry, Bursa Uludag University, Bursa, Turkey.

<sup>4</sup>Department of Immunology, Medical Faculty, Bursa Uludag University Bursa, Turkey.

## Dejeneratif retinal gen tedavi çalışmalarında kullanılmak üzere kimyasal ajan indüklü yeni deney hayvan modelinin geliştirilmesi

Elif Özgecan Şahin<sup>1</sup>  
Fulya Erendor<sup>1</sup>  
Bahar Akkaya<sup>1</sup>  
Ahmet Burak Bilgin<sup>2</sup>  
Serdar Ceylaner<sup>3</sup>  
Salih Şanlıoğlu<sup>1</sup>

### ÖZET

Retinopatiler, yavaş ve ilerleyen retinal dejenerasyonla karakterize bir hastalık grubu olup insanlarda görme bozukluğu ve körlüğün başlıca nedenidir. Retinal pigment epitelyum ve fotoreseptörler mutasyonların neden olduğu retinal dejenerasyondan en çok etkilenen hücre gruplarıdır. Ayrıca, hasarlı hücreler nedeniyle aktive olan mikroglialar, retina katmanları boyunca göç ederek ve proinflatuar sitokinler salgılayarak fotoreseptör dejenerasyonunu daha da hızlandırabilir. Çeşitli hücrelerde görülen hastalıkla ilişkilendirilmiş mutasyonların tipi dejenerasyon sürecini etkilese de görülen patoloji birbirine benzerdir. Bu bağlamda, kalıtsal retinal distrofilerin ortak hastalık patolojisini gösteren yeni bir deneysel retinal dejenerasyon hayvan modelinin geliştirilmesi amaçlandı. İn vitro hastalık modeli ARPE-19 (insan retinal pigment epitelyum) hücrelerinin hipoksiyi tetiklediği bilinen kobalt klorür (CoCl<sub>2</sub>) ile muamele edilmesiyle oluşturuldu. Hücresel hipoksi, western blot ve immünofloresan boyama yöntemleriyle hipoksi indükleyici faktör 1 alfa'ya (HIF-1α) karşı antikolar kullanılarak doğrulandı. HMC-3 (insan mikroglia) hücrelerine yapılan CoCl<sub>2</sub> uygulamasının ardından yapılan CD11b immün boyaması ile de mikroglial aktivasyon doğrulandı. Retinal dejenerasyonunun in vivo hayvan modelini oluşturmak için, Wistar sıçanlara dozları 5 – 500 nmol arasında değişen intravitreal CoCl<sub>2</sub> solüsyonunun enjeksiyonları gerçekleştirildi. Parafine gömülü sıçan retina kesitlerinde yapılan Hematoksilen&eoizin ve TUNEL boyama sonuçları, progresif retinal dejenerasyon fotoreseptörlerin dış segmentinde başladığını ve zamanla diğer retina katmanlarına yayıldığını gösterdi. Ayrıca, CD68 immün boyaması ile de mikroglial hücrelerin aktifleşerek retinal katmanlar boyunca göç ettikleri belirlenmiştir. Retinal dejenerasyona ek olarak aktif mikroglia hücrelerinin de varlığı ortak hastalık patolojisinin oluştuğuna işaret etmektedir. Tüm bu sonuçlar, kimyasal ajan indüklü retinal dejenerasyon hayvan modelinin başarılı ile oluşturulduğunu göstermektedir.

Proje TÜBİTAK tarafından TUBİTAK-218S543 nolu proje ile desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: kobalt klorür, hipoksi, progresif retinal dejenerasyon, deney hayvan modeli

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Gen ve Hücre Tedavisi Anabilim Dalı, Antalya.

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Antalya.

<sup>3</sup>Intergen Genetik Hastalıklar Tanı, Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara.

## Dejeneratif retinal gen tedavi çalışmalarında kullanılmak üzere kimyasal ajan indüklü yeni deney hayvan modelinin geliştirilmesi

Elif Özgecan Şahin<sup>1</sup>  
Fulya Erendor<sup>1</sup>  
Bahar Akkaya<sup>1</sup>  
Ahmet Burak Bilgin<sup>2</sup>  
Serdar Ceylaner<sup>3</sup>  
Salih Şanlıoğlu<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Retinopatiler, yavaş ve ilerleyen retinal dejenerasyonla karakterize bir hastalık grubu olup insanlarda görme bozukluğu ve körlüğün başlıca nedenidir. Retinal pigment epitelyum ve fotoreseptörler mutasyonların neden olduğu retinal dejenerasyondan en çok etkilenen hücre gruplarıdır. Ayrıca, hasarlı hücreler nedeniyle aktive olan mikroglialar, retina katmanları boyunca göç ederek ve proinflamatuar sitokinler salgılayarak fotoreseptör dejenerasyonunu daha da hızlandırabilir. Çeşitli hücrelerde görülen hastalıkla ilişkilendirilmiş mutasyonların tipi dejenerasyon sürecini etkilese de görülen patoloji birbirine benzerdir. Bu bağlamda, kalıtsal retinal distrofilerin ortak hastalık patolojisini gösteren yeni bir deneysel retinal dejenerasyon hayvan modelinin geliştirilmesi amaçlandı. İn vitro hastalık modeli ARPE-19 (insan retinal pigment epitelyum) hücrelerinin hipoksiye tetiklediği bilinen kobalt klorür (CoCl<sub>2</sub>) ile muamele edilmesiyle oluşturuldu. Hücresel hipoksi, western blot ve immüno Floresan boyama yöntemleriyle hipoksi indükleyici faktör 1 alfa'ya (HIF-1α) karşı antikolar kullanılarak doğrulandı. HMC-3 (insan mikroglia) hücrelerine yapılan CoCl<sub>2</sub> uygulamasının ardından yapılan CD11b immün boyaması ile de mikroglial aktivasyon doğrulandı. Retinal dejenerasyonunun in vivo hayvan modelini oluşturmak için, Wistar sıçanlara dozları 5 – 500 nmol arasında değişen intravitreal CoCl<sub>2</sub> solüsyonunun enjeksiyonları gerçekleştirildi. Parafine gömülü sıçan retina kesitlerinde yapılan Hematoksilin&eozin ve TUNEL boyama sonuçları, progresif retinal dejenerasyon fotoreseptörlerin dış segmentinde başladığını ve zamanla diğer retina katmanlarına yayıldığını gösterdi. Ayrıca, CD68 immün boyaması ile de mikroglial hücrelerin aktifleşerek retinal katmanlar boyunca göç ettikleri belirlenmiştir. Retinal dejenerasyona ek olarak aktif mikroglia hücrelerinin de varlığı ortak hastalık patolojisinin oluştuğuna işaret etmektedir. Tüm bu sonuçlar, kimyasal ajan indüklü retinal dejenerasyon hayvan modelinin başarı ile oluşturulduğunu göstermektedir. TÜBİTAK\_218S543

Keywords: kobalt klorür, hipoksi, progresif retinal dejenerasyon, deney hayvan modeli

<sup>1</sup>The Department of Gene and Cell Therapy, Akdeniz University, Faculty of Medicine, Antalya.

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya.

<sup>3</sup>Intergen Center for Genetic Diseases, Ankara.

## Fumaraz enziminin *Shewanella putrefaciens* bakterisinden üretimi ve biyokimyasal tanı kitlerinde kullanılması

Ceyhun Toruntay<sup>1</sup>  
Nur Damla Korkmaz<sup>1</sup>  
Şahabettin Selek<sup>2</sup>  
Ayşe Zehra Gül<sup>2</sup>  
Metin Demirel<sup>2</sup>  
Ufuk Sarıkaya<sup>2</sup>  
Fahri Akbaş<sup>1</sup>

### ÖZET

Fumaraz, ökaryotlarda sitozolde ve mitokondriyal matrikste bulunur. Mitokondriyal formu Krebs döngüsünde ara basamak işlevi görürken, sitozolik formu fumaratı metabolize eder. *FH* genindeki mutasyonlar, fumarik asidüri ve Reed sendromu gibi hastalıklara yol açmaktadır. *FH* mutasyonlarını tespit eden genetik testler, yüksek maliyeti sebebiyle sık kullanılmamaktadır. Bu çalışmada, fumarazın rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmesi ve klinik kullanıma uygun biyokimya ölçüm kiti geliştirilmesi amaçlanmıştır.

*Shewanella putrefaciens* bakterisinin CN-32 suşunun *FH* geni PZR ile çoğaltılmıştır. *FH* geni pET-14b ekspresyon vektörüne klonlanmış ve OneShotMach1-T1 *E.coli* hücrelerine transforme edilmiştir. Vektörler restriksiyon kesimi ile doğrulandıktan sonra, *E.coli* BL21(DE3) hücrelerine transforme edilmiştir. IPTG ile indükleme sonrası, *FH* geninin ekspresyonu gerçekleştirilmiştir. Fumaraz üretiminin belirlenmesi SDS-PAGE ile, saflaştırılma işlemi ise His-tag kolonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Üretilen enzimin aktivitesi, enzim aktivite testleri ile kantitatif olarak incelenmiştir.

EcoRI ve BamHI restriksiyon endonükleazları ile kesilmiş rekombinant vektörlerin, agaroz jelde yürütülmesi sonucunda insert boyutunu ve kesilmiş plazmid boyutunu temsil eden iki ayrı bant gözlenmiştir. Fumarazın *E.coli* BL21(DE3) hücrelerinde büyük miktarda üretimi SDS-PAGE ile belirlenmiştir, ve aktivitesi enzim aktivite testleri ile belirlenmiştir.

Tartışma: Üretilen fumarazın kalibratör ve kontrol olarak kullanılması, rutin biyokimya laboratuvarında fumarazın aktivite tayininin pratik ve uygun maliyetli olarak gerçekleştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Rekombinant DNA teknolojisi ile *E.coli* BL21(DE3) hücrelerinde fumarazın büyük miktarda üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen enzimlerin aktivitesinin doğrulanmış olması, bu enzimlerden rutin uygulamalarda yararlanılabileceğini göstermektedir.

Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: 20200902).

Anahtar Kelimeler: *E.coli* BL21(DE3), Fumaraz, pET-14b, Rekombinant DNA Teknolojisi, *Shewanella putrefaciens*

<sup>1</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

## Production of fumarase enzyme from *Shewanella putrefaciens* bacteria and utilization in biochemical diagnostic kits

Ceyhun Toruntay<sup>1</sup>  
Nur Damla Korkmaz<sup>1</sup>  
Şahabettin Selek<sup>2</sup>  
Ayşe Zehra Gül<sup>2</sup>  
Metin Demirel<sup>2</sup>  
Ufuk Sarıkaya<sup>2</sup>  
Fahri Akbaş<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Fumarase is found in the cytosol and mitochondrial matrix in eukaryotes. Its mitochondrial form acts as an intermediate step in the Krebs cycle, while its cytosolic form metabolizes fumarate. Mutations in *FH* gene cause diseases such as fumaric aciduria and Reed's syndrome. Genetic testing that detect *FH* mutations are not used frequently due to their high cost. In this study, it was aimed to produce fumarase with recombinant DNA technology and to develop biochemistry test kit suitable for clinical use.

*FH* gene of CN-32 strain of *Shewanella putrefaciens* was amplified by PCR. *FH* gene was cloned into pET-14b vector and transformed into OneShotMach1-T1 *E.coli* cells. After the validation by restriction digestion, vectors were transformed into *E.coli* BL21(DE3) cells. After induction with IPTG, expression was performed. Fumarase production was determined by SDS-PAGE and purification was performed using His-tag columns. The activity of produced enzyme was quantitatively examined by enzyme activity tests.

When recombinant vectors digested with EcoRI and BamHI restriction endonucleases were run on agarose gel, two bands were observed representing the size of insert and digested plasmid. Overproduction of fumarase in *E.coli* BL21(DE3) cells were determined with SDS-PAGE, and its activity was determined by enzyme activity tests.

Discussion: The use of produced fumarase as a calibrator and control will enable the activity determination of the fumarase to be performed practically and cost-effectively in the routine biochemistry laboratory.

Overproduction of fumarase was performed in *E.coli* BL21(DE3) cells with recombinant DNA technology. The fact that the activity of produced enzymes has been confirmed shows that these enzymes can be used in routine applications.

This study was supported by Scientific Research Projects Unit of Bezmialem Vakif University (Project no: 20200902).

Keywords: *E.coli* BL21(DE3), Fumarase, pET-14b, Recombinant DNA Technology, *Shewanella putrefaciens*

<sup>1</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Istanbul, Turkey.

## Atak ve iyileşmelerle giden multiple skleroz hastalığında inflamazomların değerlendirilmesi

Nur Damla Korkmaz<sup>1</sup>  
Birsen Elibol<sup>1</sup>  
Nisa Hocaoğlu<sup>2</sup>  
Esra Başar Gürsoy<sup>3</sup>

### ÖZET

Multipl Skleroz (MS), beyin ve omurilikte demyelinizasyonla karakterize bir otoimmün hastalıktır. İnflamazomlar, sitozolik multiprotein kompleksleri olup kaspaz-1 aktivasyonu, interlökin (IL)-1 $\beta$  ve IL-18 oluşumunu tetiklerler. Bu çalışmada amaç; atak ve remisyon dönemlerinde olan MS hastalarının inflamazom oligomerlerindeki değişimi belirlemek ve hastalığın ilerleme süreçlerine ilişkin biyobelirteç saptamaktır.

Çalışmaya atak (n=9) ve remisyon (n=29) periyotlarında olan 38 MS hastası ve 10 sağlıklı birey kontrol grubu olarak alınmıştır. Lenfosit eldesi sonrası RNA izolasyonu ve cDNA dönüşümü ardından *GAPDH*, *PYCARD*, *NLRX1*, *NLRP3*, *IL1B* ve *IL18* gen anlatımları qRT-PZR ile değerlendirilmiştir. Sonrasında validasyon için ELISA ile protein miktarları belirlenmiştir.

*NLRX1* gen anlatımında hasta gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmiştir (p=0,049) ve bu azalma atak grubunda belirgindir.

Tartışma: Nörodejenerasyon ve MS oluşumundan sorumlu olduğu düşünülen inflamasyon yolağında yer alan inflamazom kompleksindeki seçili genlerin hasta gruplarıyla sağlıklılar arasında farklılık göstermesi bu kompleksin hastalığın etyopatogenezinde rol oynadığını göstermiştir. Özellikle MS plaklarında ve periferal kanda yüksek miktarda görülen inflamazom kompleks üyelerine karşı uygulanacak anti-inflamatuvar yaklaşımlar klinikte değerlendirileceği gösterilmiştir.

MS'nin etyopatogenezinden sorumlu olduğu gösterilen inflamazom kompleksinin tedavi süreçlerinde hedef olarak kullanımının fayda sağlayabileceği düşünülmektedir. Çalışmamız sonucundaki en önemli bulgu ise inflamasyon basamaklarında görevli olan *NLRX1* gen anlatım düzeyindeki farklılığın ilerleyen dönemde kuvvetli bir aday biyobelirteç olarak öne çıkmış olmasıdır.

Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: 20200801E).

Anahtar Kelimeler: Biyobelirteç, İnflamazom, Multipl Skleroz, *NLRX1*

<sup>1</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

## Evaluation of inflammasomes in multiple sclerosis disease with relapses and remissions

Nur Damla Korkmaz<sup>1</sup>  
Birsen Elibol<sup>1</sup>  
Nisa Hoccoğlu<sup>2</sup>  
Esra Başar Gürsoy<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Department of Neurology, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Multiple Sclerosis (MS) is an autoimmune disease characterized by demyelination of the brain and spinal cord. Inflammasomes are cytosolic multiprotein complexes that trigger caspase-1 activation and formation of interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-18. The aim of this study is to determine the changes in inflammasome oligomers of MS patients who are in relapsing and remission periods, and to determine a biomarker for the disease.

**Material-Method:** Thirty-eight MS patients (relapsing n=9, remission n=29) and 10 healthy individuals as a control group were included in the study. After lymphocyte isolation, RNA isolation and cDNA conversion were performed. *GAPDH*, *PYCARD*, *NLRX1*, *NLRP3*, *IL1B* and *IL18* expressions were evaluated by qRT-PCR. Protein levels were determined by ELISA.

A significant decrease in *NLRX1* expression was determined in the patient groups compared to the control (p=0.049) this was noted significantly in the attack group.

**Discussion:** The differences between the selected genes in the inflammasome complex which is thought to be responsible for neurodegeneration and MS, were detected in the patient and the healthy groups, showed that this complex plays a role in the etiopathogenesis of MS. It has been shown that anti-inflammatory approaches against inflammasome complex which are high in plaques and peripheral blood, will be evaluated clinically.

It is thought beneficial the use of inflammasome complex in the MS treatment. The most important finding of our study is the difference of *NLRX1* gene expressions which is responsible for inflammation, came as a biomarker in the future.

This study was supported by Bezmialem Vakif University Scientific Research Projects Unit (Project no: 20200801E).

**Keywords:** Biomarker, Inflammasome, Multiple Sclerosis, NLRX1



## Kuantum Noktaları Bazlı Jel Elektrofrez Görüntüleme

Sema Şabançelebi  
Güven Yenmiş

Biruni Üniversitesi.

### ÖZET

Polimeraz zincir reaksiyonu ve enzim kesimi gibi deneylerin sonucunu gözlemlemek için güncel olarak jel elektrofrez yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem kullanılırken UV ışık altında ışımaya veren, kanserojenik etidyum bromür (EtBr) ajanı kullanılır. Nükleik aside bağlanan EtBr, UV altında ışımaya yaparak dolaylı olarak nükleik asidin görüntülenmesine olanak sağlar. Jel hazırlanırken kaynatılan agaroz içerisine EtBr eklendiğinden buharlaşma yoluyla araştırmacının bu kanserojen ajana maruz kalması kaçınılmazdır. Kuantum noktaları (KN) insan sağlığına zararı olmayan ve UV ışık altında ışımaya veren nano boyutlu yapılardır. Bu maruziyeti önlemek adına bilinen bir zararı bulunmayan ve yine UV ışık altında ışımaya veren farklı nano boyutta ve yoğunluklarda kuantum noktaları kullanılarak EtBr içermeyen jel kullanılarak yeni bir görüntüleme yöntemi geliştirilmesi amaçlandı. EtBr içeren jellerle(Figür 1a.) KN kullanılarak(Figür 1b.) karşılaştırmalı olarak yapılan deneyler sonrasında pH:8.0, 4-6 nm boyutlarındaki KN'lerle yapılan görüntülemelerde EtBr içeren jellerdeki görüntülerle tam uyum gözlemlendi. Çalışan güvenliğinin öne çıktığı günümüzde, özellikle solunuma ve temasla kanserojen etki yapan KN aracılı EtBr'den bağımsız görüntülemenin yaygınlaşması kaçınılmazdır. Farklı boyuttaki KN'nin UV ışık altında farklı renkleri vermesi, aynı anda çok çeşitli molekülleri görüntüleme olanağı da vereceğinden, çalışmanın hücre biyolojisine de ışık tutması beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kuantum Noktaları, Jel Elektrofrez, Nükleik Asit Boyası

## Quantum Dots Based Gel Electrophoresis Screening

Sema Şabançelebi  
Güven Yenmiş

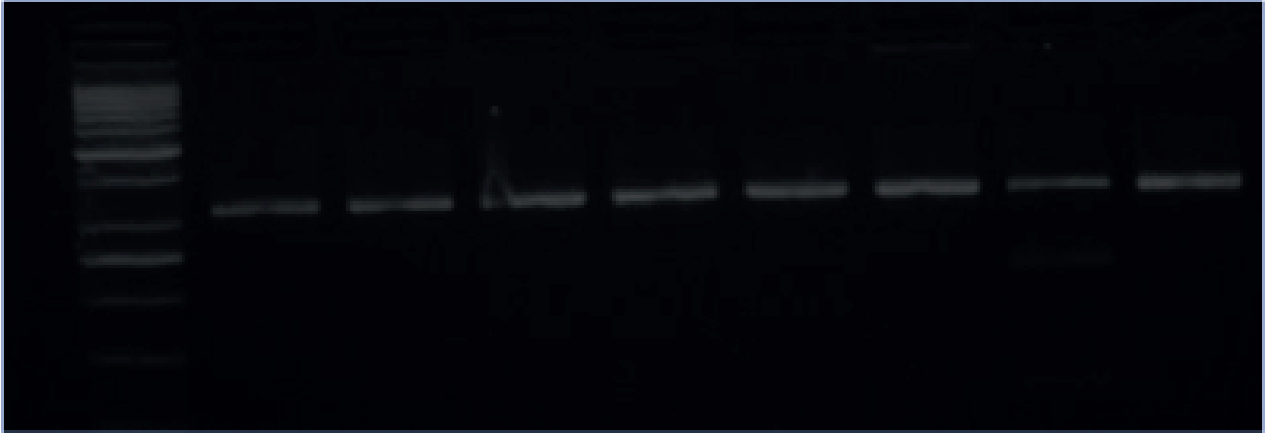
### ABSTRACT

Gel electrophoresis method is currently used to check the results of experiments such as polymerase chain reaction(PCR) and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) PCR. In this method, carcinogenic ethidium bromide (EtBr) agent is used, which radiates under the UV light. EtBr, which in turn binds to the nucleic acid, irradiates under the UV, allowing the nucleic acid to be visualized indirectly. As EtBr is added to the boiled agarose during the preparation of the gel, it is inevitable that researcher will be exposed to this carcinogenic agent through evaporation. Quantum dots (QD) are nano-sized structures which have no reported pathogenecity and emit radiance under the UV light. In order to prevent this exposure, we aimed to develop a new imaging method using quantum dots of different nano sizes and densities with EtBr-free gel, which can also radiates under UV light. After the comparative experiments with gels containing EtBr(Figure 1a.) and QD(Figure 1b.), imaging with QDs with pH:8.0 and 4-6 nm in dimension, had full compatibility with the images in the gels containing EtBr. In today's world where occupational safety comes to the fore, it is inevitable that imaging with QD independent of EtBr-which has carcinogenic effects especially with inhalation and contact- will become widespread. We expect that the study will shed light on the cell biology, since different sizes of QD radiating different colors under UV light will also give the opportunity to display a wide variety of molecules at the same time.

Biruni University.

Keywords: Quantum Dots, Gel Electrophoresis, Nucleic Acid Dye

**A**



**B**



**Şekil 1.** Karşılaştırmalı kuantum noktası ve EtBr jel görüntüsü

**Figure 1.** Comperative gel image of quantum dot and EtBr

A. EtBr jel görüntüsü B. Kuantum noktası jel görüntüsü

A. EtBr gel image B. Quantum dots gel image

## Nek2 Kinaz Hedeflerinin Sentrozom Kümelenmesi Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Batuhan Mert Kalkan<sup>1</sup>  
Selahattin Can Özcan<sup>2</sup>  
Ceyda Açılan Ayhan<sup>3</sup>

### ÖZET

Normal hücrelerden farklı olarak, kanser hücrelerinde sıklıkla ekstra sentrozomlar görülmektedir. Ekstra sentrozomlar, buldukları hücrelerde çok kutuplu bölünmelere neden olarak hücre ölümünü tetiklemektedir. Fakat kanser hücreleri ekstra sentrozomlarını iki kutba kümeleyerek bölünebilmektedirler. Nek2 kinaz, sentrozom döngüsü de dahil olmak üzere mitotik süreçleri düzenleyen anahtar bir moleküldür. Bu projede, Nek2'nin sentriollerin ayrılmasındaki rolüne ek olarak sentrozom kümelenmesinde bir rolü olup olmadığı ve Nek2 hedeflerinden hangilerinin sorumlu olabileceği test edilmektedir. Bu yolla, ekstra sentrozomlu kanser hücrelerini seçici olarak öldürebilecek yeni stratejilerin geliştirilmesi hedeflenmektedir.

Nek2'nin sentrozom kümelenmesine etkisi hem endojen olarak ekstra sentrozomlu (N1E115) hem de mikrotübül inhibitörü ve PLK4 yüksek anlatımı ile indüklenerek ekstra sentrozomlu hale getirilen hücrelerde (U2OS, MDA-MB-231) çalışıldı. Nek2 yüksek anlatımı Doksisiklin indüklenebilir sistem ile, anlatımın susturulması ise siRNA ve CRISPR/Cas9 kullanılarak gerçekleştirildi. Sentrozomlar gama-tubulin immün boyamasıyla işaretlendi. Nek'nin sentrozomla ilişkili olduğu bilinen hedefleri (C-NAP1, Rootletin, Gas2L1, Trf1) CRISPR/Cas9 veya siRNA ile susturularak test edildi.

Nek2 yüksek anlatımında, kümelenmiş sentrozomların çözülerek çok kutuplu bölünmelere yol açtığı; Nek2'nin baskılanmasının ise sentrozom kümelenmesini artırdığı, test edilen tüm hücre hatlarında gözlemlendi. Nek2'nin bilinen hedefi olan ve test edilen proteinlerin ise Nek2 tarafından organize edilen bu mekanizmada yer almadığı görüldü. Şu anda, kanser hücrelerinde sentrozom kümelenmesinde rolü olduğunu belirlediğimiz Nek2'nin etki mekanizmasını aydınlatılması için çalışmalarımız sürmektedir.

Yapılan bu çalışmada Nek2 kinazın kanser hücrelerindeki fazla sentrozomların kümelenmesinde etkin rolü olduğu belirlenmiştir. Etki mekanizmasının açıklığa kavuşturulmasıyla kansere özgü ve hedefli yeni tedavi yaklaşımların geliştirilmesi hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nek2, sentrozom kümelenmesi, kanser

<sup>1</sup>Koç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

<sup>2</sup>Koç Üniversitesi, Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM), İstanbul.

<sup>3</sup>Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul.

## Investigation of Nek2 Kinase Targets with Focus on Centrosome Clustering

Batuhan Mert Kalkan<sup>1</sup>  
Selahattin Can Özcan<sup>2</sup>  
Ceyda Açılan Ayhan<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Unlike normal cells, cancer cells frequently exhibit extra centrosomes, which tend to form multipolar spindles (MPS), triggering cell death. Nevertheless, cancer cells divide successfully by clustering their extra centrosomes into two poles. Nek2 kinase is a key molecule regulating mitotic processes, including centrosome cycle. In this project, we tested whether Nek2 has a role in centrosome clustering in addition to its role in splitting centrioles, and which of the Nek2 targets might be responsible. This way, we wish to find novel strategies that may selectively kill cancer cells exhibiting supernumerary centrosomes.

Unclustering effect of Nek2 was studied in cells with endogenously supernumerary centrosomes (N1E115), or via induction of extra centrosomes via microtubule inhibitors and PLK4 overexpression (U2OS, MDA-MB-231). Nek2 was overexpressed under a Dox inducible promoter or silenced using siRNA or knockout using gRNAs. Centrosomes were labelled using  $\alpha$ -Tubulin. Known Nek2 targets with relevant function were assessed for their involvement in centrosomal unclustering (C-NAP1, Rootletin, Gas2L1, Trf1) using KO or siRNA.

Overexpression of Nek2 induced unclustering of extra centrosomes and lead to MPS, while reduction of Nek2 reclustered the poles, leading bipolar divisions in the cell lines studied. Known Nek2 targets tested have shown that they don't involve in the centrosome clustering mechanism which Nek2 regulates. We are currently studying to elucidate the mechanism of Nek2 regulating centrosome clustering in cancer cells.

In our studies, we assigned a novel function for Nek2 in centrosome clustering. Understanding the mechanism will provide new translational approaches for cancer-specific treatment.

Keywords: Nek2, centrosome clustering, cancer

<sup>1</sup>Koç University, Graduate School of Health Sciences, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Koc University, Translational Medicine Research Center (KUTTAM), Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Koc University, School of Medicine, Istanbul, Turkey.

## İnsan Astrositlerinde Alfa Sinüklein Aşırı Ekspresyonunun İnflamasyon Parametreleri Üzerine Etkisi

Büşra Şengül<sup>1</sup>  
Ebru Keskin<sup>1</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>2</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>1</sup>

### ÖZET

Nörodejeneratif hastalıklarda sadece nöron fonksiyonları değil, destek hücre fonksiyonları da bozulmaktadır. Merkezi sinir sistemi (MSS) bir bütün olarak işlev gösterdiğinden nörodejeneratif hastalıklar nöron yaşamına destek sağlayan hücreler üzerinde de oldukça etkilidir. Astrositler MSS'de bulunan destek hücrelerinden biridir. Bu hücreler diğer nöroglia hücreleriyle birlikte gelişimin çeşitli evrelerinde nörotransmitter, hormon, trofik ve immün faktörleri üretir ve sinaptik fonksiyonlarda görev alırlar. Diğer taraftan iskemi, enfeksiyon ve nörodejeneratif hastalıklar gibi beyinde meydana gelen hemen hemen tüm patolojik durumlara cevap olarak reaktif hale gelirler. Reaktif astrogliozis koruyucu faktörlerin salınımını da içeren bir dizi mekanizma vasıtasıyla MSS hücrelerini korur. Parkinson hastalığı (PH) ve Lewy cisimcikli demans (DLB), nöron veya glia hücrelerinde çözünmeyen  $\alpha$ -sinüklein proteininin anormal birikimi ile karakterize edilen nörodejeneratif hastalıklar olan  $\alpha$ -sinükleinopatiler arasında yer alır. Bu bilgilerden yola çıkarak, insan astrosit kültürlerinde  $\alpha$ -sinüklein aşırı ekspresyonu ile PH benzeri patoloji oluşturulmuştur. Bu çalışma, bu patolojilerin insan astrositlerinde ortaya çıkaracağı inflamatuvar yanıtı ve sağlıklı bir astrosit popülasyonundan farklı olarak ortaya çıkan profili belirlemek amacıyla tasarlanmıştır.

Çalışmada, insan astrositleri kullanılarak hücre kültürü gerçekleştirildi. Hücreler, insan SNCA genini taşıyan plazmid ile transfekte edildi. Ray-biotech C serisi insan inflamasyon antibody array ile 40 adet salınan inflamatuvar proteinin seviyesindeki değişiklikler tespit edildi. Elde ettiğimiz veriler insan astrositlerinde  $\alpha$ -sinüklein aşırı ekspresyonunun IL-33, TNF $\alpha$ , TNF $\beta$  proteinlerinin kültür üst sıvısına salınmasını arttırırken, CCL20/MIP3a2 proteininin ise salınmasını azalttığını göstermektedir.  $\alpha$ -sinüklein aşırı ekspresyonunun; uygulama yapılmayan astrosit kültürü profilini oldukça değiştirdiği saptanmıştır. Çalışmamız bildiğimiz kadarıyla,  $\alpha$ -sinüklein aşırı ekspresyonunun insan astrositlerinde üretilen inflamatuvar faktörler üzerine etkisini araştıran ilk in vitro çalışmadır. Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje No: 30666) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İnsan astrositleri, inflamasyon, nörodejenerasyon, Parkinson hastalığı,  $\alpha$ -sinüklein

<sup>1</sup>Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Sinirbilim Anabilim Dalı, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa; Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye.

## The Effect of Alpha Synuclein Overexpression on Inflammation Parameters in Human Astrocytes

Büşra Şengül<sup>1</sup>  
Ebru Keskin<sup>1</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>2</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Neuroscience, Institute of Neurological Sciences, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey; Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Neurodegenerative diseases in the CNS are also highly effective on cells that support neuron life. Astrocytes are support cells in central nervous system. Together with the other neuroglial cells, these cells produce neurotransmitters, hormones, trophic and immune factors. Astrocytes become reactive in response to almost all pathological conditions that occur in the brain such as ischemia, infection, and neurodegenerative diseases. Reactive astrogliosis protects CNS cells through a number of mechanisms, including the release of protective factors. PD and DLB are among  $\alpha$ -synucleinopathies, which are neurodegenerative disorders characterized by an abnormal accumulation of  $\alpha$ -synuclein protein that is insoluble in neurons or glial cells. In our study, PH-like pathology was created by the overexpression of  $\alpha$ -synuclein in human astrocyte cultures. This study was designed to determine the inflammatory response of these pathologies in human astrocytes and the profile that occurs differently from a healthy astrocyte population. In the study, the primary human astrocytes was cultured. Human SNCA gene carrying plasmid was transferred to the cells. Levels of forty released inflammatory proteins in astrocytes were detected by using Ray-biotech C series human inflammation antibody array C3. Our data show that  $\alpha$ -synuclein overexpression in human astrocytes increases the release of IL-33, TNF $\alpha$ , TNF $\beta$  proteins into the culture supernatant, while it decreases the release of CCL20/MIP3a2 protein. It was determined that  $\alpha$ -synuclein overexpression significantly changed the untreated astrocyte culture profile. To our knowledge, our study is the first in vitro study to investigate the effect of  $\alpha$ -synuclein overexpression on inflammatory factors produced in human astrocytes. (The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University, Project no: 30666)

Keywords: human astrocytes, inflammation, neurodegeneration, Parkinson's disease,  $\alpha$ -synuclein

## Obsesif Kompulsif Bozuklukta SLC1A1 ve DLGAP1 Genlerinin Rolünün İncelenmesi

Efruz İrem Akkuş<sup>1</sup>  
Burcu Bayoğlu<sup>1</sup>  
Neşe Kocabaşoğlu<sup>2</sup>  
Jansed Berfin Yıldız<sup>1</sup>  
Müjgan Cengiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul.

### ÖZET

Yapılan çalışmalar, glutamaterjik sistem genetiğine ait SLC1A1 ve DLGAP1 genlerinin, obsesif kompulsif bozukluk (OKB) oluşumunda etkili olabileceğini göstermiştir. Çalışmamızda, SLC1A1 ve DLGAP1 genlerinin OKB etiyolojisindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, OKB tanısı konmuş 70 hasta ve 70 sağlıklı kontrolde, SLC1A1 (rs587777696) ve DLGAP1 (rs11081062) genlerinde tek nükleotid polimorfizmi (SNP) analizi yapılmıştır. Ayrıca SLC1A1 geninin protein miktarları belirlenmiştir. Kullanılan yöntemler gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tekniği ve ELISA'dır. Hasta grubunda hastalığın şiddeti Yale-Brown Obsesif Kompulsif Ölçeği ile belirlenmiştir.

Elde edilen verilerin analizi sonucunda, SLC1A1 rs587777696 (C/T) SNP'si hasta ve kontroller arasında karşılaştırılmış ve allel frekanslarının dağılımı açısından anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). DLGAP1 rs11081062 (C/T) SNP'sinin allel frekanslarının gruplar arasındaki dağılımında anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). SLC1A1 geninin ELISA sonuçları gruplar arasında karşılaştırılmış ve anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

DLGAP1 rs11081062 tek nükleotid polimorfizminin OKB ile ilişkili olduğu ve SLC1A1 geni protein miktarlarının, OKB hastalarında daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu saptanmıştır. Elde edilen verilerin, OKB'de glutamatin rolünün daha iyi anlaşılabilmesi açısından literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2019-33857

Anahtar Kelimeler: OKB, SLC1A1, DLGAP1, polimorfizm, ELISA



## The Role of SLC1A1 and DLGAP1 Genes in Obsessive Compulsive Disorder

Efruz İrem Akkuş<sup>1</sup>  
Burcu Bayoğlu<sup>1</sup>  
Neşe Kocabaşoğlu<sup>2</sup>  
Jansed Berfin Yıldız<sup>1</sup>  
Müjgan Cengiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul.

<sup>2</sup>Department of Psychiatry, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Studies have shown that SLC1A1 and DLGAP1 genes belonging to glutamatergic system genetics may be effective in the etiology of OCD. Therefore, our study aimed to investigate the effect of SLC1A1 and DLGAP1 genes in the etiology of OCD.

In this study, single nucleotide polymorphisms (SNP) were analyzed by real-time polymerase chain reaction assay (qPCR) in SLC1A1 (rs58777696) and DLGAP1 (rs11081062) genes in 70 patients diagnosed with OCD and 70 healthy controls. In addition, the protein amount of the SLC1A1 gene was determined by ELISA. The severity of the disease was determined by the Yale-Brown Obsessive-Compulsive Scale.

As a result of the analysis, SLC1A1 rs58777696 SNP was compared between patients and controls, and no significant association was found between allele frequencies ( $p>0.05$ ). A significant relation was observed between allele frequencies of DLGAP1 rs11081062 SNP in study groups ( $p<0.05$ ). ELISA results of the SLC1A1 gene were compared between the groups and a significant difference was obtained ( $p<0.05$ ).

In conclusion, DLGAP1 rs11081062 single nucleotide polymorphism was found to be associated with OCD and protein amounts of SLC1A1 gene were determined to be at lower concentrations in OCD patients. It is thought that the obtained data will contribute to the literature in terms of better understanding the role of glutamate in OCD.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University-Cerrahpasa. Project No: TYL-2019-33857

Keywords: OCD, SLC1A1, DLGAP1, polymorphism, ELISA

## Alzheimer, Hafif Kognitif Bozukluk ve Frontotemporal Demans hastalarına ait beyin omurilik sıvılarında HSP90AA1, CHIP (STUB1) ve HSPA4 şaperon protein seviyelerinin belirlenmesi

Pelin Sordu<sup>1</sup>  
Merve Alaylıoğlu<sup>1</sup>  
Bedia Samancı<sup>2</sup>  
Başar Bilgiç<sup>2</sup>  
Haşmet Hanağası<sup>2</sup>  
Hakan Gürvit<sup>2</sup>  
Turgut Ulutin<sup>1</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>3</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul.

<sup>2</sup>Davranış Nörolojisi ve Hareket Bozuklukları Birimi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.

<sup>3</sup>Sinirbilim Anabilim Dalı, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul; Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul.

### ÖZET

Isı şok proteinleri veya moleküler şaperonlar protein homeostaz ağının bir bileşeni olup, proteinlerin konsantrasyonu, hücre içi yerleşimi, katlanması ile katlanma enzimleri ve proteazomun aracılık ettiği protein parçalanmasını kontrol eden mekanizmaların tamamını ifade etmektedir. Amiloid beta (A $\beta$ ) ve tau gibi yanlış katlanmış proteinlerin neden olduğu toksisiteye karşı ilk savunma hattı olarak işlev göstermektedirler. FpClass protein-protein ilişki (PPI) tahmin programını kullanarak elde ettiğimiz veriler Alzheimer Hastalığı (AH) ile bağlantılı proteinler olan mikrotübül ilişkili protein tau (MAPT) ve amiloid öncül proteini (APP) ile HSP90AA1, CHIP (STUB1) ve HSPA4 şaperonları arasında güçlü bir protein-protein etkileşimi bulunduğunu göstermektedir. Bu bilgiler bize, bu şaperon proteinlerinin A $\beta$  ve tau ile etkileşerek beyin-omurilik sıvısına (BOS) birlikte çıkabileceğini ve bir biyobelirteç olarak kullanılabilineceğini düşündürmektedir. Bu amaçla, AH, Hafif Kognitif Bozukluk (MCI), Frontotemporal Demans (FTD) hastaları ile bu hastalarla yaş paralelliği gösteren ve kognitif olarak sağlıklı kabul edilen Sübjektif Kognitif Bozukluk (SCI) tanısı almış bireylere ait BOS örneklerinde HSP90AA1, STUB1 ve HSPA4 şaperon proteinlerinin seviyeleri ELISA yöntemi ile belirlenerek biyobelirteç olma potansiyelleri araştırıldı. Geç başlangıçlı AH (GBAH) ve geç başlangıçlı FTD (GBFTD) hastalarında BOS HSP90AA1 protein seviyelerinin kontrollere kıyasla arttığı, GBAH hastalarında BOS HSPA4 protein seviyelerinin erken başlangıçlı AH (EBAH) hastalarına kıyasla arttığı ve AH, MCI ile FTD hastalarında BOS STUB1 protein seviyelerinin kontrollere kıyasla azaldığı saptanmıştır. Çalışmamızın bulguları göz önüne alındığında, HSP90AA1, HSPA4 ve CHIP (STUB1) şaperon proteinlerinin BOS'daki varlığı AH gibi nörodejeneratif hastalıkların patolojik süreçlerinde önemli bir yere sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer Hastalığı, beyin omurilik sıvısı, biyobelirteç, ısı şok proteinleri

## Determination of HSP90AA1, CHIP (STUB1) and HSPA4 chaperone protein levels in cerebrospinal fluids of Alzheimer's Disease, Mild Cognitive Impairment and Frontotemporal Dementia patients

Pelin Sordu<sup>1</sup>  
 Merve Alaylıoğlu<sup>1</sup>  
 Bedia Samancı<sup>2</sup>  
 Başar Bilgiç<sup>2</sup>  
 Haşmet Hanağası<sup>2</sup>  
 Hakan Gürvit<sup>2</sup>  
 Turgut Ulutin<sup>1</sup>  
 Erdiñ Dursun<sup>3</sup>  
 Duygu Gezen Ak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Brain and Neurodegenerative Diseases Research Unit, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul.

<sup>2</sup>Behavioral Neurology and Movement Disorders Unit, Department of Neurology, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul.

<sup>3</sup>Department of Neuroscience, Institute of Neurological Sciences, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul; Brain and Neurodegenerative Diseases Research Unit, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul.

### ABSTRACT

Heat shock proteins or molecular chaperones have a central role in protein homeostasis as they have been shown to be essential to prevent protein misfolding, protein aggregation and proteotoxicity. They act as the first line of defense against toxicity caused by misfolded proteins such as amyloid beta(A $\beta$ ) and tau. The data we obtained using the FpClass protein-protein association(PPI) prediction program indicate that there is a strong protein-protein interaction between the Alzheimer's Disease(AD) associated proteins microtubule-associated protein tau(MAPT), amyloid precursor protein(APP) and the chaperones HSP90AA1, CHIP(STUB1) and HSPA4. Based upon this information, we thought that these chaperone proteins can interact with A $\beta$  and tau proteins and released into the CSF together and be used as a biomarker. In accordance with this purpose, the levels of HSP90AA1, STUB1 and HSPA4 chaperone proteins in CSF samples of AD, MCI, FTD patients and individuals diagnosed with Subjective Cognitive Impairment(SCI) who are age-related and considered cognitively healthy were determined by ELISA and their potential as biomarkers were investigated. It was determined that CSF HSP90AA1 protein levels were increased in late-onset AD and late-onset FTD patients compared to controls, CSF HSPA4 protein levels were increased in late-onset AD patients compared to early-onset AD patients, and CSF STUB1 protein levels were decreased in AD, MCI and FTD patients compared to controls. Considering the findings of our study, the presence of HSP90AA1, HSPA4 and CHIP(STUB1) chaperone proteins in the CSF suggests that they may have an important role in the pathological processes of neurodegenerative diseases such as AD.

Keywords: Alzheimer's Disease, biomarker, cerebrospinal fluid, heat shock proteins

## Şaperonların fibriler alfa-sinükleinin hücre içi davranışları üzerine etkileri

Tugay Çamoğlu<sup>1</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>3</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sinirbilim Anabilim Dalı, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>Sinirbilim Anabilim Dalı, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye; Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye.

### ÖZET

Monomerik alfa-sinüklein proteini (aSyn) patolojik koşullarda farklı fibriler alfa-sinüklein (f-aSyn) formlarına dönüşebilmektedir. F-aSyn, nöronlar tarafından hücre içine alınabilmekte, kinezin motor proteinleri ile taşınabilmekte ve hücre dışına salınabilmektedir. Şaperon proteinleri f-aSyn'lere bağlanabilmekte ve yıkımlarını sağlayabilmektedir. Çalışmamızda, f-aSyn'in hücre içine girdiğinde, seçtiğimiz 10 şaperonun hücre içi seviyelerine etkisi ve şaperonların f-aSyn'in hücre içi taşınımındaki olası rolleri araştırılmıştır. Bu amaçla, rekombinant aSyn peptidi fibrilleştirilip nörona farklılaştırılan SH-SY5Y hücrelerine uygulanmıştır. Uygulamaları takiben 6 ve 12. saatlerde total protein izolasyonu, 12. saatte immünopresipitasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örnekler western blot ve dot blot teknikleriyle analiz edilmiştir. Total protein örneklerinden f-aSyn uygulamasına bağlı olarak şaperon seviyelerindeki değişim araştırılırken, immünopresipitasyon örneklerinde f-aSyn'e bağlı olan şaperonlar araştırılmıştır. İlk 12 saat içerisinde araştırılan 10 şaperondan 7 tanesinin hücre içi seviyesini azalmıştır. Ayrıca, ilk 12 saat içinde Hsc70 haricindeki diğer şaperonlar aSyn ve kinezin proteini ile bağlı bulunmuştur. Hsc70 inhibitörü uygulandığında Hsp27'nin bağlanma profilinde azalma görülmüştür. Şaperon seviyelerindeki azalma, hücre üst sıvısına salınan LDH ölçümüne dayanarak yapılan toksisite ölçümlerindeki düşüşle uyumlu bulunmuştur. Sonuçlarımız, f-aSyn'in hücre içine girdiği ilk saatlerde kendisini engelleyebilecek olan şaperonların büyük kısmından onların hücre içi seviyelerini azaltarak kurtulabileceğine işaret etmektedir. Şaperonlar içinden Hsp40'ın f-aSyn'e hücre içi taşınımı sırasında eşlik ettiği, ancak kinezin ile f-aSyn arasında adaptör görevi görmediği belirlenmiştir. Buna göre şaperonlar Parkinson Hastalığının ilerleyişinin takibinde bir biyobelirteç olarak kullanıma potansiyeline sahiptir.

Bu çalışma İÜÇ BAP tarafından desteklenmiştir (Proje ID:33479).

Anahtar Kelimeler: Alfa-sinüklein, fibril, Parkinson Hastalığı, şaperon

## The effects of chaperons on intracellular behavior of fibrillar alpha-synuclein

Tugay Çamoğlu<sup>1</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>3</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Neuroscience, Institute of Neurological Sciences, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Neuroscience, Institute of Neurological Sciences, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey; Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Fibrillar alpha-synuclein (f-aSyn) is the pathologic conformation of monomeric alpha-synuclein (aSyn) protein. It can be taken up by neurons, transported by kinesins and released from the cells. Chaperons can bind and degrade f-aSyn. In this study, we investigated the effects of f-aSyn on intracellular levels of 10 chaperones, and the roles of chaperons on intracellular transportation of f-aSyn. F-aSyn was administered to neuron-differentiated SH-SY5Y cells, followed by total cellular protein isolation after 6 and 12 hours, and immunoprecipitation experiment after 12 hours incubation. The samples were then analyzed by western blot and dot blot techniques. Change of intracellular levels of the chaperons was determined from total cellular proteins, and the chaperons bound to f-aSyn was analyzed from immunoprecipitation samples. Intracellular level of 7 chaperons was decreased within first 12 hours depending on f-aSyn administration. Besides, chaperons was found to bind to aSyn and kinesin within 12 hours. Binding profile of Hsp27 was decreased when Hsc70 inhibitor was applied. Decrease in intracellular level of the chaperons was consistent with decrease in cytotoxicity level. Our results indicated that f-aSyn can overcome most of the chaperones, which may block it in the first hours of its entry, through decreasing their intracellular levels. We also found that Hsp40 can accompany to f-aSyn during its intracellular transportation, but not as an adaptor between kinesin and f-aSyn. According to these results, chaperons can be biomarkers for spreading of Parkinson's Disease in the brain during disease process.

This study was supported by IUC BAP (Project ID:33479)

Keywords: Alpha-synuclein, chaperon, fibril, Parkinson's Disease

## Lokal/lokal ileri ve metastatik prostat kanserli hastalarda epi-miRNA ekspresyon seviyelerinin karşılaştırmalı analizi

Venhar Gurbuz<sup>1</sup>  
İlker Kiliccioglu<sup>1</sup>  
Asiye Ugras Dikmen<sup>2</sup>  
Cenk Yucel Bilen<sup>3</sup>  
Sinan Sozen<sup>4</sup>  
Ece Konac<sup>1</sup>

### ÖZET

miRNA'lar prostat kanseri dahil pek çok kanserde biyobelirteç olarak aday gösterilmektedir ve hücrenin kaderini belirleyen diğer epigenetik faktörlerin de ekspresyonunu modüle eder. Çalışmamızın amacı, prostat kanserli olgularda epi-miRNA biyobelirteçlerini bulmak, epi-miRNA'ların kantitatif analizlerini yapmak, DNA metilasyon düzeyini saptamak ve hasta bazında her ikisi de epigenetik mekanizma olan miRNA ve DNA metilasyonunun birlikte korelasyonlarını bulmaktır. Gazi Üniversitesi ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Üroloji polikliniğine başvuran 25 sağlıklı kontrol, 25 lokal/lokal ileri prostat kanseri (PCa) ve 39 metastatik prostat kanseri (Met-PCa) hastalarından elde edilen, toplam 89 adet kan örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Topladığımız kan örneklerinden 30 adet epi-miRNA'nın izolasyonu yapıldıktan sonra cDNA analizi, daha sonra RT-qPCR yöntemi ile miktar tayini yapılmıştır. PCR analizi sonucunda anlamlı bulunan 11 adet epi-miRNA belirlenerek, DNA metilasyon spesifik RT-qPCR analizi ile kantitatif metilasyon düzeyi belirlenmiştir. Daha sonraki aşamada klinikopatolojik veriler ile epi-miRNA ekspresyon düzeyinin ilişkisi araştırılmıştır. Çalışılan 11 adet epi-miRNA'nın promotor bölgelerinde PSA seviyeleri (miR-34b/c, miR-148a, miR-152), GS (miR-34a-5p, miR-34b/c, miR-101-2, miR-126, miR-148a, miR-152, miR-185-5p) ve TNM evrelemesiyle (miR-34a-5p, miR-34b/c, miR-101-2, miR-126, miR-140, miR-148a, miR-152, miR-185-5p) doğru orantılı artış gösteren bir hipometilasyon bulunmuştur (p<0.05). miR-200a/b klinikopatolojik parametreler ile değerlendirildiği zaman, lokal/lokal ileri PCa'inde onco-miR gibi, metastatik evrede ise tümör baskılayıcı-miR gibi görev yaptığı bulunmuştur. PCa'inde aday miRNA biyomarker modellerinin değerlendirilebilmesi, klinikopatolojik değişkenlerin de hesaba katılmasıyla birlikte, PCa'nin tanısında doğruluğu daha da artıracaktır. Ayrıca, epigenomik düzeyde miRNA ekspresyonunun çalışılması, belirli bir kanser türü için en etkili tedavi yöntemlerini değerlendirmemizi sağlamakla birlikte, daha sonra da kanserin uzun vadeli öngörüsü ya da rekürensini belirleyebilmeye izin verebilir.

Araştırmamız 01/2019-11 kodlu proje ile Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyobelirteç, DNA Metilasyonu, Epi-mikroRNA, Prognoz, Prostat Kanseri

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Ankara.

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı, Ankara.

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Ana Bilim Dalı, Ankara.

<sup>4</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Ana Bilim Dalı, Ankara.

## Comparative analysis of epi-miRNA expression levels in local/locally advanced and metastatic prostate cancer patients

Venhar Gurbuz<sup>1</sup>  
 İlker Kiliccioglu<sup>1</sup>  
 Asiye Ugras Dikmen<sup>2</sup>  
 Cenk Yucel Bilen<sup>3</sup>  
 Sinan Sozen<sup>4</sup>  
 Ece Konac<sup>1</sup>

### ABSTRACT

miRNAs are nominated as biomarkers in many cancers, including prostate cancer, and modulate the expression of other epigenetic factors that determine the cell's fate. This study aims to find epi-miRNA biomarkers in prostate cancer patients, to find a quantitative analysis of epi-miRNAs and DNA methylation levels, to determine the correlation of miRNA and DNA methylation on a patient by patient basis. In our study, whole blood samples were collected from 25 prostate cancer (PCa), 39 metastatic prostate cancer (Met-PCa), 25 control from Urology, Gazi and Hacettepe University Hospital. After isolation of 30 epi-miRNAs, cDNA analysis was performed. Epi-miRNA expression levels were determined with Real-Time PCR (RT-qPCR). Promoter methylation levels of 11 epi-miRNAs were determined by methylation-specific qPCR method. The correlations between miRNA expression levels and clinicopathological parameters (Gleason Score(GS), PSA levels, TNM Staging) in different stages of PCa groups as well as disease-specific expression levels were determined. We found a hypo-methylation in the promoter regions of miRNAs that showed a direct proportional increase with PSA levels (miR-34b/c, miR-148a, miR-152), GS's (miR-34a-5p, miR-34b/c, miR-101-2, miR-126, miR-148a, miR-152, miR-185-5p) and T staging (miR-34a-5p, miR-34b/c, miR-101-2, miR-126, miR-140, miR-148a, miR-152, miR-185-5p) ( $p < 0.05$ ). When miR-200a/b was evaluated according to clinicopathological parameters, it acted as an onco-miR in local/local advanced PCa and as a tumor-suppressor-miR in metastatic stage. Assessment of candidate miRNA biomarker models in PCa also taking into account the clinicopathological variables would further improve PCa diagnostic accuracy. Furthermore, studying miRNA expressions on the epigenomic level may allow us to evaluate the most effective therapeutic regimes for particular cancer type and to subsequently establish a long-term predictor of cancer or its recurrence.

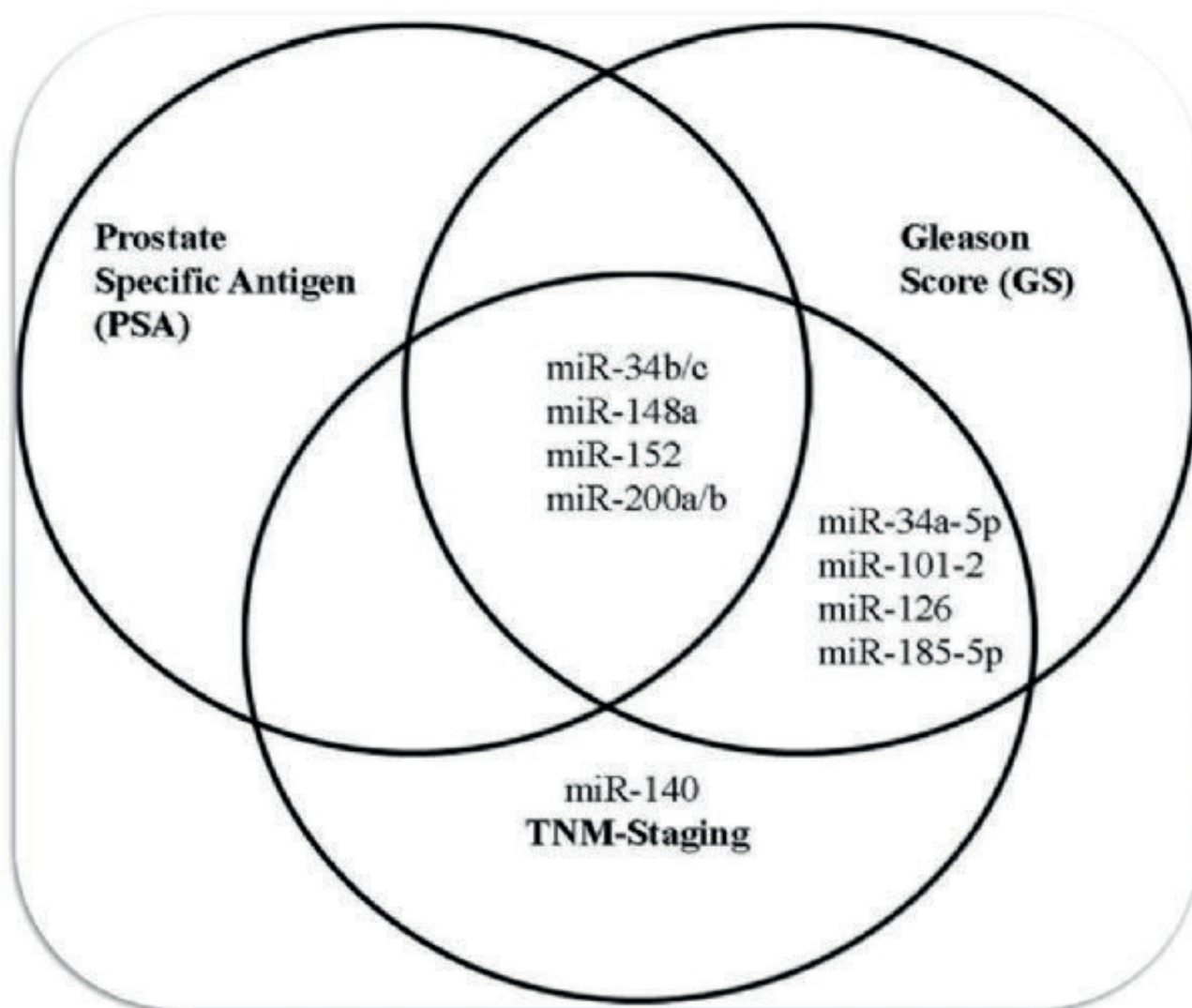
Keywords: Biomarkers, DNA methylation, Epi-microRNAs, Prognosis, Prostate cancer

<sup>1</sup>Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara.

<sup>2</sup>Department of Public Health Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara.

<sup>3</sup>Department of Urology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara.

<sup>4</sup>Department of Urology, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara.



**Şekil 1.** Promoter metilasyon seviyeleri ve klinikopatolojik veriler arasında korelasyon gösteren epi-miRNA'lar (PSA, GS ve TNM Evreleme)

**Figure 1.** The miRNAs exhibiting correlation between promoter methylation levels and clinicopathological data (PSA, GS and TNM-Staging)

**Tablo 1.** Çalışılan Epi-miRNA

1	21	11	101-1	21	185-5p
2	26a-1	12	101-2	22	200a
3	26a-2	13	124	23	200b
4	26b	14	126	24	200c
5	29a	15	140	25	221
6	29b	16	143	26	222
7	29c	17	145	27	217
8	34a	18	148a	28	301
9	34b	19	148b	29	342
10	34c	20	152	30	506

**Table 1.** Epi-miRNAs studied

1	21	11	101-1	21	185-5p
2	26a-1	12	101-2	22	200a
3	26a-2	13	124	23	200b
4	26b	14	126	24	200c
5	29a	15	140	25	221
6	29b	16	143	26	222
7	29c	17	145	27	217
8	34a	18	148a	28	301
9	34b	19	148b	29	342
10	34c	20	152	30	506



## Metastatik Prostat Kanserinde miR-148a/ miR-152/ miR-200b- aracılı ve DNMT1-PTEN hedefli düzenlenme

Venhar Gurbuz<sup>1</sup>  
Sinan Sozen<sup>2</sup>  
Cenk Yucel Bilen<sup>3</sup>  
Ece Konac<sup>1</sup>

### ÖZET

Epigenomun önemli bileşeni olan mikroRNA'lar (miR'ler), sinyal yolağındaki hedef genlerin transkriptom düzeyinde ifadeleneşini modüle ederek kanser gelişiminde etkin rol oynar. Çalışmamızda, PCa'inde regülasyonunun arttığı tespit edilen miR-34b,34c,148a,152,200a,200b epi-miRNA'ları ile onların hedef genleri (DNMT1,3a,3b,PTEN,NKX3.1) arasındaki "epi-miRNA-mRNA" düzenleyici ağı incelenmiştir. Gazi Üniversitesi ve Hacettepe Üniversitesi Üroloji Polikliniğine başvuran hastalardan elde edilen 25 sağlıklı kontrol, 25 lokal/lokal ileri prostat kanseri (PCa) ve 39 metastatik prostat kanseri (Met-PCa) olan hastalardan toplam 89 adet kan örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Topladığımız kan örneklerinden RNA izolasyonu yapıldıktan sonra cDNA analizi, sonrasında ise RT-qPCR yöntemi ile miktar tayini yapılmıştır. Bulgularımızda, NKX3.1'in ekspresyon seviyesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir. Öte yandan, PCa ve Met-PCa gruplarımızda, DNMT1 geninin ifadeleneş düzeyi up-regüle; DNMT3a, DNMT3b ve PTEN ise down-regüle bulunmuştur. DNMT1'in aşırı ifadeleneşine PTEN genindeki azalmış ifade eşlik etmiş ve aralarındaki anlamlı negatif ilişki (antagonist) tanımlanmıştır. Her iki grupta, yüksek DNMT1 seviyesinin kanserin agresifliğini yansıttığı gösterilmiştir. Ayrıca DNMT1 ile PSA, GS, TNM evreleme arasında anlamlı pozitif ilişki olduğu bulunmuştur. PCa grubunda, miR-34b'nin, DNMT1 ve DNMT3b ile; miR-34c ve miR-148a'nın seçtiğimiz tüm hedef genler ile; miR-152'nin DNMT1, DNMT3b ve PTEN ile; miR-200a/b'nin ise sadece DNMT1 ile arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu gösterilmiştir. Met-PCa grubunda ise, miR-148a, miR-152 ve miR-200b seçtiğimiz tüm hedef genler ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir. Met-PCa grubunda PTEN ve DNMT1 arasında anlamlı negatif bir ilişki bulunmuştur. miR-148a, miR-152 ve miR-200b'nin DNMT1'in ifadeleneşini arttırıp, PTEN genini baskıladığını gösteren çalışmamız, PCa'nin metastatik yönetiminde epi-miRNA-mRNA çift yönlü geri besleme döngüsüne ve anti-kanser terapötiklerinde metilasyon örüntüsüne dikkat çekmiştir.

Araştırmamız 01/2020-19 kodlu proje ile Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: DNMT, Epi-miRNA, NKX3, Prostat Kanseri, PTEN

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Ankara.

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Ana Bilim Dalı, Ankara.

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Ana Bilim Dalı, Ankara.

## miR-148a, miR-152, miR-200b promote prostate cancer metastasis by targeting DNMT1-PTEN expression

Venhar Gurbuz<sup>1</sup>  
Sinan Sozen<sup>2</sup>  
Cenk Yucel Bilen<sup>3</sup>  
Ece Konac<sup>1</sup>

### ABSTRACT

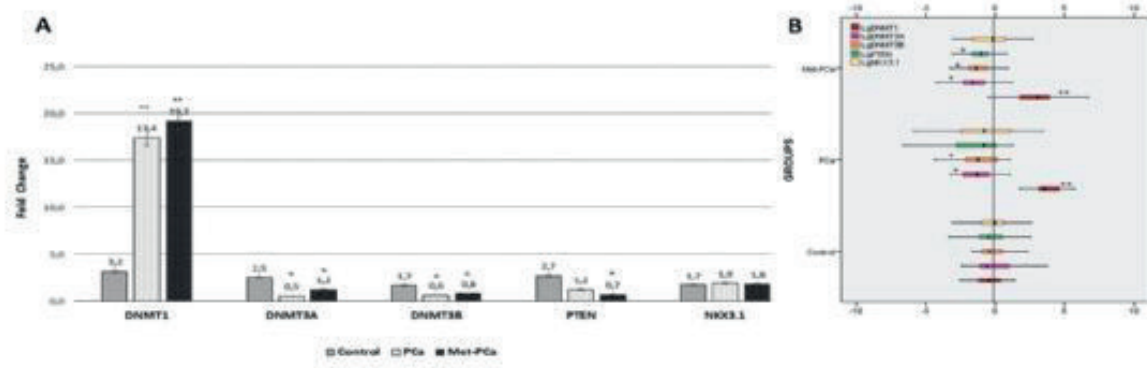
MicroRNAs (miRs), which are important components of the epigenome, take part in modulating the expression of target genes in the signal pathway on the transcriptome level and play an active role in cancer. Our study the epi-miRNA-mRNA regulatory network was investigated between miR-34b, 34c, 148a, 152, 200a, 200b epi-miRNAs that was found up-regulated and their target genes (DNMT1, 3a, 3b, PTEN, NKX3.1) in PCa. Our study was carried out with blood samples taken from 25 controls, 25 patients with prostate cancer (PCa) and 39 patients with metastatic prostate cancer (Met-PCa), which we collected department Urology, Gazi and Hacettepe University Faculty of Medicine. After RNA isolation, cDNA analysis was performed. Expression levels were determined with RT-qPCR. The expression level of NKX3.1 did not show a significant difference between the groups. However, in the PCa and Met-PCa groups, the expression level of the DNMT1 was up-regulated; DNMT3a, 3b, PTEN were down-regulated. Both groups showed that a high level of DNMT1 reflects the aggressiveness of cancer and a directly proportional relationship between this gene and PSA, GS, TNM staging. In the PCa group, significant relationships were shown between miR-34b and DNMT1/DNMT3b; between miR-34c/miR-148a and all target genes; between miR-152 and DNMT1/DNMT3b and PTEN; between miR-200a/b and DNMT1. In the Met-PCa group, miR-148a, miR-152, miR-200b showed a significant relationship with all target genes. A significant negative relationship was found between PTEN and DNMT1 in the Met-PCa group. We showed that miR-148a, miR-152, miR-200b increased the expression of DNMT1 and suppressed the PTEN. We emphasized the "epi-miRNA-mRNA" bidirectional feedback loop and highlighted the methylation pattern in PCa anti-cancer therapeutics.

Keywords: DNMTs, Epi-miRNA, NKX3, Prostate cancer, PTEN

<sup>1</sup>Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara.

<sup>2</sup>Department of Urology, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara.

<sup>3</sup>Department of Urology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara.



**Şekil 1.** (A) PCa ve Met-PCa hastalarında ve sağlıklı grupta, DNMT1, DNMT3a, DNMT3b, PTEN ve NKX3.1'in mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişiklik (B) gen ekspresyon seviyeleri açısından DNMT1, DNMT3a, DNMT3b, PTEN ve NKX3.1 kutu grafiği

**Figure 1.** (A) Fold changes in mRNA expression levels of DNMT1, DNMT3a, DNMT3b, PTEN and NKX3.1 in the healthy group, PCa and Met-PCa patients (B) the box plot of DNMT1, DNMT3a, DNMT3b, PTEN and NKX3.1 in terms of gene expression levels

[P < 0.01 (\*), P < 0.001 (\*\*)]

[P < 0.01 (\*), P < 0.001 (\*\*)]

## Diyabetik Farelere Exendin-4 Uygulanması Tatlı Tat Reseptörü Sinyalizasyonunu Baskılayarak Kan Glikoz Seviyelerini İndirger

Merve Erçin  
Selda Gezginci Oktayoğlu

### ÖZET

Bu çalışmanın amacı, streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diyabetik fare modelinde Exendin-4'ün ince bağırsak dokusundaki hasara etkisinin ve ilişkili moleküler mekanizmaların araştırılmasıdır. Deneyler için erişkin erkek BALB/c fareler dört gruba ayrıldı: birinci gruba sitrat tamponu, ikinci gruba Exendin-4, üçüncü gruba diyabet oluşturabilmek amacıyla STZ, dördüncü gruba ise STZ ve Exendin-4 uygulandı. Tüm gruplardaki hayvanların ince bağırsak duodenum bölgesindeki hasar, dokudan alınan kesitlerin histopatolojik olarak incelenmesi ile belirlendi. Hücre proliferasyonu ve apoptotik hücre ölümünü göstermek amacıyla immünohistokimyasal yöntem uygulandı. Exendin-4'ün hipoglisemik etkilerini gösteren mekanizmada rol alan moleküllerin belirlenebilmesi amacıyla Western blot ve ELISA teknikleri kullanıldı. Exendin-4 uygulanması ile STZ diyabetik farelerin ince bağırsak dokusunda belirlenen villuslardaki ödem, villus bütünlüğündeki bozulma ve fırça kenar bütünlüğündeki parçalanmanın azaldığı, TNF $\alpha$  seviyesinin arttığı, fibrozun ve enterositlerdeki apoptozun baskılandığı, kript hücrelerinde proliferasyonun arttığı belirlendi. Exendin-4 uygulanan diyabetik farelerde glikoz Emilimi baskılanırken duodenal dokudaki GIP protein seviyelerinde artış olduğu belirlendi. Ayrıca, Exendin-4'ün diyabetik farelerde tatlı tat reseptörü ile ilişkili sinyal yolağı üzerinden glikoz algılanmasını baskıladığı gösterildi. Bulgularımız, Exendin-4'ün diyabetik farelerde hipoglisemik etkilerini, ince bağırsak hücrelerinde glikoz algılama ile ilişkili tatlı tat sinyal yolunu baskılayarak, glikoz Emilimini azaltarak ve GIP miktarını artırarak meydana getirdiğini göstermektedir. Bu moleküler mekanizmanın detayları incelendiğinde, diyabetik farelerin ince bağırsak duodenum bölgesinde T1R2/T1R3 reseptör sistemi tarafından glikozun algılanması ile uyarılan PLC $\beta$ 2 ve GLUT2'nin önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Exendin-4 uygulanan diyabetik farelerde ise tatlı tat sinyal molekülleri ile birlikte glikoz taşıyıcıları GLUT2, SGLT1 ve glikoz seviyelerinde azalma olduğu tespit edilmiş ve bu bulgular Exendin-4'ün tatlı tat sinyal algılama yolağını baskılayarak glikoz Emilimini indirgediği şeklinde değerlendirilmiştir.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 119Z446 proje numarası ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tatlı tat reseptörleri, Exendin-4, Tip 2 Diyabet

İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

## Administration of Exendin-4 to Diabetic Mice Reduces Blood Glucose Levels By Suppressing Sweet Taste Receptor Signaling

Merve Erçin  
Selda Gezginci Oktayoğlu

### ABSTRACT

The aim of this study is to investigate the effect of Exendin-4 on damage of the small intestine tissue and related molecular mechanisms in a streptozotocin (STZ)-induced diabetic mouse model. For the experiments, BALB/c mice were divided into four groups: These groups were formed by administration of citrate buffer, Exendin-4, STZ, STZ+Exendin-4, respectively. Damage in the small intestine duodenum region of animals was determined by histopathological examination. Immunohistochemistry was applied to show cell proliferation and apoptotic cell death. Western blot and ELISA were used to determine the molecules involved in the mechanism that shows the hypoglycemic effects of Exendin-4. With the administration of Exendin-4, it was determined that edema and deterioration in the integrity of the villi and brush border decreased, the TNF $\alpha$  level increased, fibrosis and apoptosis in the enterocytes suppressed, and proliferation in the crypt cells increased in the small intestinal tissue of diabetic mice. It was determined that while glucose absorption was suppressed in D+EX-4 group, there was an increase in GIP protein levels in the duodenal tissue. Examining the details of this molecular mechanism, it appears that PLC $\beta$ 2 and GLUT2, which are stimulated by glucose sensing by the T1R2/T1R3 receptor system, plays an important role in the duodenum of diabetic mice. In D+EX-4 group, sweet taste signal molecules, as well as glucose transporters GLUT2, SGLT1 and glucose levels were decreased, and these findings were evaluated as Exendin-4 suppresses the sweet taste signal perception pathway and reduces glucose absorption.

This study was supported by TUBITAK with the project number 119Z446.

Keywords: Sweet taste receptors, Exendin-4, Type 2 Diabetes

Istanbul University, Faculty of Science, Department of Biology, Molecular Biology Section, Istanbul, Turkey.

## Glioblastomada temozolomid tedavisine bağlı olarak kanser hücrelerinde gelişen yaşlanma sürecinde *olea europaea* yaprak özütünün koruyucu etkisi

Melis Mutlu Ercelik<sup>1</sup>  
Berrin Tunca<sup>1</sup>  
Secil Ak Aksoy<sup>2</sup>  
Cagla Tekin<sup>1</sup>  
Gulsah Cecener<sup>1</sup>  
Unal Egeli<sup>1</sup>

### ÖZET

Agresif bir beyin tümörü olan Glioblastoma (GB) tedavisinde kullanılan Temozolomid (TMZ), hücre ölümü ile birlikte yaşlanma sürecini de tetiklemektedir. Kanser tedavisi sonucunda yaşlanan tümör hücrelerinin, yaşlanmayla ilişkili salgı fenotipi (SASP) yoluyla tümör hücrelerinin nüksüne neden olduğu belirlenmiştir. Mevcut çalışmada *Olea europaea* yaprak ekstraktının (OLE), GB hücrelerinde TMZ'nin neden olduğu yaşlanma ve SASP üzerindeki olası etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Bu kapsamda T98G hücrelerinde OLE, TMZ ve OLE+TMZ'nin tümör agresifliğine etkileri Colonogenic Assay Kit kullanılarak koloni oluşumu analizi ile, hücre yaşlanması üzerindeki olası etkileri Senescence  $\beta$ -Galactosidase Staining Kit kullanılarak ve SASP biyobelirteçleri (*IL-6*, *NF- $\kappa$ B1* ve *MMP-9*) gen ekspresyon seviyelerine etkileri RT-PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular doğrultusunda kontrol hücrelerine kıyasla OLE'nin daha düşük yaşlanma oranı gösterdiği ancak TMZ'nin kontrol ve OLE ile muamele edilen hücrelere kıyasla daha yüksek yaşlanma oranına sahip olduğu gösterildi ( $p < 0.0001$ ). OLE+TMZ kombinasyonu ile tedavi edilen hücrelerde yalnızca TMZ ile muamele edilen hücrelere göre daha düşük sayıda yaşlanan hücreleri içerdiği tespit edildi ( $p < 0.0001$ ). OLE, OLE+TMZ'nin kontrole göre koloni sayısını azaltarak tümörün agresifliğini baskıladığı gözlemlendi ( $p < 0,001$ ). OLE + TMZ kombinasyonu ile tedavisinin SASP ile ilişkili *IL-6*, *NF- $\kappa$ B1* ve *MMP-9* genlerinin ekspresyon seviyelerini azalttığı belirlendi (sırasıyla  $p = 0,013$ ,  $p = 0,0009$ ,  $p < 0,001$ ).

Mevcut çalışmanın bulguları ile OLE'nin GB hücrelerinde tümör agresifliğini ve hücre yaşlanmayı baskıladığını, OLE+TMZ tedavisinin TMZ'nin neden olduğu hücre yaşlanmayı ve SASP'ı azalttığı gösterildi. İn-vivo analizlerle araştırılması ve doğrulanması gerekmektedir. Bu bulgular OLE'nin GB tedavisinde kullanılan kemoterapi ajanlarının zararlı etkilerini azaltıcı yönündeki potansiyali ile daha ileri analizlerde ilaç araştırmalarının gerçekleştirilmesine katkı sağlayabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Glioblastoma, *Olea europaea* yaprak ekstrak (OLE), Temozolomid (TMZ), Hücre Yaşlanması

<sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Bursa, Türkiye.

<sup>2</sup>İnegöl Meslek Yüksekokulu, Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye.

## Protective effect of olea europaea leaf extract on aging process in cancer cells due to temozolomide treatment in glioblastoma

Melis Mutlu Ercelik<sup>1</sup>  
Berrin Tunca<sup>1</sup>  
Secil Ak Aksoy<sup>2</sup>  
Cagla Tekin<sup>1</sup>  
Gulsah Cecener<sup>1</sup>  
Unal Egeli<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Temozolomide (TMZ), used in the treatment of Glioblastoma (GB), an aggressive brain tumor, triggers the aging process along with cell death. It has been determined that aging tumor cells in cancer treatments cause relapses through the aging-associated secretory phenotype (SASP). The purpose of this study is to investigate the effect of *Olea europaea* leaf extract (OLE) on senescence and SASP caused by TMZ in GB cells.

Senescence  $\beta$ -Galactosidase staining kit was used to determine the effects on cellular senescence and clonogenic assay kit was used to determine the effects on tumor aggressiveness of OLE, TMZ and OLE+TMZ in T98G cells. Expression levels of SASP markers (*IL-6*, *NF- $\kappa$ B1* and *MMP-9*) genes were performed using RT-PCR.

OLE showed a low rate of cellular senescence compared to the control cell, but TMZ senescence cells higher than control and OLE ( $p < 0,0001$ ). The number of senescence cells was lower in the cells treated with OLE and TMZ combinations compared to TMZ ( $p < 0,0001$ ). It was observed that OLE and OLE+TMZ showed a decrease in colony count compared to control, suppressing the aggressiveness of the tumor ( $p < 0,001$ ). OLE+TMZ decreased the expression levels of *IL-6*, *NF- $\kappa$ B1* and *MMP-9* genes associated SASP ( $p = 0,013$ ,  $p = 0,0009$ ,  $p < 0,001$ ; respectively).

The findings of the current study showed that OLE suppressed tumor aggressiveness and cellular senescence in GB cells, and OLE+TMZ treatment reduced TMZ-induced cellular senescence and SASP. OLE may be evaluated in advanced drug research with its potential for use in cancer treatment and to reduce the harmful effects of existing chemotherapeutics.

Keywords: Glioblastoma, *Olea europaea* leaf extract (OLE), Temozolomide (TMZ), Senescence

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University, Bursa, Turkey.

<sup>2</sup>Inegol Vocation School, Bursa Uludag University, Bursa, Turkey.

## Farklı şekillerde uygulanan kalori kısıtlamasının fare beynindeki Sirtuin 1 DNA metilasyonu ve mRNA ekspresyonu üzerindeki etkisi

Elif Yılmaz<sup>1</sup>  
Bilge Güvenç Tuna<sup>2</sup>  
Ömer Faruk Bayrak<sup>3</sup>  
Ayşegül Çınar Kuşkucu<sup>3</sup>  
Öznur Suakar<sup>3</sup>  
Soner Doğan<sup>1</sup>

### ÖZET

Sirtuin 1 (SIRT1), gen anlatımı, stres yanıtı ve apoptoz gibi belirli hücrel süreçlerde homeostazı koruyan bir NAD<sup>+</sup> bağımlı deasetilazdır. Kalori kısıtlaması (KK) ve diğer diyet müdahaleleri SIRT1 aktivitesini düzenler ve memelilerde yaş ve metabolizma hızında artışa neden olur. SIRT1, yaşlanma sırasında kötüleşen nörolojik süreçlerin korunmasında olumlu etkiye sahiptir. Bu çalışmada, Sirt1 DNA metilasyonu ile farklı şekillerde uygulanan kalori kısıtlaması arasındaki biyolojik ilişkiyi ve farelerde beyin yaşlanması üzerine etkisini araştırıyoruz.

Yaşlanma ve kalori kısıtlamasına bağlı Sirt1 gen metilasyonunu araştırmak için 10 haftalık dişi C57BL/6 fareler, ad libitum, sürekli kalori kısıtlaması(SKK) (AL grubuna kıyasla %15 kalori kısıtlaması) veya aralıklı kalori kısıtlaması (AKK) (döngüsel bir şekilde üç haftalık AL ve bir hafta %60 kalori kısıtlaması) ile beslendi. Sirt1 DNA metilasyon seviyelerini araştırmak ve genomik seviyede yaşlanma ile ilişkili olarak SKK ve AKK altında yatan mekanizmalarını araştırmak için Pyrosequencing tekniği farelerin beyinlerinden izole edilen DNA'lardaki metilasyon seviyelerini ölçmek için kullanıldı. Aynı hayvanlarda Sirt1 mRNA ekspresyonu, DNA metilasyon seviyesi ile mRNA ekspresyonu arasındaki ilişkiyi görmek için qRT-PCR ile de ölçüldü.

Sirt1 promotor bölgesindeki CpG bölgelerinin yaşlanmaya bağlı olarak DNA metilasyon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Farklı kalori kısıtlaması uygulanan gruplar arasındaki Sirt1 metilasyon seviyelerinde değişiklik tespit edilmedi. DNA metilasyon seviyesi ile Sirt1 mRNA ekspresyonu arasında bir korelasyon bulunamadı.

Bu sonuçlar, yaşlanma ile hücrelerde SIRT1 miktarındaki azalmanın DNA metilasyonu ile düzenlenmediğini, proteomik seviyedeki düzenlemelere veya diğer epigenetik mekanizmalara bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: beyin, DNA metilasyonu, kalori kısıtlaması, Sirtuin 1, yaşlanma

<sup>1</sup>Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

<sup>2</sup>Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı.

<sup>3</sup>Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı.



## Effects of different types of calorie restriction on DNA methylation and mRNA levels of Sirtuin 1 in mouse brain

Elif Yılmaz<sup>1</sup>  
Bilge Güvenç Tuna<sup>2</sup>  
Ömer Faruk Bayrak<sup>3</sup>  
Ayşegül Çınar Kuşkucu<sup>3</sup>  
Öznur Suakar<sup>3</sup>  
Soner Doğan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yeditepe University, School of Medicine, Department of Medical Biology.

<sup>2</sup>Yeditepe University, School of Medicine, Department of Biophysics.

<sup>3</sup>Yeditepe University, School of Medicine, Department of Medical Genetics.

### ABSTRACT

Sirtuin 1 (SIRT1) is a NAD<sup>+</sup>-dependent deacetylase that maintains cell homeostasis by playing an important role in cellular processes, such as gene transcription, stress reaction and apoptosis. On the other hand, calorie restriction(CR) modulate SIRT1 activity which leads increment in lifespan and metabolic rate in mammals. SIRT1 is shown to positively influence the preservation of neurological processes that deteriorate during aging. Here we report the roles of different types of calorie restriction on Sirt1 DNA methylation levels in brain of aging mice.

Ten weeks old female C57BL/6 mice were fed one of the diets; ad-libitum (AL), chronic calorie restriction (CCR, 15% CR) or intermittent calorie restriction(ICR) which is three weeks of AL followed by one-week 60% CR in a cyclic manner). Pyrosequencing was applied to measure Sirt1 DNA methylation levels while qRT-PCR was used to measure mRNA levels in brain homogenates.

There was a negative correlation between Sirt1 DNA methylation and mRNA expression levels although this was not statistically significant. There was also no significant difference in methylation levels of specific CpG sites in Sirt1 promoter region in aging mice. Diet-associated methylation changes of Sirt1 promoter was also not significant.

These results indicate that decrease in SIRT1 protein levels by aging is not regulated by Sirt1 DNA methylation. Thus, other epigenetic mechanisms may play roles in this process.

Keywords: aging, brain, calorie restriction, DNA methylation, Sirtuin 1

## NF-kB bağımlı miR-8078 C2CD2'yi hedefleyerek KHDAK hücre invazyonunu arttırır

Şakir Akgün<sup>1</sup>  
Hakan Küçüksayan<sup>2</sup>  
Arsenal Sezgin Alıkanoglu<sup>4</sup>  
Mustafa Yıldız<sup>5</sup>  
Hakan Akça<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kars.

<sup>2</sup>Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

<sup>3</sup>Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Denizli.

<sup>4</sup>Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Antalya.

<sup>5</sup>Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı, Antalya.

### ÖZET

Tüm dünyada kanser ilişkili ölümler arasında ilk sırada akciğer kanseri gelmektedir. Akciğer kanseri teşhisi konulan hastaların yaklaşık %90'ı Küçük hücreli dışı akciğer kanseridir (KHDAK). Birçok hücrel proseste rol oynayan Nükleer faktör kappa B (NF-kB), multifaktöriyel bir transkripsiyon faktörüdür ve KHDAK dahil birçok kanserde sürekli aktiftir. NF-kB transkripsiyon faktörü kodlayan genlerin yanında miRNA ve lncRNA'larında dahil olduğu kodlamayan genleri de doğrudan düzenlemektedir. Bu çalışmada, NF-kB tarafından düzenlenen miRNA'ları ve hedef genlerini tespit etmeyi amaçladık. Bu amaç doğrultusunda ilk olarak, H1299 KHDAK hücre hattı genomunda NF-kB DNA bağlanma bölgelerini tespit etmek için ChIP-sekans tekniğini ve biyoenformatik analizleri kullandık. miRNA'nın hedef genlerini bulmak için, mikroarray, qPCR ve western blot deneyleri gerçekleştirdik. miRNA'nın hücrel prosesteki rolünü değerlendirmek için MTT, invazyon ve migrasyon chamber deneylerini gerçekleştirdik. miRNA'nın ekspresyon seviyesi metastatik ve metastatik olmayan KHDAK hastalarının tümör örneklerinde değerlendirildi. ChIP-sekans analizleri ve qPCR deneyleri sonucunda miR-8078'in TNF-alfa aracılı NF-kB tarafından düzenlendiğini gösterdik. Lusiferaz deneyleri ile C2 kalsiyum bağımlı domain içeren 2 (C2CD2) geninin miR-8078'in doğrudan hedefi olduğunu tespit ettik. miR-8078'in KHDAK hücre hatlarında invazyonu arttırdığını saptadık. Daha sonra, miR-8078'in ekspresyon seviyesinin metastatik doku örneklerinde metastatik olmayanlara göre daha yüksek olduğunu bulduk (p = 0.0094). Sonuç olarak bulgularımız, NF-kB sinyal yolağında miR-8078 aracılı yeni bir mekanizma ortaya çıkarmıştır ve miR-8078'in metastatik KHDAK için tahmini bir biyomarker olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışma, TÜBİTAK (Proje No: 112S636) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: C2CD2, KHDAK metastaz, MikroRNA, Nükleer Faktör kappa B

## NF- $\kappa$ B-dependent miR-8078 promotes NSCLC cell invasion by targeting C2CD2

Şakir Akgün<sup>1</sup>  
Hakan Küçüksayan<sup>2</sup>  
Arsenal Sezgin Alikanoğlu<sup>4</sup>  
Mustafa Yıldız<sup>5</sup>  
Hakan Akça<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, School of Medicine, Kafkas University, Kars, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Medical Biology, School of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Medical Genetics, School of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey.

<sup>4</sup>Department of Pathology, Antalya Education and Research Hospital, Antalya, Turkey.

<sup>5</sup>Department of Medical Oncology, Antalya Education and Research Hospital, Antalya, Turkey.

### ABSTRACT

Lung cancer ranks first in cancer-related deaths worldwide. 90% of patients diagnosed with lung cancer are non-small cell lung cancer (NSCLC). Nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) that plays a role in many cellular processes is a multifactorial transcription factor and constitutively active in human cancers, including NSCLC. The transcription factor NF- $\kappa$ B directly regulates coding genes as well as non-coding RNAs, including microRNAs (miRNA) and long noncoding RNAs (lncRNA). In the present study, we aimed to find miRNAs regulated by NF- $\kappa$ B and target genes of miRNAs. For this purpose, we firstly used ChIP-seq technique and bioinformatic analysis to determine NF- $\kappa$ B binding site in H1299 NSCLC cell line genome. We performed microarray, qPCR and western blot experiments to find the target genes of miRNA. To evaluate the role of miRNA in cellular processes, we used MTT, transwell invasion and migrasyon chamber assay. Expression level of miRNA was evaluated in tumor samples of metastatic and non-metastatic NSCLC patients. In the results of ChIP-seq analysis and qPCR experiments, we showed that miR-8078 was regulated by TNF- $\alpha$ -mediated NF- $\kappa$ B. We determined that C2 calcium dependent domain containing 2 (C2CD2) gene is a direct target of miR-8078 using luciferase experiments. We determined that miR-8078 was increased invasion capacity of NSCLC cell lines. We further found that miR-8078 expression level is upregulated metastatic tissue samples compared to non-metastatic ones ( $p = 0.0094$ ). As a result, our findings reveal a novel mechanism miR-8078-mediated in NF- $\kappa$ B signaling and shows that miR-8078 could be a predictive biomarker for metastatic NSCLC.

Keywords: C2CD2, MicroRNA, NSCLC metastasis, Nuclear Factor kappa B

## Kistik fibrozis hastalığında klinik heterojeniteye sebep olabilecek aday miRNA'lar ve hedefleriyle ilişkili yolaklar

Merve Atalay<sup>1</sup>  
Nagehan Emiralioğlu<sup>2</sup>  
Senem Noyan<sup>3</sup>  
Hayriye Uğur Özçelik<sup>2</sup>  
Ebru Yalçın<sup>2</sup>  
Deniz Doğru<sup>2</sup>  
Nural Kiper<sup>2</sup>  
Bala Gür Dedeoğlu<sup>3</sup>  
Didem Dayangaç Erden<sup>1</sup>

### ÖZET

Kistik fibrozis hastalığında, CFTR genindeki mutasyonlar hastalığın teşhis edilmesini sağlamakta fakat hastalık ciddiyeti, fenotipi ve ilerleyişi hakkında yeterli bilgi vermemektedir. Bu çalışmada amacımız aynı CFTR mutasyonuna sahip olmalarına rağmen farklı klinik ciddiyete sahip ağır/hafif seyirli kardeşler içeren 4 ailede (9 hasta) ifade değişikliği gösteren, fenotipik farklılığı etkileyebilecek ortak miRNA'ların belirlenmesi ve hedef genlerle ilişkili yolakların araştırılmasıdır.

Sınıf II (Aile 1, n: 2; Aile 2, n: 2), Sınıf III (Aile 3, n: 2) ve Sınıf IV (Aile 4, n:3) mutasyonları içeren hastaların nazal sürüntü örneklerinden elde edilen RNA'lardan miRNA mikrodizin çalışması gerçekleştirilmiş, ham veriler üç farklı biyoinformatik araç ile analiz edilmiştir. Aday olarak seçilen miRNA'ların hedef genleri miRWalk ve miRNET programları ile belirlenmiş, yolak analizleri gerçekleştirilmiştir.

Biyoinformatik analizler sonucunda miR-145-5p ifadesinin ağır seyirli hastalarda hafif seyirli hastalara göre (3,32 kat) ve Sınıf IV hasta grubundaki ağır seyirli hastada hafif seyirli kardeşlerine göre (15,33 kat) arttığı saptanmıştır. Artışlar qRT-PCR ile valide edilmiş olup; istatistiksel olarak anlamlılık elde edilememiştir. miR-145-5p hedef genleri ile gerçekleştirilen yolak analizleri sonucunda klinik ciddiyet ile ilişkili olabilecek ortak ErbB sinyal yolağının yanı sıra TGF-beta sinyal yolağı ( $p = 1,12E-06$ ) ve Endositoz ( $p = 1,82E+08$ ) yolakları saptanmıştır.

Sonuç olarak miR-145-5p'nin potansiyel hedef genler üzerindeki etkilerinin araştırılması amacıyla Sınıf IV mutasyonu içeren hasta sayısının artırılması planlanmaktadır. Ayrıca, miR-145-5p'nin dolaşımdaki varlığı gösterildiğinde ileride hastalık seyri ve tedavisi açısından, özellikle Sınıf IV mutasyonuna sahip bireylerde biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından desteklenmiştir (Proje No: TYL-2019-17977).

Anahtar Kelimeler: Biyoinformatik, CFTR, Genotip-fenotip ilişkisi, Kistik fibrozis, miRNA

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara Türkiye.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Hastalıkları Anabilim Dalı, Göğüs Hastalıkları Ünitesi, Ankara Türkiye.

<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara Türkiye.

## Candidate miRNAs and pathways associated with their targets that may cause clinical heterogeneity in cystic fibrosis disease

Merve Atalay<sup>1</sup>  
Nagehan Emiralioğlu<sup>2</sup>  
Senem Noyan<sup>3</sup>  
Hayriye Uğur Özçelik<sup>2</sup>  
Ebru Yalçın<sup>2</sup>  
Deniz Doğru<sup>2</sup>  
Nural Kiper<sup>2</sup>  
Bala Gür Dedeoğlu<sup>3</sup>  
Didem Dayangaç Erden<sup>1</sup>

### ABSTRACT

In cystic fibrosis disease, mutations in the CFTR gene enable the diagnosis of the disease but don't provide sufficient information about disease severity, phenotype, and progression. In this study, our aim is to identify common miRNAs that may affect the phenotypic difference and to investigate the pathways associated with target genes in 4 families with siblings (9 patients) that have severe/mild prognosis despite bearing the same CFTR mutation.

RNA was isolated from nasal brushing samples of patients with Class II (Family 1, n:2; Family 2, n:2), Class III (Family 3, n:2), and Class IV (Family 4, n:3) mutations. miRNA microarray study was performed and raw data were analyzed with three different bioinformatics tools. Target genes of selected miRNAs were determined with miRWalk and miRNET programs, and pathway analysis was performed.

As a result of bioinformatics analysis, miR-145-5p expression was found to be increased in severe patients compared to mild ones (Fold change:3,32) and it showed an increase in severe patient with Class IV mutation compared to her mild siblings (Fold change:15,33). Results were validated by qRT-PCR; statistical significance could not be obtained. As a result of the pathway analysis performed with miR-145-5p target genes, besides the common ErbB signaling pathway, TGF-beta signaling pathway (p=1.12E-06) and Endocytosis (p=1.82E+08) pathways were determined.

As a result, we are planning to increase the number of patients with Class IV mutations to investigate the effects of miR-145-5p on potential target genes. In addition, when the circulating presence of miR-145-5p is shown, it is thought that it may be a biomarker in terms of disease course and treatment in the future, especially in individuals with Class IV mutations.

Keywords: Bioinformatics, CFTR, Cystic fibrosis, Genotype-phenotype association, miRNA

<sup>1</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Child Health And Diseases, Chest Diseases Unit, Ankara, Turkey.

<sup>3</sup>Ankara University, Biotechnology Institute, Department of Biotechnology, Ankara, Turkey.

## HEK293T hücrelerinde $\alpha$ -sinüklein proteininin aşırı üretiminin transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu üzerine etkileri

Ebru Keskin<sup>1</sup>  
Merve Alaylıoğlu<sup>1</sup>  
Zuhal Yurttaş<sup>2</sup>  
Tugay Çamoğlu<sup>2</sup>  
Büşra Şengül<sup>1</sup>  
Pelin Sordu<sup>1</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>1</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Sinirbilim Anabilim Dalı, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa.

<sup>3</sup>Sinirbilim Anabilim Dalı, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa; Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye.

### ÖZET

Parkinson hastalığı(PH), substantia nigradaki dopaminerjik nöronların kaybı ile nöronal soma ve nöritlerde  $\alpha$ -sinüklein( $\alpha$ -syn) içeren inklüzyonların oluşumu ile karakterize edilen en yaygın görülen ikinci nörodejeneratif hastalıktır.  $\alpha$ -syn; sinaptik fonksiyon, nöronal plastisite, öğrenme, gelişme, hücre adezyonu, fosforilasyon, hücreSEL farklılaşma ve dopamin alımının düzenlenmesi gibi işlevlerde rol alan sیتozolik bir proteindir.  $\alpha$ -sinüklein toksisitesi ise; sinaptik veziküller, mitokondri, ER, Golgi, lizozomlar, otofagozomlar ve nükleus da dahil olmak üzere birden fazla organeli etkilemekte ve organeller arası iletişimlerini de bozmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda  $\alpha$ -syn'nin farklı hücre tiplerinde nükleusta lokalize olabildiği, nüklear DNA'ya bağlanabildiği ve pek çok genin anlatımını etkilediği gösterilmiştir. Bu sonuçlar  $\alpha$ -syn'nin bir transkripsiyon faktörü (TF) olarak doğrudan bazı genlerin ekspresyonlarını düzenleyebileceğini göstermektedir. Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda;  $\alpha$ -sinüklein patolojisinin, doğrudan gen anlatımını düzenlemek yerine genel transkripsiyon faktörlerini kodlayan genlerin ekspresyonunu etkileyip etkilemediğini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda HEK293T hücre hattında  $\alpha$ -syn aşırı ekspresyonu ile PH benzeri bir patoloji oluşturuldu. TRRUST v2 veri tabanı kullanılarak  $\alpha$ -syn ile ilişkili olabilecek transkripsiyon faktörleri belirlenip  $\alpha$ -syn'nin seçilen transkripsiyon faktörlerinin (ATF2, ELK1, STAT3, FOS, MYC) mRNA ekspresyon seviyesi üzerine etkisi qRT-PCR tekniği ile incelendi.

Çalışmamızın sonuçları;  $\alpha$ -syn aşırı üretimi sonucu ATF2 ve ELK1 transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonlarının değiştiğini gösterirken; STAT3, MYC ve FOS ekspresyonlarının ise değişmediğini göstermektedir.

Bu çalışma ile elde ettiğimiz veriler;  $\alpha$ -syn'nin nükleusta DNA ile etkileşime girerek genel transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu etkileyebileceğini göstermektedir.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Araştırma Fonu (Proje No: 34211) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler:  $\alpha$ -sinüklein, HEK293T hücre hattı, transkripsiyon faktörü

## Effects of overexpression of $\alpha$ -synuclein protein on expression of transcription factors in HEK293T cells

Ebru Keskin<sup>1</sup>  
Merve Alaylıoğlu<sup>1</sup>  
Zuhal Yurttaş<sup>2</sup>  
Tugay Çamoğlu<sup>2</sup>  
Büşra Şengül<sup>1</sup>  
Pelin Sordu<sup>1</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>1</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Neuroscience, Institute of Neurological Sciences, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Neuroscience, Institute of Neurological Sciences, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey; Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease characterized by the loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra and the formation of  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ -syn) inclusions in the neuronal soma and neurites.  $\alpha$ -syn is a cytosolic protein involved in such as synaptic function, neuronal plasticity, learning, development, cell adhesion, phosphorylation, cellular differentiation, and regulation of dopamine uptake. On the other hand,  $\alpha$ -syn toxicity affects synaptic vesicles, mitochondria, ER, Golgi, lysosomes and nucleus, and disrupts interorganelle communications. Recent studies have shown that  $\alpha$ -syn can localize in the nucleus of different cell types, bind to nuclear DNA, and affect the expression of many genes. These results indicate that  $\alpha$ -syn, as a transcription factor (TF), can directly regulate the expression of some genes. Based on this information we aimed to investigate whether  $\alpha$ -syn pathology affects the expression of genes encoding general transcription factors rather than directly regulating gene expression.

In our study, a PD-like pathology was established with  $\alpha$ -syn overexpression in the HEK293T cell line. TFs that may be associated with  $\alpha$ -syn were determined using the TRRUST v2 database, and the effect of  $\alpha$ -syn on the mRNA expression level of selected transcription factors (ATF2, ELK1, STAT3, FOS, MYC) was examined by qRT-PCR technique.

The results of our study show that the expressions of ATF2 and ELK1 transcription factors alter as a result of  $\alpha$ -syn overexpressions while STAT3, MYC, and FOS expressions do not change.

The data we obtained with this study show that  $\alpha$ -syn interacts with DNA in the nucleus and affects the expression of general transcription factors.

Keywords:  $\alpha$ -synuclein, HEK293T cell line, transcription factor

## VS-5584'ün akciğer adenokarsinom hücrelerinde WNT sinyal yolağına etkisinin incelenmesi

Buket Özel<sup>1</sup>  
Sezgi Kıpçak<sup>1</sup>  
Çağla Kayabaşı<sup>1</sup>  
Bakiye Göker Bağca<sup>2</sup>  
Çiğir Biray Avcı<sup>1</sup>  
Cumhur Gündüz<sup>1</sup>  
Nur Selvi Günel<sup>1</sup>

### Ö Z E T

Akciğer kanseri, tüm kanser olgularının %25'inden sorumlu olup, özellikle gelişmiş ülkelerde en sık teşhis edilen kanserlerden biridir. Küçük hücreli (SCLC) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC) olmak üzere iki tipi vardır. NSCLC, vakaların %80-85'ni oluşturmaktadır. Akciğer kanseri, kompleks histolojik tiplerden ve moleküler yapıdan oluşan bir kanser türüdür. WNT sinyal yolağı bunların başında gelmektedir. WNT sinyal yolağına ait genlerin NSCLC'de overekspresyonu olduğu bilinmektedir ve düşük apoptotik indeksle ilişkilidir.

VS-5584, faz I aşamasında, başta PI3K / mTOR inhibitörü olmakla birlikte, Wnt/ $\beta$ -catenin yolağına da etki eden bir inhibitördür.

Bu çalışmada amacımız, VS-5584 uygulanan NSCLC hücre modeli A549 hücrelerinde VS-5584'ün apoptoz, hücre döngüsü üzerine değişimi ve WNT sinyal yolağı ilişkili genlere etkisini incelemektir.

VS-5584'ün sitotoksik etkisi MTT, apoptoz ve hücre döngüsü üzerine etkisi Annexin V ve Cell Cycle Arrest, Wnt ilişkili gen ekspresyon seviyeleri, qRT-PCR analizleri ile yapılmıştır.

VS-5584'ün, A549 hücrelerinde IC50 değeri 59.43  $\mu$ M olarak belirlenmiştir. Apoptoz, kontrole kıyasla 7.2 kat artmış, G0/G1 evresinde belirgin şekilde hücre arrestine neden olmuştur. Wnt sinyal yolağı ilişkili genlerden, Wnt/ $\beta$ -catenin yolağına mediatörü olan DVL2 ve WISP1 21.35 kat, invazyon-migrasyonu tetikleyen DKK1 ve DIXDC1 6.48 ve 10.10 kat, yolağın aktiflenmesinde co-reseptör görevi olan LRP5 ve LRP6, 2.18 ve 14.58 kat, MMP7 geni 5.80 kat, akciğer kanserinin progresyonunu arttıran PITX2 geni 8.73 kat, WNT2B, WNT3, WNT4, WNT5B, WNT6 genleri sırasıyla 3.13, 4.16, 3.80, 3.50 ve 7.98 kat baskılanırken, Wnt/ $\beta$ -catenin yolağına antagonisti olan SFRP1 ise 4.64 kat artmıştır.

Tüm sonuçlar doğrultusunda VS-5584'ün Wnt/ $\beta$ -catenin sinyal yolağı üzerinden NSCLC tedavisi için umut verici anti-kanser ajan olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Akciğer Kanseri, VS-5584, WNT sinyal yolağı

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

<sup>2</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın.



## Investigation of the effect of VS-5584 on WNT signaling pathway in lung adenocarcinoma cell

Buket Özel<sup>1</sup>  
Sezgi Kıpçak<sup>1</sup>  
Çağla Kayabaşı<sup>1</sup>  
Bakiye Göker Bağca<sup>2</sup>  
Çiğır Biray Avcı<sup>1</sup>  
Cumhur Gündüz<sup>1</sup>  
Nur Selvi Günel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Izmir.

<sup>2</sup>Aydın Adnan Menderes University, Department of Medical Biology, Aydın.

### ABSTRACT

Lung cancer (LC) is responsible for 25% of all cancer cases and classified into small cell (SCLC) and non-small cell lung cancer (NSCLC). LC is a type of cancer that consists of complex molecular structure and the WNT signaling pathway is one of them. WNT signaling genes are known to be overexpressed in NSCLC and associated with low apoptotic index.

VS-5584 is primarily PI3K / mTOR inhibitor in phase I but also acts on the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway.

We aimed to examine the effect of VS-5584 on apoptosis, cell cycle changes, and Wnt signaling-related genes in NSCLC cell model A549.

The cytotoxic effect of VS-5584 was assessed with MTT, apoptosis and cell cycle were determined with Annexin V and Cell Cycle Arrest analyses, WNT-related gene expression levels were evaluated with qRT-PCR analyses.

The IC<sub>50</sub> value of VS-5584 (59.43  $\mu$ M) increased apoptosis 7.2-fold and cell cycle arrest at the G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> stage. DVL2 and WISP1, which is the mediator of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway, 21.35 fold, DKK1 and DIXDC1 6.48 and 10.10 fold, LRP5 and LRP6, which act as co-receptors in the activation of the pathway, 2.18 and 14.58 fold, MMP7 gene 5.80 fold, PITX2 gene 8.73 fold, WNT2B, WNT3, WNT4, WNT5B, WNT6 genes were suppressed 3.13, 4.16, 3.80, 3.50 and 7.98 fold, respectively. SFRP1, the antagonist of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway, was increased 4.64 fold.

Taken together, we suggest that VS-5584 may be a promising anti-cancer agent for the treatment of NSCLC via the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway.

Keywords: Lung Cancer, VS-5584, WNT signaling pathway

## Amiloid beta 1-42'nin mitokondriyal DNA ile olası etkileşiminin araştırılması

Zuhal Yurttaş<sup>1</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>2</sup>  
Erdiñ Dursun<sup>3</sup>

### ÖZET

Mitokondriyal fonksiyon bozuklukları Alzheimer Hastalığı'nın(AH) erken ortaya çıkan özelliklerden biri olarak kabul edilmektedir. AH patolojisinin major peptidi amiloyid beta 1-42(Aβ1-42)'nin mitokondride birikimi gösterilmiştir. AH'deki mitokondriyal bozuklukların mitokondriyal DNA (mtDNA)'dan kodlanan genlerin ekspresyon değişimlerini de içerebileceği belirtilmektedir. Aβ1-42'nin mitokondrideki görevleri hakkındaki bilgilerimiz oldukça sınırlıdır. Öte yandan Aβ1-42'nin nükleusta lokalizasyonu, nükleer DNA'da kodlanan bazı genlerin promotör bölgelerine bağlanma kapasitesi bildirmiştir. Mitokondriyal transkripsiyonun temel bileşeni mitokondriyal transkripsiyon faktörü A(TFAM), transkripsiyon düzenlenmesinin yanısıra mtDNA'nın paketlenmesinde ve replikasyonunda rol oynamaktadır. TFAM'ın AH ile ilişkisi hakkındaki bilgilerimiz yetersiz olup Aβ1-42'nin TFAM'ın fonksiyonları üzerinde etkisi olabilir. Çalışmamızda endojen koşullarda ve Aβ1-42 uygulaması yapılmış hücrelerde Aβ1-42'nin mtDNA D-Loop bölgesine bağlanıp bağlanmadığını ve Aβ1-42'nin TFAM'ın mtDNA'ya bağlanma kapasitesini nasıl etkilediğini araştırmayı amaçladık.

Bu sebeple öncelikle fizyolojik koşullarda SH-SY5Y hücrelerinde endojen Aβ1-42'nin mitokondri içindeki lokalizasyonunu araştırdık ve ayrıca Aβ1-42'nin mtDNA ile kolokalizasyonunu immunofloresan temellere dayanan BrdU yöntemiyle inceledik. Aβ1-42'nin mtDNA'ya bağlanma potansiyeli ve TFAM'ın Aβ1-42 uygulamaları sonucunda mtDNA'ya bağlanma kapasitesinin değişip değişmediği ChIP deneylerini takiben D-loop'un farklı bölgelerine özgül primerler kullanılarak yapılan qPCR ile araştırdık.

Sonuçlarımız 0,1µM Aβ1-42 uygulamasında TFAM'ın mtDNA'ya bağlanma sinyalinin D-loop genelinde diğer gruplara göre düştüğü; 5µM Aβ1-42 uygulamasında ise TFAM bağlanma sinyalinin yalnızca iki bölgede diğer gruplara göre arttığı saptanmıştır.

Aβ1-42'nin TFAM bağlanma kapasitesi üzerine etki, transkripsiyonel düzenlenmenin yanında dolaylı olarak mtDNA stabilizasyonu ve replikasyonunu da etkiliyor olabilir. Çalışmamız, Aβ1-42'nin TFAM'ın mtDNA'ya bağlanma kapasitesini değiştirdiğini gösteren ilk çalışmadır. Çalışmamızın mitokondri hedefli terapötik müdahalelere yeni bir bakış açısı kazandıracağını düşünmekteyiz. Bu çalışma TÜBİTAK (Proje No:219Z179) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Amiloid beta 1-42, mitokondriyal DNA, TFAM

<sup>1</sup>Sinirbilim Anabilim Dalı, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>Sinirbilim Anabilim Dalı, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye; Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye.

## Investigation of possible interaction of amyloid beta 1-42 with mitochondrial DNA

Zuhal Yurttaş<sup>1</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>2</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Neuroscience, Institute of Neurological Sciences, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Neuroscience, Institute of Neurological Sciences, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey; Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Mitochondrial dysfunction is considered one of the early emerging features of Alzheimer's Disease (AD). The accumulation of the amyloid beta 1-42 (A $\beta$ 1-42) in the mitochondria has been shown. However, our knowledge about the roles of A $\beta$ 1-42 in mitochondria is very limited. Moreover, it has been proven that A $\beta$ 1-42 can localize in the nucleus, bind to promoter regions of some genes and affect their expression. Mitochondrial transcription factor A (TFAM) plays a role in packaging and replication of mtDNA. Our knowledge about the relation between TFAM and AD is insufficient. So, we thought that A $\beta$ 1-42 could affect the regulation of mitochondrial gene expression by directly binding to mtDNA or by changing the binding capacity of TFAM to mtDNA.

For this purpose, the localization of endogenous A $\beta$ 1-42 in mitochondria was determined in SH-SY5Y cells under physiological conditions, and the co-localization of endogenous A $\beta$ 1-42 with mtDNA was determined by the immunofluorescence-based BrdU(5-bromo-2-deoxyuridine) assay. To investigate A $\beta$ 1-42-mtDNA interaction and effects of A $\beta$ 1-42 on TFAM-mtDNA binding capacity; we performed chromatin-immunoprecipitation (ChIP) assay from SH-SY5Y cells treated with two different doses of A $\beta$ 1-42. Eluted DNA fragments were analyzed with qPCR by mtDNA-Dicplacement Loop (D-loop) specific primers. Our results showed that A $\beta$ 1-42 couldn't bind to the mtDNA-D-loop region.

We demonstrated that in 0,1  $\mu$ M-A $\beta$ 1-42 treatment, mtDNA binding signal of TFAM decreased through the D-loop region. In 5  $\mu$ M-A $\beta$ 1-42 treatment, we showed that TFAM binding signal increased in only two regions on D-loop region.

According to our results, A $\beta$ 1-42 has the potential to regulate mtDNA transcription and stability by affecting TFAM-mtDNA binding capacity. Our study is the first study to show that A $\beta$ 1-42 alters TFAM's binding capacity to mtDNA. This study was supported by TUBITAK (Project No: 219Z179).

Keywords: Amyloid beta 1-42, mitochondrial DNA, TFAM

## Kolorektal kanserde epigenetik bir çalışma: LINE-1 retrotranspozonunda 5' UTR metilasyon değişimlerinin araştırılması

Fatimatüzzehra Şipşak<sup>1</sup>  
Ali İrfan Güzel<sup>2</sup>  
Recep Bedir<sup>3</sup>

### ÖZET

Kolorektal kanser dünyada kanser ölümlerinin önde gelen nedenlerinden biri olup genetik ve epigenetik değişikliklerin birikimi sonucu meydana gelmektedir. Epigenetik değişikliklerden biri olan DNA metilasyonu, genomik kararlılık ve gen ifadesinin düzenlenmesinde anahtar bir mekanizma olarak tanımlanmıştır. Genomun çoğunluğunu oluşturan tekrar dizilerinde meydana gelen DNA metilasyon seviyesindeki azalma kolorektal kanser de dahil olmak üzere çeşitli malignitelerin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir. Kolorektal kanserin erken döneminde, insan genomunun yaklaşık %17'sini oluşturan LINE-1 tekrar dizilerinin metilasyon seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir. Bir retrotranspozon olan LINE-1'in azalmış metilasyon seviyesinin genomik kararsızlığa neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, kolorektal kanserde LINE-1 5' UTR'sinin metilasyon seviyesinin incelenmesi amaçlandı.

Kolorektal kanser teşhisi konmuş 30 hastaya ait normal ve tümör dokulardan DNA izolasyonu yapıldı. LINE-1 5' UTR'sinin belirlenen altı farklı bölgesi, bu bölgeler için tasarlanmış primer çiftleri kullanılarak gerçek zamanlı PCR ile çoğaltıldı. Sonrasında CG dinükleotitlerindeki metilasyon değişimini değerlendirmek amacıyla HRM analizi yapıldı.

Yalnızca LINE-1 1. bölgede tümörlü dokular normal dokulara göre daha düşük bir metilasyon seviyesi gösterdi ( $p < 0.001$ ). Hastaların yaşı, cinsiyeti, tümör evresi ve tümör lokalizasyonu ile LINE-1 metilasyon seviyesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

Sonuç olarak LINE-1 1. bölgenin metilasyon seviyesine bağlı olarak kolorektal kanserin erken teşhisinde biyobelirteç olarak kullanılabilceği önerilmektedir.

Bu araştırma TYL-2018-961 nolu BAP projesi ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: LINE-1, DNA Metilasyonu, Kolorektal Kanseri, HRM

<sup>1</sup>Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.

<sup>2</sup>Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Rize.

<sup>3</sup>Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Rize.

## An epigenetic research in colorectal cancer: investigation of 5' UTR methylation changes at LINE-1 retrotransposon

Fatimatüzzehra Şipşak<sup>1</sup>  
Ali İrfan Güzel<sup>2</sup>  
Recep Bedir<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Colorectal cancer, one of the leading causes of cancer deaths in the world, occurs as a result of the accumulation of genetic and epigenetic changes. DNA methylation, one of the epigenetic changes, has been identified as a key mechanism in genomic stability and regulation of gene expression. Decreased DNA methylation levels in repeated sequences that make up the majority of the genome have been associated with various malignancies, including colorectal cancer. It has been reported that the methylation levels of LINE-1 repeated sequences, which constitute approximately 17% of the human genome, decrease in the early stages of colorectal cancer. It has been shown that the decreased methylation level of LINE-1, a retrotransposon, causes genomic instability. In this study, it was aimed to investigate the methylation level of LINE-1 5' UTR in colorectal cancer.

DNA isolation was performed from normal and tumor tissues of 30 patients diagnosed with colorectal cancer. Six different regions of the LINE-1 5' UTR were amplified by real-time PCR using specific primers. Then HRM analysis was performed to evaluate the methylation changes in CG dinucleotides.

Only in LINE-1 region 1, tumor tissues showed a lower level of methylation than normal tissues ( $p < 0.001$ ). No significant correlation was found between the age, gender, tumor stage and tumor localization and LINE-1 methylation level ( $p > 0.05$ ).

In conclusion, it is suggested that LINE-1 region 1 can be used as a biomarker in the early diagnosis of colorectal cancer.

Keywords: LINE-1, DNA Methylation, Colorectal Cancer, HRM

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Institute of Health Science, Karadeniz Technical University, Trabzon.

<sup>2</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Recep Tayyip Erdogan University, Rize.

<sup>3</sup>Department of Medical Pathology, Faculty of Medicine, Recep Tayyip Erdogan University, Rize.

## Metastatik prostat kanseri için redoks adaptasyonu geliştirilmiş bir *in vitro* model oluşturulması ve karakterize edilmesi

Işıl Ezgi Eryılmaz  
Ünal Egeli  
Gülşah Çeçener

### ÖZET

Artan endojen oksidatif stres ve strese yanıt olarak gelişen redoks adaptasyonu kanser hücrelerini sağlıklı hücrelerden ayıran ve terapötik hedeflenebilirliği nedeniyle stratejik öneme sahip bir kanser karakteristiğidir. Bu nedenle çeşitli kanserlerde redoks adaptasyonuna neden olan moleküler mekanizmaların anlaşılması önem taşımaktadır. Mevcut çalışmada hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kullanılarak düzenli aralıklarda oksidatif strese maruz bırakılan LNCaP metastatik prostat kanseri (PK) hücrelerinde redoks adaptasyonunun geliştirilmesi amaçlanmış ve PK için ilk kez oksidatif stres direnciyle karakterize bir *in vitro* model oluşturulmuştur. Bu kapsamda 90 gün boyunca LNCaP hücrelerine 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanması ile elde edilen LNCaP-HPR hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye karşı gelişen direnç katsayıları, 100 µM dozda değişen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> duyarlılığı, apoptotik aktivasyon, endojen oksidatif stres düzeyleri ve redoks-duyarlı onkogenik transkripsiyon faktörlerinin (p-Nrf2 ve Hif-α) nükleer ekspresyon farklılıkları belirlenerek gelişen redoks adaptasyonu karakterize edilmiştir. Elde edilen veriler, 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması sonrasında LNCaP-HPR hücre canlılığının LNCaP canlılığına göre yaklaşık 2.0-kat fazla olduğunu göstermiştir. Aynı dozda LNCaP hücrelerinde uyarılan %45.6 ( $p<0.01$ ) oranındaki apoptotik aktivasyon, LNCaP-HPR hücrelerinde %5.26 ( $p<0.05$ ) olarak saptanmıştır. Hücrelerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması sonrasında endojen oksidatif stres düzeyleri karşılaştırıldığında ise LNCaP ve LNCaP-HPR hücrelerinde ROS (+) hücre oranının sırasıyla %40.7 ve %17.8 olduğu belirlenmiştir ( $p<0.01$ ). Bulgular, hücrelerdeki endojen ROS düzeylerinin floresan mikroskopik analizleriyle desteklenmiştir. Son olarak 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması sonrasında p-Nrf2 ve Hif-α nükleer ekspresyonlarının LNCaP hücrelerinde sırasıyla 5.26-kat ve 4.2-kat azaldığı ( $p<0.01$ ); ancak LNCaP-HPR hücrelerinde 1.32-kat ve 2.20-kat artış gösterdiği ( $p<0.01$ ) tespit edilmiştir. Sonuç olarak LNCaP-HPR hücrelerinin, PK'nde redoks adaptasyon mekanizmalarını hedefleyen yeni prooksidan kanser terapi stratejilerinde kullanılabilecek özelliklere sahip bir *in vitro* modeli temsil ettiği gösterilmiştir.

Mevcut çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından DDP(T)-2019/1 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: oksidatif stres, redoks adaptasyonu, prostat kanseri

Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, Bursa.

## Establishing and characterizing an *in vitro* model with enhanced redox adaptation for metastatic prostate cancer

Işıl Ezgi Eryılmaz  
Ünal Egeli  
Gülşah Çeçener

### ABSTRACT

Increased endogenous oxidative stress and redox adaptation are characteristics that distinguish cancer cells from healthy ones and are strategically important due to therapeutic targetability. Therefore, it is important to understand molecular mechanisms that cause redox adaptation in various cancers. We aimed to improve redox adaptation in LNCaP metastatic prostate cancer (PC) cells exposed to oxidative stress regularly using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and an *in vitro* model for oxidative stress resistance was established for PC for the first time. The relative resistance folds developed against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in LNCaP-HPR cells were obtained by applying 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to LNCaP cells for 90 days. Redox adaptation was characterized by determining H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sensitivity, apoptotic activation changing at 100 µM dose, endogenous oxidative stress levels, and nuclear expression differences of redox-sensitive oncogenic transcription factors (p-Nrf2 and Hif-α). LNCaP-HPR cell viability was approximately 2.0-fold higher than LNCaP viability after 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment. While the same dose induced 45.6% apoptotic activation in LNCaP, the total apoptotic rate was found as 5.26% in LNCaP-HPR. The rate of ROS (+) cells was determined as 40.7% and 17.8% in LNCaP and LNCaP-HPR after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment, respectively. These findings were supported by fluorescence microscopy. Nuclear expressions of p-Nrf2 and Hif-α were decreased 5.26- and 4.2-fold in LNCaP after 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment, respectively. However, their levels increased by 1.32- and 2.20-fold in LNCaP-HPR. Consequently, LNCaP-HPR cells have been shown to represent an *in vitro* model with these properties that can be used in prooxidant cancer therapy strategies targeting redox adaptation mechanisms in PC.

Keywords: oxidative stress, redox adaptation, prostate cancer

Bursa Uludag University, Faculty of Medicine, Medical  
Biology Department, Bursa.

## Cabazitaxel'in prostat kanserindeki apoptotik etkinliğinin prooksidan etkileri ile ilişkisi

Işıl Ezgi Eryılmaz  
Ünal Egeli  
Gülşah Çeçener

### ÖZET

Doğal taksan türevlerinin mikrotübül dinamiğini bozan etkilerine ek olarak kanser hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına yol açarak prooksidan özellikler sergiledikleri bilinmektedir. Cabazitaxel, metastatik kastrasyona dirençli prostat kanseri (mKDPK) tedavisinde kullanılan yarı-sentetik yeni jenerasyon taksan türevidir. İlacın mikrotübül ilişkili benzer fonksiyonları bulunmasına rağmen iyileştirilmiş kimyası sayesinde daha yüksek etkinlikte olduğu gösterilmiştir; ancak yüksek apoptotik etkinliği ile ilişkili olabilecek prooksidan etki mekanizmaları henüz aydınlatılmamıştır. Çalışmamızda agresif özellikleri farklı olan PK hücrelerinde Cabazitaxel ile uyarılan apoptotik aktivasyona eşlik eden olası prooksidan mekanizmalar ilk kez değerlendirilmiştir. LNCaP metastatik PK ve C4-2 mKDPK hücrelerinde sitotoksik ve apoptotik etkiler belirlendikten sonra hücrelerin tedavi süresi içerisindeki mitokondriyal membran potansiyelleri, endojen oksidatif stres düzeyleri, total GSH seviyeleri ve oksidatif strese karşı direnci uyaran p-Nrf2 transkripsiyon faktörünün seviyesindeki değişimler analiz edilmiştir. Cabazitaxel'in doz-zaman bağımlı sitotoksik ve apoptotik etkinliğinin LNCaP hücrelerinde daha yüksek olduğu ve uyumlu olarak ilacın doza bağlı artan prooksidan etkisini LNCaP hücrelerinde daha fazla sergilediği belirlenmiştir. 10 nM dozda LNCaP ve C4-2 için depolarize mitokondriye sahip hücre oranı sırasıyla %61.2 ve %48.8 ( $p<0.01$ ); ROS (+) hücre oranı ise sırasıyla %37.06 ve %30.73 ( $p<0.01$ ) olarak saptanmıştır. Aynı dozda hücrelerin total GSH seviyelerinin ise LNCaP hücrelerinde %65.7'ye ve C4-2 hücrelerinde %90.1'e azaldığı bulunmuştur ( $p<0.01$ ). İmmüno floresan analiz bulguları da Cabazitaxel uygulanmış PK hücrelerinde doza bağlı olarak p-Nrf2 nükleer ekspresyon seviyesinde azalma olduğunu ve LNCaP hücrelerinde azalmanın daha belirgin olduğunu göstermiştir. Mevcut veriler, Cabazitaxel'in apoptotik etkinliğinin farklı agresif özelliklerdeki PK hücrelerinde prooksidan etkinliği ile uyumlu olarak değişkenlik gösterdiğini ortaya koymakta ve ilacın prooksidan etkilerinin arttırılması yoluyla apoptotik etkinliğinin iyileştirilebileceğini düşündürmektedir.

Mevcut çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BUAP(T)-2015/4 ve DDP(T)-2019/1 numaralı projeler ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Cabazitaxel, prooksidan etki, prostat kanseri

Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, Bursa.



## The relationship between the apoptotic activity of Cabazitaxel and its prooxidant effects in prostate cancer

Işıl Ezgi Eryılmaz  
Ünal Egeli  
Gülşah Çeçener

### ABSTRACT

Natural taxanes exhibit prooxidant properties by increasing reactive oxygen species (ROS) in cancer cells in addition to their disrupting effects on microtubule dynamics. Cabazitaxel is a new generation semi-synthetic taxane derivate used in the treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC). The drug has similar functions but higher efficacy due to its improved chemistry. However, mechanisms of prooxidant action associated with its apoptotic activity have not been clarified yet. In our study, prooxidant mechanisms accompanying Cabazitaxel-induced apoptosis in PC cells with different aggressivity were first evaluated. After determining Cabazitaxel's cytotoxic/apoptotic effects in LNCaP and C4-2 cells, the mitochondrial membrane potentials, endogenous oxidative stress and total GSH levels, and the changes in the level of the p-Nrf2 transcription factor, which stimulates resistance to ROS, were analyzed. The dose- and time-dependent cytotoxic/apoptotic activities of Cabazitaxel were higher in LNCaP. In accordance, the dose-dependent prooxidant effect of the drug was more pronounced in LNCaP. The proportion of cells with depolarized mitochondria for LNCaP and C4-2 at 10nM was 61.2% and 48.8%, and the rate of ROS(+) cells was determined as 37.06% and 30.73%. Total GSH levels were found to decrease to 65.7% in LNCaP and 90.1% in C4-2. Immunofluorescence analysis also showed that there was a dose-dependent decrease in p-Nrf2 nuclear expression, more pronounced in LNCaP. Current data reveal that the apoptotic activity of Cabazitaxel varies by its prooxidant effects in PC cells with different aggressive characteristics, suggesting that the apoptotic efficacy of the drug can be improved by increasing its prooxidant effects.

Keywords: Cabazitaxel, prooxidant effect, prostate cancer

Bursa Uludag University, Faculty of Medicine, Medical  
Biology Department, Bursa.

## Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığında PPAR-alfa geni L162V varyasyonunun etkisi

Özlem Kurnaz Gömleksiz<sup>1</sup>  
Yaşar Çolak<sup>2</sup>  
Ender Coşkunpınar<sup>3</sup>  
Ebubekir Şenates<sup>2</sup>  
Yasemin Müşteri Oltulu<sup>4</sup>  
Hülya Yılmaz Aydoğan<sup>5</sup>

### Ö Z E T

Progresif karaciğer hastalığının önemli bir nedeni olan alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı (NAFLD), toksik maddelerle ilgili olmayan hepatik yağ içeriğindeki artışla tanımlanır.FDFT1 enzimi kolesterol sentezinin ilk basamaklarında yer alan farnezil difosfatın skualene dönüşümünü sağlar.FDFT1'in kolesterol sentezinde anahtar regülatör bir hormon olarak rol oynadığı ve FDFT1 enzim inhibitörlerinin hiperlipidemi tedavisinde etkin olduğu gösterilmiştir. Karaciğerdeki lipid metabolizmasının ana düzenleyicileri olan Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptör(PPAR)'lerin genetik varyantlarının NAFLD'ye duyarlılığı etkileyebileceği tartışmalı sonuçlarla bildirilmiştir.PPAR'lar NAFLD tedavisi için değerlendirilen birkaç ilacın hedefi olduğundan, bu reseptörleri hedef alan ilaçlara yanıtta PPAR geni SNP'lerinin rolünü değerlendirmek önemlidir.Çalışmamızda, FDFT1 geninin transkripsiyonun düzenlenmesinde etkili olduğu öne sürülen PPARα rs1800206(L162V) varyasyonun NAFLD hastalarında incelenmesi amaçlanmıştır.

PPARα rs1800206(L162V) genotipleri 64 NAFLD hastasında ve 84 sağlıklı bireyde gerçek-zamanlı PZR'la, serum FDFT1 düzeyleri ELISA yöntemiyle incelenmiştir.

Serum FDFT1 düzeyleri hastalarda(19,48±3,9) kontrollerde(17,25±3,73) göre yüksek gözlenmiştir(p=0,001).L162V genotip frekansları hastalarda LL(CC):%96,9; LV(CG):%3,1 iken; kontrollerde sırasıyla %90,5 ve %9,5'tir. VV(GG) genotipine rastlanılmamıştır.Hastalar ve kontrol grupları arasında L162V genotip ve allel frekansları açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır(Tablo1).Genotiplerle biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde hasta ve kontrollerde FDFT1 düzeyleri açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir. LL genotipli hastalarda LV'lere göre ALT düzeyleri yüksek(p=0,041), HbA1c düzeyleri düşük(p=0,014) bulunmuştur.Kontrollerdeyse sistolik kan basıncı(p=0,006) ve trigliserit düzeyleri(p=0,05) LL'lerde daha yüksek gözlenmiştir.

PPARα rs1800206(L162V) gen varyasyonu serum FDFT1 düzeylerini ve biyokimyasal parametreleri etkilememektedir.Bulgularımıza göre,L162V gen varyasyonu NAFLD için bir risk faktörü olarak değerlendirilmeyebilir. Ancak hafif metabolik etkilerini gözönüne alarak, daha büyük sayılı örneklem gruplarıyla nadir VV genotipini de tespit ederek çalışmanın tekrarlanmasının PPARα L162V varyasyonunun NAFLD'ye kesin etkilerinin gösterilmesi için araştırılmaya değer olduğu kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: NAFLD, PPAR-α, L162V, gen varyasyonu

<sup>1</sup>Altınbaş Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahiliye Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bölümü, İstanbul.

<sup>3</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>4</sup>Biruni Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>5</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İstanbul.

## The effect of PPAR- $\alpha$ gene L162V variation on Non-alcoholic Fatty Liver Disease

Özlem Kurnaz Gömleksiz<sup>1</sup>  
Yaşar Çolak<sup>2</sup>  
Ender Coşkunpınar<sup>3</sup>  
Ebubekir Şenates<sup>2</sup>  
Yasemin Müşteri Oltulu<sup>4</sup>  
Hülya Yılmaz Aydoğan<sup>5</sup>

### ABSTRACT

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), an important cause of progressive liver disease, is defined by an increase in hepatic fat content that is not related to toxicants. The FDFT1 enzyme, a key regulatory hormone in cholesterol synthesis, converts farnesyl diphosphate to squalene in cholesterol synthesis first steps. FDFT1 inhibitors were shown to be effective in hyperlipidemia treatment. Since peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) represent lipid metabolism master regulators in liver, controversial results reported that PPAR's genetic variants may affect NAFLD susceptibility. As PPARs are targets of several drugs evaluated for the treatment of NAFLD, it is important to evaluate PPAR SNPs role in the response to drugs targeting these receptors. We aimed to examine the PPAR- $\alpha$ /rs1800206 (L162V), claimed to be effective in FDFT1 gene transcription regulation in NAFLD patients.

PPAR $\alpha$ /rs1800206 (L162V) genotypes and serum FDFT1 levels were analyzed by real-time PCR and ELISA in 64 NAFLD-patients and 84 controls, respectively.

FDFT1 levels were higher in patients (19.48 $\pm$ 3.9) than in controls (17.25 $\pm$ 3.73) (p=0.001). L162V genotype frequencies were LL(CC):96.9%; LV(CG):3.1% in patients, while they were 90.5% and 9.5% in controls, respectively. No VV(GG) genotype was found. Genotype and allele frequencies were not different between patients and controls (p>0.05). No significant difference was observed between genotypes and FDFT1 levels in both groups. ALT levels were higher (p=0.041) and HbA1c were lower (p=0.014) in LL patients than LV. In controls, Systolic Blood Pressure (p=0.006) and triglyceride levels (p=0.05) were higher in LL.

PPAR $\alpha$  rs1800206 (L162V) may not affect serum FDFT1 levels and biochemical parameters. According to our findings, L162V variation may not be a NAFLD risk factor. However, considering its mild metabolic effects, we believe that repeating the study with larger sample groups and detecting the rare VV genotype is worth investigating to show the precise effects of the PPAR $\alpha$ /L162V variation on NAFLD.

Keywords: NAFLD, PPAR- $\alpha$ , L162V, gene variation

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, School of Medicine, Altınbaş University, İstanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Medeniyet University, İstanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Medical Biology, School of Medicine, University of Health Sciences, İstanbul, Turkey.

<sup>4</sup>Department of Medical Biology, School of Medicine, Biruni University, İstanbul, Turkey.

<sup>5</sup>Department of Molecular Medicine, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, İstanbul University, İstanbul, Turkey.

**Tablo 1.** NAFLD Hasta ve Kontrol Gruplarında PPAR- $\alpha$  L162V Gen Varyasyonunun Genotip ve Allel Dağılımı

PPAR	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	p değeri
Genotipler			0,18
LL (CC)	62 (%96,9)	76 (%90,5)	
LV (CG)	2 (%3,1)	8 (%9,5)	
VV (GG)	0	0	
Alleller			0,131
L (C)	126 (%98,4)	160 (%92,2)	
V (G)	2 (%1,6)	8 (%4,8)	

NAFLD: Alkole bağlı olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı; n: rnek sayısı

**Table 1.** Genotype and Allele Distribution of PPAR- $\alpha$  L162V Gene Variation in NAFLD Patients and Control Groups

PPAR	NAFLD Patients n (%)	Controls n (%)	p value
Genotypes			0,18
LL (CC)	62 (96.9%)	76 (90.5%)	
LV (CG)	2 (3.1%)	8 (9.5%)	
VV (GG)	0	0	
Aleles			0,131
L (C)	126 (98.4%)	160 (92.2%)	
V (G)	2 (1.6%)	8 (4.8%)	

NAFLD: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease; n: sample numbers

## İmidazol nükleusunun hepatoselüler karsinoma hücre dizilerindeki antikanser etkileri

Erkan Kahraman<sup>1</sup>  
Erdem Göker<sup>2</sup>

### ÖZET

İmidazol nükleusu sahip olduğu terapötik etkilerinden dolayı çeşitli hastalıkların tedavisi için birçok ilaç molekülünün geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Özellikle kanser tedavisinde kullanılmak üzere birçok derivatifi üretilmiştir. Ancak imidazol nükleusunun karaciğer kanseri hücrelerindeki antikanser etkinlikleri net değildir. Bu nedenle hepatoselüler karsinom hücre dizilerinde imidazolün antikanser etkilerini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda HuH-7 ve Mahlavu hücre dizileri kullanıldı. İmidazolün hücre biyolojik yanıtlar üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla MTT analizi, koloni formasyon analizi, apoptoz analizi, giemsa boyaması, otofaji analizi, migrasyon analizi ve sferoid formasyon analizi gerçekleştirildi. Ayrıca AKT, ERK1/2, E-kaderin ve LC3II proteinlerinin ekspresyonel değişiklikleri Western Blot analizi ile belirlendi.

İmidazol HCC hücrelerinin canlılığını doz ve zaman bağımlı olarak azalttı. İmidazolün hücre canlılığını %50 oranında baskılayan (IC50) doz değerleri HuH-7 hücre dizilerinde 20mM Mahlavu hücre dizilerinde ise 35mM olarak belirlendi. İmidazol uygulaması HCC hücre dizilerinde kesilmiş kaspaz3 ekspresyonunu arttırarak apoptozu indükledi. Aynı zamanda HCC hücrelerinin koloni yapabilme yeteneklerini ve hücre göçünü baskıladı. Ayrıca imidazol hücre içi vakuolizasyonu arttırarak otofajiyi indükledi. HCC tümör hücre sferoidlerine imidazol uygulaması sferoid boyutlarını küçülttü ve hücrelerin e-kaderin ekspresyonu seviyeleri ile bağımlı bir şekilde sferoid yapısını bozdu. Hücre biyolojik yanıtlarla paralel bir şekilde imidazol AKT ve ERK1/2 protein ekspresyonu düzeylerini de azalttı.

Yapmış olduğumuz çalışma ile imidazol nükleusunun hepatoselüler karsinom hücre dizilerinde antikanser biyolojik yanıtları indüklediği belirlenmiştir. Birlikte değerlendirildiğinde, bulgularımız hepatoselüler karsinom tedavisinde imidazolün yeni bir potansiyel terapötik molekül olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Hepatoselüler karsinom, İmidazol, Kanser

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İzmir.

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İzmir.

## Anticancer effects of imidazole nucleus in hepatocellular carcinoma cell lines

Erkan Kahraman<sup>1</sup>  
Erdem Göker<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Imidazole nucleus has been used for develop to new drug molecules for treatment of various disease due to its therapeutic effects. Especially, many derivatives of imidazoles were produced for treatment of cancer. However, anticancer effect of imidazole nucleus is unclear in liver cancer cells. Thus, we aimed that investigate to anticancer effect of imidazole in hepatocellular carcinoma cell lines.

In our study, HuH-7 and Mahlavu cell lines were used. For determination of anticancer effect of imidazole nucleus on cell biological responses, MTT assay, colony formation assay, apoptosis assay, giemsa staining, autophagy analysis, migration assay and spheroid formation assays were carry out. Also, expressional changes in AKT, ERK1/2, E-cadherin and LC3II proteins were determined using by Western Blot analysis.

Imidazole reduced viability of HCC cells in a dose and time dependent manner. The half maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) dose values of imidazole on cell viability were calculated in HuH-7 and Mahlavu, as 20mM and 35mM, respectively. Imidazole treatment induced apoptosis via increasing the levels of cleaved caspase3 protein in HCC cell lines, and besides decreased colony formation ability of cells, and inhibited cell migration of HCC cells. Also, imidazole induced cellular vacuolization and autophagy. Imidazole treatment to HCC cell tumor spheroids decreased spheroid size, and disrupted the spheroid structure in an e-cadherin expression levels dependent manner. Parallel to cellular biological responses, imidazole decreased protein expression levels of AKT and ERK1/2.

Our study demonstrated that imidazole nucleus induced anticancer biological responses in hepatocellular carcinoma cell lines. Taken together, these results suggest that imidazole might be a potential therapeutic molecule for treatment of hepatocellular carcinoma.

Keywords: Cancer, Hepatocellular Carcinoma, Imidazole

<sup>1</sup>Ege University, Atatürk Vocational School of Health Services, Izmir.

<sup>2</sup>Ege University, Faculty of Medicine, Medical Oncology, Izmir.

## Alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2 geninde yeni saptanan bir varyantın patojenik etkisinin araştırılması

Ayşe Yeşbek Kaymaz<sup>1</sup>  
Christopher Grunseich<sup>2</sup>  
Isabel Xiaorong Wang<sup>3</sup>  
Vivian Cheung<sup>4</sup>  
Kenneth Fischbeck<sup>2</sup>

### ÖZET

Amiyotrofik lateral skleroz 2 (ALS2), alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2 (ALS2) genindeki mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkan, juvenil başlangıçlı, otozomal resesif geçiş gösteren motor neuron hastalığıdır. ALS2 geni 2. kromozomda yerleşim göstermekte (2q33.1) ve Ras süper ailesi guanozin trifosfatazlar (GTPaz) için bir guanine değiştirici faktör (GEF) olduğu düşünölen alsin proteinini kodlamaktadır. Bu çalışmada, ALS2 geninin 21. ekzonunda homozigot c.3415 C>T (p.R1139\*) varyantı saptanmış olan 11 yaşındaki erkek ALS2 hastası sunulmaktadır. Çalışmanın amacı, ALS2 hastalığında yeni tanımlanmış olan bu varyantın patojenik etkilerini araştırmaktır.

Hasta ve ebeveynlerine ait fibroblast hücrelerinde ALS2 ifade düzeyi ve yerleşimi qRT-PCR, immünoblotlama ve immünofloresan boyama teknikleriyle analiz edilmiştir. ALS2 mRNA instabilitesi aktinomisin D uygulaması ve mutant allele özgü qPCR ile test edilmiştir. Alsin proteininin GEF aktivitesi Rac1-GTPaz aktivasyon testi ile belirlenmiş; immünofloresan boyama tekniğiyle erken endozom markırı EEA1 ve immünoblotlama yöntemiyle otofaji markırı P62/SQTM1 analiz edilerek endosomal trafik incelenmiştir.

Bulgular, hastada alsin proteininin gen ifadesinin, perinökleer yerleşiminin ve Rac1-GTPaz için GEF aktivitesinin kontrole göre anlamlı ( $p < 0.05$ ) düzeyde azaldığını göstermiştir. Ayrıca hasta ve ebeveynlerinde mRNA instabilitesi olduğu tespit edilmiş, P62/SQTM1 ifadesinin hastada anlamlı artış gösterdiği saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlar, c.3415 C>T varyantının alsin proteininde Rac1-GTPaz ve endosomal transport hataları nedeniyle nörodejenerasyonla sonuçlanan işlev kaybına sebep olabileceğine işaret etmektedir. İleri çalışmalarda bu ve farklı ALS2 varyasyonlarının downstream etkilerinin hasta hücrelerinde araştırılması planlanmaktadır.

Bu çalışma National Institute of Health ve Howard Hughes Medical Institute fonları tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: ALS2, juvenil ALS, Rac1-GTPaz, P62/SQTM1, endozomal transport

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 06100 Sıhhiye, Ankara, Türkiye.

<sup>2</sup>Neurogenetics Branch, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA.

<sup>3</sup>Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD 20815, USA.

<sup>4</sup>Life Sciences Institute, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan 48109, USA.

## Investigating the pathogenicity of a novel mutation in the alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2

Ayşe Yeşbek Kaymaz<sup>1</sup>  
Christopher Grunseich<sup>2</sup>  
Isabel Xiaorong Wang<sup>3</sup>  
Vivian Cheung<sup>4</sup>  
Kenneth Fischbeck<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Amyotrophic lateral sclerosis 2 (ALS2) is a rare autosomal recessively inherited juvenile-onset motor neuron disease caused by the mutations in the alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2 (ALS2) gene. The ALS2 gene is located at chromosome 2q33.1 and encodes the alsin protein, which is proposed to be a guanine exchange factor (GEF) for Ras superfamily GTPases. Here we report an 11-year-old male ALS2 patient with a homozygous c.3415 C>T (p.R1139\*) variant in exon 21 of ALS2. This study aimed to investigate the functional consequence of this variant.

ALS2 gene expression levels and alsin protein localization were analyzed in fibroblasts from the patient and his parents by qRT-PCR, immunoblot and immunofluorescence analysis. ALS2 mRNA stability was tested by actinomycin D treatment and mutant allele-specific qRT-PCR analysis. GEF activity of alsin was analyzed by Rac1-GTPase activation assay. Endosomal transport was investigated by EEA1 and P62/SQTM1 immunofluorescence staining and immunoblotting, respectively.

The results showed significant ( $p < 0.05$ ) reduction in alsin protein expression, alsin perinuclear localization and GEF activity for Rac1-GTPase in the patient fibroblasts. ALS2 mRNA instability of the mutant transcript was detected in the patient and both parents. A significant increase in P62/SQTM1 expression was detected in the patient.

These results indicate that the c.3415 C>T variant is likely causing loss of function in the alsin protein, resulting in neurodegeneration via Rac1-GTPase and disrupted endosomal transport. Further experiments will investigate the downstream effects of this and other ALS2 mutations in cultured patient cells.

This work is supported by funds from the Howard Hughes Medical Institute and the National Institutes of Health.

Keywords: ALS2, juvenile ALS, Rac1-GTPase, P62/SQTM1, endosomal transport

<sup>1</sup>Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Hacettepe University, 06100 Sıhhiye Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Neurogenetics Branch, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA.

<sup>3</sup>Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD 20815, USA.

<sup>4</sup>Life Sciences Institute, Department of Pediatrics, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan 48109, USA.



## Türkiye'deki olgu örneklerinde SARS-CoV-2 enfeksiyonunda rol alan aday immünite gen varyantlarının incelenmesi ve popülasyonlar arasında karşılaştırılması

Aslı Karacan<sup>1</sup>  
Güven Toksoy<sup>2</sup>  
Oya Uyguner<sup>2</sup>  
Seher Başaran<sup>2</sup>  
Birsen Karaman<sup>3</sup>  
Evrım Kömürcü Bayrak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye; İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye; İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Pediatrik Temel Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

### ÖZET

Son dönemde yapılan çalışmalarda, SARS-CoV-2 virüs enfeksiyonunda meydana gelen immün yanıtta çeşitli immünite gen varyantlarının etkili olduğu belirlenmesine rağmen aday genler olarak belirlenen IRF7, TBK1, IFNAR1, IFNAR2 ve TLR3 genlerindeki varyantların Türkiye popülasyonundaki sıklıklarını gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, aday genlerdeki varyantların belirlenerek allel sıklıklarının popülasyonlar arasında karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Kurum içi tüm ekzom dizileme (TED) verileri kullanılarak 139 bireyde IRF7, TBK1, IFNAR1, IFNAR2 ve TLR3 genlerinin ekzonik ve komşu intronik bölgelerindeki gen varyantları analiz edilerek, diğer popülasyonlara ait verilerle (gnomAD) karşılaştırıldı ve klinik önemleri araştırıldı.

İlk kez bu çalışma ile ülkemiz popülasyonunda immün sistemde rol alan gen varyantlarına yönelik analiz çalışması yapılmış ve genlerin allel sıklıkları belirlenmiştir. Kurum içi TED verilerine göre IRF7'de 29, TBK1 ve IFNAR1'de 20, IFNAR2'de 26, TLR3'de 9 farklı varyant tespit edilmiştir. Sonuç olarak, IRF7 ve IFNAR2 için 5, TBK1 ve IFNAR1 için 4 ve TLR3 için 3 yeni varyant bulunmuştur. Varyantların allel sıklıkları diğer popülasyonlar ile karşılaştırılmıştır.

Tartışma: Popülasyonlar arası varyant sıklıklarında değişkenlik ve Türkiye popülasyonuna özgü varyantların bulunması, toplumlar arası enfeksiyon hastalıklarına verilen immün yanıtın duyarlılığını etkiliyor olabilir. Bu sonuçlara göre, ileride planlanacak olan fonksiyonel çalışmalar, SARS-CoV-2 enfeksiyonu ile immün sistem gen varyantları arasındaki ilişki ve varyantların işlevsel etkilerinin belirlenmesine katkı sağlayabilecek ön bilgiler sunmaktadır.

SARS-CoV-2 enfeksiyonuna immün yanıtta farklılıklara neden olduğu düşünülen immünite gen varyantları kayıtlı kurum içi TED yöntemiyle belirlenerek, popülasyonlar arasında karşılaştırılması yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: SARS-CoV-2, immünite genleri, genetik varyantlar, popülasyon, tüm ekzom dizileme

## Investigation of candidate immunity gene variants involved in SARS-CoV-2 infection in individuals from Turkey and comparison between populations

Aslı Karacan<sup>1</sup>  
Güven Toksoy<sup>2</sup>  
Oya Uyguner<sup>2</sup>  
Seher Başaran<sup>2</sup>  
Birsen Karaman<sup>3</sup>  
Evrım Kömürcü Bayrak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medical, Department of Medical Genetics, Istanbul; Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul, Turkey., Turkey.

<sup>2</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medical, Department of Medical Genetics, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medical, Department of Medical Genetics, Istanbul.; Istanbul University, Istanbul Faculty of Medical, Child Health Institute, Departments of Basic Pediatric Sciences, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Although various immunity gene variants have been determined to be effective in immune response in SARS-CoV-2 virus infection, there are no studies showing frequency of variants in IRF7, TBK1, IFNAR1, IFNAR2 and TLR3, which are determined as candidate genes, in populations from Turkey. In this study, it was aimed to determine variants in candidate genes and compare allele frequencies among populations.

**Materials-Method:** The gene variants in exonic and adjacent intronic regions of IRF7, TBK1, IFNAR1, IFNAR2 and TLR3 genes in 139 individuals were analyzed using in-house whole exome sequencing (WES) data and compared with data from other populations (gnomAD) and their clinical significance was investigated.

For the first time, analysis of gene variants that play a role in immune system in populations from Turkey was carried out and allelic frequencies of genes were determined in this study. Twenty-nine different SNVs were detected in IRF7, 20 in TBK1 and IFNAR1, 26 in IFNAR2, and 9 in TLR3. As a result, 5 new variants were found for IRF7 and IFNAR2, 4 for TBK1 and IFNAR1 and 3 for TLR3. Their allele frequencies were compared with other populations.

**Discussion:** Inter-population variability and specificity may affect sensitivity of immune response to infectious diseases. Future functional studies provide preliminary information that may contribute to relationship between SARS-CoV-2 infection and immune system gene variants and to determine functional effects of variants.

Immunity gene variants thought to cause differences in immune response to SARS-CoV-2 infection were determined in populations from Turkey by in-house WES and compared between populations.

**Keywords:** SARS-CoV-2, immunity genes, genetics variants, population, whole exome sequencing

## Maksiler sinüs skuamöz hücreli karsinomunun genomik profili

Bakiye Göker Bağca<sup>1</sup>  
Çığır Biray Avcı<sup>2</sup>

### ÖZET

Paranasal sinüs kanserleri tüm kanserlerin yaklaşık %0,2'sini oluşturan nadir ve heterojen bir kanser grubudur. Maksiler sinüs skuamöz hücreli karsinomu ise bu olguların yaklaşık yarısını oluşturan alt gruptur. Beş yıllık sağ kalım oranı %50'nin altında olan bu kanser türü için bilinen herhangi bir sürücü mutasyon veya tedavi hedefi bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmada; genetik bilginin çok az olduğu bu kanserlerin moleküler yapısının belirlenebilmesi ve olgularda benzer şekilde görülen moleküler yapının aydınlatılabilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaç doğrultusunda, 30 olgudan alınan tümör dokusundan izole edilen DNA örnekleri kullanılarak yeni nesil sekanslama (NGS) yöntemi ile mutasyonlar belirlenmiştir. Belirlenen mutasyonlar biyoinformatik yazılımlar ve veri tabanları aracılığıyla değerlendirilmiş, hastalık üzerindeki olası etkinlikleri farklı tahminleme araçları kullanılarak belirlenmiştir.

NGS analizi sonucunda toplam 28.420 adet mutasyon (11.353 eşsiz mutasyon) tanımlanmıştır. Bu mutasyonların yaklaşık %90'ı literatürde bulunmamaktadır ve ilk defa bu çalışmada tanımlanmıştır. ERBB2 geninde en fazla sayıda mutasyon belirlenmiştir. Olguların tümünde en az bir tane patojenik veya olası patojenik EGFR mutasyonu belirlenmiştir. EGFR geninin p.L799P ve p.Y801\* mutasyonları en yüksek sayıda belirlenen patojenik mutasyonlardır. Ayrıca TP53 geninin 5'UTR ve promotör bölgelerinde ortak mutasyonlar belirlenmiştir.

Sonuçlar değerlendirildiğinde EGFR, ERBB2 ve PIK3CA genlerinin katalitik aktivitesinin artışına neden olacak mutasyonların hastalığın sürücü mutasyonları arasında yer alabileceği belirlenmiştir. Ayrıca TP53 geninin promotör bölgesinde olguların tamamında belirlenen mutasyonların da gen ekspresyonunun engellenmesine neden olarak kanser başlangıcında rol oynama potansiyeli taşıyabileceği belirlenmiştir. Elde edilen verilerin, genetik bilginin çok kısıtlı olduğu bu kanser hakkında literatüre katkı sağlamasını ve ileri araştırmaların yolunu açmasını umut etmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Genetik Profil, Maksiller Sinüs Kanseri, Paranasal Sinüs Kanseri, Yeni Nesil Sekanslama

<sup>1</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

## Genomic profile of maxillary sinus squamous cell carcinoma

Bakiye Göker Bağca<sup>1</sup>  
Çığır Biray Avcı<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Paranasal sinus cancers are a rare and heterogeneous group of cancers that account for approximately 0.2% of all cancers. Maxillary sinus squamous cell carcinoma is the subgroup that constitutes about half of these cases. There is no driver mutation or therapy target for this cancer. Therefore, it is aimed to determine the molecular structure of these cancers, where genetic information is limited.

Mutations were determined by next-generation sequencing (NGS) method using DNA samples isolated from tumor tissue from 30 cases. They were evaluated through bioinformatics software and databases, and their possible effects on the disease were determined using different tools.

As a result of NGS analysis, 28,420 mutations (11,353 unique) were identified. About 90% of these mutations are not found in the literature and were described for the first time in this study. The most of mutations were determined in the ERBB2 gene. At least one pathogenic EGFR mutation was detected in all cases. The pathogenic EGFR p.L799P and p.Y801\* mutations are identified in the highest number. Common mutations in the 5'UTR and promoter of the TP53 gene were determined.

It was determined that mutations that would increase the catalytic activity of EGFR, ERBB2, and PIK3CA may be among the driver mutations. TP53 promoter mutations have been determined in all cases may have the potential role in the cancer onset by causing gene expression inhibition. We hope that the obtained data will contribute to the literature on this cancer, where genetic information is limited, and pave the way for further research.

Keywords: Genetic Profile, Maxillary Sinus Cancer, Paranasal Sinus Cancer, Next-Generation Sequencing

<sup>1</sup>Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology.

<sup>2</sup>Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology.

## CYP3A4'ü Hedefleyen miR-505-5p'in Kolşisine Dirençli Akdeniz Ateşi Hastalarında Değişken İfadesi

Tayfun Hilmi Akbaba<sup>1</sup>  
 Bilgesu Şafak Özdemir<sup>1</sup>  
 Yeliz Zülfiye Akkaya Ulum<sup>1</sup>  
 Pelin Mutlu<sup>2</sup>  
 Seza Ozen<sup>3</sup>  
 Banu Balci Peynircioğlu<sup>1</sup>

### ÖZET

Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) kalıtsal monogenik bir hastalıktır. Günlük kolşisin alımı en iyi bilinen tedavidir. Bu çalışmanın amacı, FMF hastalarında gözlenen ilaç direncinde miRNA'ların potansiyel rolünün belirlenmesidir.

Daha önceki araştırmalarımızdan elde edilen mikrodizin verileri (GeneChip 4.0 miRNA array), ciddi bir fenotipe sahip kolşisine dirençli bireyler için yeniden değerlendirildi ve ilaç metabolizmasında rol oynayan potansiyel miRNA'ları belirlemek için biyoinformatik analizler (miRwalk, miRtarbase, TargetScan) kullanıldı. MiRNA-hedef gen çalışmaları yapıldı ve direnç mekanizmasında yer alan miRNA'lar belirlendi. Hedef gen-miRNA ilişkisi 3'UTR lusiferaz aktivite analizi kullanılarak belirlendi. Ardından hedef genin RNA seviyesinde ekspresyon deneyleri yapıldı.

MiRNA dizin çalışmalarının ardından, kolşisine dirençli ailevi Akdeniz ateşi hastalarında miR-186-3p, miR-548a-3p ve miR-7-5p'nin azaldığı, buna karşın miR-505-5p ve miR-4482-3p'nin arttığı bulundu. MiR-505-5p, ilaç metabolizması düzenleyicisi olarak tanımlandı. İlaç direnci ile ilgili genleri tanımlamak için biyoinformatik yöntemler kullanıldı ve bunlar daha sonra qRT-PCR kullanılarak doğrulandı. MiR-505-5p'nin, HEPG2 hücrelerinde (hepatoselüler karsinom hücre hattı) RNA düzeyinde CYP3A4 ekspresyonunu düzenlediği saptandı. MiR-505-5p ve CYP3A4 arasındaki direk etkileşim, bir 3'UTR lusiferaz analizi kullanılarak gösterildi.

MiRNA'ların kolşisin metabolizması üzerindeki etkilerini araştıran fonksiyonel çalışmalar devam etmektedir. Dirençli AAA hastalarında farmakolojik direncin miRNA'lar ile ilişkisinin gösterilmesi, gelecekte bu hastalar için yeni ilaç hedeflerinin geliştirilmesine yol açabilir.

Bu proje, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (218S522) tarafından finanse edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ailevi Akdeniz ateşi, ilaç direnci, miRNA, kolşisin

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarları, Ankara, Turkey.

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Romatoloji Bilim Dalı, Ankara, Turkey.

## Differential Expression of miR-505-5p, Targeting CYP3A4, in Colchicine-Resistant Familial Mediterranean Fever Patients

Tayfun Hilmi Akbaba<sup>1</sup>  
Bilgesu Şafak Özdemir<sup>1</sup>  
Yeliz Zülfiye Akkaya Ulum<sup>1</sup>  
Pelin Mutlu<sup>2</sup>  
Seza Ozen<sup>3</sup>  
Banu Balci Peynircioğlu<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Familial Mediterranean Fever(FMF) is an inherited monogenic disease. Daily intake of colchicine is the best known treatment. This study aims to identify the potential role of miRNAs on drug resistance observed in FMF patients.

Microarray data (GeneChip 4.0 miRNAarray) from our earlier research was re-evaluated for colchicine-resistant individuals with a severe phenotype, and bioinformatics analysis (miRwalk, miRtarbase, TargetScan) was used to identify potential miRNAs implicated in drug metabolism. miRNA-target gene studies were carried out, and possible miRNAs involved in the mechanism of colchicine resistance were identified. The target gene was then determined using 3'UTR luciferase activity tests. Following that, qRT-PCR experiments were carried out in order to determine RNA expression level of target gene.

miRNA array study revealed that in colchicine-resistant familial Mediterranean fever patients, miR-186-3p, miR-548a-3p, and miR-7-5p were decreased, whereas miR-505-5p and miR-4482-3p were elevated. MiR-505-5p has been identified as a drug metabolism regulator. Bioinformatical methods were used to identify drug resistance-related genes, which were then confirmed using qRT-PCR. MiR-505-5p regulates CYP3A4 expression at the RNA level, according to studies conducted in HEPG2 cells(hepatocellular carcinoma cell line).The interaction between MiR-505-5p and CYP3A4 was demonstrated using 3'UTR luciferase assay.

Functional studies which investigate the effects of miRNAs on colchicine metabolism are underway. Pharmacological resistance in complicated FMF patients may be explained by miRNAs, which could lead to the development of novel drug targets for these patients in the future.

This project has been funded by The Technical and Scientific Research Council of Turkey, 218S522.

Keywords: Familial Mediterranean Fever, drug resistance, miRNA, colchicine

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Middle East Technical University Central Laboratory, Ankara, Turkey.

<sup>3</sup>Pediatric Rheumatology Division, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turkey.

## Serotonerjik sistemi potansiyel olarak modüle eden CpG adacıklarının ve miRNA'ların araştırılması: Hesaplamalı yaklaşım

Ayşenur Şen  
Orçun Avşar

### ÖZET

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), santral sinir sisteminde nöronların iletişim kurmasında görev alan bir nörotransmitterdir. Serotonerjik sistem; serotonin reseptörlerinin işlevi ile düzenlenmektedir. DNA metilasyonu ve miRNA'lar, gen ekspresyonunun baskılanmasında görev alır. Çalışmamızın amacı, serotonerjik sistemin hiperaktivitesi sonucu ortaya çıkabilecek patolojik durumların ortadan kaldırılmasında bazı epigenetik mekanizmaların yeni bir tedavi stratejisinde kullanılma potansiyelinin belirlenmesidir. Serotonin reseptörlerini kodlayan genler (5-HTR1A, 5-HTR1B, 5-HTR1D, 5-HTR1E, 5-HTRF, 5-HTR1F, 5-HTR2A, 5-HTR2B, 5-HTR2C, 5-HTR3A, 5-HTR4, 5-HTR5A, 5-HTR6, 5-HTR7); triptofan hidroksilaz enzim genleri (TPH1 ve TPH2) ve aromatik L-amino asit dekarboksilaz enzim geni DDC çeşitli biyoinformatik programları kullanılarak analiz edildi. CpG adacıklarının analizi için MethPrimer, Sequence Manipulation Suite CpG Islands ve Primer Design and Search Tool programları kullanıldı. Hedef genleri düzenleme yeteneğine sahip miRNA'ları bulmak için DIANA web aracı kullanıldı. miRNA-hedef zenginleştirme analizinde Mienturnet programı kullanıldı. Çalışmamızın sonuçlarına göre her bir hedef gen için CpG adacı (CGI) sayısı belirlendi. (5-HTR1A-8 CGI; 5-HTR1B-3 CGI; 5-HTR2C-3 CGI; 5-HTR4-3 CGI; 5-HTR1D-2 CGI; 5-HTR3A-2 CGI; 5-HTR5A-2 CGI; DDC-2 CGI; 5-HTR1E-2 CGI; 5-HTR2A-2 CGI; 5-HTR7-2 CGI; 5-HTR1F-0 CGI; 5-HTR6-0 CGI; 5-HTR2B-0 CGI; TPH1-0 CGI; TPH2-0 CGI). Serotonerjik sistem ile ilişkili genlerin çeşitli miRNA'lar tarafından düzenlendiği belirlendi (5-HTR1A-3 miRNA; 5-HTR1B-6 miRNA; 5-HTR1D-13 miRNA; 5-HTR1E-1 miRNA; 5-HTR2A-11 miRNA; 5-HTRF1-3 miRNA; 5-HTR2B-3 miRNA; 5-HTR2C-13 miRNA; 5-HTR7-13 miRNA; 5-HT R3A- 5 miRNA; 5-HTR6-7 miRNA; 5-HTR4-1 miRNA; 5-HTR5A-1 miRNA). Serotonerjik sistemin hiperaktivasyonu sonucu ortaya çıkabilecek patolojik durumların ortadan kaldırılmasında serotonerjik sistem ile ilişkili bazı genlerin ekspresyonunun bazı epigenetik mekanizmalarla düzenlenebileceği gösterilmiştir. Elde edilen verilerin doğrulanması için geniş kapsamlı in vitro ve in vivo çalışmalar gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Cpg, DNA metilasyonu, miRNA, serotonerjik sistem

Hitit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler  
Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Çorum.

## Investigation of CpG islands and miRNAs potentially modulating the serotonergic system: Computational approach

Ayşenur Şen  
Orçun Avşar

### ABSTRACT

Serotonin(5-hydroxytryptamine)is a neurotransmitter implicated in the communication of neurons in the central nervous system. DNA methylation and miRNAs are involved in the suppression of gene expression.The aim of our study is to determine the potential of using some epigenetic mechanisms in a new treatment strategy for the recovery of pathological conditions that may arise as a result of hyperactivity of the serotonergic system.The genes encoding serotonin receptors(5-HTR1A,5-HTR1B,5-HTR1D,5-HTR1E, 5HTRF,5-HTR1F,5-HTR2A,5-HTR2B,5-HTR2C,5-HTR3A,5-HTR4,5-HTR5A,5-HTR6,5-HTR7);tryptophan hydroxylase enzyme genes(TPH1 and TPH2) and aromatic L-amino acid decarboxylase enzyme gene DDC were analyzed by the use of various bioinformatics programs.MethPrimer, Sequence Manipulation Suite CpG Islands, Primer Design and Searh Tool programs were used for the analysis of CpG islands.The DIANA web tool was used to find miRNAs which have the potential of regulating target genes.Mienturnet bioinformatics program was used for miRNA-target enrichment analysis.According to the results of our study, the number of CpG islands(CGI)was determined for each target gene(5-HTR1A-8 CGI;5-HTR1B-3 CGI;5-HTR2C-3 CGI;5-HTR4-3 CGI;5-HTR1D-2 CGI;5-HTR3A-2 CGI;5-HTR5A-2 CGI;DDC-2 CGI;5-HTR1E-2 CGI;5-HTR2A-2 CGI;5-HTR7-2 CGI;5-HTR1F-0 CGI;5-HTR6-0 CGI;5-HTR2B -0 CGI;TPH1-0 CGI;TPH2-0 CGI).The genes associated with the serotonergic system were determined to be regulated by various miRNAs(5-HTR1A-3 miRNAs;5-HTR1B-6 miRNAs;5-HTR1D-13 miRNAs;5-HTR1E-1 miRNAs;5-HTR2A-11 miRNAs; 5-HTRF1-3 miRNAs;5-HTR2B-3 miRNAs;5 HTR2C-13 miRNAs;5-HTR7-13 miRNAs;5-HT R3A- 5 miRNAs;5-HTR6-7 miRNAs;5-HTR4-1 miRNAs;5-HTR5A-1 miRNAs).It has been demonstrated that the expression of some genes associated with the serotonergic system can be regulated by some epigenetic mechanisms for the recovery of the pathological conditions that may caused by the hyperactivation of the serotonergic system.Comprehensive in vitro and in vivo studies are required to confirm the data obtained from the present study

Hitit University, Institute of Science and Technology,  
Department of Molecular Biology and Genetics, Çorum.

Keywords: Cpg, DNA methylation, miRNA, serotonergic system



## Juvenile Myelomonositik Lösemi'de Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile Vaka Çözümlemesi

Nihat Buğra Ağaoğlu

### ÖZET

Juvenile myelomonositik lösemi (JMML), son derece agresif bir çocukluk çağı myeloproliferatif hastalığıdır. Çocukluk çağı myelodiplastik sendrom vakalarının %30'unu ve çocukluk çağı lösemilerinin %2'sini JMML oluşturmaktadır. Hastaların %60'ında RAS/MAPK yolağını etkileyen *PTPN11*, *KRAS* ve *NRAS* somatik mutasyonları tanımlanmıştır. Ayrıca hastaların %10-15'inde *CBL* germline ve somatik varyantları tespit edilmiştir. Bu çalışmada aile öyküsü pozitif, 7 yaşındaki vaka kliniğimize JMML ön tanısıyla yönlendirilen vakayı sunulmaktadır.

Olgu: Hastadan alınan periferik kan örneğinden izole edilen genomik DNA'dan ailede farklı kanser türlerinden etkilenmiş bireyler olması nedeniyle, kanser yatkınlık genlerini de içeren klinik ekzom paneli çalışıldı. Sophia DDM yazılımıyla gerçekleştirilen klinik ekzom analizinde *CBL* NM\_005188 c.1111T>C p.(Tyr371His) yanlış anlamlı varyasyonu homozigot olarak saptandı. Varyant toplumsal veri bankalarında son derece nadirdi ve varyantın bulunduğu aminoasit bölgesinde daha önceden patojenik olarak rapor edilen farklı nükleotid değişimleri bulunmaktaydı. İn-siliko tahminleme algoritmaları da bu varyantın protein düzeyinde yok edici etkisinin olduğunu göstermekteydi. Bu varyant, JMML ve Noonan benzeri sendrom tanımlı birden fazla bireyde bildirilmişti. Clinvar veri tabanında varyant patojenik olarak sınıflandırılmıştı. Hastanın bukkal swap örneğinde ve ebeveynlerinde segregasyon analizleri devam etmektedir.

JMML tedavisinde *PTPN11*-, *KRAS*- ya da *NF1* varyantı taşıyan bireylerde kemik iliği nakli tek tedavi seçeneğidir. Ancak *CBL* varyantı taşıyan vakalarda, hematolojik anomalilerin spontan düzelebildiği gözlenmiş ve bu nedenle transplantasyon kararı için hastanın yakın izleminin önemli olduğu bildirilmiştir. Sunduğumuz bu vaka literatürde bildirilen ilk homozigot *CBL* varyantı olması nedeniyle önem taşımaktadır. Ayrıca özellikle aile öyküsü bulunan ve erken yaşta gözlenen çocukluk çağı kanserlerinin yeni nesil dizileme tabanlı yöntemlerle incelenmesinin, vaka çözümlemesinde ve tedavi yönlendirilmesinde önemini göstermektedir.

Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Genetik Bölümü.

Anahtar Kelimeler: Juvenile Myelomonositik Lösemi, *CBL*, Yeni Jenerasyon Sekanslama

## Case Analysis With Next Generation Sequencing in Juvenile Myelomonocytic Leukemia

Nihat Buğra Ağaoğlu

### ABSTRACT

Juvenile myelomonocytic leukemia (JMML) is an extremely aggressive childhood myeloproliferative disease. JMML accounts for 30% of childhood myelodysplastic syndromes and 2% of childhood leukemias. Somatic mutations of *PTPN11*, *KRAS* and *NRAS*, that are affecting the RAS/MAPK pathway, were identified in 60% of patients. Germline/somatic variants of *CBL* were detected in 10-15% of patients. In this study, a 7-year-old girl who was referred to our clinic with a preliminary diagnosis of JMML was presented.

**Case:** Index case family presented various types of cancers, therefore clinical exome sequencing was performed with the genomic DNA isolated from the peripheral blood. Homozygous *CBL* NM\_005188 c.1111T>C p.(Tyr371His) missense variation was detected by Sophia DDM software. The variant was extremely rare in population databases and reported in multiple individuals with JMML and Noonan-like syndrome. There were different pathogenic variations in the same amino acid region of the variant. In-silico prediction algorithms also showed that it has a destructive effect on protein level. The variant was classified as pathogenic in the Clinvar database. Buccal swap sample and segregation analysis are in progress.

Bone marrow transplantation is the only treatment option for *PTPN11*-, *KRAS*- or *NF1* variant carriers. Spontaneous recovery has been observed in cases with *CBL* variant and so close follow-up is suggested for the transplantation decision. This is the first homozygous *CBL* variant reported in the literature. Besides, this case exemplifies the importance of next-generation sequencing-based methods in the evaluation of childhood cancers with a family history and/or early age cases and choice of treatment.

Umraniye Training and Research Hospital, Department of Medical Genetics.

**Keywords:** Juvenile Myelomonocytic Leukemia, *CBL*, Next Generation Sequencing

## Alzheimer hastalığı ile kortikosteroid yolakları arasındaki ilişkinin beyin organotipik kesit kültüründe incelenmesi

Merve Alaylıoğlu<sup>1</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>2</sup>  
Selma Yılmaz<sup>3</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, İstanbul.

<sup>2</sup>Sinirbilim Anabilim Dalı, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul; Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, İstanbul.

<sup>3</sup>Haliç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı.

### ÖZET

Stres, tehdit edici fiziksel ya da çevresel değişikliklere verilen fizyolojik bir yanıttır. Strese karşı verilen en belirgin yanıt, adrenal bezlerden glukokortikosteroid salınmasını sağlayan sistemlerin aktive edilmesidir. Majör depresif bozukluğu olan hastalarda demans benzeri bilişsel fonksiyon bozukluklarının görülmesi, demans hastalarında ise anksiyete, apati, asabiyet ve depresyon gibi semptomların görülmesi ve Alzheimer hastalarının beyin-omurilik sıvıları, plazma ve serumlarında kortizol seviyesinin yüksek olması AH ile stres arasında bir ilişki olduğuna işaret etmektedir. Bu bilgiler; stres sonucu meydana gelen glukokortikosteroid seviyesindeki artışın, AH'de görülen patolojik mekanizmaların oluşumu sürecine katıldığını düşündürmekte ve stresin nörodejenerasyona neden olan yolakları tetikleyip tetiklemediği sorusunu ortaya çıkarmaktadır.

Bu sebeple bu çalışmamızda; doku mimarisi ve mikroçevrenin korunmasını sağlayarak *in vivo* modellere en yakın sonuçların elde edilmesine olanak sağlayan beyin organotipik kesit kültürlerine kortikosteron uygulaması ile oluşturulan sirkadiyen ritim ve stres modelleri ile amiloid beta 1-42 ( $A\beta_{1-42}$ ) peptid uygulaması sonucu oluşturulan AH benzeri modelde kortikosteroid reseptörleri olan GR ve MR ekspresyonları hem mRNA hem de protein seviyesinde incelendi.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguları değerlendirdiğimizde; kortikosteron ve  $A\beta_{1-42}$  uygulamaları sonucu GR protein seviyesinin benzer şekilde etkilendiği gözlemlendi.

Sonuçlarımız; stres sonucu başta GR olmak üzere glukokortikosteroid reseptörlerinde meydana gelen değişimlerin AH için önemli bir risk faktörü olabileceği üzerindeki görüşleri desteklemektedir. Sonuç olarak elde ettiğimiz bulgular, stres ve AH arasındaki ilişkinin önemine işaret etmekte ve henüz tam olarak anlaşılmamış bu ilişkinin moleküler temellerinin açıklanmasına katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, beyin organotipik kesit kültürü, kortikosteroid, stres

## Investigation of the association between Alzheimer's disease and corticosteroid pathways in organotypic brain slice culture

Merve Alaylıoğlu<sup>1</sup>  
Erdoğan Dursun<sup>2</sup>  
Selma Yilmazer<sup>3</sup>  
Duygu Gezen Ak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul.

<sup>2</sup>Department of Neuroscience, Institute of Neurological Sciences, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul; Brain and Neurodegenerative Disorders Research Laboratory, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpasa, Istanbul.

<sup>3</sup>Haliç University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics.

### ABSTRACT

Stress is a physiological response to threatening physical or environmental changes. The most obvious response to stress is the activation of systems that release glucocorticosteroids from adrenal glands. The presence of dementia-like cognitive dysfunction in patients with major depressive disorder, symptoms such as anxiety, apathy, irritability and depression in patients with dementia, and high cortisol levels in cerebrospinal fluids, plasma and serum of Alzheimer's patients indicate a relationship between AD and stress. These data suggest that the increase in glucocorticosteroid level, which occurs as a result of stress, participates in the formation of pathological mechanisms seen in AD, and raises the question whether stress triggers the pathways that cause neurodegeneration or not.

For this purpose, both mRNA and protein levels of corticosteroid receptors GR and MR were investigated in circadian rhythm and stress models that generated by corticosterone applications and AD-like model generated by amyloid beta 1-42 ( $A\beta_{1-42}$ ) peptide application in organotypic brain slice cultures which allow obtaining the closest results to *in vivo* models by protecting the tissue architecture and microenvironment.

When we evaluate the findings we obtained in our study; it was observed that GR protein level was similarly affected as a result of both corticosterone and  $A\beta_{1-42}$  applications.

Our results; supports the views that changes in glucocorticosteroid receptors, especially in GR, as a result of stress may be an important risk factor for AD. As a result, our findings point to the importance of the relationship between stress and AD and contribute to the explanation of the molecular basis of this relationship, which is not yet fully understood.

Keywords: Alzheimer's disease, organotypic brain slice culture, corticosteroid, stress

## Moleküler Yanaştırma(Docking) Tabanlı Ters Sanal Tarama ve Moleküler Dinamik Simülasyon ile Karvakrol'un Potansiyel Anti-Diyabetik Özelliğinin Analizi

Nail Beşli<sup>1</sup>  
Güven Yenmiş<sup>2</sup>

### ÖZET

Karvakrol (KV), birçok aromatik bitkinin uçucu yağlarında bulunan organik bir bileşiktir. Merak edilen bir liganda bağlanması muhtemel tüm mevcut insan proteinlerini in vitro ve in vivo yöntemler kullanarak analiz etmek neredeyse olanaksızdır. Bu çalışmada, bir dizi yeni insan protein hedefine karşı yerleştirme tabanlı ters yerleştirme ve moleküler dinamik (MD) simülasyon yoluyla KV'nin anti-diyabetik bir özelliğe sahip olup olmadığını netleştirmeyi amaçladık. Protein listeleri, Diabetes Mellitus (DM) ile herhangi bir ilişkinin varlığını doğrulamak için, sırayla yolak analizine tabi tutuldu. Burada, DIA-DB adlı bir web sunucusu kullanarak, KV'nin başarıyla pozisyon aldığı 17 yeni potansiyel hedef tespit edildi. Bağlanma enerjisine göre KV kenetlenme simülasyonlarının en iyi pozisyonları -7.9 ila -3.5 (kcal/mol) aralığındaydı. Protein listesinin GeneMANIA, WebGestalt ve Panter programları yoluyla yolak analizlerinden sonra, 7 KV etkileşimli protein (DPP4, FBP1, GCK, HSD11B1, INSR, PPARA ve PPARG) belirlendi ve bu 7 protein daha sonra MD simülasyon işlemine tabi tutuldu. Sonunda, KV ile etkileşime giren bu 7 proteinin kümelerinin kararlı simülasyonlarını elde edildi. Sonuçlarımız, diyabetik bozukluklarla ilişkisi DM için yeni potansiyel tedavilere rehberlik edebilecek, önceden keşfedilmemiş potansiyel hedef insan proteinlerini ortaya koyacaktır.

Çalışmanın in vitro ve in vivo versiyonları 3501 kariyer geliştirme projesi olarak sunulmak üzere hazırlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Karvakrol, Diyabet, Anti-diyabetik, Ters sanal tarama, Moleküler Dinamik Simülasyonu

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi.

<sup>2</sup>Biruni Üniversitesi.

## Analysis of the Potential Anti-Diabetic Property of Carvacrol by Molecular Docking Based Inverted Virtual Screening and Molecular Dynamics Simulation

Nail Beşli<sup>1</sup>  
Güven Yenmiş<sup>2</sup>

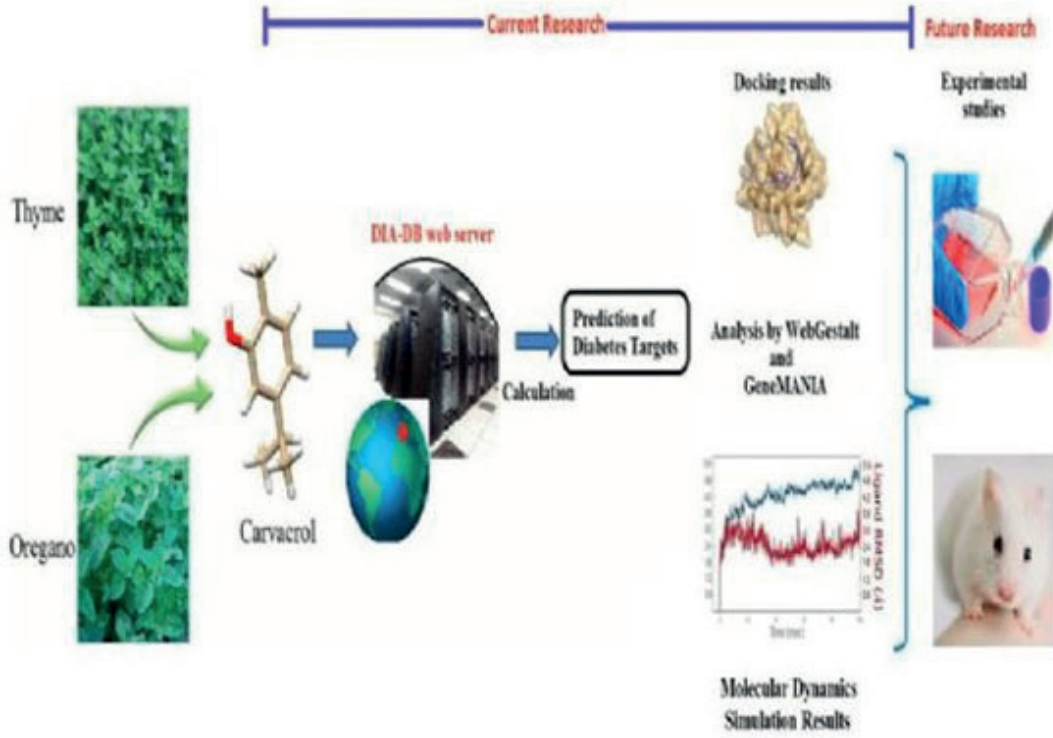
### ABSTRACT

Carvacrol (CV) is an organic compound found in the essential oils of many aromatic herbs. It is nearly unfeasible to analyze all the current human proteins for a query ligand using in vitro and in vivo methods. In this study, we aimed to clarify whether CV possesses an anti-diabetic feature via Docking-based inverse docking and molecular dynamic (MD) simulation against a set of novel human protein targets. The protein lists, in turn, are subjected to pathway analysis to verify the presence of any association with Diabetes Mellitus (DM). Herein, using a web server, namely DIA-DB, we detected 17 novel potential targets on which CV was docked successfully. The best poses of CV docking simulations according to binding energy were in the range of -7.9 to -3.5 (kcal/mol). After pathway analysis of the protein list through GeneMANIA, WebGestalt, and panther, seven CV interacting proteins (DPP4, FBP1, GCK, HSD11B1, INSR, PPARA, and PPARG) were determined and these seven proteins were then subjected to the MD simulation process. Eventually, we acquired stable simulations of clusters of these seven proteins interacting with CV. Our outcomes expose formerly unexplored potential target human proteins, whose association with diabetic disorders might guide to new potential treatments for the DM.

Keywords: Carvacrol, Diabetes, Anti-diabetic, Inverse virtual screening, Molecular dynamic simulation

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri University.

<sup>2</sup>Biruni University.



**Şekil 1.** Olası insan diyabet hedeflerinin tahmini

**Figure 1.** The prediction of possible human diabetes targets

In silico olarak kurgulanan ve sonuçları alınan çalışmanın in vitro ve in vivo kısımları kurgulanmaktadır.

In silico olarak kurgulanan ve sonuçlandırılan çalışmanın in vitro ve in vivo olarak da tasarlanmaktadır.

## Hepatosellüler kanserde YAP proteini hedefli yeni bileşiklerin belirlenmesi

Sezen Güntekin Ergün<sup>1</sup>  
Suat Sarı<sup>2</sup>  
Ahmet Avcı<sup>2</sup>  
Pervin Dinçer<sup>1</sup>

### ÖZET

Karaciğer kanserinin en sık görülen formlarından biri olan hepatosellüler kanser (HSK) kansere bağlı ölümler arasında 3. sırada yer almaktadır. HSK'dan sorumlu olduğu bilinen Hippo yolağı, evrimsel olarak korunmuş ve genel olarak büyümeyi düzenleyen ve kontrol eden bir yolaktır. Bu yolağın en önemli bileşeni olan YAP proteini ise literatüre bakıldığında iyi bir ilaç hedefi olarak görülmektedir. HSK tedavisinde Sorafenib ve Regorafenib en sık kullanılan iki bileşiktir. Her iki bileşikte hücre bölünmesi ve proliferasyonu kontrol eden enzimleri bloke eden kinaz inhibitörü olarak görev yapmaktadır. Ancak her iki bileşiğinde ağır yan etkilerinin olması ve ilaca karşı direnç gelişimi yeni aday ilaçlara ihtiyacı gündeme getirmiştir.

Bu ihtiyacı karşılamak için son yıllarda gündemde olan ilaç yeniden amaçlandırma (drug repurposing) ve sanal aktivite tarama yaklaşımından yararlanılmaktadır. İlaç yeniden amaçlandırmanın en büyük avantajı klinik öncesi testleri ve olası formülasyon çalışmaları tamamlanmış olan ilaç moleküllerine yeni endikasyonlar tanımlamak için çok daha kısa süreye ve maliyet açısından daha az mali desteğe ihtiyaç duymasındır. Kapsamlı bileşik kütüphanelerinin sanal aktivite taraması ise aktif bileşiklere ulaşma şansını artırmak için uygulanan zaman ve kaynak tasarrufu sağlayan rasyonel bir ilaç tasarımı yöntemidir.

Bu yaklaşımlar kullanılarak seçilen 57 bileşiğin sitotoksitesi, HSK'da ilaç keşfi çalışmalarında sıklıkla kullanılan Mahlavu ve Huh7 hücre hatlarında, güvenilir, ucuz ve kısa zamanda sonuç veren Sulphorhadamine B deneyi yapılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlara bakıldığında, her iki hücre hattı içinde yüksek sitotoksite gösteren 4 bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin IC50 değerleri 2,73-6,7  $\mu$ M arasında bulunmuştur.

Sonuç olarak, YAP proteini üzerinden HSK tedavisi için yeni aday bileşikler denenmiş ve başarılı sonuçlar veren 4 bileşik tespit edilmiştir.

Sunulan çalışma XIII. Dr. Aysun – Ahmet Küçükkel Tıp Ödülleri kapsamında Genç Araştırmacı Proje Destek Ödülü almıştır.

Anahtar Kelimeler: Hepatosellüler kanser, YAP, ilaç yeniden amaçlandırma

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Ankara.



## Identification of novel YAP targeted compounds in hepatocellular cancer

Sezen Güntekin Ergün<sup>1</sup>  
Suat Sarı<sup>2</sup>  
Ahmet Avcı<sup>2</sup>  
Pervin Dinçer<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Hepatocellular carcinoma (HCC), one of the most common forms of liver cancer, ranks 3rd among cancer-related deaths. The Hippo-pathway, known to be responsible for HCC, is an evolutionarily conserved pathway that regulates and controls growth in general. YAP protein, which is the most important component of this pathway, seen as a good drug target. Sorafenib and Regorafenib are the two most commonly used compounds in the treatment of HCC. Both compounds act as kinase inhibitors that block enzymes that control cell division and proliferation. However, the severe side-effects of both compounds and the development of drug resistance have brought about the need for new candidate drugs. In order to meet this need, drug repurposing and virtual activity screening approaches, which have been on popular in recent years, are used. The major advantage of drug repurposing is that it requires much less time and less cost to identify new indications for drug molecules that have completed preclinical testing and possible formulation studies. Virtual activity screening of extensive compound libraries is a time- and resource-saving rational drug design method applied to increase the chance of accessing active compounds. The cytotoxicity of 57 compounds selected using these approaches was evaluated in Mahlavu and Huh7 cell-lines, which are frequently used in drug discovery studies in HCC, by performing the reliable, inexpensive and short-term Sulphorhadamine B assay. Results revealed 4 compounds with high cytotoxicity in both cell-lines. The IC<sub>50</sub> values of these compounds were found between 2.73-6.7 μM. As a result, new candidate compounds for HCC therapy tried on YAP protein revealed 4 compounds with successful results.

Keywords: Hepatocellular cancer, YAP, drug repurposing

<sup>1</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology.

<sup>2</sup>Hacettepe University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry.

## Abemasiklibin yüksek dereceli seröz over kanserinde terapötik etkisinin araştırılması

Ayten Haciefendi<sup>1</sup>  
Gamze Guney Eskiler<sup>2</sup>

### ÖZET

Yüksek dereceli seröz over kanseri kötü prognoza sahip ve genel sağkalım oranının düşük olduğu bir kanser tipidir. Siklin bağımlı kinaz 4/6 (CDK4/6) inhibitörleri ile hücre döngüsünün inhibisyonu, kanser tedavisinde umut vaat eden yeni bir terapötik yaklaşımdır. Over kanserinin gelişmesinde hücre döngüsünde G1 evresinden S evresine geçişte rol alan CDK4/6 ve CDK4/6 ile ilişkili genlerin regülasyonunda değişimler temel rol aldığından dolayı, mevcut çalışmada ilk kez bir CDK4/6 inhibitörü olarak abemasiklibin over kanserinde terapötik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Abemasiklibin OVCAR-3 hücrelerinde etkin dozu WST-1 analizi ile belirlendikten sonra, Annexin V, akridin oranj/propidyum iyodür ve mitotracker boyaması ve RT-PCR analizleri ile apoptotik etkisi değerlendirilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre, 24 saat boyunca 0.1 ve 0.5 µM abemasiklib uygulanan hücrelerde canlılık oranı sırasıyla %66.5 ve %54.3 olarak değerlendirilmiştir (p<0.05). 0.5 µM abemasiklib uygulanan hücrelerde toplam erken ve geç apoptotik hücre oranı %39.4 olarak tespit edilmiştir. Diğer yandan, abemasiklib uygulanan hücrelerde kontrole göre çok sayıda sitoplazmik vakuol ve mitokondriyel agregasyon görüntülenmiştir. Ayrıca, 0.5 µM abemasiklib uygulanan OVCAR-3 hücrelerinde *Siklin D* ve *Rb* genlerinin ekspresyon düzeyi kontrole göre karşılaştırıldığında sırasıyla 4.5- ve 3.1-kat olarak analiz edilmiştir (p<0.01).

CDK4/6 inhibitörlerinin yüksek dereceli seröz over kanserinin tedavisinde terapötik potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak abemasiklibin hücrelerde neden olduğu etkinin ve ölüm tipinin moleküler düzeyde aydınlatılmasına yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Yüksek dereceli seröz over kanseri, CDK4/6 inhibitörleri, Abemasiklib

<sup>1</sup>Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Sakarya.

<sup>2</sup>Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Sakarya.

## Investigation of the therapeutic effect of abemaciclib on high grade serous ovarian cancer

Ayten Haciefendi<sup>1</sup>  
Gamze Guney Eskiler<sup>2</sup>

### ABSTRACT

High grade serous ovarian cancer is a type of cancer with a poor prognosis and low overall survival rate. Cell cycle inhibition by cyclin-dependent kinase 4/6 (CDK4/6) inhibitors is a promising new therapeutic approach in cancer therapy. Since changes in the regulation of CDK4/6 and CDK4/6-related genes, which are involved in the transition from the G1 to the S stage in the cell cycle in the development of ovarian cancer, play a fundamental role, we aimed for the first time to determine the therapeutic effect of abemaciclib as a CDK4/6 inhibitor on ovarian cancer.

After determining the effective dose of abemaciclib in OVCAR-3 cells by WST-1 analysis, its apoptotic effect was evaluated by Annexin V, acridine orange/propidium iodide and mitotracker staining and RT-PCR analysis.

According to the findings, the viability rate of cells treated with 0.1 and 0.5  $\mu\text{M}$  abemaciclib for 24 h was 66.5% and 54.3%, respectively ( $p < 0.05$ ). The rate of total apoptotic cells was 39.4% in cells treated with 0.5  $\mu\text{M}$  abemaciclib. On the other hand, many cytoplasmic vacuoles and mitochondrial aggregation were observed in abemaciclib treated cells. Additionally, the expression level of *Cyclin D* and *Rb* genes in the cells treated with 0.5  $\mu\text{M}$  abemaciclib were analyzed as 4.5- and 3.1-fold, respectively compared to the control ( $p < 0.01$ ).

CDK4/6 inhibitors have therapeutic potential in the treatment of high grade serous ovarian cancer. However, further studies are needed to elucidate the effect of abemaciclib on cells and the type of death at the molecular level.

Keywords: High grade serous ovarian cancer, CDK4/6 inhibitors, Abemaciclib

<sup>1</sup>Sakarya University, Institute of Health Science, Department of Medical Biology, Sakarya.

<sup>2</sup>Sakarya University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Sakarya.

## SARS-CoV-2'ye karşı aşı adayı olarak spike kodlayan birinci jenerasyon insan adenoviral vektörün tasarım ve üretimi

Elif Özgecan Şahin<sup>1</sup>  
Büşra Çetin<sup>1</sup>  
Fulya Erendor<sup>1</sup>  
Bahar Akkaya<sup>1</sup>  
Ahter Dilşad Şanlıoğlu<sup>1</sup>  
Atıl Bışgin<sup>3</sup>  
Salih Şanlıoğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Gen ve Hücre Tedavisi Anabilim Dalı, Antalya.

<sup>2</sup>GenomCare Ltd., Akdeniz Üniversitesi Teknokent, Antalya.

<sup>3</sup>AGENTEM (Adana Genetik Hastalıklar Tanı ve Merkezi) & Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi, Adana.

### ÖZET

COVID-19, SARS-CoV-2'nin neden olduğu bulaşıcı ve ölümcül bir solunum yolu hastalığıdır. Salgın, Dünya Sağlık Örgütü tarafından 30 Ocak 2020'de uluslararası halk sağlığı acil durumu ve 11 Mart 2020'de pandemi ilan edildi. Aşılama, bu tür bulaşıcı hastalıklardan korunmanın en etkili yolu olduğundan, çeşitli laboratuvarlarda etkili ve güvenli aşılamanın geliştirilmesine odaklanıldı. Uygun bir antijen ve vektör tipinin seçimi aşılama sonrası etkin bir bağışıklık oluşturmak için esas olduğundan, virüsün moleküler yapısının iyi çözülmesi gerekir. Spike proteini SARS-CoV-2'nin diğer yapısal proteinlerle karşılaştırıldığında, Anjiyotensin Değişim Enzimi 2 (ACE2) reseptörleri sayesinde viral transdüksiyondaki temel rolü nedeniyle aşı geliştirmede en umut verici antijen adayı olarak değerlendirilmektedir. Viral vektör bazlı aşılama, bağışıklık hücrelerinin transdüksiyonu yoluyla doğal adjuvan özellikleri sayesinde etkili bir hücresel ve humoral bağışıklık yanıt sağlar. İyi karakterize edilmiş yapıya sahip adenoviral vektörler, gen transferi yoluyla bağışıklık yanıtı indüklemek için etkili gen taşıyıcıları olarak kullanılmaktadır. Bu bağlamda, adenoviral vektör tabanlı bir aşı adayı oluşturmak için ilk olarak Gateway klonlama teknolojisi kullanılarak spike proteini kodlayan bir adenoviral ekspresyon vektörü (pAd5Spike) oluşturuldu. Oluşturulan plazmidten protein ekspresyonunu doğrulamak amacıyla 293T hücreleri pAd5Spike ile transfekte edildikten sonra immünohistokimyasal boyama gerçekleştirildi. pAd5Spike plazmidini daha sonra SARS-CoV-2 spike proteinini (Ad5Spike) kodlayan birinci nesil adenovirüs vektörünü üretmek için kullanıldı. Üretilen vektörden protein ekspresyonunun teyit edilmesinin ardından *in vivo* etkinlik için deney hayvanlarında denemeler yapılacaktır.

Anahtar Kelimeler: SARSCoV-2, COVID-19, Adenovirüs, Aşı, Spike

## Yeniden programlama faktörlerini kodlayan kodon-optimize mini intronik plazmidler aracılığıyla insan embriyonik böbrek hücrelerinden uyarılmış pluripotent kök hücre üretimi

Gizem Şeker  
Büşra Çetin  
Ahter Dilşad Şanlıoğlu

### ÖZET

Uyarılmış pluripotent kök hücre (uPKH) teknolojisinin, birçok insan hastalığına yönelik yeni gen ve hücre tedavilerinin geliştirilmesine önemli katkıda bulunma potansiyeli mevcuttur. uPKH'ler, kendini yenileme kapasitesine ve vücuttaki herhangi bir hücre tipine dönüşme yeteneğine sahip olan, gelişimsel olarak olgunlaşmamış hücrelerdir. uPKH eldesi için, viral ve viral olmayan birçok farklı vektörden yararlanılabilmektedir. Yeniden programlama faktörlerini kodlayan kodon-optimize mini intronik plazmitler (CoMiPler), uPKH eldesinde etkin, güvenli ve uygun maliyetli olmaları dolayısıyla tercih edilen viral olmayan vektörlerdendir. uPKH oluşturma süreçleri ayrıca, optimum verimlilik için genellikle küçük moleküller ve çeşitli modifikasyonlarla güçlendirilir. Çalışmamızda, yeniden programlama faktörlerini kodlayan CoMiPler ve destekleyici molekül olarak sodyum butirat aracılığıyla HEK-293T insan embriyonik böbrek hücrelerinden uPKH eldesini ve karakterizasyonunu hedefledik. HEK-293T hücreleri, OSKM faktörlerini (Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc) ve p53'e karşı kısa hairpin RNA'yı birlikte kodlayan CoMiPler ve Lin28 ve Nanog'u birarada kodlayan CoMiPlerle Lipofektamin 3000 veya elektroporasyon aracılığıyla (110 V, tek atım) transfekte edildi. Deneysel süreçte DMEM, E7 ve E8 besiyerleri kullanıldı ve her ortam değişikliğinde sodyum butirat (10mM) eklendi. Hücrelerin 7. günde Vitronectin-XF kaplı 6 kuyucuklu petrilere aktarılmasını takiben uPKH kolonilerinin oluşmaya başladığı gözlemlendi. Yeni oluşan kolonilerin pluripotensi özellikleri Alkalın Fosfataz, Tra-1-60, Tra-1-81, Oct4, Klf4, c-Myc ve Nanog boyamaları ve embriyoid cisimcik oluşumu ile doğrulandı. Bu çalışmada, etkili ve nispeten kısa süreli bir protokolle HEK-293T hücrelerinden uPKH'ler oluşturduk. Bu protokolün, insan primer hücrelerinin de dahil olduğu birçok farklı hücre tipinde de etkili olacağına inanıyoruz.

Bu proje TÜBİTAK tarafından 218S617 proje numarasıyla desteklenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Uyarılmış pluripotent kök hücreler, CoMiP plazmidler, elektroporasyon, lipofeksiyon, sodyum butirat

Akdeniz Üniversitesi Gen ve Hücre Tedavisi Anabilim Dalı, Antalya.

## Generation of induced pluripotent stem cells from human embryonic kidney cells via codon-optimized mini-intronic plasmids encoding for the reprogramming factors

Gizem Şeker  
Büşra Çetin  
Ahter Dilşad Şanlıoğlu

### ABSTRACT

Induced pluripotent stem cells (iPSCs) have a great potential to be used in development of gene and cell therapies for many human diseases. iPSCs have self-renewal ability, are developmentally immature, and can transform into any cell type in the body. Among the various vectors used for iPSC generation, codon-optimized mini-intronic plasmids (CoMiPs) are non-viral vectors preferred for their efficiency, cost-effectiveness and safety. Improvement of efficiency in iPSC generation is targeted via use of small molecules and various modifications to the current protocols. We aimed generation and characterization of iPSCs from HEK-293T human embryonic kidney cells using CoMiP plasmids encoding for the reprogramming factors, along with sodium butyrate for optimum efficiency. HEK-293T cells were transfected with CoMiP vectors encoding for the OSKM factors (Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc) together with a short hairpin RNA against p53 and CoMiPs encoding for Lin28 and Nanog, via Lipofectamin 3000 or electroporation (110 V, single pulse). DMEM, E7, and E8 mediums were used throughout the process, and sodium butyrate (10 mM) was added at every medium change. iPSC colonies started to emerge shortly after the cells were transferred to Vitronectin-XF-coated 6 well-plates. Pluripotency potentials of the newly emerged colonies were confirmed via alkaline phosphatase, Tra-1-60, Tra-1-81, Oct4, Klf4, c-Myc, and Nanog stainings and embryoid body formation. In this study, we obtained iPSCs from HEK-293T cells via an efficient and rather short-duration protocol, which we believe will be effective in many other cell types including primary human cells (TUBITAK 218S617).

The Department of Gene and Cell Therapy, Akdeniz University, Faculty of Medicine, Antalya.

Keywords: induced pluripotent stem cells, CoMiP plasmids, electroporation, lipofection, sodium butyrate

## Hematolojik Malignansilerle Y Kromozom Kaybı Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

Tuğba Karaman Mercan<sup>1</sup>  
Özden Altiok Clark<sup>2</sup>  
Utku İltar<sup>3</sup>  
Orhan Kemal Yücel<sup>3</sup>  
Sibel Berker Karaüzüm<sup>1</sup>

### ÖZET

İleri yaştaki erkeklerin hematopoietik hücrelerinde Y kromozomu kaybı sık görülmektedir. Uzun yıllar boyunca Y kromozom kaybının(LOY) fenotipe etkisinin olmadığı ve normal yaşlanma süreciyle ortaya çıktığı görüşü kabul edilmiştir. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, kan hücrelerindeki Y kromozom kaybının çeşitli organlarda meydana gelen hastalık süreçleriyle ilgili olabileceğini göstermektedir. Günümüzde LOY, hematolojik malignitelerden Myelodisplastik sendromda risk gruplandırmasında yer alırken, diğer alt grupları için net bir bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada, hematolojik malignansi tanısı alan hastalarda gözlenen LOY yaşlanmaya bağlı mı yoksa hematolojik maligniteye eşlik eden bir kromozomal mutasyon mu olduğunun gösterilmesi amaçlanmıştır.

Retrospektif olarak 2001-2020 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji kliniğinden hematolojik malignansi tanısıyla Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'ne gönderilen 198 erkek hastanın kemik iliği örneklerinden elde edilen sitogenetik sonuçların arşiv verileri değerlendirilmiştir. Hastalar hematolojik malignite tanılarına göre; akut lösemiler, miyelodisplastik sendrom/kronik miyeloproliferatif neoplazmlar, miyeloproliferatif neoplazmlar, lenfomalar ve multiple miyelom olmak üzere 5 grupta toplanmıştır.

Hastaların en büyüğü 85, en küçüğü 6 yaşında olup, yaş ortalaması 67,9'dur. Hastaların yaş ortalaması 67,9 olup en büyük yaş 85, en küçük yaş 6'dır. Hasta gruplarında sırasıyla toplam hasta sayısı 47, 44, 8, 42,57; yaş ortalamaları 60.9, 70.9, 69.75, 67.8, 71.2 ve LOY yüzdesi 43.7, 28.2, 35.1, 27.7, 34.8'dir. Multiple miyelomlu 3 hastada LOY %100 olarak bulunurken, diğer hastaların karyotipinde mozaik formda ve diğer kromozom anomalilerine eşlik eden LOY gözlenmiştir. İstatiksel olarak alt gruplardan sadece miyeloproliferatif neoplazmlarda, Y kromozom kaybı yüzdesinin ileri yaş ile arasındaki ilişki anlamlı olarak bulunmuştur.

Çalışmamızdaki verilere göre; izole LOY olan bireylerde bu ilişkiye bakılmasının daha belirleyici olabileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: kan hücreleri, hematolojik malignite, Y kromozomu kaybı

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Antalya, Türkiye.

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik, Antalya, Türkiye.

<sup>3</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Antalya, Türkiye.

## Evaluation Of The Relationship Between Hematologic Malignancies And Loss Of Y Chromosome

Tuğba Karaman Mercan<sup>1</sup>  
Özden Altıok Clark<sup>2</sup>  
Utku İltar<sup>3</sup>  
Orhan Kemal Yücel<sup>3</sup>  
Sibel Berker Karaüzüm<sup>1</sup>

### ABSTRACT

The loss of chromosome Y (LOY) is frequently in hematopoietic cells of older men. For many years, it has been accepted that LOY related to normal aging process. However, some studies show that LOY in blood cells may be related to disease processes. Nowadays, LOY is included in risk grouping of Myelodysplastic syndrome, which is one of the hematological malignancies, but there is no clear information for other subgroups. This study, we aimed to show whether LOY of patients diagnosed with hematological malignancy is due to aging or is a chromosomal mutation accompanying hematological malignancy.

A retrospective review of cytogenetic reports of bone marrow samples of 198 male patients ascertained from 2001 to 2020 was performed. Patients referred to hematologic clinic, genetic diseases and diagnosis center of Akdeniz University. Patients grouped into as acute leukemias, myelodysplastic syndrome/chronic myeloproliferative neoplasms, myeloproliferative neoplasms (MPN), lymphomas and multiple myeloma (MM).

The number of patients was 47, 44, 8, 42.57, mean age was 60.9, 70.9, 69.75, 67.8, 71.2 and percentage of LOY was 43.7, 28.2, 35.1, 27.7, 34.8, respectively. While LOY was found to be 100% in 3 patients with MM, LOY was observed in mosaic form and accompanying other chromosomal anomalies in karyotype of other patients. There was a statistically significant relationship between percentage of LOY and advanced age in patients with MPN.

According to our data; we are suggesting that looking at this relationship in patients with isolated LOY could be more decisive.

Keywords: blood cells, hematological malignancy, loss of chromosome Y

<sup>1</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Antalya, Turkey.

<sup>2</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Antalya, Turkey.

<sup>3</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Antalya, Turkey.



## İnsan Holo-TFIID Kompleksinde TAF2'nin Yapısal ve Fonksiyonel Karakterizasyonu ve Nörodejeneratif Hastalıklar Üzerindeki Etkisi

Duygu Sarı Ak<sup>1</sup>  
Imre Berger<sup>2</sup>

### ÖZET

Ökaryotik transkripsiyon, kompleksler halinde bir araya getirilmiş çok sayıda protein tarafından katalize edilir. Ön başlatma kompleksi (PIC), RNA polimeraz II (Pol II) ve genel transkripsiyon faktörleri (GTF'ler)'nden oluşmaktadır. En büyük GTF, insan TFIID'si megadalton boyutdadır,

TATA kutusu bağlayıcı proteinden (TBP) ve bir çok önemli fonksiyona sahip TBP ile ilişkili faktörler (TAF'ler)'den oluşan 20 alt birimden oluşmaktadır. Çok önemli fonksiyonlara sahip olmasına rağmen, TFIID mimarisine yapısal anlayış, kısmen hücre içi TFIID'nin azlığı ve heterojenliği nedeniyle bugüne kadar sınırlı kalmıştır. TAF-TAF etkileşimleri ve TFIID'nin oluşum mekanizması bu sebepten tam olarak aydınlatılamamıştır. TAF2, insan TFIID'sinin en büyük ikinci alt birimidir. Çekirdek promotöre TFIID'nin bağlanmasını stabilize eder ve

başlatıcıya bağımlı transkripsiyona katkıda bulunur. TAF2 üzerinde bulunan 2 spesifik mutasyonun zeka geriliği, mikrosefali gibi nörolojik hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir. Çekirdek içindeki TFIID'den ayrı olarak 'gizli hayatı' vardır ve henüz fonksiyonu bilinmemektedir. TAF2'nin spesifik olarak heterodimerik TFIID alt kompleksi alt birimleri TAF8 ve TAF10 ile etkileşime girer. Bu proteinler tekil ve subkompleks olarak ökaryotik bakülovirüs bazlı multi-protein ekspresyon sistemi Multi-Bac ile üretilmiş ve karakterize edilmiştir. Bu etkileşimin TAF2'nin TFIID yapısına katılım sürecinde çok önemli rolü olduğunu keşfettik. TAF2 bu projenin ana odağıdır, yapısal ve biyokimyasal fonksiyonlarının keşfi ile TFIID içerisindeki rolünü anlamak ve nörodejenaratif hastalıklardaki mekanizmasını çözümlmek hedeflemektedir.

Bu proje ANR, Wellcome Trust tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: TFIID, TAF2, Multibac Sistem, Ökaryotik Ekspresyon Sistemi

<sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Uluslararası Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Bristol Üniversitesi, Biyokimya Fakültesi, Bristol, İngiltere.

## Structural and Functional Characterization of TAF2 In Human Holo-TFIID Complex and Its Impact on Neurodegenerative Diseases

Duygu Sarı Ak<sup>1</sup>  
Imre Berger<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Eukaryotic transcription is catalyzed by a plethora of proteins assembled in complexes. The pre-initiation complex (PIC) comprises RNA polymerase II (Pol II) and the general transcription factors (GTFs). The largest GTF, human TFIID is a megadalton-sized complex comprising 20 subunits made up of the TATA box binding protein (TBP) and the TBP associated factors (TAFs), with a multitude of functions. Despite its pivotal role, structural insight into TFIID architecture has been limited to date, partly due to the paucity and heterogeneity of TFIID in the cell, which limits our current understanding of TAF-TAF interactions and the assembly mechanism of TFIID. TAF2 is the second largest subunit of human TFIID. It stabilizes TFIID binding to core promoter, and contributes to initiator-dependent transcription. There are 2 specific mutations found on TAF2 correlate with neurological diseases such as intellectual disability, microcephaly. It has a 'secret life' apart from TFIID in the nucleus, whose function is not known yet and it is recently found that in our laboratory, and we discovered that TAF2 interacts specifically with the heterodimeric TFIID subcomplex formed by TAF8 and TAF10 by producing alone and as a complex via eukaryotic baculovirus expression system, Multi-Bac. We discovered that this interaction is crucial for TAF2 incorporation into TFIID. TAF2 is the focus of this project whose aim is to use structural biology and its biochemical functions to further understand the role of this elusive subunit within holo-TFIID complex and neurodegenerative diseases.

Keywords: TFIID, TAF2, MultiBac System, Eukaryotic Expression System

<sup>1</sup>University of Health Sciences, Hamidiye International School of Medicine, Department of Medical Biology.

<sup>2</sup>University of Bristol, School of Biochemistry, Bristol, England.

# Kainik Asite Bağlı Hüresel Eksitotoksisite Modelinde HSF1 (Heat Shock Factor 1) Ribonükleoprotein Kompleksinin Aktivasyonunun Araştırılması

Ayşenur Akkulak  
Emre Yeşilören  
Abdullah Yalçın  
Gizem Dönmez Yalçın

## ÖZET

Tüm diğer stres durumlarında aktive olan ısı şoku yolağının, bir stres yaratacak olan eksitotoksisitede aktive olup olmadığını ve birçok nöronal injüri durumunda koruyucu olan ısı şoku maruziyetinin (heat preconditioning), glia ve nöronal hücrelerde, eksitotoksisite için koruyucu olup olmadığını ve mekanizmasını araştırmayı amaçladık.

HSF1 (Heat Shock Factor 1-Isı Şoku Faktörü 1) ribonükleoprotein kompleksi, tüm nörodejeneratif hastalıklarda ve yaşlanan beyinde oluşan protein agregatlarını yok eden en önemli mekanizmadır ve majör regülatördür. HSF1'in regüle ettiği ısı şoku cevabı (HSR-Heat Shock Response), ısı şoku proteinlerinin (HSP-Heat Shock Proteins) aktivasyonu ile gerçekleşir. HSF1 aktivasyonu, HSR1 non-coding RNA, eEF1a faktörü ve HSF1 proteinini içeren bir kompleks ile gerçekleşmektedir (Shamovsky et al. 2006). Stres durumlarında, bu kompleks trimerize olmakta, HSF1 proteinini aktive ederek, HSF1'in ısı şoku proteinlerinin (HSP70, HSP90, HSP27) promotelerına bağlanmasını, bu proteinlerin transkripsiyonunu ve ekspresyonunu sağlamaktadır.

Eksitotoksisite, iki sinir hücresi arasındaki sinaps boşluğunda glutamat birikmesi sonucu oluşur. Fazla glutamat çoğunlukla perisinaptik astrosit üzerindeki Glutamat Transporter 1 (GLT-1) tarafından alınır. Glutamat, hücre içine alındıktan sonra glutamat dehidrogenaz (GDH) ya da Glutamin Sintetaz (GS) tarafından metabolize edilir.

Tüm diğer stres durumlarında aktive olan ısı şoku yolağının, glia ve nöronal hücrelerde, eksitotoksisite durumunda, aktive olup olmadığı ve mekanizması bilinmemektedir. Çalışmamızda IHA ve nöronal hücrelerde eksitotoksisite modeli kainik asit ile oluşturulmuş ve HSF1 kompleksinin aktivasyonu araştırılmıştır. MTT assay, glutamat assay gibi metotlarla eksitotoksisite oluşumu analiz edilmiş western blot ve immunopresipitasyon ile HSF1 aktivasyonu ve HSP proteinlerinin ifadesi araştırılmıştır. Nörodejenerasyon için ilaç geliştirmede, eksitotoksisite yollarına ek olarak, ısı şoku cevabı yolları, HSF1 kompleksi üyeleri ve modifikasyonları ilaç hedefi olarak araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: ısı şoku proteini, eksitotoksisite, ısı şoku cevabı, glutamat, kainik asit

Adnan Menderes Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın.

## The investigation of the activation of HSF1 (Heat Shock Factor 1) ribonucleoprotein complex in kainic acid-induced cellular excitotoxicity model

Ayşenur Akkulak  
Emre Yeşilören  
Abdullah Yalçın  
Gizem Dönmez Yalçın

Adnan Menderes University, Department of Medical  
Biology, Aydın.

### ABSTRACT

We aimed to investigate whether the heat shock pathway, which is activated in all other stress situations, is activated in excitotoxicity that will create a stress, and whether heat preconditioning, which is protective in many neuronal injuries, is protective for excitotoxicity in glia and neuronal cells and its mechanism.

HSF1 (Heat Shock Factor 1-Heat Shock Factor 1) ribonucleoprotein complex is the most important mechanism and major regulator that destroys protein aggregates formed in all neurodegenerative diseases and aging brain. The heat shock response (HSR-Heat Shock Response) regulated by HSF1 occurs with the activation of heat shock proteins (HSP-Heat Shock Proteins). HSF1 activation occurs with a complex containing HSR1 non-coding RNA, eEF1a factor and HSF1 protein (Shamovsky et al. 2006). Under stress conditions, this complex trimerizes and activates the HSF1 protein, enabling HSF1 to bind to the promoters of heat shock proteins (HSP70, HSP90, HSP27) and for the transcription and expression of these proteins.

Excitotoxicity occurs as a result of accumulation of glutamate in the synapse gap between two nerve cells. In our study, an excitotoxicity model in IHA and neuronal cells was created with kainic acid and the activation of the HSF1 complex was investigated. Excitotoxicity was established and then measured with MTT and glutamate assay. Additionally, HSF1 activation and the expression of HSP proteins were analyzed by western blot and immunoprecipitation. In drug development for neurodegeneration, in addition to excitotoxicity pathways, heat shock response pathways, members of the HSF1 complex and their modifications should be investigated as drug targets.

Keywords: heat shock protein, excitotoxicity, heat shock response, glutamate, kainic acid

## PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağının düzenlenmesinde potansiyel olarak rol oynayan DNA metilasyonu ve mikroRNA'ların analizi

Ayşenur Şen  
Orçun Avşar

### ÖZET

PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağı, birçok hücrel fonksiyonun düzenlenmesinde görev alır ve düzensizlikleri bazı patolojik durumların ortaya çıkmasına neden olur. Çalışmamızın amacı, PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağının hiperaktivitesi sonucu ortaya çıkan kanser gibi patolojik durumların önlenmesinde, çeşitli epigenetik mekanizmaların yeni bir tedavi stratejisi olarak kullanılma potansiyelinin belirlenmesidir. Çalışmamızda; AKT1, AKT2, AKT3, PIK3CA, PIK3CB, PIK3CD, PIK3CG, PIK3C3, MTOR, RAPTOR ve RİCTOR genleriyle ilişkili CpG adacıklarının analizi için MethPrimer, Sequence Manipulation Suite CpG Islands ve Primer Design and Search Tool programları kullanıldı. Hedef genleri düzenleme yeteneğine sahip miRNA'ları belirlemek için DIANA web aracı kullanıldı. miRNA-hedef zenginleştirme analizinde ise Mienturnet programı kullanıldı. PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağı ile ilişkili genlerin çeşitli miRNA'lar tarafından düzenlendiği belirlendi (AKT1-73 miRNA; AKT2-75 miRNA; AKT3-81 miRNA; PIK3CA-36 miRNA; PIK3CB-51 miRNA; PIK3CD-18 miRNA; PIK3CG-11 miRNA; PIK3C3-38 miRNA; MTOR-36 miRNA; RAPTOR-20 miRNA ve RİCTOR-121 miRNA). Mienturnet programı ile p-değerleri (FDR) ve her kategoride zenginleştirilmiş hedeflerin sayısı belirlendi. PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağı ile ilişkili genlerin aşırı ekspresyonunun, bazı epigenetik mekanizmalarla düzenlenebileceği gösterilmiştir. Elde edilen verilerin doğrulanması için ileri in vitro ve in vivo çalışmalar gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: AKT, CpG, miRNA, mTOR, PI3K

Hitit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler  
Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Çorum.

## Analysis of DNA methylation and microRNAs potentially implicated in the regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway

Ayşenur Şen  
Orçun Avşar

### ABSTRACT

The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway is involved in the regulation of many cellular functions, and its dysregulation causes some pathological conditions. The aim of our study is to determine the potential of using various epigenetic mechanisms as a new treatment strategy in the prevention of pathological conditions such as cancer resulting from hyperactivity of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. In our study, MethPrimer, Sequence Manipulation Suite CpG Islands and Primer Design and Searh Tool programs were used for the analysis of CpG islands associated with AKT1, AKT2, AKT3, PIK3CA, PIK3CB, PIK3CD, PIK3CG, PIK3C3, MTOR, RAPTOR and RICTOR genes. The DIANA web tool was used to determine the miRNAs which have the potential to regulate target genes. Mienturnet program was used for miRNA-target enrichment analysis. The genes associated with the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway were determined to be regulated by various miRNAs (AKT1-73 miRNAs; AKT2-75 miRNAs; AKT3-81 miRNAs; PIK3CA-36 miRNAs; PIK3CB-51 miRNAs; PIK3CD-18 miRNAs; PIK3CG-11 miRNAs; PIK3C3-38 miRNAs; MTOR-36 miRNAs; RAPTOR-20 miRNAs and RICTOR-121 miRNAs). The p-values (FDR) and the number of the enriched targets in each category were determined by the use of the Mienturnet program. It has been demonstrated that overexpression of the genes associated with the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway can be modulated by some epigenetic mechanisms. Further in vitro and in vivo studies are needed to confirm the findings of the present study.

Keywords: AKT, CpG, miRNA, mTOR, PI3K

Hitit University, Institute of Science and Technology,  
Department of Molecular Biology and Genetics, Çorum.

## Uc.112'nin düzenlenmesinde tümör baskılayıcı microRNA-15a'nın olası rolü

İbrahim Bozgeyik

### ÖZET

Giderek artan kanıtlar, uzun kodlamayan RNA'ların (lncRNA) gelişimde önemli işlevlerinin olduğunu ve kanser, Alzheimer hastalığı ve kalp hastalıkları gibi birçok sağlık problemi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Transkripte edilmiş ultra-korunmuş bölgeler (T-UCR'ler), insan, fare ve sıçan genomlarının ortolog bölgeleri boyunca iyi korunan (% 100) yeni bir kodlamayan RNA ailesidir. T-UCR'ler hem intergenik hem de intragenik bölgelerde bulunurlar ve yaygın bir şekilde eksprese edilirler. Fonksiyonel analizler, T-UCR'lerin, transkripsiyon faktörlerini ve gelişim ile ilişkili genleri kodladığı tahmin edilen bölgelerde kümeler halinde dağıldığını göstermiştir. Bu ultra korunmuş bölgelerin DNA bağlanması, RNA işlenmesi ve transkripsiyonda kritik roller oynadığı ortaya konulmuştur. Ancak, bu ultra korunmuş RNA'lar hakkında sınırlı sayıda çalışma mevcuttur ve biyolojik fonksiyonları tam olarak anlayamamıştır. Halihazırda var olan kanıtlar T-UCR'lerin çeşitli genetik ve epigenetik düzenleyici mekanizmalar yoluyla insan kanserlerinin patobiyolojisinde önemli roller üstlendiğini göstermektedir. Bu çalışmada, insan akciğer kanser hücre modelinde uc.112'nin düzenlenmesinde miR-15a'nın olası rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

MiR-15a'nın overeksprese edilmesi amacıyla A549 akciğer kanser hücreleri sentetik miRNA mimikleri ile transfekte edilmiştir ve ekspresyon analizleri Real-time PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Mimik uygulamaları sonucunda miR-15a anlamlı olarak overeksprese edilmiştir. Ayrıca, miR-15a'nın aşırı ekspresyonunun, uc.112'nin ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır. Kat değişim analizleri mimik transfeksiyonu sonrasında uc.112 ekspresyonunun yaklaşık 2,5 kat azaldığını göstermiştir.

Sonuç olarak bu bulgular akciğer kanser hücrelerinde uc.112 aktivitesinin tümör baskılayıcı miR-15a tarafından düzenlenebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kanser, miR-15a, uzun kodlamayan RNA, uc.112, transkripte edilmiş ultra-korunmuş bölgeler

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Adıyaman Üniversitesi, Adıyaman, Türkiye.

## Possible role of tumor suppressor microRNA-15a in the regulation of uc.112

İbrahim Bozgeyik

### ABSTRACT

Increasing evidence have shown that long non-coding RNAs (lncRNAs) have important functions in development and are associated with many health problems such as cancer, Alzheimer's disease, and heart disease. Transcribed ultra-conserved regions (T-UCRs) are a new family of non-coding RNAs that are absolutely conserved (100%) throughout orthologous regions of the human, mouse, and rat genomes. T-UCRs are found in both intergenic and intragenic regions and are ubiquitously expressed. Functional analyzes have shown that T-UCRs are distributed in clusters in regions predicted to encode transcription factors and development-related genes. T-UCRs have been shown to play critical roles in DNA binding, RNA processing, and transcription. However, there are limited studies on these ultra-conserved RNAs and their biological functions are not fully understood. Existing evidence indicates that T-UCRs play important roles in the pathobiology of human cancers through a variety of genetic and epigenetic regulatory mechanisms. The aim of this study was to investigate the possible role of miR-15a in the regulation of uc.112 in a human lung cancer cell model.

To overexpress miR-15a, A549 lung cancer cells were transfected with synthetic miRNA mimics and expression analyzes were performed by Real-time PCR method.

MiR-15a was found to be significantly overexpressed after mimic applications. Moreover, overexpression of miR-15a was found to significantly reduce the expression of uc.112. Fold change analyzes showed that uc.112 expression decreased approximately 2.5-fold after mimic transfections.

In conclusion, these findings demonstrate that uc.112 activity can be regulated by miR-15a in lung cancer cells.

Keywords: Cancer, miR-15a, long non-coding RNA, uc.112, transcribed ultra-conserved regions

Department of Medical Biology, Faculty of Medicine,  
Adiyaman University, Adiyaman, Turkey.



## Wnt/ $\beta$ -katenin yolak inhibitörü niklozamid ile kemoterapötik ajan kombinasyonlarının prostat kanseri hücrelerinde sitotoksik ve apoptotik etkilerinin değerlendirilmesi

Elif Ertürk

## ÖZET

Wnt/ $\beta$ -katenin yaşam yolağı inhibitörü olan Niklozamid FDA tarafından onaylanmış antihelmintik bir ilaçtır. Niklozamid'in prostat kanseri de dahil olmak üzere birçok kanser türünde hücre çoğalmasını azalttığı, apoptozisi uyardığı ve tümör gelişimini durdurduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada, Niklozamid'in kemoterapötik ajanlar (etoposid, dozetaksel ve mitoksantron) ile kombinasyonlarının insan prostat kanseri hücre soyları (DU145, LNCaP) üzerinde sitotoksik/apoptotik etki ve mekanizmaları araştırıldı.

Bu doğrultuda, sitotoksik etkinin belirlenmesinde SRB ve ATP hücre canlılık testleri kullanıldı. Hücre ölümü modları (apoptoz/nekroz), morfolojik olarak ve floresan boyama (Hoechst 33342, Calsein ve Propidium İyodür) kullanılarak belirlendi.

Elde edilen bulgulara göre, Niklozamid'in kemoterapötik ajanlar ile kombinasyonlarının DU145 ve LNCaP hücrelerinde doza ve zamana bağlı olarak bir azalma gösterdiği saptandı. İlaveten, Niklozamid'in mitoksantron ile kombinasyonunun DU145 ve LNCaP hücrelerinde sitotoksik aktiviteyi arttırdığı ve hücreleri apoptoza yönlendirdiği tespit edildi.

Sonuç olarak, Niklozamid ile kombinasyon tedavisinin prostat kanserinde farklı yolları hedef alarak etkin bir tedavi seçeneği olarak kullanılabilmesi ve bu doğrultuda ileri fonksiyonel analizlerin yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Niklozamid, Kemoterapötik ajan, Prostat kanseri, Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolağı

Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Bursa.

## Evaluation of the cytotoxic and apoptotic effects of combinations of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway inhibitor niclosamide and chemotherapeutic agent in prostate cancer cells

Elif Ertürk

### ABSTRACT

Niclosamide, a Wnt/ $\beta$ -catenin life pathway inhibitor, is an anthelmintic drug approved by the FDA. It has been reported that niclosamide reduces cell proliferation, stimulates apoptosis and stops tumor development in many types of cancer, including prostate cancer. In this study, the cytotoxic/apoptotic effects and mechanisms of combinations of niclosamide with chemotherapeutic agents (etoposide, docetaxel and mitoxantrone) on human prostate cancer cell lines (DU145, LNCaP) were investigated.

Accordingly, SRB and ATP cell viability tests were used to determine the cytotoxic effect. Cell death modes (apoptosis/necrosis) were determined morphologically and using fluorescent staining (Hoechst 33342, Calsein and Propidium Iodide).

According to the findings, it was determined that the combinations of niclosamide with chemotherapeutic agents showed a dose- and time-dependent decrease in DU145 and LNCaP cells. In addition, it was determined that the combination of niclosamide with mitoxantrone increased the cytotoxic activity in DU145 and LNCaP cells and led the cells to apoptosis.

As a result, it was concluded that combination therapy with niclosamide can be used as an effective treatment option by targeting different pathways in prostate cancer, and further functional analyzes should be performed in this direction.

Keywords: Niclosamide, Chemotherapeutic agent, Prostate cancer, Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

Bursa Uludağ University, Vocational School of Health Services, Bursa.

## Beyin küçük damar hastalığında manyetik rezonans görüntüleme ve endotel disfonksiyonunu gösteren serum belirteçlerinin karşılaştırılması

Uygur Tanrıverdi<sup>1</sup>  
 Çiğdem Bayram Gürel<sup>2</sup>  
 Serdar Arslan<sup>3</sup>  
 Gülsel Ayaz<sup>2</sup>  
 Turgut Ulutin<sup>2</sup>  
 Osman Kızılkılıç<sup>3</sup>  
 Birsen İnce<sup>3</sup>

### ÖZET

Serebral küçük damar hastalığı (KDH), beyinde yer alan küçük arter, arteriol, venül ve kapiller damar yatağının farklı etyolojik nedenlerle etkilendiği patolojik süreçleri ve bu süreçlere bağlı radyolojik ve klinik bulguları ifade eder. Hastalık patogeneğinde önemli bir rol oynayan endotel disfonksiyonu (ED), periferik kandan elde edilen çeşitli belirteçler ile gösterilebilmektedir. Bu çalışmamızda, KDH için ED'nin farklı belirteçler ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

KDH tanılı hastaların kranial manyetik rezonans görüntülemeleri ile beyaz cevher hiperintensitesi (BCH, Fazekas skalası), genişlemiş perivasküler boşlukları (GPVB, 0=yok, 1= <10, 2= 11-20, 3= 21-40 ve 4= >40; sentrum semiovale ve bazal ganglia), lakün varlığı ve mikrokanama varlığı değerlendirilmiştir. Hasta serumlarından, asimetrik dimetilarginin (ADMA), plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1), interlökin-6 (IL6), interseleüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri değerlendirilmiştir. Radyolojik belirteçler ile serum belirteçleri Mann-Whitney U test ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmaya 73 hasta dahil edilmiştir. BCH, mikrokanama ve lakün varlığı, ED belirteçleri ile ilişkili bulunmamıştır. Bazal gangliyon düzeyindeki GPVB tutulumu hafif olan olgular ile ağır olgular karşılaştırıldığında daha yüksek ADMA düzeyleri elde edilmiştir (medyan [min-max]; 457,77 [121,56-645,33]; 563,88 [229,48-671,06]; p<0,05). Regresyon analizi ile diğer risk faktörlerine göre kontrol edildiğinde bu istatistiksel anlamlılığın bağımsız bir şekilde devam ettiği görülmüştür (OR [%95CI]; 1,007 [1,002- 1,012] p=0,004).

ED belirteçleri, KDH'nin radyolojik tutulum türüne ve lokalizasyonuna göre farklılık göstermektedir. Bulgularımız, sentrum semiovale ve bazal gangliyon lokalizasyonlarında farklı KDH tiplerinin sorumlu olduğu hipotezini desteklemektedir. Dinamik ve bütüncül bir şekilde ele alınması gereken küçük damar hastalığının olası tedavi seçenekleri için bu özellikler göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: küçük damar hastalığı, ADMA, PAI-1, IL-6, CRP

<sup>1</sup>Istanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı.

<sup>2</sup>Istanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

<sup>3</sup>Istanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı.

## Comparison of magnetic resonance imaging and serum biomarkers of endothelial dysfunction in cerebral small vessel disease

Uyur Tanrıverdi<sup>1</sup>  
Çiğdem Bayram Gürel<sup>2</sup>  
Serdar Arslan<sup>3</sup>  
Gülşel Ayaz<sup>2</sup>  
Turgut Ulutin<sup>2</sup>  
Osman Kızılkılıç<sup>3</sup>  
Birsen İnce<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Cerebral small vessel disease (SVD) refers to the pathological processes that affect the small arteries, arterioles, venules, and capillary vessels in the brain by various etiologies. Endothelial dysfunction (ED), which plays an important role in the pathogenesis of the disease, can be demonstrated by various biomarkers from peripheral blood. This study aimed to investigate the relationship of ED and radiological features of SVD.

White matter hyperintensity (WMH, Fazekas scale), enlarged perivascular spaces (EPVS, 0=none, 1= <10, 2= 11-20, 3= 21-40 ve 4= >40; centrum semiovale and basal ganglia), lacunae, microbleeds were evaluated. Serum levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), interleukin-6 (IL-6), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and C-reactive protein (CRP) were assessed from peripheral blood. Imaging findings and biomarkers of ED compared with Mann-Whitney U test.

A total of 73 patients were included. The presence of microbleeds, lacunes, and the severity of WMH were not associated with biomarkers of ED. The patients with severe EPVS in the basal ganglia had higher ADMA levels (median [min-max]; 457.77 [121.56-645.33], 563.88 [229.48-671.06],  $p<0.05$ ). In regression analysis with controlling for other risk factors, ADMA was independently associated with EPVS (OR [95%CI], 1.007 [1.002- 1.012]  $p=0.004$ ).

Biomarkers of ED differ in SVD according to localization and type of the radiological involvement. Our findings support the hypothesis that different types of SVD are involved in the centrum semiovale and the basal ganglia. SVD should be dealt with dynamically and holistically. These features could be considered for future treatment options.

Keywords: small vessel disease, ADMA, PAI-1, IL-6, CRP

<sup>1</sup>Istanbul University - Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Neurology.

<sup>2</sup>Istanbul University - Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology.

<sup>3</sup>Istanbul University - Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Radiology.

## Vajinal mikrobiyota ile insan papilloma virüsü arasındaki ilişkisinin metagenomik analiz ile belirlenmesi

Samet Uçak

### ÖZET

İnsan vajinal mikrobiyotası, bakteriyel vajinoz, maya ve idrar yolu enfeksiyonları ile cinsel yolla bulaşan ürogenital hastalıklardan korunmada önemli rol oynamaktadır. Yaşamları boyunca, kadınların yaklaşık %70'i insan papilloma virüsü (HPV) genital enfeksiyonuna maruz kalmaktadır. Ayrıca, HPV enfeksiyonu, yüksek dereceli servikal lezyonların ve serviks kanserinin birincil nedeni olarak kabul edilmektedir. Çalışmada vajinal mikrobiyota ile HPV enfeksiyonu arasındaki ilişkinin Yeni Nesil Dizileme (NGS) yöntemi ve metagenomik analiz kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

20 HPV (+) 21 HPV (-) klinik tanısı almış 41 Türk hastadan alınan sürüntü örneklerinden DNA izolasyonu QIAamp DNA Micro Kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzole edilen toplam DNA'lardan bakteriyel 16S rRNA bölgesi PZR ile çoğaltılarak hazırlanan kütüphanenin dizi analizleri NGS (Illumina) ile gerçekleştirilmiştir. Vajinal mikrobiyota ile HPV enfeksiyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığını belirlemek için nonparametrik test olan Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney testi kullanılmış ve Windows için SPSS sürüm 22.0'da gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada 41 vajinal örneğin mikrobiyotası metagenomik analiz ile incelendiğinde, şube düzeyinde Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria, Candidatus Saccharibacteria ve Proteobacteria dominant bulunurken, cins düzeyinde baskın olarak Lactobacillus, Prevotella ve Gardnerella tespit edilmiştir. Ayrıca 20 HPV (+) 21 HPV (-) klinik tanısı almış örneklerin cins düzeyinde bakteriyel kompozisyonu incelendiğinde en çok Olsenella, Streptobacillus, Atopobium, Sneathia, Saccharofermentans, Saccharibacteria genera incertae sedis, Bifidobacterium, Dialister, Sporomusa, Anaeroglobus, Enterorhabdus, Veillonella, Parvimonas, Lactococcus, Peptoniphilus, Ureaplasma, Megaspheera, Fusobacterium, Orientia, Mycoplasma, Streptococcus, Orenia, Gordonibacter, Desulfosporosinus, Aerococcus, Trueperella ve Treponema tespit edilmiştir.

Çalışmada vajinal mikrobiyota ile HPV enfeksiyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $P>0.05$ ).

Anahtar Kelimeler: İnsan papilloma virüsü, vajinal mikrobiyota, yeni nesil DNA dizileme

İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul.

## Determination of the relationship between vaginal microbiota and human papilloma virus by metagenomic analysis

Samet Uçak

### ABSTRACT

The human vaginal microbiota plays an important role in the prevention of bacterial vaginosis, yeast and urinary tract infections and sexually transmitted urogenital diseases. During their lifetime, approximately 70% of women are exposed to human papillomavirus (HPV) genital infection. In addition, HPV infection is recognized as the primary cause of high-grade cervical lesions and cervical cancer. In this study, it was aimed to determine the relationship between vaginal microbiota and HPV infection using Next Generation Sequencing (NGS) method and metagenomic analysis.

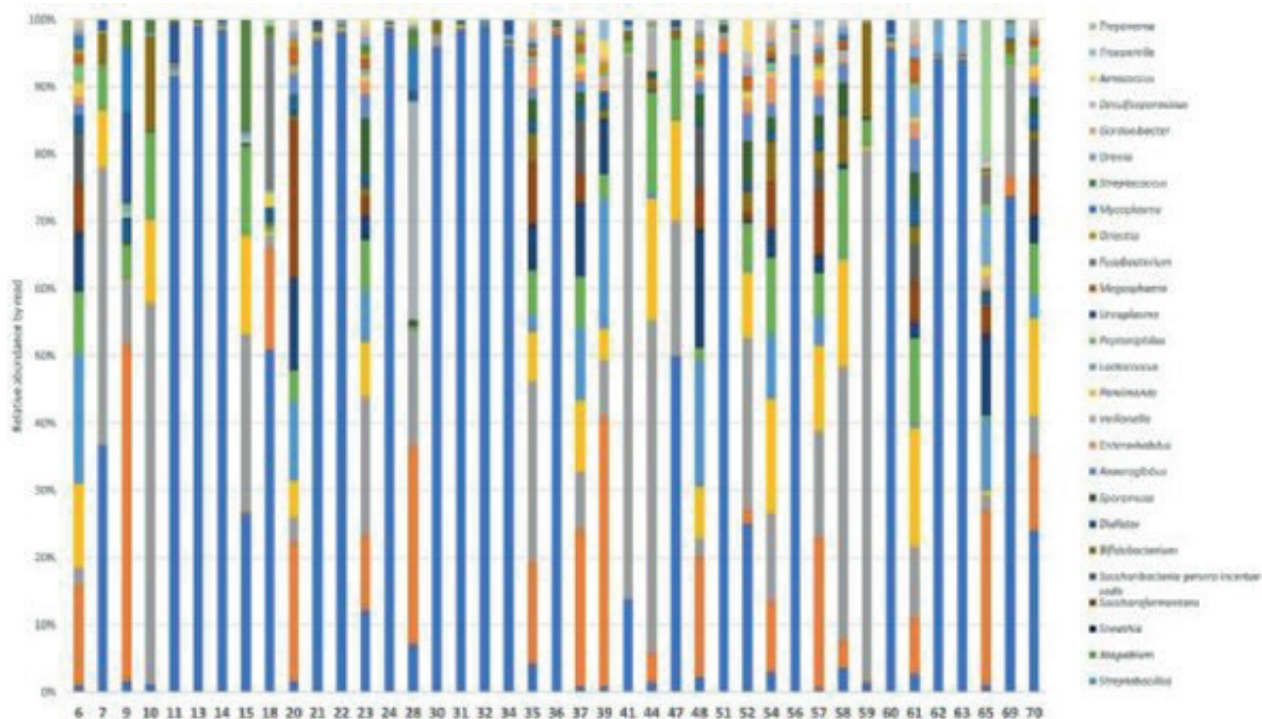
DNA isolation from swab samples taken from 41 Turkish patients with a clinical diagnosis of 20 HPV(+) 21 HPV(-) was performed using the QIAampDNAMicroKit. Sequence analyzes of the library prepared by PCR amplification of the bacterial 16S rRNA region from the isolated total DNAs were performed with NGS(Illumina). The Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test, which is a nonparametric test, was used to determine whether there is a statistically significant difference between vaginal microbiota and HPV infection. Statistical tests were performed on SPSS version 22.0 for Windows.

In this study, when the microbiota of 41 vaginal samples were analyzed by metagenomic analysis, Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria, Candidatus Saccharibacteria and Proteobacteria were dominant at the phylum level, while Lactobacillus, Prevotella and Gardnerella were dominant at the genus level. When the bacterial composition of 20 HPV(+) 21 HPV(-) clinically diagnosed samples was examined at the genus level, Olsenella, Streptobacillus, Atopobium, Sneathia, Saccharofermentans, Saccharibacteria genera incertae sedis, Bifidobacterium, Dialister, Sporomusa, Anaeroglobus, Enterorhabdus, Vemononasella, Lactococcus, Peptoniphilus, Ureaplasma, Megasphaera, Fusobacterium, Orientia, Mycoplasma, Streptococcus, Orenia, Gordonibacter, Desulfosporosinus, Aerococcus, Trueperella and Treponema were detected.

In the study, no statistically significant difference was found between vaginal microbiota and HPV infection ( $P > 0.05$ ).

Keywords: Human papilloma virus, next generation DNA sequencing, vaginal microbiota

Istanbul Aydin University School of Medicine,  
Department of Medical Biology and Genetics, İstanbul.



**Şekil 1.** HPV pozitif ve negatif hastalara ait vajinal bakteriyel mikrobiyotanın cins düzeyindeki taksonomik dağılımı  
**Figure 1.** Taxonomic distribution of vaginal bacterial microbiota at genus level of HPV positive and negative patients

## Susturulan UVRAG (UV Radiation Resistance Associated Gene) geni meme kanser hücrelerinde siklin ve siklin bağımlı kinazları (CDK) düzenleyerek hücre proliferasyonunu baskılar

Sevide Şencan<sup>1</sup>  
Mine Tanrıover<sup>1</sup>  
Mustafa Ulaşlı<sup>2</sup>  
Didem Karakaş Karakaş<sup>1</sup>  
Bülent Özpolat<sup>1</sup>

### ÖZET

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür. Son yıllarda meme kanserinin moleküler biyolojisi ve gen ekspresyonlarının daha iyi anlaşılması, yeni tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Buna rağmen triple negatif meme kanserine özgün bir tedavi seçeneği halen mevcut değildir. UVRAG geni otofaji sürecinde rol alan önemli genlerden biridir, ayrıca meme tümör oluşumu ile ilişkisi gösterilmiştir. Ancak UVRAG geninin meme kanserindeki rolü henüz bilinmemektedir. Çalışmamızda UVRAG geninin meme kanseri hücre proliferasyonu üzerindeki rolünün incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla, triple negatif meme kanser hücrelerinde UVRAG genine özgü siRNA ile susturularak hücre canlılığı ve koloni oluşumu sırasıyla MTS testi, kristal viyole boya ile değerlendirildi. Buna ek olarak susturulmuş UVRAG geninin hücre döngüsü ve bu döngüde rol alan proteinler üzerine etkisi flow sitometri ve western blot yöntemleri kullanılarak araştırıldı.

Verilerimiz, spesifik siRNA kullanılarak UVRAG genin susturulmasının hücre proliferasyonu ve koloni oluşumunu baskıladığı, siklin ve siklin bağımlı kinazların protein seviyesinde ifadelerinin belirgin olarak azaldığını açıkça ortaya koymaktadır. Çalışmamız UVRAG geninin meme kanseri proliferasyonunda önemli bir rol oynadığını gösteren ilk çalışmadır.

Sonuç olarak, UVRAG geninin susturulması meme kanserini hedeflemek için daha etkili ve yeni bir terapötik strateji olabilir.

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu(TÜBİTAK), Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı tarafından " 2214-A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Bursu " ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: UVRAG, otofaji, hücre çoğalması, Triple negatif meme kanseri

<sup>1</sup>Tekas Üniversitesi, MD Anderson Kanser Merkezi, Deneysel Tedaviler Bölümü, Houston, Teksas, A.B.D.

<sup>2</sup>Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D, Gaziantep, Türkiye.



## Silencing of UVRAG (UV Radiation Resistance Associated Gene) suppresses cell proliferation by regulating Cyclin and Cyclin Dependent Kinases (CDK) in breast cancer

Sevide Şencan<sup>1</sup>  
Mine Tanrıover<sup>1</sup>  
Mustafa Ulaşlı<sup>2</sup>  
Didem Karakaş Karakaş<sup>1</sup>  
Bülent Özpolat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Experimental Therapeutics, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, USA.

<sup>2</sup>Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Gaziantep University, Gaziantep, Turkey.

### ABSTRACT

Breast cancer is the most common cancer among women. In recent years, a better understanding of the molecular biology and gene expressions of breast cancer has led to the development of new diagnostic and therapeutic strategies. However, a specific treatment option for triple-negative breast cancer is still not available. UVRAG is one of the important genes in the autophagy process, also it has been linked to breast cancer tumorigenesis. However, the role of UVRAG gene in breast cancer is unknown. The aim of this study was to investigate the role of UVRAG on breast cancer cell proliferation.

For this purpose, The viability and colony formation of cells were evaluated by MTS assay, crystal violet dye, respectively, after treatment with UVRAG specific siRNA in breast cancer cells. Furthermore, we investigated if depletion of UVRAG has any effect on cell cycle progression and related proteins promoting cell cycle using flow cytometry and western blot analysis

Our data reveal that silencing of UVRAG using specific siRNA resulted in a significant inhibition in cell proliferation and colony formation and marked reductions in the expression of cell cycle proteins, including cyclins and cyclin-dependent kinases. Our findings suggest for the first time that UVRAG plays an important role in breast cancer proliferation.

In conclusion, Silencing of UVRAG gene may be more effective and new therapeutic strategy for targeting breast cancer.

Keywords: : UVRAG, autophagy, cell proliferation, Triple-negative breast cancer

## Gen şebeke varyantlarının hesaplamalı biyoloji ve makine öğrenmesi yardımıyla analizi

Süha Tuna<sup>1</sup>  
Çağrı Güleç<sup>2</sup>  
Emrah Yücesan<sup>3</sup>  
Ayşe Çırakoğlu<sup>4</sup>  
Yelda Tarkan Argüden<sup>4</sup>

### ÖZET

Herhangi bir fenotipin oluşmasında rol oynayan genler bir şebeke olarak düşünülebilir. Fenotipin ne derece sağlıklı olacağı şebekede yer alan genlerin hangi alellerinin/varyantlarının bir araya geldiğiyle ilişkilidir. Özellikle poligenik multifaktöriyel özelliklerde, bireyin sahip olduğu gen varyant kombinasyonu önemlidir. Bireylerdeki gen şebekesi varyant kombinasyonları arasındaki farklar belirlenebilirse, ilgili hastalıklara bireyin yatkınlığı hakkında fikir edinilebilir. Çalışmamızda, yüksek boyutlu modelleme ve makine öğrenmesi yöntemleri kullanılarak, seçilmiş gen şebekelerindeki varyantların hasta ve sağlıklı bireyler arasındaki örüntü farklılıklarının belirlenmesi ve saptanan farklılıkların test örneklerini hasta/sağlıklı olarak sınıflandırmakta kullanılıp kullanılmayacağı araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntemi denemek için sırasıyla 31 ve 93 gen içeren mTOR ve TGF- $\beta$  gen şebekeleri seçildi. Her bir şebeke için 400 kontrol ve 400 hasta olmak üzere yapay diziler oluşturuldu. Kaos Oyun Belirtimi (KOB) yöntemiyle her bir gen dizisi iki boyutlu desenler haline dönüştürüldü. Her birey için, incelenen şebekeye ait genlerin KOB örüntüleri ardı ardına dizilerek KOB "küpleri" meydana getirildi ve Çokdeğişkenliliği Yükseltmiş Çarpımlar Gösterilimi (ÇYÇG) yöntemi kullanılarak ilgili öznelikleri çıkartıldı. Bu öznelikler ile Destek Vektör Makinaları (DVM) sınıflandırma algoritması eğitildi ve bir eğitim modeli oluşturuldu. Oluşturulan model aracılığıyla ilgili gen şebekeleri hasta/kontrol olmak üzere sınıflandırıldı.

Önerilen yöntem, tüm verinin sadece %5'inin eğitim için kullanılması durumunda, her gen yolak verisi için %90 ve üzeri sınıflandırma başarıları sağlamıştır.

Sonuçlarımız, önerilen yöntemin multigenetik hastalıklar için bir teşhis aracı olarak geliştirilme potansiyelinin yanı sıra popülasyon genetiği, filogenetik, ileri genomik çalışmalar gibi farklı alanlarda uygulanabilir olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Gen şebeke analizi, Şebeke bilimi, Kaos Oyun Belirtimi, Çokdeğişkenliliği Yükseltmiş Çarpımlar Gösterilimi, Destek Vektör Makinaları

<sup>1</sup>İstanbul Teknik Üniversitesi, Bilişim Enstitüsü, İstanbul.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>3</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>4</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

## Gene network variant analysis using computational biology and machine learning

Süha Tuna<sup>1</sup>  
Çağrı Güleç<sup>2</sup>  
Emrah Yücesan<sup>3</sup>  
Ayşe Çirakoğlu<sup>4</sup>  
Yelda Tarkan Argüden<sup>4</sup>

### ABSTRACT

Genes involved in the formation of any phenotype can be thought of as a network. How healthy the phenotype will emerge depends on which alleles/variants of genes in network come together. Especially in polygenic multifactorial traits, combination of variants in individual is important. If differences between gene network variant combinations can be determined, predicting the individual's susceptibility to related diseases would be possible. We aimed to determine pattern differences of variants in selected gene networks between patients and controls by using high-dimensional modeling and machine learning methods, and to investigate whether detected differences could be used to classify test samples as affected/healthy.

mTOR and TGF- $\beta$  gene networks containing 31 and 93 genes, respectively, were selected. For each network, artificial gene sequences were created as 400 patient and 400 controls. Each sequence was transformed into two-dimensional patterns by Chaos Game Representation (CGR) method. For each individual, CGR "cubes" were formed by arranging CGR patterns of genes belonging to examined network one after the other, and their related features were extracted using Enhanced Multivariate Product Representation (EMPR) method. With these features, Support Vector Machines (SVM) classification algorithm was trained and a training model was created. Through created model, relevant gene networks were classified as patient/control.

Proposed method achieved minimum 90% classification success if trained with only 5% of the data for each networks.

The method has potential to be developed as diagnostic tool for multigenetic diseases, and being applicable in different fields like population genetics, phylogenetics, and advanced genomic studies.

Keywords: Gene network analysis, Network science, Chaos Game Representation, Enhanced Multivariate Products Representation, Support Vector Machines

<sup>1</sup>Institute of Informatics, Istanbul Technical University, Istanbul.

<sup>2</sup>Department of Medical Genetics, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul.

<sup>3</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Bezmialem Vakıf University, Istanbul.

<sup>4</sup>Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Istanbul University-Cerrahpaşa, Istanbul.

## Epigenetik yeniden programlama yoluyla MLL-AF9 lösemilerinin tedavisi için yeni bir yaklaşım olarak LSD1/HDAC6'yı hedefleyen ikili inhibitörlerin kullanımı

İpek Bulut<sup>1</sup>  
Buse Cevatemre<sup>2</sup>  
Adam Lee<sup>3</sup>  
Arasu Ganesan<sup>3</sup>  
Ceyda Acilan Ayhan<sup>4</sup>

### ÖZET

Lösemi, hematopoez sırasında kontrolsüz hücre çoğalmasıyla sonuçlanan farklılaşma eksikliği ile karakterize bir kan ve kemik iliği rahatsızlığıdır. Karışık soy lösemileri (MLL), kromatin değiştirici enzimlerin hiperaktif MLL füzyonları nedeniyle anormal şekilde eksprese edildiği, kötü prognozlu bir akut lösemi türüdür. Bu nedenle, MLL lösemileri, kromozomal translokasyonlar nedeniyle çoğunlukla epigenetik düzensizliklere dayanmaktadır. Lizin spesifik demetilaz (LSD1) ve Histon deasetilaz (HDAC) gibi temel epigenetik düzenleyicilerin hedeflenmesi, yeni bir tedavi seçeneği olarak önerilmiştir. Bu enzimlerin düzensiz anlatımı, MLL-AF9 lösemilerinde farklılaşmayı engelleyen ve kontrolsüz hücre proliferasyonunu destekleyen çok sayıda genin aktivasyonuna neden olur. Çalışmamız LSD1 ve HDAC6 enzimlerinin miyeloid lösemi hatları için hücre farklılaşmasındaki rolünü araştırmayı hedeflemektedir.

Çalışmamız, dual inhibitör sentezi, in-vitro enzim aktivitesi, hücre sel termal kayma deneyi (CETSA), lösemi hücre hatlarındaki canlılık ve farklılaşma deneyleri ve Doksorubisin ilacı ile kombinasyon deneylerini kapsamaktadır.

Dual inhibitörün LSD1 ve HDAC6 enzimlerini yüksekafinite ile inhibe ettiği gözlemlenmiştir. CETSA deneyi sonunda inhibitörün hedef enzimleri hücre içinde de stabilize edebildiği gösterilmiştir. Dual inhibitör düşük dozlarda hücre farklılaşmasını uyarırken, yüksek dozlarda 4 farklı lösemi hücrelerinde apoptozu indüklemektedir. Her iki enzimin inhibisyonu AML hücrelerinde klinikte kullanılan Doksorubisin'e karşı yanıtını artırmış ve bir sinerji oluşturmuştur.

LSD1 ve HDAC6 enzimlerinin fazla anlatımı AML hücre farklılaşmasına engel olan faktörlerdendir. Bu epigenetik düzenleyicilerin in-vitro ortamdaki inhibisyonu lökomogenezi yavaşlatırken, onları klinik bir ajan olan Doksorubisin'e duyarlı hale getirmiştir. Dual hedefleyici inhibitörlerinin üretimi ve kullanımı üzerindeki sınırlama göz önünde bulundurulursa, çalışmamız lösemi tedavisi ve gelecekteki klinik uygulamalar için umut verici bulgular içermektedir.

Anahtar Kelimeler: Dual inhibitör, LSD1, HDAC, AML, Doksorubisin

<sup>1</sup>Koç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Koç Üniversitesi, Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>East Anglia Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Norwich, İngiltere.

<sup>4</sup>Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye.

## Use of dual inhibitors targeting LSD1/HDAC6 as a new approach for the treatment MLL-AF9 leukemias through epigenetic reprogramming

İpek Bulut<sup>1</sup>  
Buse Cevatemre<sup>2</sup>  
Adam Lee<sup>3</sup>  
Arasu Ganesan<sup>3</sup>  
Ceyda Acilan Ayhan<sup>4</sup>

### ABSTRACT

Leukemia is a blood and bone marrow condition characterized by a lack of differentiation during hematopoiesis, which results in uncontrolled cell proliferation. MLL is a type of acute leukemia with a poor prognosis, where chromatin modifying enzymes are aberrantly expressed due to hyperactive MLL fusions. MLL leukemias are mostly based on epigenetic irregularities, due to chromosomal translocations. The targeting of key epigenetic regulators, such as Lysine-specific demethylase (LSD1) and Histone deacetylase (HDAC), has been proposed as a new therapy option. Overexpression of these enzymes causes the activation of genes in MLL-AF9 leukemias, which impede differentiation, promote uncontrolled cell proliferation. Our study aims to investigate the role of LSD1 and HDAC6 enzymes in cell differentiation in AML.

Our study includes inhibitor synthesis, enzyme activity, CETSA, viability/differentiation experiments in leukemia cells, and combination experiments with Doxorubicin.

We observed that the dual inhibitor inhibits LSD1 and HDAC6 with high affinity. CETSA experiment showed that the inhibitor also stabilizes the target enzymes inside the cell. While the dual inhibitor stimulates cell differentiation at lower doses, it also induces apoptosis in 4 different leukemia cells at higher doses. Inhibition of both enzymes increased the response of AML cells to the clinically used Doxorubicin and generated a synergy.

Overexpression of LSD1 and HDAC6 enzymes is one of the factors that prevent AML cell differentiation. In-vitro inhibition of epigenetic regulators slowed leukomogenesis and sensitized AML cells to Doxorubicin. Given the limitation on production and use of dual targeting inhibitors, our study contains promising data for leukemia treatment and future applications.

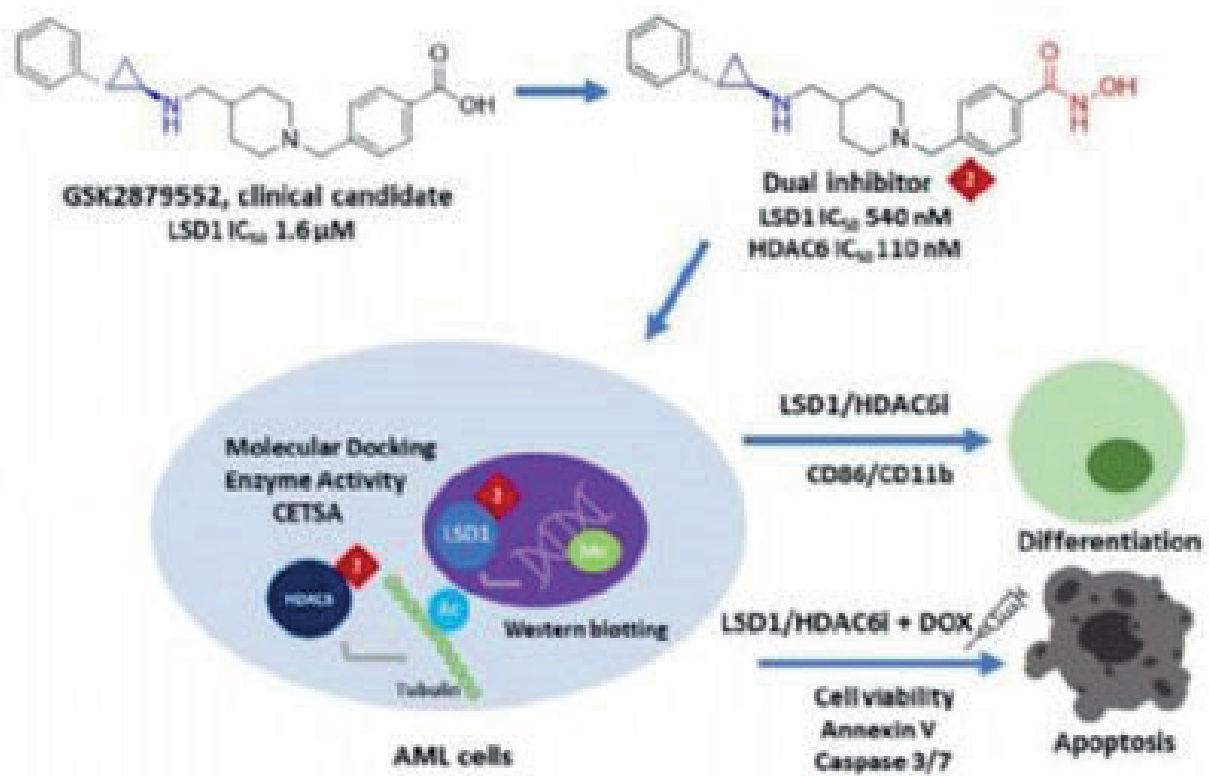
Keywords: Dual inhibition, LSD1, HDAC, AML, Doxorubicin

<sup>1</sup>Koc University, Graduate School of Health Sciences, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Koc University, Research Center for Translational Medicine, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>University of East Anglia, School of Pharmacy, Norwich, England.

<sup>4</sup>Koc University, School of Medicine, Istanbul, Turkey.



Şekil 1. Özet Grafik  
Figure 1. Graphical Abstract

## Quercetin: Meme kanseri hücrelerinde DNA hasarı artışını etkileyen bir antioksidan

Gülçin Yavuz Türel<sup>1</sup>  
Meltem Özgöçmen<sup>2</sup>

### ÖZET

Hücrelerde DNA hasar yanıt yollarında meydana gelen kusurlar, genomik kararsızlığa neden olur ve karsinogeneze yol açar, ancak aynı zamanda terapötik amaçlar için de kullanılabilir. Quercetin antioksidan bir aktiviteye sahip olmasına rağmen, meme kanseri hücrelerinde oksidatif ve genomik DNA hasarını ve apoptozu indüklediği, sinyal iletimini baskıladığı, proliferasyonu ve metastaz potansiyelini azalttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada alkali comet testi kullanılarak quercetin MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri üzerinde DNA hasarı oluşturuca etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

MDA-MB-231 hücreleri uygun inkübasyon koşullarında çoğaltıldıktan sonra etkin quercetin dozu 100 µM (IC50: 100) olarak belirlendi ve 24, 48 ve 72 saat olarak farklı zamanlarda incelendi. Herhangi bir uygulama yapılmayan hücreler kontrol grubu olarak kabul edildi. Comet testi prosedürünü oluşturan basamaklar uygulandıktan sonra sonuçlar Open Comet görsel değerlendirme programı ile analiz edildi. DNA hasarı, kuyruk DNA yüzdesi parametresi kullanılarak değerlendirildi ve One-Way ANOVA testi uygulandı.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Quercetin uygulanan grupların ortalama kuyruk DNA yüzde parametrelerinin kontrol gruplarına göre 24 ve 48 saat için sırasıyla  $p = 0,019$  ve  $p = 0,018$  değerleri ile anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p < 0,05$ ) Ancak 72. saat için istatistiksel olarak anlamlı bir bulgu elde edilemedi (Tablo).

Bu çalışma sonucu, quercetin farklı terapötik ajanlara karşı dirençli olan MDA-MB-231 hücrelerinde DNA hasarını artırıcı bir etkisi olabileceği düşünülmektedir ancak farklı metotlar ve farklı meme kanseri hücre hatları ile bu ön bilgi desteklenmeli, klinik bulgular ile sentezlenmelidir.

Anahtar Kelimeler: DNA hasarı, Meme kanseri, Quercetin

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Isparta.

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Isparta.

**Tablo 1.** Ortalama Kuyruk DNA Yüzde Değerleri

	24 s	48 s	72 s
Kontrol	3,03±0,42	3,02±0,37	3,27±0,44
Quercetin	4,87±0,65*	4,49±0,49*	4,12±0,48

Ort±Std. Hata; \*:İstatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ )

## Quercetin: An antioxidant influencing DNA damage increase in breast cancer cells

Gülçin Yavuz Türel<sup>1</sup>  
Meltem Özgöçmen<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Defects in DNA damage response pathways in cells cause genomic instability and lead to carcinogenesis, but can also be used for therapeutic purposes. Although quercetin has an antioxidant activity, it has been reported that it induces oxidative and genomic DNA damage and apoptosis, suppresses signal transduction, reduces proliferation and metastasis potential in breast cancer cells.

MDA-MB-231 cells were grown under appropriate incubation conditions, the effective dose of quercetin was determined as 100 µM (IC<sub>50</sub>:100) and examined at different times as 24, 48 and 72 hours. Cells without any treatment were considered as the control group. After the comet test procedure were applied, the results were analyzed with the Open Comet visual evaluation program. DNA damage was assessed using the tail DNA percentage parameter and One-Way ANOVA test was applied.  $p < 0.05$  was considered statistically significant.

It was observed that the mean tail DNA percentage parameters of the quercetin groups increased significantly compared to the control groups with  $p = 0.019$  and  $p = 0.018$  values for 24 and 48 hours, respectively ( $p < 0.05$ ). However, no statistically significant finding could be obtained at 72 hours (Table).

As a result of this study, it is thought that quercetin may have an increasing effect on DNA damage in MDA-MB-231 cells which resistant to different therapeutic agents but this preliminary information should be supported by different methods and different breast cancer cell lines and synthesized with clinical findings.

Keywords: Breast cancer, DNA damage, Quercetin

<sup>1</sup>Suleyman Demirel University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Isparta, Turkey.

<sup>2</sup>Suleyman Demirel University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Isparta, Turkey.

**Table 1.** Average Tail DNA Percentages

	24 h	48 h	72 h
Kontrol	3,03±0,42	3,02±0,37	3,27±0,44
Quercetin	4,87±0,65*	4,49±0,49*	4,12±0,48

Mean±Std. Mistake; \*: Statistically significant ( $p < 0.05$ )



## Sporadik ALS patogeneğinde iskelet kasına özgül iki farklı miRNA profilinin tanımlanması

Evrım Aksu Mengeş<sup>1</sup>  
Can Ebru Bekircan Kurt<sup>2</sup>  
Ayşe Tülay Aydınoğlu<sup>1</sup>  
Sevim Erdem Özdamar<sup>2</sup>  
Ersin Tan<sup>2</sup>  
Burcu Balcı Hayta<sup>1</sup>

### ÖZET

Dünya genelinde en yaygın görülen motor nöron hastalıklarından biri olan Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS), üst ve alt motor nöronların dejenerasyonu, kas güçsüzlüğü ve atrofi ile karakterize, ilerleyici ve ölümcül bir nöromüsküler hastalıktır. İskelet kasının sadece motor nöron dejenerasyonundan etkilenen son organ olmadığı, aynı zamanda hastalığın başlamasında ve/veya ilerlemesinde aktif olarak işlevi olduğu bilinmektedir. MiRNA'lar temel biyolojik süreçlerin önemli düzenleyici faktörleri olarak kabul edildiğinden, çalışmamızda sALS hastalarının iskelet kasında ifade farklılığı gösteren miRNA'ları tanımlamaya yönelik kapsamlı ve büyük ölçekli veriler sunulmuştur.

10 sALS hastası ve 5 kontrol bireye ait iskelet kası biyopsi dokularının miRnom profilleri *Affymetrix GeneChip miRNA 4.0 Array* ile analiz edildi. Veriler *MeV* veritabanı yardımıyla analiz edildi ve ifade değişikliği istatistiksel olarak anlamlı olan miRNA'lar aday olarak belirlendi. Aday miRNA'ların potansiyel hedef genleri miRWalk 2.0 veri tabanı ile tanımlandı ve işlevsel olarak Gen Ontoloji (GO) analizi ile zenginleştirildi. Öncelikli aday olay olarak belirlenen miRNA'ların ifade seviyeleri kantitatif gerçek-zamanlı PZR (qRT-PCR) ile doğrulandı.

Çalışmamız sonucunda hastalarda, kat değişimi eşik değeri  $\geq 2$  ve FDR=0 olan 10 adet ifade değişikliği gösteren miRNA tanımlandı. 10 miRNA'dan dokuzunun, ALS ile ilgili olan zenginleştirilmiş ilk üç terimle ilişkili olduğu bsaptandı. Aday miRNA'ların qRT-PCR doğrulama sonuçlarına göre sALS hastaları, artmış miR-4429 ve miR-1825 ifadesi gösterenler ve azalmış miR-638 ifadesi gösterenler olmak üzere iki gruba ayrıldı.

sALS hastalarında iskelet kasına özgül iki farklı miRNA profilinin tanımlanması, etiyolojik heterojeniteye bağlı olabileceği gibi, gelecekte yeni tedavi seçeneklerin tanımlanmasına olanak sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Biyoinformatik analiz, iskelet kası, miRNA, miRNA mikrodizin, Sporadik Amiyotrofik Lateral Skleroz

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sıhhiye, Ankara, Türkiye.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Nöromüsküler Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, Sıhhiye, Ankara, Türkiye.

## Identification of two different muscle-specific miRNA profiles associated with sporadic ALS pathogenesis

Evrin Aksu Mengeş<sup>1</sup>  
Can Ebru Bekircan Kurt<sup>2</sup>  
Ayşe Tülay Aydınoğlu<sup>1</sup>  
Sevim Erdem Özdamar<sup>2</sup>  
Ersin Tan<sup>2</sup>  
Burcu Balcı Hayta<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a progressive and fatal neuromuscular disorder characterized by muscle weakness and atrophy due to the degeneration of the upper and lower motor neurons. It is known that skeletal muscle is not only the end-organ that is affected by motor neuron degeneration but also contributes actively to the onset and/or progression of the disease. Since miRNAs are recognized as important regulatory factors of essential biological processes, we presented comprehensive and large-scale data with regard to dysregulated miRNAs in skeletal muscle tissue of sALS patients.

The miRNome profiles of skeletal muscle biopsies acquired from 10 sALS patients and 5 controls were analyzed by Affymetrix GeneChip miRNA 4.0 Array. The data was analyzed by MeV and miRNAs whose expression difference were statistically significant were identified as candidates. The potential target genes of these miRNAs were predicted by miRWalk 2.0 and were functionally enriched by Gene Ontology (GO) analysis. The expression level of priority candidates was validated by qRT-PCR.

We identified 10 differentially expressed miRNAs with a fold change threshold  $\geq 2.0$ , FDR=0. Nine out of the 10 miRNAs were found to be related to top three enriched ALS-related terms. Based on the qRT-PCR validation of candidate miRNAs, patients were separated into two groups: those with upregulated miR-4429 and miR-1825 expression and those with downregulated miR-638 expression.

The two different muscle-specific miRNA profiles in sALS patients may indicate involvement of etiologic heterogeneity, which may provide an opportunity for the identification of novel therapeutic options in the future.

Keywords: Bioinformatics analysis, miRNA, miRNA microarray, skeletal muscle, Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis

<sup>1</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Sıhhiye, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Neuromuscular Diseases Research Laboratory, Sıhhiye, Ankara, Turkey.

## Quercetin meme kanseri hücre hattında DNA hasarına sebep olur mu?

Vehbi Atahan Toğay  
Dilek Aşcı Çelik

### ÖZET

Quercetin antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanserojen aktivitelere sahip polifenolik bir bileşiktir. Kadınlarda en sık tanı alan kanserlerden biri olan meme kanseri de dahil olmak üzere çeşitli malign hücre hatlarında quercetin hücre proliferasyonu ve sağ kalımını azaltabilen bir anti karsinojen ajan olduğu gösterilmiştir. Quercetin doza bağlı olarak kanser hücrelerinde DNA hasarını arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur ve DNA hasarındaki artış, DNA tamir mekanizması ve hücre döngüsü kontrol noktaları gibi hücre yolaklarında değişikliklere sebep olarak ölüm yolaklarını indükleyebilmektedir. Ancak farklı hücre hatlarında hasarı azalttığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Dolayısı ile tedavide kullanıma potansiyeli bulunan ajanların farklı hücre hatları için durumu ortaya konulmalıdır.

MCF-7 hücre hattında quercetin IC50 dozu 24, 48, 72 saatler için 50 µM olarak belirlenmiş ve alkalın comet metodu ile DNA hasarı değerlendirilerek uygulama yapılmayan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Comet metodunun uygulanmasının ardından floresan mikroskop altında çekilen fotoğraflar OpenComet programı ile analiz edilmiştir. DNA hasarını değerlendirmek için Kuyruk DNA Yüzdesi parametresi seçilmiş ve  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

24 saat sonunda kontrol grubunun DNA hasarı  $6.07 \pm 0.59$ , Quercetin grubunun  $8.15 \pm 0.95$  olarak ( $p > 0.05$ ), 48 saat sonunda kontrol grubunun DNA hasarı  $5.89 \pm 0.84$ , Quercetin grubunun  $8.42 \pm 0.79$  olarak ( $p < 0.05$ ), 72 saat sonunda kontrol grubunun DNA hasarı  $5.90 \pm 0.79$ , Quercetin grubunun  $10.42 \pm 1.11$  olarak bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

24 saatlik uygulamada DNA hasarında artış görülmüş ancak bu artış anlamlı bulunmamıştır. 48 ve 72 saatlik uygulamalarda ise DNA hasarı anlamlı şekilde artmıştır. Sonuç olarak bu bulgular, quercetin DNA hasarına bağlı farklı mekanizmalar aracılığı ile kanser hücrelerini ölüme götürebileceğini ve MCF-7 hücre hattında daha ileri araştırmalar yapılması gerektiğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Comet metodu, DNA hasarı, MCF-7, Meme kanseri, Quercetin

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Isparta.

## Does quercetin cause DNA damage in breast cancer cell line?

Vehbi Atahan Toğay  
Dilek Aşçı Çelik

### ABSTRACT

Quercetin is a polyphenolic compound with antioxidant, anti-inflammatory and anti-carcinogenic activities. Quercetin has been shown to be an anti-carcinogen agent that can reduce cell proliferation and survival in various malignant cell lines, including breast cancer. Some studies have showed that quercetin dose-dependently increases DNA damage, and this increase can induce death pathways by causing changes in cellular pathways such as DNA repair and cell cycle checkpoints. However, few other studies have reported that DNA damage reduces in different cell lines. Therefore, potential therapy agents should be evaluated for different cell lines.

The IC<sub>50</sub> dose of quercetin in MCF-7 cell line was determined as 50 µM for 24, 48, 72h and DNA damage was evaluated by alkaline comet assay and compared with the untreated controls. Following Comet assay, the photographs taken under a fluorescent microscope were analyzed with the OpenComet program. Tail DNA Percentage was chosen to evaluate DNA damage.

The DNA damage of the control group was 6.07±0.59 and of the Quercetin group was 8.15±0.95 at 24h ( $p>0.05$ ). The DNA damage of the control group was 5.89±0.84, and of the Quercetin group was 8.42±0.79 ( $p<0.05$ ) at 48h. The DNA damage of the control group was 5.90±0.79 and of the Quercetin group was 10.42±1.11 at 72h ( $p<0.05$ ).

There was no statistically significant increase at 24h whereas DNA damage increased significantly at 48 and 72h. These findings suggest that quercetin may lead cancer cells to death through different mechanisms related to DNA damage and further research is needed for MCF-7.

Keywords: Breast cancer, Comet assay, DNA damage, MCF-7, Quercetin

Süleyman Demirel University, Faculty of Medicine,  
Department of Medical Biology, Isparta.

## Histon deasetilaz inhibitörleri ve otofaji modülatörlerinin kolanjiokarsinoma üzerine antiproliferatif etkileri

Emel Başak Gencer Akçok<sup>1</sup>  
Münevver Yenigül<sup>2</sup>

### Ö Z E T

Histon deasetilaz (HDAC) inhibitörleri farklı kanser türlerinde umut verici sonuçlar göstermiştir. Bu çalışmada histon deasetilaz inhibitörlerinin ve otofaji modülatörlerinin kolanjiokarsinoma (CCA) üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

KK hücre hatları olarak TFK-1 ve EGI-1, kontrol olarak HepG2 hepatoselüler karsinom hücre hattı kullanılmıştır. Bu hücre hatları, HDAC inhibitörlerinden SAHA, Romidepsin, MS-275 ve farklı otofaji inhibitörleri olan nocodazole ve klorokin ile muamele edilmiştir. HDAC inhibitörü ve otofaji inhibitörü ile 48 saatlik uygulamalardan sonra hücre canlılığını belirlemek için MTT testi yapılmıştır. HDAC inhibitörlerinin ve otofaji inhibitörlerinin IC30 konsantrasyonları belirlenmiştir. Öncelikle HDAC inhibitörünün IC30 değeri sabit tutulup ve artan otofaji inhibitörü dozları ile kombinasyon yapıldı. Kombinasyon çalışmasına ikinci bir yaklaşım olarak hücreler, HDAC inhibitörleri ve otofaji inhibitörlerinin IC30 değerleri ile muamele edilmiştir. İstatistiksel analizler iki yönlü ANOVA GraphPad PRISM sürüm 8.0 ile yapılmıştır.

TFK-1, EGI-1 ve HepG2 hücreleri, farklı HDAC inhibitörleri ve otofaji yolunun farklı adımlarını inhibe eden modülatörleri ile tedavi edildiğinde, hücre proliferasyonunun azaldığı gözlemlendi. Öte yandan, kombinasyon tedavisinin tüm hücre hatlarında tekli tedavilerden daha etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada, KK'yı hedeflemek için yeni bir yaklaşım araştırılmıştır. Takip çalışmalarına ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç olmasına rağmen, ön sonuçlarımız HDAC enzimlerini ve otofaji yollarını hedeflemenin KK tedavisi için potansiyel terapötik hedefler olabileceğini düşünülmektedir. Bu çalışma TÜBİTAK (proje no: 217S660) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Epigenetik, Histon deasetilaz inhibitörleri, Kolanjiokarsinoma, otofaji

<sup>1</sup>Abdullah Gül Üniversitesi, Yaşam ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kayseri, Türkiye.

<sup>2</sup>Abdullah Gül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Bölümü, Kayseri, Türkiye.

## The antiproliferative effect of histone deacetylase inhibitors and autophagy modulators on cholangiocarcinoma

Emel Başak Gencer Akçok<sup>1</sup>  
Münevver Yenigül<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Histone deacetylase (HDAC) inhibitors have shown promising results in different types of cancer. This study aimed to investigate the effects of histone deacetylase inhibitors and autophagy inhibitors on cholangiocarcinoma (CCA).

TFK-1 and EGI-1 cells were used as CCA cell lines and HepG2 hepatocellular carcinoma cell line was used as control. These cell lines were treated with HDAC inhibitors SAHA, Romidepsin, MS-275, and different autophagy inhibitors nocodazole and chloroquine. Cell viability assay was performed to determine cell proliferation by MTT assay after treatment with HDAC inhibitor and autophagy inhibitor for 48 hours. IC<sub>30</sub> concentrations of HDAC inhibitors and autophagy inhibitors were determined. Firstly, the IC<sub>30</sub> value of the HDAC inhibitor was kept constant and a combination was made with increasing concentrations of autophagy inhibitors. Secondly, cells were treated with IC<sub>30</sub> values of HDAC inhibitors and autophagy inhibitors. Statistical analyzes were performed with two-way ANOVA GraphPad PRISM version 8.0.

When TFK-1, EGI-1, and HepG2 cells were treated with different HDAC inhibitors and autophagy pathway modulators, decreased cell proliferation was observed. On the other hand, combination therapy has been observed to be more effective than single treatments for all cell lines.

In this study, a new approach for targeting CCA was investigated. Although there is a need for follow-up studies and further investigation, our preliminary results suggest that targeting HDAC enzymes and autophagy pathways could be potential therapeutic targets for treating CCA. This work was supported by TUBITAK (project no: 217S660).

**Keywords:** Autophagy, Cholangiocarcinoma, Epigenetics, Histone deacetylase inhibitors

<sup>1</sup>Abdullah Gul University, Faculty of Life and Natural Sciences, Molecular Biology and Genetics Department, Kayseri, Turkey.

<sup>2</sup>Abdullah Gul University, Graduate School of Engineering and Science, Bioengineering Department, Kayseri, Turkey.

## HIV Pozitif Hastalarda HLA-B Sinyal Peptid Dizisi ve HLA-E Polimorfizmi

Yeliz Öğret<sup>1</sup>  
Çiğdem Kekik Çınar<sup>1</sup>  
Arif Atahan Çağatay<sup>2</sup>  
Hayriye Şentürk Çiftçi<sup>1</sup>  
Kürşat Özdemir<sup>3</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>

### ÖZET

HLA sınıf I molekülleri, kendi ve yabancı moleküller arasında konak ayrımı için CD8 taşıyan CTL'ler ile etkileşime girerler. HLA sınıf I peptid bağlanma oyuğunun allelik formunun, HIV-1 enfeksiyonu üzerinde farklı etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Sınıf I genlerinin ekson 1'i, özellikle HLA-E tarafından bağlanabilen ve sunulabilen lider peptidi kodlar. HLA-B ekson 1-21. pozisyonda M veya T'yi kodlayan lider peptid dimorfizmi sonucu, 3 genotip (TT, TM, MM) oluşur. HIV pozitif hastalar ile kontrol grubu arasındaki HLA alelleri, sinyal peptitleri ve viral yük arasındaki ilişkiyi değerlendirmektedir.

HLA tiplemesi, Illumina MiSeq Sequencing System kullanılarak aralarında herhangi bir akrabalık ilişkisi bulunmayan sağlıklı 102 kişi (M/K:46/56, yaş ort:28.78) ve 130 HIV pozitif (M/F:115/15, yaş ort:38.76) hastalara uygulandı. HLA tiplemesi Omixon Holotype HLA™ analizi ve Omixon HLA Twin yazılımları kullanılarak yapıldı. İki HLA-E aleli arasındaki genotipik ayrım ise TBG (Texas Biogen Corp) HLA-E primerleri kullanılarak Sanger dizileme yöntemi ile yapıldı.

Hasta grubunda en sık HLA-B\*51:01 (%12), B\*35:01 (%9), B\*18:01 (%7) allelleri saptandı. Hasta ve kontrol grubu açısından kıyaslandığında HLA-B\*44:02 aleli anlamlı derecede hastalarda yüksek ( $p=0.023$ ) bulunsun da Bonferroni doğrulama testine göre anlamlılık kayboldu. HLA-E\*01:03 aleli kontrol grubunda anlamlı derecede yüksek saptandı ( $p=0.017$ ). Hasta ve kontrol grubu, HLA-B dimorfizm genotiplerine göre kıyaslandığında istatistiksel olarak fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). Hastaların viral yükleri değerlendirildiğinde düşük viral yüke sahip bireylerde TM genotipi anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0.039, p_c=0.049$ ).

Devam eden çalışmamızda HIV pozitif hastalarda örnek sayısı artırılarak, HLA sinyali peptidi ve HLA-E polimorfizmlerinin tedaviye yönelik immün yanıtta etkisini ortaya koymada farklı bir bakış açısı kazandıracağını düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** HLA-B sinyali peptid, HIV, HLA-E, HLA

<sup>1</sup>Istanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı.

<sup>2</sup>Istanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri, Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı.

<sup>3</sup>Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı.

## HLA-B Signal Peptide Sequence and HLA-E Polymorphism in HIV Positive Patients

Yeliz Öğret<sup>1</sup>  
Çiğdem Kekik Çınar<sup>1</sup>  
Arif Atahan Çağatay<sup>2</sup>  
Hayriye Şentürk Çiftçi<sup>1</sup>  
Kürşat Özdemir<sup>3</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Istanbul Medical Faculty,  
Department of Medical Biology.

<sup>2</sup>Istanbul University, Istanbul Medical  
Faculty, Department of Internal Medicine, Division of  
Infectious Disease.

<sup>3</sup>Medipol University Department of Medical Biology.

### ABSTRACT

HLA class I molecules interact with CD8-bearing CTLs for host discrimination between self and foreign molecules. The allelic form of the HLA class I peptide binding cavity has proven to have differential effects on HIV-1 infection. HLA-B exon 1 -21.3 genotypes (TT, TM, MM) are formed as a result of leader peptide dimorphism encoding M or T at position. To evaluate the relationship between HLA alleles, signal peptides and viral load between HIV positive patients and control group.

HLA typing was performed using the Illumina MiSeq Sequencing System, 102 unrelated healthy individuals (M/F: 46/56, mean age: 28.78 years) and 130 HIV positive (M/F: 115/15, mean age):38.76) was administered to patients. HLA typing was performed using Omixon Hologate HLA and TBG HLA-E primers.

The most common alleles were HLA-B\*51:01 (12%), B\*35:01 (9%), B\*18:01 (7%) in the patient group. When the patient and control groups were compared, although the HLA-B\*44:02 allele was found to be significantly higher in patients ( $p=0.023$ ), its significance was lost according to the Bonferroni confirmatory test. The HLA-E\*01:03 allele was found to be significantly higher in the control group ( $p=0.017$ ). When the viral loads of the patients were evaluated, the TM genotype was found to be significantly higher in individuals with low viral load ( $p=0.039, pc=0.049$ ).

We think that in our ongoing study, increasing the number of samples in HIV-positive patients will provide a different perspective in revealing the effect of HLA signal peptide and HLA-E polymorphisms on the immune response to treatment.

Keywords: HLA-B signal peptide, HIV, HLA-E, HLA



## Gençlerin Erişkin Başlangıçlı Diyabeti (MODY)'nde Düşük hs-CRP Düzeyleri ile HNF1A rs1800574 (p.Ala98Val) Mutasyonu Arasındaki İlişki

Deniz Kanca Demirci<sup>1</sup>  
Nurdan Gul<sup>3</sup>  
Ilhan Satman<sup>4</sup>  
Oguz Ozturk<sup>2</sup>  
Ahmet Adil Camli<sup>5</sup>  
Yildiz Tutuncu<sup>6</sup>  
Hulya Yılmaz Aydoğan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen-Edebiyat Fakültesi, Haliç Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Ç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>Türkiye Halk Sağlığı ve Kronik Hastalıklar Enstitüsü, Türkiye Sağlık Enstitüleri, İstanbul, Türkiye.

<sup>4</sup>Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.

<sup>5</sup>Ç Hastalıkları Anabilim Dalı, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.

<sup>6</sup>İmmünoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, KUTTAM, Koç Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.

### ÖZET

Beta hücre disfonksiyonu ve glukozüri ile karakterize Gençlerin Erişkin Başlangıçlı Diyabeti (MODY)-3 diğer MODY alt-tiplerine kıyasla daha yaygın olup prevalansı %30-50'dir. MODY3 gelişiminden sorumlu HNF1A mutasyonları CRP gen anlatımını da etkilemektedir. Bu nedenle MODY3 hastalarında hs-CRP düzeyleri düşük ve ayırt edici niteliktedir. Çalışmamızda klinik olarak MODY-şüpheli hastalarda rs1800574 (p.Ala98Val)'ün serum hs-CRP düzeyine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda MODY ön tanılı 30 hasta ve 34 sağlıklı kontrol bireyin HNF1A genetik analizi yeni nesil dizileme, serum hs-CRP ölçümü immünotürbidimetrik yöntemle yapıldı.

MODY hastalarının açlık glukoz (151,33±11,27) ve HbA1c (7,49±0,41) düzeyleri beklediği gibi hafif yüksekti. MODY hasta grubunda daha düşük hemoglobin ve hematokrit seviyeleri (p<0,001) ve daha yüksek hs-CRP seviyeleri vardı (MODY: (medyan (Q1-Q)) 2,5 (0,9-5,8) vs Kontrol: 0,69 (0,49-1,78) mg/L, p=0,001). Yaş, cinsiyet, VKİ, SKB ve DKB çalışma grupları arasında anlamlı farklılık göstermedi (p>0,05). Serum hs-CRP düzeyleri MODY3 olan ve olmayan hasta gruplarında incelendiğinde, MODY3-grubunda serum hs-CRP düzeyleri MODY3-olmayan gruba göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulundu (MODY3 vs non-MODY3: 0,96±0,23 vs 4,56±0,72 (X±SE), p=0,006).

Tartışma: MODY hastalarında HNF1A-rs1800574 mutasyonunun serum hs-CRP düzeylerini etkilediği gözlemlendi. Bulgumuz HNF1A-rs1800574 mutasyonunun toplumumuz için MODY-spesifik olduğunu doğrulamaktadır.

HNF1A-rs1800574 mutasyonu literatürde MODY3 ile ilişkilendirilmesine rağmen, ilk kez bu çalışmada hs-CRP düzeylerinde etkisi gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: MODY3, hs-CRP, rs1800574 (p.Ala98Val)

## Association Between low hs-CRP Levels and HNF1A rs1800574 (p.Ala98Val) Mutation in Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY)

Deniz Kanca Demirci<sup>1</sup>  
 Nurdan Gul<sup>3</sup>  
 Ilhan Satman<sup>4</sup>  
 Oguz Ozturk<sup>2</sup>  
 Ahmet Adil Camli<sup>5</sup>  
 Yildiz Tutuncu<sup>6</sup>  
 Hulya Yilmaz Aydogan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Arts and Sciences, Haliç University, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Institute of Public Health and Chronic Diseases, The Health Institutes of Turkey, Istanbul, Turkey.

<sup>4</sup>Department of Molecular Medicine, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey.

<sup>5</sup>Department of Internal Medicine, Bezmialem Vakıf University, Istanbul, Turkey.

<sup>6</sup>Department of Immunology, School of Medicine, KUTTAM, Koç University, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY)-3, characterized by beta cell dysfunction and glucosuria, is more common than other MODY subtypes, with a prevalence of 30-50%. HNF1A mutations responsible for MODY3 development also affect CRP gene expression. Therefore, hs-CRP levels in MODY3 patients are low and distinctive. In our study, it was aimed to investigate the effects of the rs1800574 (p.Ala98Val) on serum hs-CRP levels in patients with clinically suspected MODY.

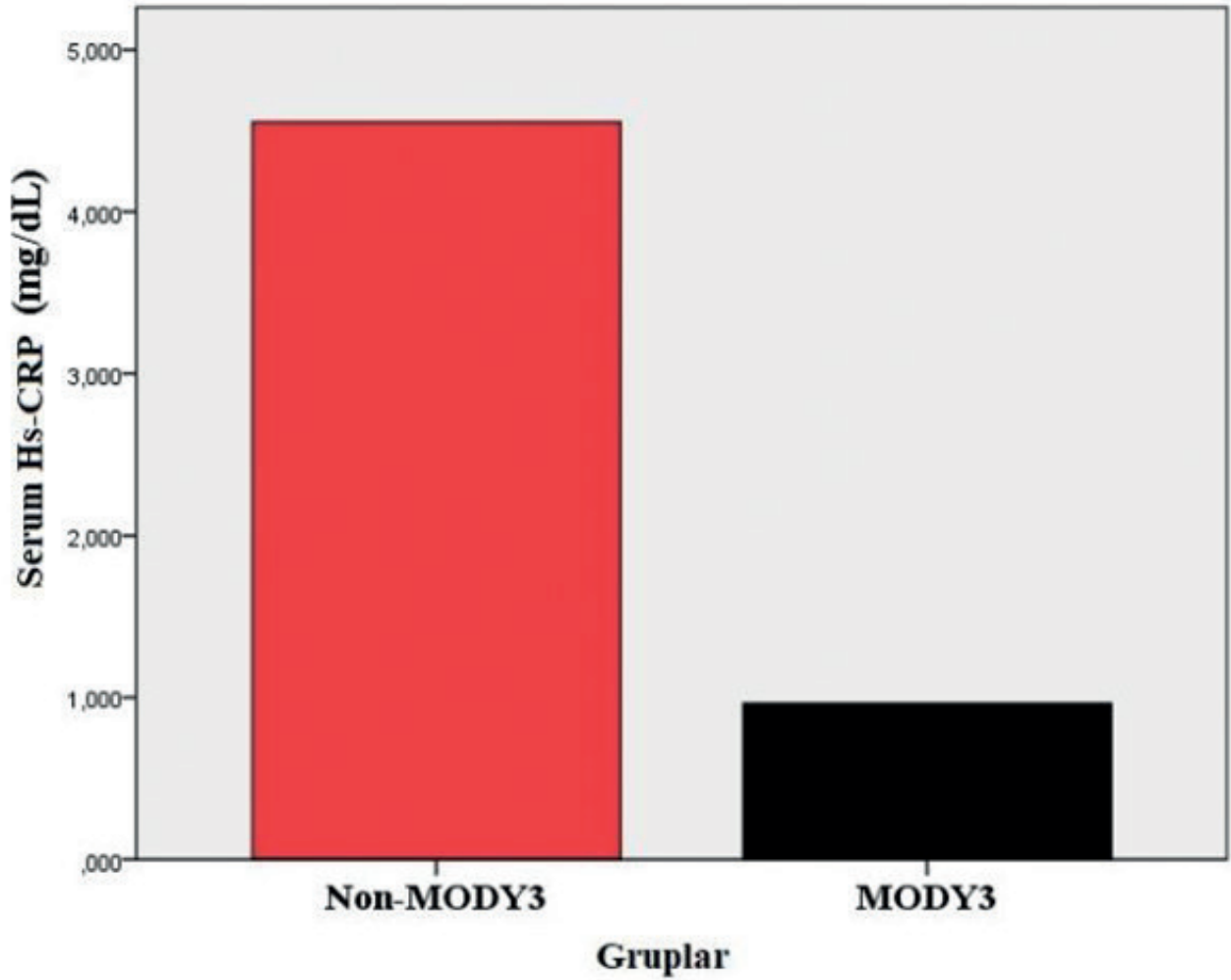
In our study, HNF1A genetic analysis of 30 patients with a pre-diagnosis of MODY and 34 healthy-control individuals was performed by next generation sequencing, serum hs-CRP measurement was performed by immunoturbidimetric method.

While fasting glucose ( $151.33 \pm 11.27$ ) and HbA1c ( $7.49 \pm 0.41$ ) levels of MODY patients were slightly high as expected. MODY patient group had a lower levels of hemoglobin and haematocrit ( $p < 0.001$ ), and a higher level of hs-CRP (MODY:(median(Q1-Q)) 2.5 (0.9–5.8) vs Control: 0.69(0.49–1.78 mg/L,  $p = 0.001$ ). Age, gender, BMI, SBP and DBP were not significantly different between the study groups ( $p > 0.05$ ). When serum hs-CRP levels were examined in MODY3 and non-MODY3 patient subgroups, serum hs-CRP levels were statistically lower in the MODY3-group than non-MODY3-group (MODY3 vs non-MODY3:  $0.96 \pm 0.23$  vs  $4.56 \pm 0.72$  (X $\pm$ SE),  $p = 0.006$ ).

Discussion: It was observed that the HNF1A-rs1800574 mutation affects serum hs-CRP levels in MODY patients. Our finding confirms that the HNF1A-rs1800574 mutation is MODY-specific for our population.

Although the HNF1A-rs1800574 mutation has been associated with MODY3 in the literature, its effect on hs-CRP levels was shown for the first time in the present study.

Keywords: MODY3, hs-CRP, rs1800574 (p.Ala98Val)



**Şekil 1.** MODY3 ve MODY3-olmayan hastalar arasında serum hs-CRP düzeylerinin karşılaştırılması

**Figure 1.** Comparison of the serum hs-CRP levels between the MODY3 and non-MODY3 patients

**Tablo 1.** Çalışma Gruplarının Demografik ve Klinik Karakteristiği

	Gruplar		
	Kontrol (n=34)	MODY (n=30)	p değeri
Yaş (Yıl)	41.52±1.64	43.96±2.60	0.430
Cinsiyet (K/E)	30/ 4	25/ 5	0.573
Hs-CRP (mg/L)	1.23±0.26	3.96±0.65	0.001
VKI (kg/m <sup>2</sup> )	27.57±0.88	28.95±1.07	0.324
SKB (mmHg)	122.42±2.82	120.28±2.12	0.533
DKB (mmHg)	76.45±1.27	74.44±2.32	0.413
Hemoglobin	15.17±0.12	12.84±0.32	0.001
Hematokrit	45.41±0.41	38.46±1.01	0.001

Sonuçlar ortalama ± SE olarak gösterilir. İstatistiksel analiz non-parametrik Mann Whitney U test kullanılarak gerçekleştirildi. MODY, Gençlerin Erişkin Başlangıçlı Diyabeti; VKİ, Vücut Kitle İndeksi; SKB, Sistolik Kan Basıncı; DKB, Diastolik Kan Basıncı; n, birey sayısı. Koyu değerler istatistiksel anlamlılığa işaret eder.

**Table 1.** Demographic and Clinical characteristics of the study groups

	Groups		
	Control (n=34)	MODY (n=30)	p value
Age (Year)	41.52±1.64	43.96±2.60	0.430
Sex (F/M)	30/ 4	25/ 5	0.573
Hs-CRP (mg/L)	1.23±0.26	3.96±0.65	0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.57±0.88	28.95±1.07	0.324
SBP (mmHg)	122.42±2.82	120.28±2.12	0.533
DBP (mmHg)	76.45±1.27	74.44±2.32	0.413
Hemoglobin	15.17±0.12	12.84±0.32	0.001
Hematocrit	45.41±0.41	38.46±1.01	0.001

The results are shown as mean ± SE. Statistical analysis was performed using nonparametric Mann Whitney U test. MODY, Maturity-Onset Diabetes of the Young; BMI, body mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; n, number of individuals. Bold value indicates statistical significance.

## Mikroglialın Vazoaktif Bağırsak Peptidi ile tedavisi, mikroglia ile ilişkili nörotoksositeye karşı koruma sağlar

Azize Yasemin Göksu Erol<sup>1</sup>  
 Fatma Gonca Koçancı<sup>2</sup>  
 Ersin Akıncı<sup>3</sup>  
 Devrim Demir Dora<sup>1</sup>  
 Fulya Erendor<sup>1</sup>  
 Salih Şanlıoğlu<sup>1</sup>  
 Hilmi Uysal<sup>4</sup>

### ÖZET

Mikroglia, merkezi sinir sistemi homeostazını ve nöroinflamasyonu düzenleyerek çeşitli nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynar. Bu bağlamda, aktive edilmiş mikrogliaların zararlı etkilerini baskılayabilen yeni bileşiklerin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bir nörotransmitter olan Vazoaktif Bağırsak Peptidinin (VIP), mikroglialdan proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını engellediği bilinmektedir. Mevcut çalışmamızda VIP kodlayan Lentiviral gen tedavisi vektörlerinin (LentiVIP) ve sentetik VIP tedavisinin mikroglial sekretom aracılı nörodejenerasyona karşı in vitro terapötik etkinliğini araştırmayı amaçladık.

İlk olarak, lipopolisakkarit ile aktive olan HMC3 insan mikroglia hücreleri, sentetik VIP ile muamele edildi veya LentiVIP ile transdüksiyona tabi tutuldu, ardından tüm mikroglial kültür ortamları (KO), nörotoksine maruz kalmış veya edilmemiş farklılaşmış insan nöroblastom SH-SY5Y hücrelerine uygulandı. LentiVIP/sentetik VIP ile tedavi edilen tüm mikroglial kültür gruplarının KO'larındaki VIP seviyeleri EIA ile ölçüldü. Hücre hayatta kalma oranlarını saptamak için MTT tahlili yapıldı. Mikroglia ve SH-SY5Y hücreleri, sırasıyla anti-CD-11b/CD-68 ve anti-PGP9.5 antikorları ile immün boyandı. Hücrelerin morfolojik değerlendirilmesi de not edildi. Dönüştürücü büyüme faktörü beta1 (TGF- $\beta$ 1) konsantrasyonları, toplam oksidan/antioksidan kapasiteleri (TOK/TAK) ve hücrelerin KO'larındaki nitrik oksit seviyeleri sırasıyla ELISA ve spektrofotometre kullanılarak ölçüldü.

Çalışmamız, mikroglia üzerindeki LentiVIP transdüksiyonunun ve sentetik VIP tedavisinin, mikroglial sekretomun toksisitesini önemli ölçüde azalttığını ve böylece SH-SY5Y nöronal hücrelerinin dejenerasyonunu önlediğini ortaya koydu.

VIP'nin anti-inflamatuvar TGF- $\beta$ 1 ve oksidan/antioksidan kapasiteleri üzerindeki aracı etkisi, nöroprotektif eylemlerini açıklayan önemli faktörler gibi görünmektedir.

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Kurulu tarafından desteklenmiştir (Hibe numarası AU, TKA-2018-3933). Yazarlar, projenin ELISA çalışmalarına verdiği destek için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Prof. Dr. Nuray Erin'e en içten teşekkürlerini sunarlar.

Anahtar Kelimeler: Gen İletimi, LentiVIP, Mikroglial Sekretom, Nörodejenerasyon, Vazoaktif Bağırsak Peptidi

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Gen ve Hücre Tedavisi Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.

<sup>2</sup>Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Bölümü, Alanya/Antalya, Türkiye.

<sup>3</sup>Brigham ve Kadın Hastanesi, Genetik Bölümü, Harvard Tıp Okulu, Boston, MA, ABD.

<sup>4</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.

## Treatment of microglia with Vasoactive Intestinal Peptide provides protection against microglia-associated neurotoxicity

Azize Yasemin Göksu Erol<sup>1</sup>  
Fatma Gonca Koçancı<sup>2</sup>  
Ersin Akıncı<sup>3</sup>  
Devrim Demir Dora<sup>1</sup>  
Fulya Erendor<sup>1</sup>  
Salih Şanlıoğlu<sup>1</sup>  
Hilmi Uysal<sup>4</sup>

### ABSTRACT

Microglia play a significant role in the pathogenesis of various neurodegenerative diseases by modulating central nervous system homeostasis and neuroinflammation. In this context, identifying novel compounds that can suppress harmful effects of activated microglia is of great importance. Vasoactive Intestinal Peptide (VIP), a neurotransmitter, is known to inhibit secretion of pro-inflammatory cytokines from microglia. In our current study, we aimed to investigate the in vitro therapeutic efficacy of Lentiviral gene therapy vectors encoding VIP (LentiVIP) and synthetic VIP treatment against microglial secretome-mediated neurodegeneration.

First, lipopolysaccharide-activated HMC3 human microglia cells were treated with synthetic VIP or transduced with LentiVIP, then all microglial conditioned media (CM) were applied on differentiated human neuroblastoma SH-SY5Y cells that were exposed to neurotoxin or not. VIP levels in CM of all microglial culture groups that are treated with LentiVIP/synthetic VIP were measured with EIA. MTT assay was performed to detect cell survival rates. Microglia and SH-SY5Y cells were immuno-stained with anti-CD-11b/CD-68 and anti-PGP9.5 antibodies, respectively. Morphological assessment of cells was also noted. Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) concentrations, total oxidant/antioxidant capacities (TOC/TAC), besides nitric oxide levels in CM of cells were measured with ELISA and using spectrophotometer, respectively.

Our study revealed that LentiVIP transduction and synthetic VIP treatment on microglia significantly reduced the toxicity of microglial secretome, thus preventing SH-SY5Y neuronal cells from degeneration. Mediator effect of VIP on anti-inflammatory TGF- $\beta$ 1 and oxidant/antioxidant capacities seem to be important factors that account for their neuroprotective actions.

Our study indicates a promising pharmacotherapeutic role for VIP in neurodegenerative diseases.

**Keywords:** Gene Delivery, LentiVIP, Microglial Secretome, Neurodegeneration, Vasoactive Intestinal Peptide

<sup>1</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Gene and Cell Therapy, Antalya, Turkey.

<sup>2</sup>Alanya Alaaddin Keykubat University, Vocational High School of Health Services, Department of Medical Laboratory Techniques, Alanya/Antalya, Turkey.

<sup>3</sup>Brigham and Women's Hospital, Department of Genetics, Harvard School of Medicine, Boston, MA, USA.

<sup>4</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Neurology, Antalya, Turkey.

## Cisplatin Direncini Kırmak İçin Hedefli Yaklaşımlar: Lizozomal Atılımın Epigenetik Regülasyonu

Bariş Sergi<sup>1</sup>  
Selahattin Can Özcan<sup>2</sup>  
Kirill Kiselyov<sup>3</sup>  
Ceyda Açılan Ayhan<sup>4</sup>

### ÖZET

Sitotoksik ilaç etkinliğindeki azalmaya bağlı olarak kemoterapiye karşı gelişen tümör direnci, kanser tedavisinin ana zorluklarından biridir. Lizozomlar, hücre sinyalleşmesinin yanı sıra, toksik metaller ve kemoterapötik ajanlar dahil olmak üzere birçok bileşenin hapsolması ve hücre dışına atılmasında oldukça önemli faktördür. Ayrıca, lizozomal biyogenez (lizozomal genlerin ekspresyonu nedeniyle lizozomal içeriğin artması) ve atılımın/ekzositozun (lizozomal içeriğin hücre dışı salınımı) epigenetik regülasyonu daha yeni araştırılmaya başlanmıştır. Araştırmamız, ilacın lizozomal hapsolmasıyla beraber atılımının veya artan lizozomal biyogenezin kanserde Cisplatin direncine katkıda bulunduğu fikrine odaklanmaktadır. Çalışmamız, epigenetik temelli lizozomal atılım ve biyogenez değişimlerini aydınlatmaya, bu değişimler sonucunda hücredeki değişen Cisplatin yanıtını araştırmayı hedeflemektedir.

Çalışmamızda 148 adet epigenetik etkili ilaç kütüphanesi taranmıştır. Cisplatin kombinasyonu sonrası canlılık deneyi,  $\beta$ -Hex lizozomal atılım deneyi, Cathepsin B lizozomal biyogenez deneyi ve LysoTracker-Green lizozomal biyogenez deneyi kütüphane taraması şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Çeşitli deneylerde kütüphane taraması sonucunda Cisplatin ile kombinlendiğinde sinerjik etki gösteren, lizozomal atılımda ve biyogenezde değişime sebep olan epigenetik temelli ilaçların varlığı gözlemlenmiştir. Söz konusu epigenetik temelli ilaçların Cisplatin toksisitesindeki etkileri ve hangi hücre yolakları üzerinden bu etkiyi gerçekleştirdikleri araştırılacaktır.

Sonuç olarak, bazı epi-ilaçların lizozomal fonksiyonlarda değişime sebep oldukları ve Cisplatin ile beraber sinerjistik etki gösterdikleri bulunmuştur. Lizozomal fonksiyonların da ilaç direncine ve yetersiz ilaç toksisitesine katkı sağladığı göz önünde bulundurulduğunda; çalışmamız kemoterapötik ilaç etkinliğinin artırılmasına, geliştirilmiş kanser tedavisine ve etkin klinik uygulamalara dair umut verici verilere sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Cisplatin Direnci, Epigenetik Regülasyon, Lizozomal Ekzositoz, Lizozomal Biyogenez

<sup>1</sup>Koc Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

<sup>2</sup>Koç Üniversitesi, Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM), İstanbul.

<sup>3</sup>Pittsburgh Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Pittsburgh, ABD.

<sup>4</sup>Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul.

## Targeted Approaches to Overcome Cisplatin Resistance: Epigenetic Regulation of Lysosomal Exocytosis

Bariş Sergi<sup>1</sup>  
Selahattin Can Özcan<sup>2</sup>  
Kirill Kiselyov<sup>3</sup>  
Ceyda Açılan Ayhan<sup>4</sup>

### ABSTRACT

Resistance to chemotherapy due to decrease in cytotoxic drug efficacy is one of the main challenges of cancer therapy. Lysosomes have been recognized as highly important factor in cell signaling, sequestration and expulsion of many components, including toxic metals and chemotherapeutic agents. Besides, the epigenetic regulation of lysosomal biogenesis (expression of lysosomal genes, increased lysosomal content) and exocytosis (release of lysosomal content) has just begun to be investigated. Our research focuses on the emerging idea that drug sequestration in the lysosomes followed by lysosomal exocytosis, or increased lysosomal biogenesis contributes to cisplatin resistance in cancer. Our study aims to elucidate epigenetic-based lysosomal exocytosis and biogenesis changes and to investigate the changing cellular response to Cisplatin.

In our study, 148 epigenetic drug (epidrugs) containing library was screened. Viability assay after Cisplatin combination,  $\beta$ -Hex lysosomal exocytosis, Cathepsin B lysosomal biogenesis, and LysoTracker-Green lysosomal biogenesis assays were performed as library screening.

As a result of library scanning in various experiments, we observed that several epidrugs have synergistic effect when combined with Cisplatin and cause changes in lysosomal exocytosis and lysosomal biogenesis. The effects of these epidrugs on Cisplatin toxicity and through which cellular pathways they exert this effect will be further investigated.

As a result, it has been found that some epidrugs cause changes in lysosomal functions and show synergistic effect with Cisplatin. Considering that lysosomal functions also contribute to drug resistance and inefficient drug toxicity, our study has promising data on increasing chemotherapeutic drug efficacy, improved cancer therapy and effective clinical applications.

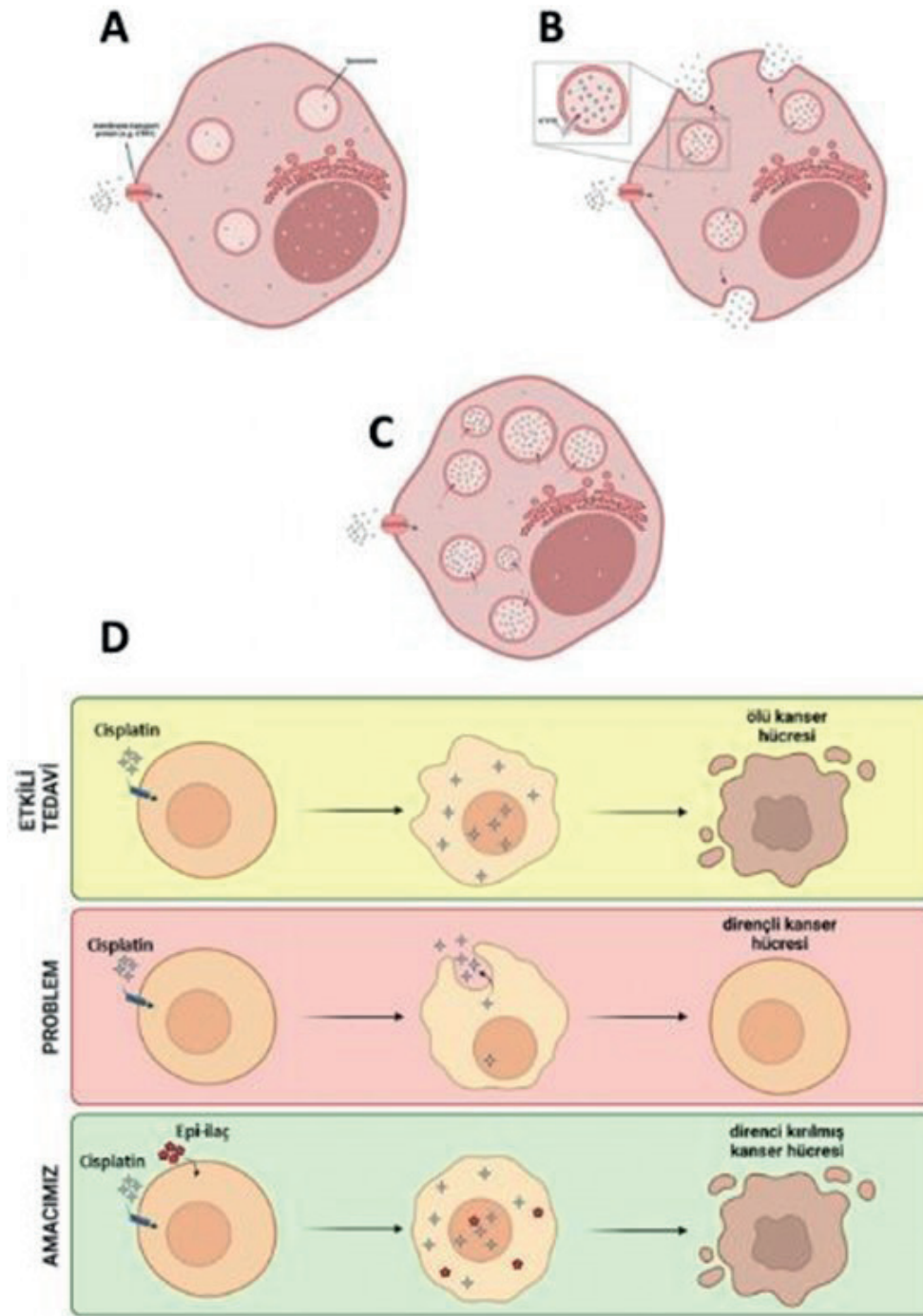
Keywords: Cisplatin Resistance, Epigenetic Regulation, Lysosomal Exocytosis, Lysosomal Biogenesis

<sup>1</sup>Koc University, Graduate School of Health Sciences, Istanbul.

<sup>2</sup>Koc University, Research Center for Translational Medicine (KUTTAM), Istanbul.

<sup>3</sup>University of Pittsburgh, Department of Biological Sciences, Pittsburgh, USA.

<sup>4</sup>Koc University, School of Medicine, Istanbul.



### Şekil 1. Lizozomal Aktivitelerin Özeti ve Çalışmanın Ana Modeli

**Figure 1.** Summary of Lysosomal Function and The Main Model of The Study

(A) Hücrelerde membran difüzyonu ya da membran transport proteinleri (örn., CTR1) tarafından alınan Cisplatin (şekilde gri), daha sonra DNA hasarı ve/veya çeşitli sitotoksik etkiler nedeniyle hücre ölümüne sebep olur. (B) Artan lizozomal atılım/ekzositoz aktivitesi nedeniyle Cisplatin toksisitesi hücre ölümü üzerine etkisini yitirir. Artan ekzositoz seviyesi, dirençli fenotipe neden olur. (C) Lizozomal biyogenez artışının bir sebebi olarak Cisplatin lizozomal hapsolmeye uğrar; biyogenezdeki değişim dirençli fenotipi desteklemesi açısından önemlidir. (D) Geleneksel tedaviyi ve Cisplatin direncine neden olan sorunu gösteren çalışmanın ana modeli. Çalışmamızın amacı, hücre içinde Cisplatin toksisitesini artırayı ve ilaç atılımını engellemek için lizozomal ekzositoz ve biyogenezin epigenetik düzenlemesini araştırmaktır.

(A) Cisplatin (grey in figure) uptake by the cells either diffusion through the membrane or uptake by the membrane transport proteins (e.g., CTR1), subsequently leads to cell death due to DNA damage and/or various cytotoxic effects. (B) The non-effective action of cisplatin toxicity, simply because of the increased lysosomal exocytosis activity. Boosted exocytosis level causes the resistant phenotype. (C) An increase of lysosomal biogenesis, which potentially causes an increase in sequestration of cisplatin into lysosomes. Increased biogenesis simply favors the resistant phenotype. (D) The main model of the study, showing the traditional treatment and the problem that causes cisplatin resistance, and the purpose of this study, which involves the epigenetic regulation of lysosomal exocytosis and biogenesis to enhance Cisplatin toxicity and inhibit the drug efflux.



## Kronik gastrit hastalığı ile tat reseptör tip 1 gen polimorfizm ilişkisi

Gülşah Koç<sup>1</sup>  
Ahu Soyocak<sup>1</sup>  
Serap Andaç Öztürk<sup>2</sup>  
Sefa Ergün<sup>3</sup>

### ÖZET

Kronik gastrit, tedavi edilmediğinde yaşam boyu süren ve hatta peptik ülser, mide kanseri gibi ciddi hastalıklara neden olabilen çok yaygın bir rahatsızlıktır. Hastalığın etyolojisinde Helikobakter pilori (H. pylori) enfeksiyonu ve beslenme bozukluklarının önemli bir yer tuttuğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, besin alımında rolü olan tat reseptörlerindeki genetik varyasyonların çeşitli hastalıkların etyolojisinde risk faktörü olabileceği belirtilmektedir. İnsan tat reseptörü tip 1 (TAS1R), besinlerin gastrointestinal sindirim ve absorpsiyonunda yer alan hormonal ve nöronal sinyal yolların başlatılması için kritik öneme sahiptir. Çalışmamızda, TAS1R2 (rs35874116) gen polimorfizminin kronik gastrit hastalığı (H. pylori +/-) ile ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır.

Kronik gastrit tanısı alan H. pylori (+) 67 kişi ve H. Pylori (-) 47 kişi çalışmaya dahil edilmiştir. Kan örneklerinden DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir, Kompetitif Allel Spesifik PCR (KASP™) genotipleme yöntemi ile TAS1R2 rs35874116'ya özgü genotip dağılımları belirlenmiştir.

Kronik gastrit hastaların GG, AA ve GA genotiplerinin frekansları sırasıyla %7, %45,6 ve %47,4 olarak belirlenmiştir. Hastaların %69,3'ünde A allelinin, %30,7'sinde G allelinin olduğu saptanmıştır. H.pylori (+) gastrit hastalarında GG, AA ve GA genotiplerinin frekansları sırasıyla %7,5 (n=5), %50,7 (n=34) ve %41,8 (n=28) iken, H.pylori (-) gastrit hastalarında %6,4 (n=3), %38,3 (n=18) ve %55,3 (n=26) olarak saptanmıştır. H.pylori (+) gastrit hastalarının %42'sinde A allelinin, %17'sinde G allelinin, H.pylori (-) gastrit hastalarının %27'sinde A allelinin, %14'ünde G allelinin olduğu saptanmıştır. Gruplar arasında allel ve genotip frekansları açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p>0.05).

Kronik gastrit hastalarında TAS1R2 rs35874116 A/G polimorfizmi arasında bir ilişki bulunamamıştır. Tat reseptörlerindeki farklı varyantların incelenmesi, bu reseptörlerin gastritin gelişimi ve ilerlemesindeki rollerinin belirlenmesini sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kronik gastrit, tat reseptör tip 1, TAS1R2, polimorfizm

<sup>1</sup>Istanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Istanbul Aydın Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanbul.

<sup>3</sup>Istanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, İstanbul.

## The relationship between chronic gastritis disease and taste receptor type 1 gene polymorphism

Gülşah Koç<sup>1</sup>  
Ahu Soyocak<sup>1</sup>  
Serap Andaç Öztürk<sup>2</sup>  
Sefa Ergün<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Chronic gastritis(CG) is a common condition that, if left untreated, can cause catastrophic disorders such as peptic ulcers and stomach cancer. The pathogenesis of the disease is complicated by H.pylori infection and nutritional deficiencies. Genetic differences in taste receptors, which play a role in food intake, have been suggested as a risk factor in the etiology of many disorders in recent studies. TAS1R is required for the initiation of hormonal and neuronal signaling pathways involved in GI digestion and nutrition absorption. The purpose of this study was to investigate if the TAS1R2(rs35874116) gene polymorphism is linked to CG (H.pylori+/-).

67 people with H.pylori(+) and 47 people with H.pylori(-) diagnosed with CG were included in the study. DNA isolations were performed from blood samples and genotype distributions specific to TAS1R2(rs35874116) were determined by PCR(KASP™) genotyping method.

The frequencies of GG, AA, GA genotypes of CG patients were determined as 7%, 45.6% and 47.4%. It was determined that 69.3% of the patients had the A allele and 30.7% had the G allele. The frequencies of GG, AA and GA genotypes in H.pylori(+) patients were 7.5%, 50.7% and 41.8%, respectively. The A allele was found in 42% of H.pylori(+) gastritis patients, 17% in the G allele, 27% in the H.pylori(-) patients, and 14% in the H.pylori(-) gastritis patients.

In CG patients, the TAS1R2(rs35874116) A/G polymorphism had no effect. The significance of taste receptors in the development and progression of gastritis can be determined by looking into different versions of these receptors.

Keywords: Chronic gastritis, taste receptor type 1, TAS1R2, polymorphism

<sup>1</sup>Istanbul Aydın University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul.

<sup>2</sup>Istanbul Aydın University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Istanbul.

<sup>3</sup>Istanbul-Cerrahpasa University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Istanbul.

## Yeni Nesil Dizileme ile Nadir HLA Alellerinin Türk Populasyonunda belirlenmesi

Yeliz Öğret<sup>1</sup>  
Rüştü Oğuz<sup>2</sup>  
Sedat Karadeniz<sup>3</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>

### ÖZET

Büyük Doku Uyum Kompleksi (MHC) yaklaşık 4.000 kilobazlık gen kompleksidir. Tüm genomun % 0,1'ini ve fonksiyonu tanımlanmış genlerin de % 0,6' sını oluştururlar. En polimorfik MHC sınıf I ve II proteinleri (HLA'lar) her biri üç ayrı gen bölgesindeki lokusları kodlar. Bu lokuslardaki ekzonlar (ekzon 2,3,4), yabancı peptidleri bağlayan kritik aminoasitleri kodlamaktadır. Bu exonların özellikle yapısal durumları, gen konversiyon (GC) olaylarını başlatır, ve yeni allelerin ortaya çıkmasına neden olur. Nokta mutasyonları, gen dönüşümleri ve parça değişimleri ile HLA genlerinde yeni polimorfizmler oluşmakta, çeşitlilik artmaktadır. International ImMunoGeneTics information system (IMGT) veritabanında 31.552 HLA aleli tanımlanmıştır. Bu alellik varyasyonlar temel olarak peptid bağlayıcı oluşun yapısını bileşimini etkiler ve yaygın, iyi tanımlanmış ve nadir aleller kategorisinde gruplandırılır. Nadir aleller, toplumda genel olarak, <0,001 sıklıkta gözlenir. IMGT veri tabanında nadir olarak tanımlanan HLA alellerini populasyonumuzda incelemektir.

Bu çalışmada 2017-2019 yılları arasında 5592 kişinin periferik kandan DNA izolasyonu yapılarak; HLA doku grupları NGS ve Sanger dizileme yöntemleri ile analiz edilmiştir.

Nadir aleller IMGT veritabanı (3.45.0;2021-07-12) kullanılarak değerlendirilmiştir. Nadir saptanan her alel ebevymleri ve NGS yöntemi ile teyit edilmiştir.

Sekans bazlı tiplemesi yapılan 5592 kişide 5 lokusta 28 alel; HLA-A\*01:155,02:66(2),02:90,02:110,02:243,03:82,24:28,24:146,24:276,31:23,33:33,68:38; HLA-B\*18:19,35:193,37:04,40:303,51:69,51:169; HLA-C\*04:39,06:40,07:93,12:149,15:73; HLA-DRB1\*11:12:02,11:149,13:14:02; HLA-DQB1\*03:27 saptanmıştır.

Birçok yeni mutant HLA allelerin epidemiyolojik olarak anlamlı roller taşıdığını tartışılmaktadır. Yeni alleller populasyonda düşük sıklıkta görülmekle birlikte, potansiyel olarak patojenlere karşı savunmada önemli bir katkıda bulunmaktadır. Bu çalışmalar, yeni nesil dizileme tekniğinin HLA tipleme alanına yeni değişiklikler ve aleller getireceği konusunda fikir vermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Yeni Nesil Dizileme, Nadir alel, HLA

<sup>1</sup>Istanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı.

<sup>2</sup>Istanbul Demiroğlu Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı.

<sup>3</sup>Kadir Has Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoinformatik ve Genetik Ana Bilim Dalı.

## Identification of Rare HLA Alleles in Turkish Population by Next Generation Sequencing

Yeliz Öğret<sup>1</sup>  
Rüştü Oğuz<sup>2</sup>  
Sedat Karadeniz<sup>3</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Major Histocompatibility Complex (MHC) is a gene complex of approximately 4,000 kilobases. They constitute 0.1% of the entire genome and 0.6% of genes with defined functions. The most polymorphic MHC class I and II proteins (HLAs) each encode loci in three distinct gene regions. The exons (exons 2,3,4) at these loci encode critical amino acids that bind foreign peptides. Specifically, the structural states of these exons initiate gene conversion (GC) events and result in the emergence of new alleles. With point mutations, gene transformations and part changes, new polymorphisms occur in HLA genes and diversity increases. 31,552 HLA alleles have been identified in the International ImMunoGeneTics information system (IMGT) database. These allelic variations mainly affect the composition of the peptide-binding groove and are grouped into the category of common, well-defined, and rare alleles.

In this study, DNA isolation was made from peripheral blood of 5592 people between 2017-2019; HLA tissue groups were analyzed by NGS and Sanger sequencing methods.

Rare alleles were evaluated using the IMGT database(3.45.0;2021-07-12). Each rare allele was confirmed by its parents and by the NGS method.

28 alleles at 5 loci in 5592 individuals with sequence-based typing; HLA-A\*01:155, 02:66(2),02:90,02:110,02:243.03:82, 24:28, 24:146, 24:276, 31:23, 33:33, 68:38; HLA-B\*18:19, 35:193,37:04,40:303,51:69,51:169; HLA-C\*04:39,06:40,07:93,12:149,15:73; HLA-DRB1\*11:12:02, 11:149, 13:14:02; HLA-DQB1\*03:27 was detected.

It is argued that many novel mutant HLA alleles have epidemiologically significant roles. Although the new alleles occur at low frequency in the population, they potentially make an important contribution to defense against pathogens.

Keywords: Next Generation Sequencing, Rare Allele, HLA

<sup>1</sup>Istanbul University, Istanbul Medical Faculty, Department of Medical Biology.

<sup>2</sup>Istanbul Demiroglu Bilim University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology.

<sup>3</sup>Kadir Has University, Faculty of Medicine, Department of Bioinformatics and Genetics.

## Vazoaktif İntestinal Peptidin MPTP, Hidrojen Peroksit ve Mikroglial Sekretomun Toksik Etkilerine Karşı Nöronal Hücreler Üzerindeki Koruyucu Rolü

Azize Yasemin Göksu Erol<sup>1,2</sup>  
 Ersin Akıncı<sup>3,4</sup>  
 Fatma Gonca Koçancı<sup>5</sup>  
 Devrim Demir-Dora<sup>1,6</sup>  
 Fatma Akçakale<sup>7</sup>  
 Hamit Yaşar Ellidağ<sup>8</sup>  
 Zeynep Hilal Durkaya<sup>1</sup>  
 Salih Şanlıoğlu<sup>1</sup>  
 Hilmi Uysal<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Gen ve Hücre Tedavisi Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.

<sup>3</sup>Brigham ve Kadın Hastanesi, Genetik Bölümü, Harvard Tıp Okulu, Boston, MA, ABD.

<sup>4</sup>Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Antalya, Türkiye.

<sup>5</sup>Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Bölümü, Alanya/Antalya, Türkiye.

<sup>6</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.

<sup>7</sup>Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Antalya, Türkiye.

<sup>8</sup>Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.

<sup>9</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.

### ÖZET

Vazoaktif İntestinal Peptid (VIP), 28 amino asitli bir nöropeptid olup antioksidan özelliğe sahiptir. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, nörodejeneratif hastalıkların gelişiminde oksidatif stresin önemini ve VIP'nin bu tür hastalıklarda potansiyel terapötik bir etkisinin olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda, insan SH-SY5Y dopaminerjik nöroblastoma hücreleri 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve mikroglial koşullandırılmış ortam [conditioned media (CM)] olmak üzere üç toksik uyarıcı ile muamele edilerek in vitro nörodejeneratif modeller oluşturuldu. İlk olarak, mikroglia deneyleri ile yüksek nitrik oksit içeriğine sahip olan nörotoksik Mikroglial CM belirlendi. İkinci olarak, in vitro modelimizde kullanılmak üzere farklı dozlarda MPTP ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile hücre canlılığı için doz titrasyon deneyleri uygulandı. SH-SY5Y hücrelerinin retinoik asit muamelesi ile nöron benzeri (d)-SH-SY5Y hücelere farklılaştırılmasının ardından; MPTP, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve mikroglial CM kültür grupları oluşturuldu ve bu grupların üzerinde sentetik-VIP muamelesinin etkileri incelendi. Hücre sağkalım oranlarını saptamak için MTT testi kullanıldı ve bu sonuçlar morfolojik ve apoptotik hücre analizi ile desteklendi. (d)-SH-SY5Y hücrelerinin süpernatantlarındaki anti-inflamatuar bir sitokin olan Dönüştürücü Büyüme Faktörü [Transforming Growth Factor (TGF)]-β1 seviyeleri ve toplam oksidan kapasite/toplam antioksidan kapasiteleri, sırasıyla ELISA ve spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda, VIP'nin, nörotoksin-MPTP, oksidan-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve mikroglial sekretomun toksik etkilerini inhibe ettiği gözlenmiştir. VIP'nin inflammatuar mediyatörler ve oksidatif stres üzerindeki etkileri ile hücre proliferasyonuna olan katkıları, VIP-ilişkili nöronal canlılık artışı için önemli faktörler olarak görünmektedir. Çalışmamız, VIP'nin nörodejenerasyona karşı umut verici bir farmakoterapötik ajan olabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mikroglia, Oksidatif Stres, SH-SY5Y hücreleri, Nörodejenerasyon, Vazoaktif İntestinal Peptid

## The Protective Role of Vasoactive Intestinal Peptide on Neuronal Cells Against Toxic Effects of MPTP, Hydrogen Peroxide, and Microglial Secretome

Azize Yasemin Göksu Erol<sup>1,2</sup>

Ersin Akıncı<sup>3,4</sup>

Fatma Gonca Koçancı<sup>5</sup>

Devrim Demir-Dora<sup>1,6</sup>

Fatma Akçakale<sup>7</sup>

Hamit Yaşar Ellidağ<sup>8</sup>

Zeynep Hilal Durkaya<sup>1</sup>

Salih Şanlıoğlu<sup>1</sup>

Hilmi Uysal<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz University, Department of Gene and Cell Therapy, Antalya, Turkey.

<sup>2</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Antalya, Turkey.

<sup>3</sup>Brigham and Women's Hospital, Division of Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA, USA.

<sup>4</sup>Akdeniz University, Faculty of Agriculture, Department of Biotechnology, Antalya, Turkey.

<sup>5</sup>Alanya Alaaddin Keykubat University, Vocational High School of Health Services, Department of Medical Laboratory Techniques, Alanya/Antalya, Turkey.

<sup>6</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology, Antalya, Turkey.

<sup>7</sup>Akdeniz University, Faculty of Agriculture, Department of Biotechnology, Antalya, Turkey.

<sup>8</sup>Antalya Education and Research Hospital, Division of Biochemistry, Antalya, Turkey.

<sup>9</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Neurology, Antalya, Turkey.

### ABSTRACT

Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) is a 28 amino acid neuropeptide which has antioxidant property. Recent studies provided evidence for the influence of oxidative stress on the development of neurodegenerative diseases, and the potential therapeutic effects of VIP in such diseases. In our study, in vitro neurodegenerative models were formed by treating 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), and microglial conditioned media (CM), on human SH-SY5Y dopaminergic neuroblastoma cells. Firstly, microglial CM that exerts neurotoxic effect with high nitric oxide content was determined by microglial experiments. Secondly, a dose titration assay for cell viability was applied with different doses of MPTP and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in order to use in our in vitro model. Following differentiation of SH-SY5Y cells into neuron-like (d)-SH-SY5Y cells with retinoic acid treatment, culture groups were formed according to MPTP, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and microglial CM application to test the effects of synthetic-VIP treatments. MTT assay was used to detect cell survival rates, which was supported by morphological and apoptotic cell analysis. Anti-inflammatory Transforming Growth Factor (TGF)-β1 levels and the total oxidant capacity/total antioxidant capacity in (d)-SH-SY5Y cell supernatants were measured with ELISA and using a spectrophotometer, respectively. Our study results indicated that VIP, when applied on neuronal cells, can effectively inhibit the toxic effects of neurotoxin-MPTP, oxidant-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and microglial secretome. Modulatory effects of VIP on inflammatory mediators and oxidative stress besides its contribution to cell proliferation seem to be important factors that account for the increased neuronal viability. Our study indicates that VIP can be a promising pharmacotherapeutic agent against neurodegeneration.

Keywords: Microglia, Oxidative Stress, SH-SY5Y cells, Neurodegeneration, Vasoactive Intestinal Peptide

## Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Genetik Olmayan Osimertinib Direnç Mekanizmalarının CRISPR Tarama Aracılı Araştırılması

Bengisu Uluata Dayanç<sup>1</sup>  
Sude Eriş<sup>3</sup>  
Ece Çakıroğlu<sup>1</sup>  
Fatma Aybüke Mazı<sup>1</sup>  
Özlem Şilan Coşkun<sup>1</sup>  
Dilara Demirci<sup>2</sup>  
Gökhan Karakülah<sup>1</sup>  
Şerif Şentürk<sup>1</sup>

### ÖZET

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) tüm akciğer kanseri vakalarının %85'ini oluşturan en yaygın ve ölümcül kanserdir. KHDAK adenokarsinomlarında varsayılan kanser öncü mekanizmaları, farklı tirozin kinaz inhibitörleri (TKi) tarafından hedeflenebilen EGFR mutasyonlarını içerir. Üçüncü jenerasyon EGFR-TKi, Osimertinib, ileri seviye hastalarda birinci basamak tedavi olarak kullanım onayı almıştır. EGFR-TKi tedavilerinde karşılaşılan en büyük engel kaçınılmaz direnç gelişimidir. Genetik olmayan edinsel direnci harekete geçiren epigenetik ve transkripsiyonel mekanizmalar iyi bilinmemektedir. Çalışmamızda, epigenetik ve transkripsiyonel düzenleyicilerin EGFR yolağı ile potansiyel olarak ilaçla hedeflenebilen sentetik letal etkileşimlerini belirlemek için yüksek-çıkıtlı metodolojiler (CRISPR-Cas9 tarama ve RNA dizileme) kullanılmaktadır.

Bu amaçla, öncelikle IC50 değeri 3 µM'dan yüksek olan EGFR-mutant HCC827 hücre hattının Osimertinib dirençli alt hattı (HCC827-OsiR) geliştirilmiştir. Beklenildiği gibi, HCC827-OsiR hücreleri de diğer EGFR-TKi'lere dirençlidir. Ayrıca literatürle paralel olarak HCC827-OsiR hücrelerinde EGFR fosforilasyonunun azaldığı, AKT, ERK ve STAT3 sinyallerinin de arttığı bulunmuştur. Edinsel direncin genetik olmayan öncülerini belirlemek amacıyla devam eden CRISPR tarama deneyleri için epigenetik ve transkripsiyonel düzenleyicilerle zenginleştirilmiş bir gRNA kütüphanesi geliştirilmiştir. Ortogonal bir yaklaşımla (RNA-dizileme), atasal HCC827 ve HCC827-OsiR hücrelerinin transkriptom profilleri karşılaştırılmıştır. Literatürle paralel şekilde HCC827-OsiR hücrelerinde epitelyal-mezenkimal dönüşüm (EMT) markörlerinin ve aynı zamanda FGFR mekanizmasının ekspresyonu oldukça yüksektir. RNA-dizileme verileri ayrıca, dirençteki potansiyel rollerini düşündüren birkaç önemli epigenetik ve transkripsiyonel faktörün farklı ekspresyonunu ortaya çıkarmıştır.

Son olarak bu çalışma, genetik olmayan Osimertinib direnç mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasını sağlayacak ve potansiyel terapötik yaklaşımların ortaya çıkmasına yardımcı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Osimertinib, ilaç direnci, sentetik letalite, CRISPR-Cas9 tarama

<sup>1</sup>İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, Dokuz Eylül Üniversitesi, Genom Bilimleri ve Moleküler Biyoteknoloji ABD, İzmir, Türkiye; İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye.

<sup>2</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir, Türkiye.

<sup>3</sup>Kadir Has Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.

## Investigating Non-Genetic Osimertinib Resistance Mechanisms in Non-small Cell Lung Cancer Using Focused CRISPR Screen

Bengisu Uluata Dayanç<sup>1</sup>

Sude Eriş<sup>3</sup>

Ece Çakıroğlu<sup>1</sup>

Fatma Aybüke Mazı<sup>1</sup>

Özlem Şılan Coşkun<sup>1</sup>

Dilara Demirci<sup>2</sup>

Gökhan Karakülah<sup>1</sup>

Şerif Şentürk<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is the most prevalent and detrimental cancer, accounting for 85% of all lung cancer cases. Putative cancer driving mechanisms in NSCLC adenocarcinomas include EGFR mutations, which can be targeted by tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Recently, third generation EGFR-TKI (Osimertinib) has been approved for clinical use in the first-line treatment of advanced NSCLC. The long-standing obstacle in EGFR-TKI treatments, including Osimertinib, is the inevitable resistance. Epigenetic and transcriptional mechanisms driving non-genetic acquired resistance are ill-known. In this study, we utilize high-throughput methodologies (focused CRISPR screen and RNA-seq) to identify potentially druggable synthetic lethal interactions of non-genetic regulators with EGFR pathway.

To this end, we developed an Osimertinib resistant (OsiR) cell model based on the EGFR mutant HCC827 cell line, with >1000-fold increase in the original IC50 value. As expected, HCC827-OsiR cells were resistant to other EGFR-TKIs. When compared to parental cells, HCC827-OsiR cells displayed reduced phosphorylation of the EGFR, while AKT, ERK and STAT3 signaling was augmented. To identify non-genetic drivers, we developed a gRNA library enriched for epigenetic and transcriptional factors for ongoing CRISPR screen experiments. We compared the transcriptomes of parental HCC827 and HCC827-OsiR cells. In summary, OsiR cells were enriched with EMT gene signatures paralleled by an upregulation of FGFR pathway components, showing consistency with the literature. RNA-seq data further revealed differential expression of several key epigenetic and transcriptional factors further implying their potential role in the resistance.

Future studies will help better understand non-genetic mechanisms of Osimertinib resistance with potential therapeutic implications.

Keywords: Osimertinib, drug resistance, synthetic lethality, CRISPR-Cas9 screen

<sup>1</sup>Izmir International Biomedicine and Genome Institute, Dokuz Eylul University, Genomics and Molecular Biotechnology, Izmir, Turkey; Izmir Biomedicine and Genome Center, Izmir, Turkey.

<sup>2</sup>Izmir Biomedicine and Genome Center, Izmir, Turkey.

<sup>3</sup>Kadir Has University, Istanbul, Turkey.



## Hiperlipidemi ve Hiperglisemi Kaynaklı Oksidatif Stresin Endotel Disfonksiyonu Üzerine Etkileri

Cem Abidoğlu<sup>1</sup>  
Deniz Gücenmez<sup>1</sup>  
Meral Urhan Küçük<sup>2</sup>

### ÖZET

Çalışmamızda yüksek glukoz ve serbest yağ asidinin HUVEC hücrelerinde endotel difonksiyon oluşumuna etkisini araştırılması amaçlanmıştır.

Bunun için yüksek glukoz (HG) içeren besiyeri ile görece düşük glukoz (LG) içeren besiyerinde çoğaltılan HUVEC hücreler, palmitik aside (PA) maruz bırakılarak (24 saat), oksidatif stress oluşumu MDA ölçülerek, endotel disfonksiyonunda kilit rol oynayan eNOS, ET-1, VCAM-1, PAI-1, TNF-a, IL-6 gen ekspresyon düzeylerindeki değişimler real time PCR yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

Yüksek glukoz içeren besiyerinde çoğaltılan hücrelerde, kontrol grubuna göre; ET 1 0,25 mM PA grubunda 2,10 kat ( $p<0.05$ ); 0,5 mM PA grubunda 2,19 kat ( $p<0.05$ ); 1 mM PA grubunda 1,97 kat artmıştır ( $p<0.05$ ) eNOS ve VCAM-1 değişimler olmakla birlikte anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Benzer şekilde HG içeren besiyerinde çoğaltılan hücrelerin 0,25 mM PA grubunda, PAI-1 2,3 kat artış ( $p<0.01$ ); 0,5 mM PA grubunda IL6 0.18 düzeyinde azalma, TNFa 1,29 kat ( $p<0.01$ ) ve PAI-1 1,85 kat artış ( $p<0.05$ ); 1 mM PA grubunda IL-6 0.21 kat ( $p<0.01$ ) TNFa 0.49 kat ( $p<0.01$ ) azalma ve PAI-1 1,62 kat artış ( $p<0.01$ ) gözlenmiştir.

Çalışmamızda gözlenen ET-1, PAI-1 ve TNF-a gen ekspresyon düzeylerindeki artış, HUVEC hücrelerinde endotelyuma bağlı vazodilatasyonun bozulması ile karakterize edilen endotel disfonksiyonun oluştuğunu göstermiştir. Bu durumun, yüksek konsantrasyondaki glukozdan kaynaklı oksidatif stres artışı ve serbest yağ asidi ile uyarılan inflamasyondan kaynaklanmış olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Endotel disfonksiyon, oksidatif stres, HUVEC, hiperlipidemi, hiperglisemi

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniveristesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyokimya ve Genetik Proramı, Hatay.

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniveristesi, Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Hatay.

## Effects of Hyperlipidemia and Hyperglycaemia-Induced Oxidative Stress on Endothelial Dysfunction

Cem Abidoğlu<sup>1</sup>  
Deniz Gücenmez<sup>1</sup>  
Meral Urhan Küçük<sup>2</sup>

### ABSTRACT

In our study, it was aimed to investigate the effect of high glucose and free fatty acid on the formation of endothelial dysfunction in HUVEC cells.

HUVEC cells grown in medium containing high glucose (HG) and medium containing relatively low glucose (LG) were exposed to palmitic acid (PA) (24 hours). Then oxidative stress formation was determined by measuring MDA levels, and eNOS, ET-1, VCAM-1, PAI-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 gene expression levels, which play an important role in the endothelial dysfunction, were detected using real time PCR.

Compared to the control group, in cells grown in a medium containing high glucose; ET 1 increased 2.10-fold in the 0.25 mM PA group; 2.19 fold in the 0.5 mM PA group; 1.97 fold in the 1 mM PA group ( $p < 0.05$ ), although there were changes in eNOS and VCAM-1, no significant difference was observed. Similarly, in cells grown in a medium containing HG, PAI-1 increased 2.3 fold in the 0.25 mM PA group; IL6 decreased 0.18fold, TNF $\alpha$  1.29 fold and PAI-1 1.85fold increase in 0.5 mM PA group; IL-6 0.21-fold, TNF $\alpha$  0.49-fold decreasing and PAI-1 increasing 1.62-fold in the 1 mM PA group was observed ( $p < 0.01$ ).

In our study ET-1, PAI-1 and TNF- $\alpha$  gene expression levels were observed to increase showed that endothelial dysfunction, which is characterized by disruption of endothelium-dependent vasodilation, occurs in HUVEC cells. It was concluded that this may be due to the increase in oxidative stress caused by high concentration of glucose and inflammation induced by FFA.

Keywords: Endothelial dysfunction, oxidative stress, HUVEC, hyperlipidemia, hyperglycemia

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Health Sciences Institute, Molecular Biochemistry and Genetics, Hatay.

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Tayfur Ata Sökmen Medicine Faculty, Department of Medical Biology, Hatay.

## Hedefe yönelik tedavi seçimi için üçlü negatif meme kanseri alt tiplerinden luminal androjen reseptörü (LAR) alt tipinin belirlenmesi

Havva Tezcan Ünlü<sup>1</sup>  
Ufuk Ünal<sup>1</sup>  
Gülşah Çeçener<sup>1</sup>  
Hülya Öztürk Nazlıoğlu<sup>2</sup>  
Ecem Efendi Erdem<sup>1</sup>  
Ünal Egeli<sup>1</sup>  
Kazım Şenol<sup>3</sup>  
Mustafa Şehsuvar Gökgöz<sup>3</sup>

### ÖZET

Üçlü negatif meme kanseri (ÜNMK); kötü prognoz gösteren, yüksek histolojik evreye sahip, invazyon riski yüksek, sağkalım oranı düşük ve gen ekspresyon analizleri ile farklı moleküler alt tiplere sınıflandırılabilen heterojen bir hastalıktır. Östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) ekspresyonunun yokluğunun yanı sıra HER2 eksikliği ile de karakterize olan ÜNMK; bazal benzeri, immünomodülatör, mezenkimal, mezenkimal kök benzeri ve luminal androjen reseptörü (LAR) alt tipinden oluşmaktadır. Androjen reseptörünün (AR) ÜNMK'de prognostik/prediktif bir biyobelirteç olarak rolünün ortaya konulduğu çalışmalar kısıtlıdır, ancak artan kanıtlar, bu alt grubun AR'ı hedef alan terapötik ajanlarla tedavi edilebileceğini göstermektedir. Mevcut çalışmada, LAR alt tipinin belirlenmesi ile hedefli anti-androjen tedavisi alabilecek ileri evre ÜNMK hastalarının belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışma kapsamında, 45 ÜNMK hastasının parafinize edilmiş tümör dokuları ile normal dokularındaki ER, PR, HER2 ve AR gen ekspresyon seviyeleri RT-PCR yöntemi ile araştırıldı. Gerçekleştirilen ekspresyon analizi sonucunda, AR pozitif (AR+) ÜNMK'yi tanımlamak için ROC eğrisi analizi ile AR eşik değeri belirlendi (AUC=0.1248 (95% CI: 0.5416 - 0.8532, p<0.012), %77.8 duyarlılık ve %61.1 özgüllük). Hastaların tümör ve normal dokularına ait gen ifade farklılıkları karşılaştırıldığında, AR'da 2,46 kat artma (p=0.013), ER'de -1.98 kat azalma (p=0.025) PR'de -1,46 kat azalma (p=0.007) ve HER2 ekspresyonunda -1.96 kat azalma (p=0.032) olduğu belirlendi. Elde edilen ifade farklılıkları ile hastaların klinikopatolojik verileri karşılaştırıldığında; aksiller lenf nodu metastazının AR+'de, AR- ÜNMK'ya göre daha fazla olduğu belirlendi (p=0.041). Elde edilen bulgular popülasyonumuzdaki ÜNMK hastalarının tümörjenezindeki AR rolüne ışık tutmaktadır. Gerçekleştirilecek kapsamlı çalışmalar, rutin klinik pratikte ve hedefli tedavi protokollerinin düzenlenmesine fayda sağlayabilir.

<sup>1</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.

<sup>2</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.

<sup>3</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından HDP(T)-2020/30 no'lu proje ile desteklenmiştir. Yazar Havva Tezcan Ünlü, Moleküler Onkoloji alanında 100/2000 Yükseköğretim Kurulu (YÖK) doktora bursiyeridir.

Anahtar Kelimeler: AR ekspresyonu, LAR alt tipi, Moleküler Sınıflandırma, ÜNMK

## Identification of the luminal androgen receptor (LAR), a subtype of triple-negative breast cancer, for targeted therapy selection

Havva Tezcan Ünlü<sup>1</sup>  
Ufuk Ünal<sup>1</sup>  
Gülşah Çeçener<sup>1</sup>  
Hülya Öztürk Nazlıoğlu<sup>2</sup>  
Ecem Efendi Erdem<sup>1</sup>  
Ünal Egeli<sup>1</sup>  
Kazım Şenol<sup>3</sup>  
Mustafa Şehsuvar Gökgöz<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Triple negative breast cancer (TNBC) is a heterogeneous disease with a poor prognosis. TNBC, which is characterized by the absence of ER and PR expression as well as HER2 deficiency; consists of basal-like, immunomodulatory, mesenchymal, mesenchymal stem-like and luminal androgen receptor subtypes. Studies demonstrating the role of the androgen receptor (AR) in TNBC are limited. In the current study, it was aimed to identify patients with advanced TNBC who could receive targeted anti-androgen therapy by determining the LAR subtype. Within the scope of the study, ER, PR, HER2 and AR gene expression levels in paraffinized tumor and normal tissues of 45 TNBC patients were investigated by RT-PCR method. As a result of the expression analysis performed, the AR cut-off value was determined by ROC-curve analysis to identify AR positive TNBC (AUC=0.1248 (95% CI:0.5416-0.8532, p<0.012), 77.8% sensitivity and 61.1% specificity). The gene expression differences of the tumor and normal tissues of the patients were compared. 2.46 fold increase in AR (p=0.013), -1.98 fold decrease in ER (p=0.025), -1.46 fold decrease in PR (p=0.007) and -1.96 fold decrease in HER2 expression (p=0.032) was determined. When the obtained expression differences were compared with the clinicopathological data of the patients; axillary lymph node metastasis was found to be higher in AR+ than in AR- TNBC (p=0.041). The findings shed light on the role of AR in the tumorigenesis of TNBC patients in our population. Comprehensive studies to be carried out may be beneficial in routine clinical practice and in the regulation of targeted therapy protocols.

This study was supported by a grant from the Scientific Research Projects Foundation of the Bursa Uludag University, Bursa, Turkey [Project No: HDP(T)-2020/30]. Author Havva Tezcan Unlu is a 100/2000 The Council of Higher Education (CoHE) PhD scholar in Molecular Oncology.

Keywords: AR expression, LAR subtype, Molecular Classification, TNBC

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University, Bursa, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Medical Pathology, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University, Bursa, Turkey.

<sup>3</sup>Department of General Surgery, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University, Bursa, Turkey.

## Miyeloid maligniteli hastalarda TET2 gen varyasyonları

Aynur Dağlar Aday1  
Sema Sırma Ekmekçi2  
Ayşe Gül Bayrak1  
Kıvanç Çefle1  
Şükrü Öztürk1  
Meliha Nalçacı3  
Şükrü Palanduz1

### ÖZET

Miyeloid maligniteler hematopoietik kök hücrelerin ve miyeloid progenitör hücrelerin aşırı çoğalması ile karakterize klonal hematopoetik bozukluklardır. Bunlar arasında miyeloproliferatif neoplaziler (MPN'ler), miyelodisplastik sendrom (MDS) ve akut miyeloid lösemi (AML) sayılabilir. Bu bozukluklar hematopoetik kök hücrelerdeki genetik ve epigenetik değişikliklerin sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmanın amacı, hastalarda miyeloid maligniteye neden olan olası gen varyantlarının araştırılmasıdır.

13 MDS, 13 AML ve 4 miyelofibröz (MF) ön tanılı/tanılı 30 hastanın kemik iliği örneğinde Illumina NexSeq platformunda hedefe yönelik yeni nesil dizi (YND) analizi yapılmıştır. Çalışılan miyeloid panel (Myeloid Solution, Sophia Genetics), MDS, miyeloproliferatif neoplaziler ve lösemiler ile klinik olarak en fazla ilişkilendirilmiş 30 gene ait hotspot bölgeleri ( $\pm 25$  bp'lik ekzon komşu bölgeleri de dahil) kapsamaktadır.

YND sonucunda elde edilen veriler, Ten-Eleven Translocation 2 (TET2) geni varyantları açısından değerlendirildiğinde üç yanlış anlamlı varyantın (rs34402524 (10/30), rs61744960 (3/30), rs1197479219 (2/30)) hastalarda sıklığı veri tabanlarında (gnomAD, ExAC ve 1000 Genomes) bildirilen sıklıklarına göre yüksek oranda bulunmuştur. Hastalarda bu üç varyantın varyant allel frekansı (VAF) %50 civarında bulunmuş olup, hastaların bu varyantları germ-line olarak heterozigot olarak taşıdıkları tahmin edilmektedir.

TET2 genindeki bazı mutasyonların nadir germ-line yatkınlık alleli olarak bulunabileceği bildirilmiştir. Daha önce bildirilmemiş bu varyantların (rs34402524, rs61744960, rs1197479219) yatkınlık alleli olabileceği düşünülmektedir. Miyeloid malignitelere yatkınlık oluşturabilecek allellerin tespiti bu bireylerin düzenli takibinin sağlanması açısından önem taşımaktadır. MF, MDS ve AML'de yüksek sıklıkta bulduğumuz TET2 genindeki bu varyantların yatkınlık alleli olup olmadığının belirlenmesi için daha büyük hasta sayısına sahip hasta ve sağlıklı kontrol gruplarında araştırılarak Türk toplumundaki sıklığının araştırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: TET2, varyant, miyeloid malignite

<sup>1</sup>Istanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Bilim Dalı.

<sup>2</sup>Istanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Tıbbi Genetik Bilim Dalı.

<sup>3</sup>Istanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı.

## TET2 gene variations in patients with myeloid malignancies

Aynur Dağlar Aday1  
Sema Sırma Ekmekçi2  
Ayşe Gül Bayrak1  
Kıvanç Çefle1  
Şükrü Öztürk1  
Meliha Nalçacı3  
Şükrü Palanduz1

<sup>1</sup>Istanbul University, Istanbul Medical Faculty,  
Department of Internal Medicine, Division of Medical  
Genetics.

<sup>2</sup>Istanbul University, Aziz Sancar Institute for  
Experimental Medicine, Department of Genetics.

<sup>3</sup>Istanbul University, Istanbul Medical Faculty,  
Department of Internal Medicine, Division of  
Hematology.

### ABSTRACT

Myeloid malignancies are clonal hematopoietic disorders characterized by excessive proliferation of hematopoietic stem cells (HSCs) and myeloid progenitor cells. Myeloid malignancies, include myeloproliferative neoplasms (MPNs), myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML), which arise as a result of genetic and epigenetic changes in HSCs. The aim of this study is to investigate possible gene variants that cause myeloid malignancy in patients.

Targeted next generation sequencing (NGS) analysis was performed on Illumina NexSeq platform in bone marrow samples of 30 patients prediagnosed/diagnosed as 13 MDS, 13 AML and 4 myelofibrosis (MF). The myeloid panel studied (Myeloid Solution, Sophia Genetics) included hotspot regions (including exon flanking regions of  $\pm 25$  bp) of the 30 genes most clinically associated with MDS, MPNs, and leukemias.

When the data obtained as a result of NGS were evaluated in terms of Ten-Eleven Translocation 2 (TET2) variants, the frequency of three missense variants (rs34402524(10/30), rs61744960(3/30), rs1197479219(2/30)) in patients were found to be higher than the frequencies reported in databases (gnomAD, ExAC and 1000 Genomes). The variant allele frequency (VAF) of these three variants were found to be around 50% in the patients, and it is estimated that the patients carry these variants as germ-line heterozygous.

Detection of alleles that may predispose to myeloid malignancies is important for regular follow-up of these individuals. In order to determine whether these variants in the TET2 gene, which we find with a high frequency in MF, MDS and AML, are susceptibility alleles, their frequency in the Turkish population should be investigated in patients with larger patient numbers and healthy control groups.

Keywords: TET2, variant, myeloid malignancy

## 4T1 meme kanseri hücre hattında capecitabine ve mocetinostatın kombine uygulanmasının Pten/PI3K/Akt sinyal yolağı üzerine etkisinin araştırılması

Hacer Kaya Cakir  
Onur Eroglu

### ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Capecitabine ve Mocetinostatın (histon deasetilaz inhibitörü) tekli uygulaması ile düşük dozlarda kombine uygulamasının 4T1 meme kanseri hücre hattında etkilerini karşılaştırmak ve değerlendirmektir.

Mocetinostat ve Capecitabine'nin 4T1 hücre hattında konsantrasyona bağlı hücre canlılığı üzerine etkilerinin incelenmesi amacıyla MTT analizi uygulanmıştır. 4T1 hücrelerinin morfolojilerini ve hücre göçlerini incelemek için hücreler kontrol grubu, Mocetinostat, Capecitabine uygulanan grup ve Capecitabine +Mocetinostat uygulanan grup olarak ayrılmış ve hücrelerin zamana bağlı değişimleri (24s, 48s, 72s) inverted mikroskopta incelenmiştir. Akt, PI3K, Pten protein değişimleri Western blot analizi ile değerlendirilmiştir

MTT sonuçlarına göre 4T1 meme kanseri hücreleri üzerindeki 48 saatteki IC50 değerleri Capecitabine 1700 µM, Mocetinostat 3,125 µM, Capecitabine +Mocetinostat 1,5 µM +50 µM olarak bulunmuştur. 4T1 hücrelerine ilaç uygulamasıyla birlikte hücre sayısında azalma, hücre boyutunda küçülme ve hücre uzantılarını kaybederek yuvarlak bir şekle dönüşmesi gözlenmiştir.48 saatte yara genişliği kontrol grubu 456,05 µm, Capecitabine 866,50 µm, Mocetinostat 825,17µm, Capecitabine+Mocetinostat 856,14 µm olarak kaydedilmiş ve ilaç uygulanan gruplardaki hücre göç hızı kontrol grubuna göre azalmış ve yara genişliği artmıştır. Akt, PI3K proteinlerinin ekspresyon seviyesinin azaldığını ve Pten protein ekspresyonunun arttığı gözlemlenmiştir.

Elde ettiğimiz veriler neticesinde Capecitabine ve Mocetinostatın düşük dozda kombine uygulanması Pten ekspresyon seviyesini arttırdığı ve PI3K/Akt sinyal yolunun aktivitesini inhibe ederek hücre proliferasyonunu azalttığı gözlenmiştir.

Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Bilecik.

Anahtar Kelimeler: Capecitabine, meme kanseri, mocetinostat, PI3K, Pten

## The effect of combined therapy capecitabine and mocetinostat on PTEN/PI3K/AKT signaling pathway in 4T1 breast cancer cell line

Hacer Kaya Cakir  
Onur Eroglu

### ABSTRACT

The aim of this study is to compare and evaluate the effects of single administration of Capecitabine and Mocetinostat (histone deacetylase inhibitor) and their combined application at low doses on the 4T1 breast cancer cell line.

MTT analysis was applied to examine the effects of Mocetinostat and Capecitabine on concentration-dependent cell viability in 4T1 cell line. The time-dependent changes (24h, 48h, 72h) of the control group, Mocetinostat, Capecitabine treatment group, and Capecitabine + Mocetinostat group were studied under an inverted microscope to examine the morphology and cell migration of 4T1 cells. Akt, PI3K, Pten protein changes were evaluated by Western blot analysis.

According to MTT results, IC<sub>50</sub> values on 4T1 breast cancer cells at 48 hours were found as Capecitabine 1700  $\mu$ M, Mocetinostat 3.125  $\mu$ M, Capecitabine + Mocetinostat 1.5  $\mu$ M +50  $\mu$ M. Decrease in cell number, decrease in cell size and loss of cell extensions and turning into a round shape were observed after drug application. Wound width in 48 hours was recorded as 456.05  $\mu$ m in the control group, Capecitabine 866.50  $\mu$ m, Mocetinostat 825.17  $\mu$ m, Capecitabine + Mocetinostat 856.14  $\mu$ m. The cell migration rate in the drug-administered groups decreased compared to the control group and the wound width increased. It was observed that the expression level of Akt, PI3K, proteins decreased and Pten protein expression increased.

As a result of the data we obtained, the combination application of Capecitabine and Mocetinostat lower concentration reduced 4T1 cell survival and proliferation. Additionally, high expression of Pten inhibit the activity of PI3K/Akt pathway to suppressed cell proliferation.

Keywords: breast cancer, capecitabine, mocetinostat, PI3K, Pten

Bilecik Seyh Edebali University, Faculty of Science and Letters, Department of Molecular Biology and Genetics, Bilecik, Turkey.



## Bir antibiyotik olarak tiostreptonun üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde toll benzeri reseptör ekspresyonu üzerindeki etkilerinin in vitro olarak belirlenmesi

Funda Demirtaş Korkmaz<sup>1</sup>  
Asuman Deveci Özkan<sup>2</sup>  
Zekeriya Düzgün<sup>1</sup>

### ÖZET

Toll-like reseptörler (TLR'ler) patern tanıma reseptörleridir ve çok sayıda tümör hücresinde tümörjenez, apoptoz ve metastazda önemli bir rol oynamaktadır. Üçlü negatif meme kanseri (TNBC) en sık görülen malign tümörlerden biridir ve en kötü prognoza sahiptir. TLR'ler ve meme kanseri arasındaki ilişki tam olarak araştırılmamış olmasına rağmen, son yıllarda TNBC'de TLR'leri hedeflemenin önemi tartışılmaktadır. Bir antibiyotik olan Thiostrepton (THIO) psoriatik inflamasyonda yeni bir TLR7-9 inhibitörü olarak gösterilmiştir. Bu kapsamda bu çalışmanın amacı, MDA-MB-231 hücrelerinde THIO'nun TLR3, TLR4 ve TLR9 ekspresyonu üzerindeki etkisini in vitro olarak ilk kez araştırmaktır.

THIO'nun sitotoksik etkisi MTT analizi ile belirlenmiştir. TLR3, TLR4, TLR9, Bax, Bcl-2, Nf-kB, DNAPKc ve E-kaderin gen ekspresyon seviyeleri RT-PCR analizi ile değerlendirilmiştir. Hücre morfolojisi, Akridin Oranj/Ethidium Bromide (AO/EtBr) boyaması ile gözlemlenmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre THIO doza ve zamana bağlı olarak hücre canlılığını azaltmaktadır. THIO, TLR4, TLR9, Bcl-2 ve E-kaderin ifadesini (sırasıyla 0.29-, 0.61-, 0.23- ve 0.63- kat) baskımlarken, TLR3, DNAPKc, Bax ve Nf-kB ifadesini (sırasıyla 2.19-, 6.39-, 3.17- ve 2.87- kat) arttırmaktadır. Ayrıca THIO, hücre morfolojisini apoptotik anlamda değiştirmiştir.

Sonuç olarak, THIO, TLR3'e bağlı apoptozu ve TLR4 ve TLR9'a bağlı metastatik kapasiteyi düzenleyebilir ancak TNBC'de TLR'lerin THIO tarafından aktivasyonunun veya inhibisyonunun moleküler mekanizmasını değerlendirmek için daha fazla in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, Gen ifadesi, Meme Kanseri, Toll benzeri reseptörler

<sup>1</sup>Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Giresun, Türkiye.

<sup>2</sup>Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Sakarya, Türkiye.

## In vitro determination of the effects of thioestrepton, as an antibiotic, on toll like receptor expression in triple negative breast cancer cells

Funda Demirtaş Korkmaz<sup>1</sup>  
Asuman Deveci Özkan<sup>2</sup>  
Zekeriya Düzgün<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Toll-like receptors (TLRs) are pattern recognition receptors and play an important role in tumorigenesis, apoptosis, and metastasis in numerous tumor cells. Triple negative breast cancer (TNBC) is one of the most common malignant tumors and has the worst prognosis. Although the relationship between TLRs and breast cancer has not been fully investigated, the importance of targeting TLRs in TNBC has been discussed in recent years. Thioestrepton (THIO) as an antibiotic and a novel inhibitor of TLR7–9 in psoriatic inflammation. The purpose of this study was to investigate the effect of THIO on TLR3, TLR4 and TLR9 expression in triple negative breast cancer cell (MDA-MB-231) for the first time.

The cytotoxic effect of THIO was determined by MTT assay. Gene expression levels of TLR3, TLR4, TLR9, Bax, Bcl-2, Nf-kB, DNAPKc and E-cadherin was then evaluated by RT-PCR analysis. The cell morphology was observed by Acridine Orange/Ethidium Bromide staining (AO/EtBr).

Our results demonstrated that THIO was decreased the cell viability in a dose and time dependent manner. Also, THIO was inhibited the TLR4, TLR9, Bcl-2, and E-cadherin (0.29-, 0.61-, 0.23 and 0.63- fold, respectively) but increased the TLR3, DNAPKc, Bax and Nf-kB (2.19-, 6.39-, 3.17- and 2.87- fold, respectively) expression levels. Additionally, THIO changed the cell morphology in the sense of apoptosis.

In conclusion, THIO may regulate TLR3-dependent apoptosis and TLR4 and TLR9-dependent metastatic capacity. Further investigations should be performed to evaluate the molecular mechanism of TLRs activation or inhibition by THIO in TNBC in vitro and in vivo.

Keywords: Apoptosis, Breast cancer, Gene expression, Toll like receptors

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Giresun University, Giresun, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Sakarya University, Sakarya, Turkey.

## Fibromiyalji sendromlu hastalarda vasküler endotel disfonksiyonu ile ilişkili belirteçlerin serum düzeyleri nöropatik ağrı şikayetinin belirteci midir?

Özlem Balbaloğlu<sup>1</sup>  
Nihal İnandıklioğlu<sup>2</sup>

### ÖZET

Vasküler endotel disfonksiyonunun bileşenleri olan endokan, ET-1, IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  ve VEGF-A düzeylerinin fibromiyalji sendromlu hastalarda değerlendirilmesi ve ağrı/nöropatik ağrı şikayetleri ile ilişkisinin incelenmesi.

Çalışmaya 44 fibromiyalji sendromlu hasta ve aynı yaş grubundan premenopozal sağlıklı 44 kontrol dahil edildi. Fibromiyalji grubu ağrı süresi, Görsel Analog Skalası, Beck Depresyon Ölçeği, Beck Anksiyete Ölçeği, Fibromiyalji Etki Anketi ve Lanss Ağrı Skalası açısından değerlendirildi. Tüm katılımcıların serum endokan, ET-1 IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  ve VEGF-A seviyeleri ölçüldü.

Fibromiyalji sendromlu ve sağlıklı kadınların yaş ortalamaları sırasıyla  $38.49 \pm 5.04$ ,  $36.35 \pm 5.38$  yıl olarak saptandı. Fibromiyalji sendromlu hastalarda endokan, ET-1 IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  ve VEGF-A serum konsantrasyonları sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak daha yüksekti ( $p < 0.001$ ) ve birbiriyle pozitif korelasyon gösterdi. Lanss ağrı skoruna göre 44 hastanın 24'ünde nöropatik ağrı vardı. Korelasyonlar açısından değerlendirildiğinde ağrı/nöropatik ağrı ile endokan, ET-1 IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  ve VEGF-A düzeyleri arasında ilişki saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

Bu bulgular fibromiyaljinin patofizyolojisinde subklinik inflamasyon ve endotel disfonksiyonunun önemli rolünü desteklemektedir. Ancak ağrı ve nöropatik ağrı ile ilişkisi saptanamıştır.

Bu çalışma Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi (6602b-TF/19-301) tarafından finanse edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fibromiyalji Sendromu, Nöropatik Ağrı, Vasküler Endotel Bozukluğu

<sup>1</sup>Yozgat Bozok Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Yozgat.

<sup>2</sup>Yozgat Bozok Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yozgat.

## Are serum levels of markers associated with vascular endothelial dysfunction in patients with fibromyalgia syndrome indicator of neuropathic pain complaint?

Özlem Balbaloğlu<sup>1</sup>  
Nihal İnandıklioğlu<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Evaluation of endocan, ET-1, IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  and VEGF-A levels, which are components of vascular endothelial dysfunction, in patients with fibromyalgia syndrome and determination of their relationship with pain / neuropathic pain complaints.

Forty-four fibromyalgia syndrome patients and 44 age-matched premenopausal healthy controls were enrolled in the study. The fibromyalgia group was evaluated in terms of pain duration, Visual Analog Scale, Beck Depression Scale, Beck anxiety Scale, Fibromyalgia Impact Questionnaire, and Lanss pain Scale. Serum endocan, ET-1, IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  and VEGF-A levels all of participants were measured.

The mean age of females with FMS and healthy were (respectively)  $38.49 \pm 5.04$ ,  $36.35 \pm 5.38$  years. Serum concentrations of endocan, ET-1, IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  and VEGF-A were significantly greater in patients with fibromyalgia syndrome compared with healthy individuals ( $p < 0.001$ ) and positively correlated with each other. According to the Lanss pain score, 24 of 44 patients had neuropathic pain. When evaluated in terms of correlations, no relations were detected between pain/neuropathic pain and endocan, ET-1, IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  and VEGF-A levels ( $p > 0.05$ ).

These findings support the important role of subclinical inflammation and endothelial dysfunction in the pathophysiology of fibromyalgia. However, their relationship with pain and neuropathic pain has not been determined.

Keywords: Fibromyalgia Syndrome, Neuropathic Pain, Vascular Endothelial Dysfunction

<sup>1</sup>Department of Physical Medical and Rehabilitation, Faculty of Medicine, Yozgat Bozok University, Yozgat.

<sup>2</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Yozgat Bozok University, Yozgat.

## Beyin Kanseri Kök Hücrelerinde ve Sağlıklı Beyin Kök Hücrelerinde Yes-associated Protein 1 (YAP1) In Vitro İnhibisyonu: Ferroptozu İndükler ve Adhezyon, EMT ve Migrasyon özelliklerini baskılayarak glioblastoma ilerlemesini önler

Neslihan Pınar Özateş  
Cumhur Gündüz  
Çığır Biray Avcı

### ÖZET

Gelişim biyolojisinin anahtar modülatörü Hippo sinyal iletim yolağı, hücre çoğalması ve sağ kalımı, hareketlilik, köklülük ve farklılaşmayla ilgili transkripsiyonel süreçlerin kontrolünde rol alır ve yolağın disregülasyonu çok sayıda kanserle ilişkilendirildiğinden son zamanlarda önemli odak noktası olmuştur. Özellikle kök hücrelerin köklülük ve direnç mekanizmaları üzerinde etkili olabilecek çeşitli genetik/epigenetik aberasyonları barındıran Hippo yolağı ve transkripsiyonel regülatörleri YAP/TAZ kanser gibi birçok kronik hastalığın tedavi hedefi olma potansiyeli taşımaktadır.

Glioblastoma (GBM) yetişkinlerde en sık görülen ve en agresif primer beyin tümörüdür ve moleküler patogenezi ve potansiyel biyobelirteçleri kısmen tanımlanabilmesine rağmen GBM'de tedavi etkinliğinin artırılması hala önemli bir zorluktur.

Bu perspektifle glioblastomalarda aşırı eksprese olduğu bilinen YAP1'in alternatif tedavi hedefi olma potansiyelini belirleyebilmek amacıyla beyin kanser kök hücrelerinin (BKKH) ve sağlıklı beyin kök hücrelerinin (BKH) siRNA ve yeni geliştirilen YAP1 inhibitörü CA3 (CIL56) ile hedefli inhibisyonu sağlamış ve etkileri ileri moleküler analizlerle in vitro olarak araştırılmıştır.

Araştırma beyin kanser kök hücresi ve sağlıklı beyin kök hücresi üzerinde yürütülmüştür. Hücrelerde YAP1 inhibisyonu siRNA ile susturularak ve yeni geliştirilen YAP1 inhibitörü CA3 (CIL56) uygulanarak gerçekleştirilmiştir. İnhibisyonunun sebep olduğu sitotoksik ve apoptotik/ferroptotik özellikler belirlenerek, kanserin metastaz, invazyon ve migrasyon kabiliyeti ve hücre döngüsü üzerine etkileri in vitro olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca Hippo yolağı ve bağlantılı olduğu bilinen sinyal yollarındaki anahtar genlerin ekspresyon seviyesinde meydana gelen değişiklikler belirlenmiştir.

Çalışmanın bulguları Tablo1 ve Şekil1'de verilmiştir.

Elde ettiğimiz bulgularla CA3 (CIL56)'ün beyin kanseri kök hücrelerinde ferroptoz induksiyonu aracılığıyla kanser regresyonuna katkı sağlayacağını, glioblastoma tedavi protokollerinde yer alabilecek potansiyel bir ajan olabileceğini ve ileri moleküler ve klinik çalışmalar için önemli bir altyapı oluşturacağını öne sürmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Kök hücre, YAP1, Ferroptoz, Glioblastoma

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir.

## In Vitro Inhibition of Yes-associated Protein 1 (YAP1) in Brain Cancer Stem Cells and Healthy Brain Stem Cells: Induces ferroptosis and inhibits glioblastoma progression by suppressing Adhesion, EMT and Migration properties

Neslihan Pınar Özateş  
Cumhur Gündüz  
Çığır Biray Avcı

Ege University, Faculty of Medicine, Department of  
Medical Biology, Izmir.

### ABSTRACT

A key modulator of developmental biology, the Hippo signal transduction pathway is involved in the control of transcriptional processes related to cell proliferation and survival, motility, stemness, and differentiation, and its dysregulation of the pathway has been of major focus recently as it has been associated with numerous cancers. The Hippo pathway, which contains various genetic/epigenetic aberrations that may affect the stemness and resistance mechanisms of stem cells, and its transcriptional regulators YAP/TAZ, have the potential to be the treatment target of many chronic diseases such as cancer.

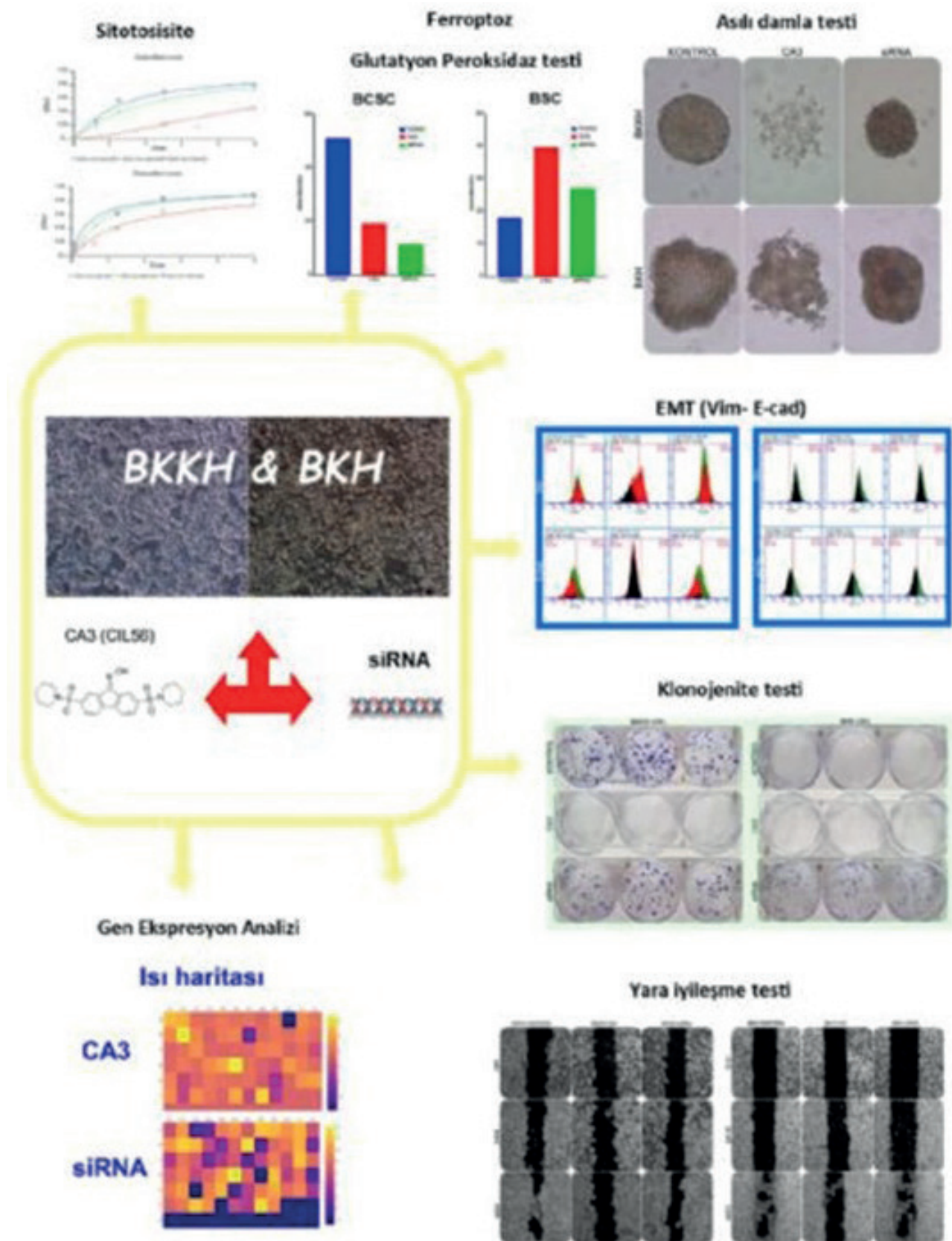
Glioblastoma (GBM) is the most common and most aggressive primary brain tumor in adults, and although its molecular pathogenesis and potential biomarkers have been partially identified, remains increasing treatment efficacy in GBM a major challenge.

With this perspective, in order to determine the potential of YAP1, which is known to be overexpressed in glioblastomas, to be an alternative treatment target, it provided targeted inhibition of brain cancer stem cells (BCSC) and healthy brain stem cells (BSC) with siRNA and the newly developed YAP1 inhibitor CA3(CIL56), and its effects were advanced molecular investigated by in vitro assays.

The findings of the study are given in Table 1 and Figure 1.

With our findings, we suggest that CA3 will contribute to cancer regression through the induction of ferroptosis in brain cancer stem cells, may be a potential agent that can be included in glioblastoma treatment protocols, and will form an important infrastructure for further molecular and clinical studies.

Keywords: Stem cell, YAP1, Ferroptosis, Glioblastoma



**Şekil 1.** Bulguların Şematik Özeti  
**Figure 1.** Schematic Summary of Findings

**Tablo 1.** Bulgular

Analiz	Kullanılan yöntem	Kullanılan kit ve cihazlar	Bulgular
Sitotoksosite	WST-1 testi	-The Premix WST-1 Cell Proliferation Assay System -Multiskan FC Thermo Scientific	BKKH CA3 IC50: 1.6 µM BKH CA3 IC50: 1.5 µM
Apoptoz	Annexin V Assay	-BD Pharmigen -BD Accuri C6 Cflow	Uygulamalar her iki hücre hattında da apoptoz açısından anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır.
Ferroptoz	Glutasyon Peroksidaz Assay	-Cayman -Thermo Scientific™ Varioskan™ LUX multimode microplate reader	CA3 IC50 ve YAP1 siRNA uygulanması Glutasyon Peroksidaz aktivitesini kontrole göre BKKH'inde azaltırken, BKH'inde artırır.
Hücre döngüsü analizi	Cell Cycle Assay	-BD Pharmigen -BD Accuri C6 Cflow	CA3 IC50 dozu ve YAP1 siRNA uygulanması her iki hücre hattının hücre döngüsünde herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır.
EMT	E-Cadherin/Vimentin	-Alexa Fluor® 647 anti-human CD324 (E-Cadherin) Antibody (Biolegend) -Alexa Fluor® 647 anti-Vimentin Antibody (Biolegend) -BD Accuri C6 Cflow	BKH'inde ise her iki uygulama protein oranlarını etkilememiştir. BKKH'inde siRNA kontrole göre belirgin bir etki göstermezken, CA3 IC50 dozu E-caderin ve Vimentin miktarını azaltır.
Klonojenik analiz	Clonogenic Assay	Franken ve ark., (2006) protokolü ile çalışılmıştır.	BKH'inde ise iki uygulama da belirgin bir fark yaratmamıştır. BKKH'nin klon oluşturma özelliğinde siRNA belirgin bir fark yaratmazken, CA3 IC50 dozu kontrole göre 12 kat azaltmıştır.
Asılı damla testi	Drop-handling assay	Foty R. (2011) protokolü ile çalışılmıştır.	BKH'inde ise iki uygulama da belirgin bir fark yaratmamıştır. BKKH'nin sphere oluşturma özelliğini siRNA belirgin bir fark yaratmazken, CA3 IC50 dozu kontrole göre 4 kat azaltmıştır.
Adezyon	Adhesion Assay	Chen (2012)'in protokolünden modifiye edilerek çalışılmıştır.	CA3 IC50 dozu BKKH ve BKH'inde adezyonu sırayla 6 kat ve 17 kat azaltırken, siRNA uygulaması etkilememiştir.
Yara İyileşme Testi	Wound-healing Assay	Lampugnani (1999) protokolü ile çalışılmıştır.	CA3 IC50 dozu ve siRNA uygulaması BKK'nin migrasyon kabiliyeti üzerinde belirgin bir etki göstermezken, CA3 IC50 dozu BKKH'lerinin migrasyon kabiliyetini kontrole göre 3 kat azaltmıştır.
İnvazyon	Colorimetric Invasion Assay	-CytoSelect™ -Multiskan FC Thermo Scientific	CA3 IC50 dozu ve YAP1 siRNA uygulanması her iki hücre hattının invaziv özelliğinde belirgin bir değişikliğe yol açmamıştır.
Gen Ekspresyonunun Analizi	qRT-PCR	-LightCycler® 480 System - Roche Life Science -GeneGlobe Data Analysis Center -QIAGEN	Hippo sinyal yolağında yer alan anahtar molekülleri, ferroptoz ilişkili molekülleri ve YAP/TEAD aracılı eksprese olan genleri içeren 66 genin ekspresyon seviyesi incelenmiştir.



**Table 1.** Results

Analysis	Method	Kits and advices	Results
Cytotoxicity	WST-1 Assay	-The Premix WST-1 Cell Proliferation Assay System -Multiskan FC Thermo Scientific	BCSC CA3 IC50: 1.6 µM BSC CA3 IC50: 1.5 µM
Apoptosis	Annexin V Assay	-BD Pharmigen -BD Accuri C6 Cflow	Applications did not cause a significant change in terms of apoptosis in both cell lines.
Ferroptosis	Glutatyon Peroksidaz Assay	-Cayman -Thermo Scientific™ Varioskan™ LUX multimode microplate reader	Administration of CA3 IC50 and YAP1 siRNA decreased Glutathione Peroxidase activity in BCSC, while increasing it in BSC, compared to control.
Cell Cycle Assay	Cell Cycle Kit	-BD Pharmigen -BD Accuri C6 Cflow	CA3 IC50 dose and YAP1 siRNA administration did not cause any changes in cell cycle of both cell lines.
EMT	E-Cadherin/Vimentin	-Alexa Fluor® 647 anti-human CD324 (E-Cadherin) Antibody (Biolegend) -Alexa Fluor® 647 anti-Vimentin Antibody (Biolegend) -BD Accuri C6 Cflow	In BSC, both treatments did not affect protein ratios. While siRNA did not show a significant effect in BCSC compared to control, CA3 IC50 dose decreased the amount of E-caderin and Vimentin.
Clonogenic Assay	Clonogenic Assay	It was studied with the protocol of Franken et al., (2006).	BSC'de her iki uygulama da önemli bir fark yaratmadı. siRNA, BCSC'nin klonlama kabiliyetinde önemli bir fark yaratmazken, CA3 IC50 dozu kontrole göre 12 kat azaltıldı.
Drop-handling assay	Drop-handling assay	It was studied with the Foty R. (2011) protocol.	In BSC, both applications did not make a significant difference. While siRNA did not make a significant difference in the sphere-forming ability of BCSC, the CA3 IC50 dose was reduced by 4 times compared to the control.
Adhesion	Adhesion Assay	It was studied by modifying the protocol of Chen (2012).	CA3 IC50 dose reduced adhesion 6-fold and 17-fold, respectively, in BCSC and BSC, while siRNA application did not affect it.
Wound-healing Assay	Wound-healing Assay	It was studied with the Lampugnani (1999) protocol.	CA3 IC50 dose and siRNA application did not have a significant effect on the migration ability of BSC, while the CA3 IC50 dose decreased the migration ability of BCSCs by 3 times compared to the control.
Invasion	Colorimetric Invasion Assay	-CytoSelect™ -Multiskan FC Thermo Scientific	CA3 IC50 dose and YAP1 siRNA application did not significantly change the invasiveness of both cell lines.
Gene Expression Analysis	qRT-PCR	-LightCycler® 480 System - Roche Life Science -GeneGlobe Data Analysis Center -QIAGEN	The expression levels of 66 genes including key molecules involved in the Hippo signaling pathway, ferroptosis-related molecules, and genes expressed through YAP/TEAD were examined.

# Glukoilseramidaz-Beta Gen Mutasyonlarının indüklenmiş Pluripotent Kök Hücre Kaynaklı Dopaminerjik Nöronlarda $\alpha$ -sinüklein Birikimi ve Salınımına Etkisi

Gizem Önal<sup>1</sup>  
Gül Yalçın Çakmaklı<sup>2</sup>  
Cemile Elif Özçelik<sup>3</sup>  
Hülya Demir<sup>4</sup>  
Urartu Özgür Şafak Şeker<sup>3</sup>  
Bülent Elibol<sup>2</sup>  
Aysel Yüce<sup>4</sup>  
Serap Dökmeci<sup>1</sup>

## ÖZET

Glukoilseramidaz-Beta (GBA1) Gen Mutasyonları Parkinson Hastalığı (PH) için tanımlanan en önemli risk faktörüdür. Klinik açıdan, nöronopatik olmayan Gaucher Hastalığı (GH) ile ilişkili 'hafif' GBA1 mutasyonları (N370S) ve nöronopatik GH ile ilişkili 'ağır' GBA1 mutasyonlarının (L444P ve D409H), PH oluşturma riski, hastalık başlangıç yaşı, hastalığın prognozu ve semptomların ciddiyeti açısından farklı fenotipik etkileri olduğu bilinmektedir. PH'nin temel patolojik özelliklerinden biri, dopaminerjik nöronlarda Lewy cisimcikleri olarak bilinen oligomerik/fibriller  $\alpha$ -sinüklein-pozitif inklüzyonların varlığıdır. Çalışmada, 'ağır' ve 'hafif' GBA1 mutasyonlarının 'doz ve ciddiyetine' bağlı olarak nöronal dejenerasyonda rol oynayabileceği hipotezini test etmek amacıyla dopaminerjik nöronlarda  $\alpha$ -sinükleinin birikimi ve salınımına etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, farklı genotiplere sahip (N370S/N370S, L444P/L444P ve D409H/D409H) Gaucher hastaları, bu hastaların heterozigot zorunlu taşıyıcı aile bireyleri, GBA1 mutasyonu taşımayan idyopatik PH hastası, heterozigot GBA1 mutasyonu taşıyan (N370S/-) PH hastası ve sağlıklı bireylerin primer fibroblast hücreleri yeniden programlanarak indüklenmiş pluripotent kök hücrelere (iPKH) dönüştürülüp dopaminerjik nöronlara farklılaştırılmıştır. Hücrelerde biriken monomerik/oligomerik  $\alpha$ -sinüklein formları immünblot ve immünfloresan boyama yöntemleriyle tespit edilmiştir. Hücre dışına salınan  $\alpha$ -sinüklein, geçirimli elektron mikroskop ve dağılımlı kuvars kristal mikro terazisi yöntemleri ile analiz edilmiştir. Hücrelerde monomerik  $\alpha$ -sinükleinin D409H/D409H GBA1 genotipine sahip hücreler ile PH N370S/- hücrelerinde biriktiği tespit edilmiştir. Oligomerik  $\alpha$ -sinüklein birikiminin ve  $\alpha$ -sinüklein salınımının ise 'ağır' GBA1 mutasyonuna sahip hücrelerde ve PH N370S/- hücrelerinde arttığı saptanmıştır. 'Ağır' GBA1 mutasyonlarının oligomerik  $\alpha$ -sinüklein birikimi ve salınımını tetikleyerek hücrelerde nörodejenerasyonun ve  $\alpha$ -sinüklein kaynaklı hastalık prognozunun ilerlemesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Elde edilen veriler, 'ağır' ve 'ciddi' GBA1 mutasyonlarına ilişkin klinik verilerin moleküler temelini aydınlatmaya ve kişiselleştirilmiş tedavi potansiyellerine yönelik ön veri oluşturmuştur.

Anahtar Kelimeler: Glikoizseramidaz beta,  $\alpha$ -sinüklein, Parkinson Hastalığı

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Nöroloji Anabilim Dalı.

<sup>3</sup>Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi.

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Ünitesi.

## Effects of Glucosylceramidase-Beta Gene Mutations on $\alpha$ -synuclein Accumulation and Release in induced Pluripotent Stem Cell-Derived Dopaminergic Neurons

Gizem Önal<sup>1</sup>  
Gül Yalçın Çakmaklı<sup>2</sup>  
Cemile Elif Özçelik<sup>3</sup>  
Hülya Demir<sup>4</sup>  
Urartu Özgür Şafak Şeker<sup>3</sup>  
Bülent Elibol<sup>2</sup>  
Aysel Yüce<sup>4</sup>  
Serap Dökmeci<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Glucosylceramidase-Beta (GBA1) mutations are the most important risk factor for Parkinson's Disease (PD). 'Mild' GBA1 mutations (N370S) and 'severe' GBA1 mutations (L444P and D409H) cause differential clinical PD symptoms such as the risk of PD, age at onset, prognosis, and the severity of symptoms. One of the main pathological features of PD is the presence of oligomeric/fibrillar  $\alpha$ -synuclein-positive inclusions, known as Lewy-bodies. Here, we aimed to investigate the effects of GBA1 mutations on the accumulation and release of  $\alpha$ -synuclein in dopaminergic neurons to prove that 'dose and severity' of the GBA1 mutations may play differential roles in neurodegeneration. Accordingly, primary fibroblast cells of the individuals (Gaucher's Disease patients with genotypes (N370S/N370S,L444P/L444P, and D409H/D409H), obligate-carrier family members of these patients, idiopathic PD patient without GBA1 mutations, PD patients with heterozygous GBA1 mutation (PH N370S/-), and healthy individuals) were reprogrammed into induced pluripotent stem cells (iPSCs) and differentiated into dopaminergic neurons. Monomeric/oligomeric  $\alpha$ -synuclein accumulation was detected by immunoblot/immunofluorescence staining.  $\alpha$ -synuclein release was analyzed by transmission electron microscopy and quartz crystal microbalance with dissipation methods. Monomeric  $\alpha$ -synuclein accumulated in D409H/D409H GBA1-mutant cells and PD N370S/- cells. Oligomeric  $\alpha$ -synuclein accumulation and  $\alpha$ -synuclein release were increased in 'severe' GBA1-mutant cells and in PD N370S/- cells. 'Severe' GBA1 mutations are thought to contribute to the progression of neurodegeneration and disease prognosis by triggering the accumulation and release of oligomeric  $\alpha$ -synuclein. Our results constitute valuable data to elucidate the molecular basis of clinical outcomes on 'mild' and 'severe' GBA1 mutations and their potential for personalized therapy.

Keywords: Glucosylceramidase beta,  $\alpha$ -synuclein, Parkinson's Disease

<sup>1</sup>Hacettepe University Department of Medical Biology.

<sup>2</sup>Hacettepe University Department of Neurology.

<sup>3</sup>Bilkent University National Nanotechnology Research Center.

<sup>4</sup>Hacettepe University Department of Child Health and Diseases Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Unit.

## Primer Mikrosefali Hasta Kohortunda Genetik Etyolojinin Araştırılması

Ayberk Türkyılmaz<sup>1</sup>  
Safiye Güneş Sağır<sup>2</sup>  
Alper Han Çebi<sup>1</sup>

### ÖZET

Otozomal resesif primer mikrosefali (MCPH) serebral korteks gelişimindeki konjenital defekte bağlı baş çevresinin 2 standart deviasyonun altında olması ile karakterize nadir bir grup hastalıktır. Çalışmamızın amacı MCPH ön tanısı ile değerlendirilen olgularda moleküler etyolojinin araştırılmasıdır.

Antenatal dönemde ve doğumdan sonraki ilk 6 ay içinde baş çevresi 2 standart deviasyonun altında olan toplam 10 olgu (5 erkek, 4 kız, 1 fetus) çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm olgular beyin manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yöntemi ile incelendi. Tüm olgular tüm ekzom dizileme yöntemi (WES) ile değerlendirildi.

WES analizi ile 5 olguda ASPM (4 novel, 1 bildirilmiş) ve 5 olguda (4 bildirilmiş, 1 novel) WDR62 geninde varyasyon saptandı. Bir fetüste koryonik villus örneğinden yapılan çalışmada WDR62 geninde homozigot mutasyon saptanarak prenatal dönemde tanı koyuldu. Beyin MRG bulguları incelendiğinde ASPM mutasyonu saptanan iki olguda basit giral kortikal patern, bir olguda lizensefali, bir olguda pakigri saptanmış olup bir olgunun görüntülemesi normaldi. WDR62 mutasyonu saptanan bir olguda lishensefali (radial microbrain), bir olguda polimikrogr ve kapalı tip şizensefali, bir olguda tip 2 lizensefali ve bir olguda basit giral kortikal patern tespit edildi.

Bugün için OMIM veri tabanında MCPH ilişkili 25 farklı gen tanımlanmıştır. Literatürde en sık ASPM ve WDR62 genlerinde mutasyon bildirilmiş olup bizim çalışmamızda da bu iki gende varyasyon tespit edilmiştir. ASPM gen mutasyonlu olgularda nöronal migrasyon defektleri nadiren bildirilmiş olup iki olgumuzda polimikrogr ve pakigri saptanmış olması nadir bir bulgudur. Ayrıca saptanan novel varyasyonlar ile mutasyon spektrumuna katkı sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: ASPM, novel varyant, primer mikrosefali, WDR62

<sup>1</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Trabzon, Türkiye.

<sup>2</sup>Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi, Pediatrik Nöroloji Kliniği, İstanbul, Türkiye.

## Investigation of Genetic Etiology In Primary Microcephaly Patient Cohort

Ayberk Türkyılmaz<sup>1</sup>  
Safiye Güneş Sağır<sup>2</sup>  
Alper Han Çebi<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Autosomal recessive primary microcephaly (MCPH) is an uncommon disorder due to congenital deficiency in the development of the cerebral cortex, characterized by a head circumference below 2 standard deviations (SD). The aim of study is to investigate the molecular etiology in cases evaluated with a preliminary diagnosis of MCPH.

A total of 10 cases with a head circumference below 2 SD in the antenatal period and in the first 6 months after birth were included in the study. All cases were examined with brain magnetic resonance imaging (MRI) and evaluated by whole exome sequencing.

WES analysis revealed variation in ASPM in 5 cases (4 novel, 1 reported) and WDR62 gene in 5 cases (4 reported, 1 novel). A homozygous mutation in WDR62 gene was detected in a study performed on a chorionic villus sample in a fetus. When brain MRI findings were examined, simplified cortical gyration pattern was found in two patients with ASPM mutation. Radial microbrain was detected in one case with WDR62 mutation.

To date, 25 different genes associated with MCPH have been identified in the OMIM database. Mutations in ASPM and WDR62 genes have been reported most frequently in the literature, and variations were detected in these two genes in our study. Neuronal migration defects have been reported rarely in cases with ASPM gene mutations, and polymicrogyria and pachygyria were detected in two of our cases, which is a rare finding. In addition, the novel variations detected have contributed to the mutation spectrum.

Keywords: ASPM, novel variant, primary microcephaly, WDR62

<sup>1</sup>Department of Medical Genetics, School of Medicine, Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey.

<sup>2</sup>Clinics of Pediatric Neurology, Kartal Dr. Lütfi Kırdar City Hospital, Istanbul, Turkey.

## LncRNA NEAT1'in İmatinib Direncindeki ve KML Patogenezindeki Rolünün Araştırılması

Zeynep Mutlu  
Çığır Biray Avcı

### ÖZET

Kronik miyeloid lösemi (KML), Philadelphia kromozomunun oluşumundan kaynaklanan (Ph, 9; 22) hematopoietik malignant bir hastalıktır. Bu kromozomal füzyon, AKT, ERK ve STAT yollarını etkileyen ve dolayısıyla patogeneze yol açan bir tirozin kinaz aktivitesine sahip olan BCR-ABL füzyon proteinini üretir. KML hastalarının %90'ından fazlası bir Ph kromozomuna sahiptir. STI571 (imatinib mesilat, Gleevec™), BCR-ABL'yi hedefleyen bir tirozin kinaz inhibitörüdür ve bu nedenle birinci basamak tedavi seçeneğidir. Bununla birlikte, tirozin kinaz inhibitörü direnci, KML tedavisinin başarısızlığının ana nedenidir. Direnç, BCR-ABL füzyon proteinindeki birkaç mutasyonun sonucu olabilir ve PI3K / Akt, mTOR ve JAK-STAT gibi aşağı akış sinyal yollarındaki işlev bozukluğundan dolayı gelişebilir. Uzun kodlamayan RNA'ların BCR-ABL patogenezindeki rolleri ve ilaç direnç mekanizmaları hakkında çok az şey bilinmektedir. Uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar), > 200 nükleotid uzunluğunda olan kodlamayan RNA'lardır ve çoğunun, kromatin modifikasyonu, genomik baskı ve gen ifadesinin düzenlenmesi gibi epigenetik mekanizmalarda rol oynadığı bulunmuştur. LncRNA NEAT1 düzensiz ekspresyonunun birkaç kanserin ilerlemesi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. NEAT1'in ekspresyonu normalde memeli hücre çekirdeklerinde 'paraspeckles' olarak adlandırılan nükleer RNA-protein cisimciklerinin oluşumuyla sonuçlanır. KML'de BCR-ABL ile ilişkili yolaklardaki (AKT, ERK, STAT yolları) NEAT1 ve paraspeckles işlevi hala büyük ölçüde bilinmemektedir, ancak son çalışmalar, bir lösemi hücre hattında NEAT1 aşırı ekspresyonunun CML'de MDR'yi (çoklu ilaç direnci) azalttığını göstermiştir. Bu nedenle bu çalışmada, BCR-ABL aracılı KML'de lncRNA NEAT1'in rolünün CRISPR metodu ile araştırılması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: LncRNA, KML, NEAT1

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir.

## Investigation of the role of lncRNA NEAT1 in CML pathogenesis and imatinib resistance

Zeynep Mutlu  
Çığır Biray Avcı

### ABSTRACT

Chronic myeloid leukemia (CML) is a hematopoietic malignant disease caused by the formation of the Philadelphia chromosome (Ph, 9; 22). This chromosomal fusion produces the BCR-ABL fusion protein, which has a tyrosine kinase activity that affects the pathways and thus leads to pathogenesis. More than 90% of CML patients have a Ph chromosome. imatinib is a first-line treatment option. However, tyrosine kinase inhibitor resistance is the main cause of CML treatment failure. Resistance may be the result of several mutations in the BCR-ABL fusion protein and may develop due to dysfunction in downstream signaling pathways such as PI3K/Akt, mTOR and JAK-STAT. Little is known about the roles of long non-coding RNAs in the pathogenesis of BCR-ABL and the mechanisms of drug resistance. Long non-coding RNAs (lncRNAs) are non-coding RNAs >200 nucleotides long, and most of them have been found to be involved in epigenetic mechanisms such as chromatin modification, genomic repression, and regulation of gene expression. Deregulated expression of lncRNA NEAT1 has been found to be associated with the progression of several cancers. Expression of NEAT1 normally results in the formation of nuclear RNA-protein bodies called 'paraspeckles' in mammalian cell nuclei. The function of NEAT1 and paraspeckles in BCR-ABL-related pathways in CML is still largely unknown, but recent studies have shown that NEAT1 overexpression in a leukemia cell line reduces MDR (multi-drug resistance) in CML. Therefore, this study aimed to investigate the role of lncRNA NEAT1 with the method of CRISPR in BCR-ABL mediated CML.

Keywords: lncRNA, CML, NEAT1

Ege University, Medicine Faculty, The Department of  
Medical Biology, Bornova, İzmir.

## Konjenital Pitüiter Sap Kesi Sendromlu (PSIS) Olgularda Tüm Ekzom Dizi Analizi Verilerinin Değerlendirilmesi

Ufuk Ünal<sup>1</sup>  
Havva Tezcan Ünlü<sup>1</sup>  
Gülşah Çeçener<sup>1</sup>  
Ecem Efendi Erdem<sup>1</sup>  
Erdal Eren<sup>2</sup>  
Yasemin Denkboy Öngen<sup>2</sup>

### ÖZET

Pitüiter sap kesi sendromu (PSIS); hipofiz bezinin nadir bir konjenital anomalisidir. Bu hastalık, hipofiz sapında incelme veya bu yapının yokluğu, ön hipofizin hipoplazik olması ve ektopik posteriyor lob tiradı ile karakterizedir. Yapılan çalışmalarda, hipofizin embriyonik gelişimi veya beyinde orta hat oluşumunda patofizyolojik etkisi olduğu bilinen birçok genin (*HESX1*, *LHX4*, *PROP1* vb.) PSIS ile ilişkili olduğu ancak, olguların yaklaşık %5'inde bu genetik değişimlerin bulunduğu saptanmıştır. PSIS'in etiyolojisi ve hastalığa etki eden genlerin birçoğu halen aydınlatılamamıştır. Çalışmamızda, PSIS'li olgularda tüm ekzom dizi analizi ile saptanan genetik değişimlerin hastalık ile ilişkisinin ve tespit edilen yeni (novel) değişimlerin etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında, pediatrik 11 hastada tüm ekzom dizi analizi gerçekleştirildi. Elde edilen WES sonuçları "R Biocouductor" ve "Integrative Genomics Viewer" (IGV) veri analiz programları ile incelendi. Değişimlerin hastalık ile ilişkisi web tabanlı in-silico programlar (Varsome, Clinvar, Ensemble, dbSNP vb.) ile analiz edildi. Novel değişimlerin protein üzerindeki etkileri SWISS model ile incelendi. Mevcut çalışmada, literatürde hipofiz gelişimi ile ilişkili olduğu bilinen 20 gen değerlendirildi. İlgili genlerde patojenik bir değişim saptanmazken, 11 hastanın tamamında *PROB1*'de 2 farklı değişim (rs74445271, rs1135320) ve *GLI2* geninde 4 farklı değişim (rs2593595, rs3738880, rs12711528, rs10167980) tespit edildi. *OTX2* (c.459C>A, p.Ser153Ar), *ROBO1* (c.2429T>C, p.Val810Ala), *WDR11* (c.2274T>A, p.Ala758=) genlerinde novel değişimler saptandı. Gerçekleştirilen çalışmada, Türk hastalara özgü elde edilen genetik değişimler, hastalığın patogenezinin anlaşılmasında, hastalık tanısının desteklenmesinde ve yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesinde yol gösterici olacaktır.

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından: OUAP(T)2018/5 no'lu proje ile desteklenmiştir. Yazar Havva Tezcan Ünlü, Moleküler Onkoloji alanında 100/2000 Yükseköğretim Kurulu (YÖK) doktora bursiyeridir.

Anahtar Kelimeler: Ektopik nörohipofiz, Hipofiz bezi, PSIS, Tüm ekzom dizi analizi

<sup>1</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.

<sup>2</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.



## Evaluation of whole exome sequence analysis data in patients with congenital pituitary stalk interruption syndrome (PSIS)

Ufuk Ünal<sup>1</sup>  
Havva Tezcan Ünlü<sup>1</sup>  
Gülşah Çeçener<sup>1</sup>  
Ecem Efendi Erdem<sup>1</sup>  
Erdal Eren<sup>2</sup>  
Yasemin Denkboy Öngen<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Pituitary stalk interruption syndrome (PSIS) is a rare congenital anomaly of the pituitary gland which is characterized by thinning or absence of the pituitary stalk and hypoplasia of the anterior pituitary. Studies have shown that many genes have a pathophysiological effect on the embryonic development of the pituitary or midline formation in the brain are associated with PSIS, but these genetic changes are found in approximately 5% of the cases. The etiology of PSIS has still not been identified. In our study, it was aimed to investigate the relationship of genetic changes detected by whole exome sequence analysis (WES). The obtained WES results of 11 pediatric patients were analyzed with the "R Biocouductor" and "Integrative Genomics Viewer" data analysis programs. The relationship between the variants and the disease was analyzed with web-based in-silico programs (Varsome, Clinvar, Ensemble, dbSNP, etc.). The effects of novel changes on the protein were examined with SWISS model. In the current study, 20 genes known to be associated with pituitary development were evaluated. While no pathogenic changes were detected in the relevant genes, 2 different changes in *PROB1* (rs7445271, rs1135320) and 4 different changes in the *GLI2* gene (rs2593595, rs3738880, rs12711528, rs10167980) were detected in the patients. Novel changes were detected in *OTX2* (c.459C>A, p.Ser153Ar), *ROBO1* (c.2429T>C, p.Val810Ala) and *WDR11* (c.2274T>A, p.Ala758=) genes. In the current study, genetic changes specific to Turkish patients may be effective in understanding the pathogenesis of the disease, supporting the diagnosis of the disease and determining new treatment targets.

This study was supported by a grant from the Scientific Research Projects Foundation of the Bursa Uludag University, Bursa, Turkey [Project No: OUAP(T)2018/5]. Author Havva Tezcan Unlu is a 100/2000 The Council of Higher Education (CoHE) PhD scholar in Molecular Oncology.

Keywords: Ectopic neurohypophysis, Pituitary gland, PSIS, Whole exome sequence analysis

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University, Bursa, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Child Health and Diseases, Faculty of Medicine, Bursa Uludag University, Bursa, Turkey.

## PANC-1 pankreas kanseri hücre hattında juglon-selenyum kombinasyonunun anti-metastatik etkilerinin değerlendirilmesi

Dudu Erkoç Kaya  
Fatma Göktürk  
Fatma Batırbek  
Hilal Arıkoğlu

### ÖZET

Doğal bileşenlerin standart kemoterapötik ajanlarla kombinasyonları, ek veya sinerjik etkiler sağlayabilir, yan etkileri hafifletebilir, geleneksel ilaçların alımını artırabilir ve bağışıklık sistemini kanserle savaşmak için destekleyebilir. Juglon, Juglandaceae ailesi ceviz ağaçlarının yaprak, kök, kabuk ve meyvelerinden izole edilen ve kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkiler gibi çok çeşitli farmakolojik etkileri olduğu bildirilen ikincil bir metabolittir. Selenyum gibi diğer bileşenlerle birlikte uygulamalarının daha güçlü antikanser etkileri gösterdiği düşünülmektedir.

Pankreas kanseri (PC), dünya çapında en ölümcül kanserlerden biridir ve yüksek metastaz ve anjiyogenez ile karakterize oldukça agresif ve malign bir kanser tipidir. Geç tanı, yüksek metastatik potansiyel ve tedavide kullanılan ilaçlara kemo-direnç gibi olumsuzluklar, Pankreas kanseri için yeni tedavi stratejilerinin araştırılmasını gerektirmektedir.

Çalışmamızda, juglon-selenyum (J/S)'un PANC-1 hücrelerinin metastatik ve proliferatif davranışları üzerindeki sinerjistik etkilerini adezyon-invazyon testi ve woundhealing (yara iyileştirme) testi ile değerlendirmeyi amaçladık.

Bu amaçla; hücrelerin kültürü ve MTT testinin ardından kanser hücrelerine dört farklı dozda J/S (5, 10, 15, 20uM juglon konsantrasyonları ile her tedavi grubuna 2.5uM NaSe ile) uyguladık. 24 saat inkübasyon sonrası yapılan adezyon ve invazyon testlerine göre, PANC-1 hücrelerinin adezyon ve invazyon kabiliyetinde doza bağlı bir azalma belirledik.

24 saat ve 48 saatlik muamele sonrası yara iyileşmesi mikroskop altında değerlendirildiğinde ise, kapanmanın (hücrelerin kapatamadığı boş kalan alan) J/S doz artışına bağlı olarak azaldığını gözledik.

Sonuç olarak, bulgularımız J/S kombinasyonunun PC tedavisi için umut verici bir sitotoksik ve antimetastatik ajan olduğunu göstermektedir.

Sunulan çalışma Selçuk Üniversitesi BAP tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: PANC-1 hücreleri, juglon-selenyum kombinasyonu, woundhealing (yara iyileşmesi), adezyon/invazyon

Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,  
Konya.

## Evaluation of the anti-metastatic effects of juglone-selenium combination in PANC-1 pancreatic cancer cell line

Dudu Erkoç Kaya  
Fatma Göktürk  
Fatma Batırbek  
Hilal Arıkoğlu

### ABSTRACT

Combinations of natural components with standard chemotherapeutic agents can provide additional or synergistic effects, alleviate side effects, increase uptake of conventional drugs, and support the immune system to fight with cancer. Juglone is a secondary metabolite that is isolated from the leaves, roots, shells and fruits of Juglandaceae walnut trees and has been reported to have various pharmacological effects such as cytotoxic effects on cancer cells. Its applications in combination with other components like selenium are thought to show stronger anticancer effects.

Pancreatic cancer (PC) is one of the deadliest cancers worldwide and it is a highly aggressive and malignant cancer characterized by high metastasis and angiogenesis. Late diagnosis, high metastatic potential and the chemoresistance to the drugs used for treatment has required to research new treatment strategies in PC.

In our study, we aimed to evaluate the synergistic effects of juglone-selenium (J/S) on metastatic and proliferative behaviours of PANC-1 cells by adhesion-invasion test and woundhealing assay. Following cell culture and MTT Assay, four different doses (5, 10, 15, 20µM juglone concentrations with 2.5µM NaSe to each treatment group) were applied to cancer cells. According to adhesion and invasion tests after 24h, we determined a dose dependent decrease in adhesion and invasion ability of PANC-1 cells. When evaluated under microscope for woundhealing after 24h and 48h treatments, the gaps (remaining area uncovered by the cells) were observed to expand depending to J/S dose increase.

Consequently, our findings suggest J/S combination as a promising cytotoxic and antimetastatic agent for PC treatment.

Keywords: PANC-1 cells, juglone-selenium combination, woundhealing, adhesion/invasion

Selcuk University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Konya.

# Potansiyel Kanser Köklülük Kinaz İnhibitörü Olan Amcasertib'in Meme ve Over Kanser Hücreleri Üzerindeki Anti-Kanser Etkilerinin Belirlenmesi

Hale Güler Kara  
Neslihan Pınar Özateş  
Aycan Aşık  
Buket Kosova  
Çığır Biray Avcı  
Cumhur Gündüz

## ÖZET

Meme ve over kanseri günümüzde kadınlar arasında yüksek mortaliteye sahip önemli kanserler arasında yer almaktadır. Meme ve over kanseri tedavisinde kemoterapi önemli bir yer tutmaktadır. Klinik çalışmalarla gelecekte kullanımı ümit vadeden bir ajan olan Amcasertib (BBI503), ilk kanser köklülük kinaz inhibitörüdür. Potansiyel antikanser aktivitesiyle kinazları hedefleyerek kanser kök hücrelerinin yanı sıra meme ve over kanserlerinin de dahil olduğu birçok kanser tipinde de yüksek ekspresyon gösteren NANOG'u ve diğer kanser kök hücre yolaklarını inhibe ettiği ileri sürülmüştür.

Bu çalışmada, ilk kez Amcasertib'in meme ve over kanseri ile kanser kök hücreleri üzerine olan anti-kanser etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Amcasertib'in MCF-7, MDA-MB-231, meme kanser kök hücresi (BCSC) ile OVCAR-3, MDAH-2774 ve over kanser kök hücrelerindeki (OCSC) sitotoksitate, apoptoz, hücre döngüsü, invazyon, migrasyon ve gen ekspresyon seviyelerine etkisi uygun analizlerle değerlendirilmiştir.

Sitotoksitate analizi sonucunda Amcasertib'in düşük dozlarda anti-proliferatif etki gösterdiği, apoptoz analizinde tüm hücre hatlarında apoptozun en az 3 kat arttığı, hücre döngüsü analizinde BCSC ve MDAH-2774 hücrelerinde G0/G1 arrestine neden olduğu, invazyon ve migrasyon analizlerinde BCSC, MDAH-2774 ve OCSC hücrelerinde invazyon ve migrasyonu inhibe ettiği, gen ekspresyon analizine göre güçlü apoptotik etkisinin SMAD9 yolağı üzerinden etkili olduğu ve SRC, MMP2, KLF4 gen ekspresyon azalışının BCSC, MDAH-2774 ve OCSC hücrelerinde invazyon ve migrasyon özelliklerinin kaybına neden olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, Amcasertib'in meme ve over kanseri ile kök hücrelerinde anti-kanser etkileri araştırılmış ve in vitro ortamda düşük konsantrasyonlarda bile etki gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda Amcasertib'in meme ve over kanseri tedavisinde tek yada kombine yeni etkin bir potansiyel terapötik ajan olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Çalışmamızı 1002 Projesi olarak destekleyen TÜBİTAK'a çok teşekkür ederiz.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, over kanseri, Amcasertib, NANOG

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

## Determination of the Anti-Cancer Effects of Amcasertib, a Potential Cancer Stemness Kinase Inhibitor, on Breast and Ovarian Cancer Cells

Hale Güler Kara  
Neslihan Pınar Özateş  
Aycan Aşık  
Buket Kosova  
Çığır Biray Avcı  
Cumhur Gündüz

### ABSTRACT

Breast and ovarian cancer are among the important cancers with high mortality among women today. Chemotherapy plays an important role in the treatment of breast and ovarian cancer. Amcasertib (BBI503), a promising agent for future use in clinical trials, is the first cancer stemness kinase inhibitor. It has been suggested that by targeting kinases with its potential anticancer activity, it inhibits NANOG and other cancer stem cell pathways, which show high expression in many cancer types, including breast and ovarian cancers, as well as cancer stem cells. In this study, it was aimed for the first time to investigate the anti-cancer effects of Amcasertib on breast and ovarian cancer and cancer stem cells.

The effects of Amcasertib on cytotoxicity, apoptosis, cell cycle, invasion, migration and gene expression levels in MCF-7, MDA-MB-231, breast cancer stem cell (BCSC), OVCAR-3, MDAH-2774 and ovarian cancer stem cells (OCSC) were evaluated by appropriate analysis.

It was determined as a result of cytotoxicity analysis, Amcasertib showed anti-proliferative effect at low doses, apoptosis increased at least 3 times in all cell lines in apoptosis analysis, G0/G1 arrest in BCSC and MDAH-2774 cells in cell cycle analysis, that it inhibited invasion and migration in BCSC, MDAH-2774 and OCSC cells in invasion and migration analysis. According to gene expression analysis, it is thought that its strong apoptotic effect is effective on the SMAD9 pathway and that the decrease in SRC, MMP2, KLF4 gene expression may cause loss of invasion and migration characteristics in BCSC, MDAH-2774 and OCSC cells.

As a result, the anti-cancer effects of Amcasertib on breast and ovarian cancer and stem cells were investigated and it was determined that it was effective even at low concentrations in vitro. According to the data obtained, it is thought that Amcasertib can be used as new active potential therapeutic agent, alone or in combination, in the treatment of breast and ovarian cancer. We would like to thank TÜBİTAK for supporting our work as the 1002 Project.

Keywords: Breast cancer, ovarian cancer, Amcasertib, NANOG

Faculty of Medicine, Department of Medical Biology in  
Ege University.

# İnsan prostat kanseri hücrelerinde FOXD1 geni susturulmasının proliferasyon, migrasyon, invazyon ve epitelyal-mezenkimal transizyon üzerindeki etkileri

Çiğdem Dönmez  
Ece Konaç

## ÖZET

FOX transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesi olan Forkhead box D1 (FOXD1) çeşitli kanserlerin gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli rol oynar. Bu çalışmada, prostat kanserinde FOXD1 geninin susturulmasının hücre proliferasyonu, migrasyonu ve invazyonu üzerine etkilerini araştırdık. Ayrıca, FOXD1 susturulmasının bazı EMT proteinleri (E-kaderin, N-kaderin, Snail ve Vimentin) ve hücre siklus yolağı olan Wnt/ $\beta$ -katenin'deki bazı proteinlerin ( $\beta$ -katenin, C-myc ve siklin D1) ifadesi üzerindeki etkilerini de araştırdık. Öncelikle, 4 farklı prostat kanseri hücre hattında (22Rv1, LNCaP, DU-145 ve PC-3) ve bir adet normal insan prostat epitel hücre hattında (RWPE-1) FOXD1 ifadenin Western Blotlama (WB) ve Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR) ile tespit edilmiştir. WB ve qRT-PCR analizleri sonucunda en yüksek FOXD1 ifadesi 22Rv1 hücrelerinde saptandığı için bu aşamadan sonra araştırmaya 22Rv1 hücre hattıyla devam edilmiştir. FOXD1 susturulmasının insan prostat kanseri hücreleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek için, 22Rv1 hücre hattı FOXD1-siRNA ile transfeke edilmiştir. FOXD1'in susturulması doğrulandıktan sonra, hücre proliferasyonu, migrasyonu, invazyonu ve EMT üzerindeki etkisi, sırasıyla WST-1 analizi, yara iyileşme deneyi, transwell migrasyon ve invazyon deneyi ve WB ile analiz edilmiştir. FOXD1'in susturulması hücre proliferasyonunda, hücresel migrasyon ve invazyon kapasitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olmuştur ( $p < 0.05$ ). Ayrıca, FOXD1'in susturulması, 22Rv1 hücrelerinde siklin D1'in protein ifadesini azaltmıştır. Siklin D1, G1/S kontrol noktasında önemli bir düzenleyici proteindir. FOXD1 ile siklin D1 arasındaki etkileşim, hücre döngüsünün G1'den S'e geçişin düzenlenmesinde kritik bir rol oynuyor olabileceğini göstermiştir. Sonuç olarak, ifadesi baskılanan FOXD1, siklin D1 hücre döngüsü yolağı üzerinden tümör hücre progresyonunu yavaşlatmış; bu sonuç da, FOXD1-siklin D1 etkileşiminin prostat kanseri tedavisinde umut verici potansiyel bir terapötik hedef olabileceğini düşündürmüştür.

Bu proje, 01/2019-52 kod numarası ile Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi ve YÖK-Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: FOXD1, İnvazyon, Migrasyon, Proliferasyon, Prostat kanseri

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik  
Anabilim Dalı, Beşevler, Ankara.

## Effects of silencing of FOXD1 gene on proliferation, migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition in human prostate cancer cells

Çiğdem Dönmez  
Ece Konaç

### ABSTRACT

FOXD1, a member of the FOX transcription factor family, plays an important role in the development and progression of various cancers. In this study, we investigated the effects of silencing the FOXD1 gene on cell proliferation, migration, invasion in prostate cancer. We also investigated the effects of FOXD1 silencing on the expression levels of some EMT proteins (E-cadherin, N-cadherin, Snail, Vimentin), and some proteins ( $\beta$ -catenin, C-myc, cyclinD1) in the cell-cycle-pathway, Wnt/ $\beta$ -catenin. Primarily, FOXD1 expression in four different prostate cancer cell lines (22Rv1, LNCaP, DU-145, PC-3), and one normal human prostate epithelial cell line (RWPE-1) was detected by Western Blotting (WB), and qRT-PCR. As the highest FOXD1 expression was detected in 22Rv1 cell line as a result of WB and qRT-PCR analyzes, after this stage the research was continued with 22Rv1 cell line. To evaluate the effects of FOXD1 silencing on human prostate cancer cells, the 22Rv1 cells were transfected with FOXD1-siRNA. After silencing of FOXD1 was confirmed, its effect on cell proliferation, migration, invasion, and EMT were analyzed by WST-1 analysis, wound healing assay, transwell migration-invasion assay, and WB, respectively. Silencing FOXD1 resulted in a statistically significant reduction in cell proliferation, cellular migration and invasion capacity ( $p < 0.05$ ). Furthermore, silencing of FOXD1 decreased protein expression of cyclinD1 in 22Rv1 cells. The interaction between FOXD1 and cyclinD1 suggested that it may play a critical role in regulating the G1 to S transition of the cell cycle. As a result, FOXD1, whose expression was suppressed, slowed down tumor cell progression via the cyclinD1 cell-cycle-pathway. This result suggested that the FOXD1-cyclinD1 interaction might be a promising potential therapeutic target in the treatment of prostate cancer.

This project, with the code number 01/2019-52, was supported by Gazi University Scientific Research Projects Unit and YÖK-Instructor Training Program.

Keywords: FOXD1, Invasion, Migration, Proliferation, Prostate cancer

Gazi University Faculty of Medicine, Department of  
Medical Biology and Genetics, Beşevler, Ankara, Turkey.

## İnsan Uyarılmış Pluripotent Kök Hücrelerden Lakrimal Bez Organoidlerinin Geliştirilmesi

Gamze Koçak<sup>1</sup>  
Melis Asal<sup>1</sup>  
Canan Aslı Yıldırım<sup>2</sup>  
Sinan Güven<sup>3</sup>

<sup>1</sup>İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir; İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir.

<sup>2</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir; Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir.

<sup>3</sup>İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir; İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir; Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

### ÖZET

Lakrimal bez (LB), göz yaşı filminin bileşenleri olan elektrolitleri ve proteinleri salgılayan ve oküler yüzeyin homeostazını koruyan tübülo-asinar ekzokrin bir bezdir. LB'in fonksiyonelliğini kaybetmesi, inflamasyon, enfeksiyon, kornea hasarı ve hatta görme kaybını tetikleyen kuru göz sendromuna (KGS) neden olur. Mevcut klinik yaklaşımlar, yapay göz yaşı damlalarının geliştirilmesi veya genellikle hastalara sınırlı bir konfor sağlayan inflamasyonun kontrol altına alınmasına odaklanmıştır. Bununla birlikte, LB'e yönelik rejenerasyon veya doku mühendisliği çalışmaları da son yıllarda önemini arttırmaktadır. Bu çalışma, insan uyarılmış pluripotent kök hücrelerden (iuPKH'ler) işlevsel LB organoidlerinin oluşturulması için gelişim biyolojisi yaklaşımlarını geliştirmeyi amaçlamaktadır. LB dokusunun hücresel mimarisi, mezenkimal bir tabaka tarafından sarılmış epitelyal tomurcuktan oluşmaktadır. Çalışmanın ilk aşamasında iuPKH'ler kültürde ön nöroektodermal kökene, ardından çoklu zon yapılı oküler hücreler oluşturulması için göz alanı kök hücrelerine farklılaştırıldı. Organoid gelişiminin ileri aşamasında asinar, duktal ve miyoepitelyal hücreler, oküler yüzey ektodermal hücrelerden ortaya çıkmaktadır. 45 güne kadar gen ve protein profilleri yanı sıra zıt regülasyon gösteren miR-205 ve FGF10 ekspresyonu gibi mekanizmalar da dahil olmak üzere LB gelişim aşamaları başarıyla gösterildi. Elde ettiğimiz sonuçlar, ilk kez iuPKH'lerden işlevsel LB organoidlerinin oluşturulduğunu doğrulamaktadır. Bulgular, insan LB organogenezinin daha iyi anlaşılabilmesini ve kök hücreler kullanılarak kişiye özgü yapay LB ve biyobenzer göz yaşlarının eldesini mümkün kılacaktır.

Bu çalışma TÜBİTAK 117S264 tarafından desteklenmiştir.



## Lacrimal Gland Organoids from Human Induced Pluripotent Stem Cells

Gamze Koçak<sup>1</sup>  
Melis Asal<sup>1</sup>  
Canan Aslı Yıldırım<sup>2</sup>  
Sinan Güven<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Izmir International Biomedicine and Genome Institute, Izmir; Izmir Biomedicine and Genome Center, Izmir.

<sup>2</sup>Izmir Biomedicine and Genome Center, Izmir; Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology, Izmir.

<sup>3</sup>Izmir International Biomedicine and Genome Institute, Izmir; Izmir Biomedicine and Genome Center, Izmir; Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Izmir.

### ABSTRACT

The lacrimal gland (LG) is a tubulo-acinar exocrine gland that secretes electrolytes and proteins forming the tear film and keeping the ocular surface in a state of homeostasis. Lack of function of LG leads to dry eye disease (DED) triggering inflammation, infection, corneal damage and even vision loss. Current clinical approaches focus on artificial tear drops or controlling inflammation which often provide limited comfort to the patients. Efforts to regenerate or tissue engineering of LG has gained great importance in recent years. This study aims to evolve developmental biology approaches to form a functional LG organoid from human induced pluripotent stem cells (hiPSCs). Cellular architecture of LG tissue forms with epithelial bud surrounded by mesenchymal layer. Here we initially differentiated hiPSCs to anterior neural ectodermal lineage followed with eye field stem cells to form multizonal ocular cells. Further acinar, ductal, and myoepithelial cells arise from ocular surface ectodermal cells. We demonstrate recapitulation of LG developmental stages, including mechanisms such as reverse regulation of miR-205 and FGF10 expression, through monitoring gene and protein profiling up to 45 days. Our results demonstrate for the first time the generation of functional LG organoids from hiPSCs. Findings will enable a better understanding of human LG organogenesis and the production of personalized artificial LG and biosimilar tears using stem cells.

This study has been supported by (TUBITAK) 117S264.

Keywords: hiPSC, lacrimal gland, organoid

## Sağlıkta ve Hastalıkta İskelet Kası Hücre Dışı Matriks'in Düzenlenmesinde TEAD Transkripsiyon Faktörü Ailesinin Rolü ve Öneminin Multi-omik Yöntemlerle İncelenmesi

Hasan Basri Kılıç  
Yusuf Çetin Kocaefe

### ÖZET

İskelet kasının işlevi için hücre dışı matriks (ECM) yapısı kasılma ve gerilmeleri gerçekleştirebilecek esneklik ve dayanıklılıkta olmalıdır. ECM kas liflerinin gelişimi (farklılaşma) sürecinde sentezlenmeye başlanır ve dokunun protein içeriğinin büyük çoğunluğunu oluşturur. Kronik hasar ve tamir süreci ECM birikimi ve fibrozis ile sonuçlanır. Bu çalışmada farklılaşma ve hasar tamiri modellerinde ifade edilen genler tespit edilmiş, fizyoloji ve patolojide bu genlerin ifadesini düzenleyen faktörler tanımlanmıştır.

İskelet kası gelişimini modellemek üzere myogenez sürecine ait transkriptom ve proteom verileri, doku hasarı sonrasıyla ifade olan ECM'i modellemek adına stroma hücrelerine ait transkriptom ve insan kemik iliği kökenli MSCs'lere ait proteom verileri kullanılmıştır. Bu in vitro yaklaşımlara ek olarak in vivo kas hasarının fare ve sıçan modelleri ve hasta biyopsileri transkriptom veri setlerinde ifadesi artan ECM genleri saptanmıştır. Bu genlerin gelişim ve patoloji sürecindeki ifadeleri karşılaştırılarak gen listeleri oluşturulmuştur. Ortak listeler CiiiDER aracılığıyla JASPAR transkripsiyon bağlanma bölgeleri kullanılarak incelenmiştir.

Transkriptom ve proteom analizleri ile iskelet kasında ECM oluşumunda ortak görev alan mRNA (264) ve proteinler (160) tanımlanmıştır. Bunlardan yalnızca 50'si her iki düzeyde de anlamlı artış sergilemektedir. Kolajen alt tiplerinden 1a1,3a1,5a1 gibi protein düzeyinde yüksek ifade gösterenlerin tüm koşullarda mRNA düzeyinde yüksek olduğu ancak 1a2,5a3,6a3 gibi çeşitli alt tiplerin ifadesi kas farklılaşması ile birlikte azalırken, doku hasarı ile birlikte arttığı gözlemlenmiştir. İfade farklılığı sergileyen genler incelendiğinde TEAD ailesi üyesi transkripsiyon faktörlerinin her iki durumu da kontrol ettiği ve farklı TEAD gen ifadelerinin de bu durumla uyumlu olarak ifade değişimi sergilediği saptanmıştır. Bu çalışma, TEAD ailesinin farklı üyelerinin ECM gelişimini düzenlediğini ortaya koymaktadır.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 1001 projeleri kapsamında 219S617 proje numarası ile desteklenmiştir.

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD.,  
Ankara.

Anahtar Kelimeler: Fibrozis, İskelet Kası, TEAD Transkripsiyon Faktörü Ailesi, Transkriptom, Proteom

## Multi-omics Investigation of Significance of TEAD Transcription Factor Family Regulating Skeletal Muscle ECM in Health and Disease

Hasan Basri Kılıç  
Yusuf Çetin Kocaefe

### ABSTRACT

Skeletal muscle Extracellular Matrix (ECM) should be both flexible and durable in order to its function. Its synthesis starts with differentiation and consists important part of tissue. Chronic degeneration and injury repair bring about ECM deposition which lead to irreversible fibrosis. In this study, differentially expressed genes were identified in differentiation and tissue repair models, the factors that regulate the expression in physiology and pathology were identified.

In order to model skeletal muscle development, myogenesis transcriptome and proteome data sets were used. Stroma cell transcriptome and human bone marrow derived mesenchymal stem cell's proteome were used to modelling ECM after injury. In addition to these in vitro approaches, muscle degeneration models of mouse and rat, human biopsy samples transcriptome datasets were analyzed to represent in vivo. The upregulated ECM genes were identified and gene lists were prepared accordingly to their presentation of physiological development and pathology processes. The gene lists were analyzed with JASPAR transcription factor binding sites with CiiiDER.

Transcriptome and proteome analyses revealed 264 mRNA and 160 proteins 50 of which represented in both lists. Certain collagen subtypes like 1a1,3a1,5a1 which expressed highly in protein level, showed high mRNA levels in all ECM synthesis models. However subtypes like 1a2, 5a3,6a3 mRNA levels were decrease with differentiation but increase with tissue damage. When the differentially expressed genes were examined in different groups, it is been observed that TEAD family transcription factors controls either situation and different TEAD genes were expressed accordingly. This study reveals relation between TEAD and ECM.

Hacettepe University, School of Medicine, Medical Biology Department, Ankara.

Keywords: Fibrosis, Skeletal Muscle, TEAD Transcription Factor Family, Transcriptomics, Proteomics

## Yeni Sentezlenen Flavonoid Türevi Bileşiklerin Akciğer Adenokarsinoma Hücrelerinde Jak/STAT Yolağı Üzerinden Antiproliferatif Etkilerinin Araştırılması

Haluk Uluca<sup>1</sup>  
Meral Urhan Küçük<sup>2</sup>  
Serdar Burmaoğlu<sup>3</sup>  
Öztekin Algül<sup>4</sup>

### ÖZET

Akciğer kanseri hem dünyada ve hem ülkemizde ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Akciğer kanserinde kemoterapi amaçlı kullanılan ilaç veya etken maddelerin tek başına veya kombinasyon halinde uygulanmasından kaynaklanan toksik ve yan etkiler önemli bir sorun teşkil etmektedir. Bu nedenle kemoterapotik ajanların bu toksik etkileri ve yan etkilerini en aza indiren yeni moleküllerin keşfi oldukça büyük önem kazanmıştır. Bu çalışmanın amacı, yeni sentezlenen bazı flavonoid türevi bileşiklerin, akciğer adeno karsinoma hücrelerinde (A549), JAK/STAT sinyal yolağı üzerinden antiproliferatif etkilerini araştırmak ve bu etkiyi hangi mekanizma ile yaptığını açıklamaktır.

Çalışmamızda kullanılan flavonoid türevi bileşikler, flavone ana omurgasının çeşitli karbonlarından metoksillenmesi ve florlanması ile modifiye edilerek elde edilmiştir. Bu bileşiklerin uygun konsantrasyonları MTT ile belirlenmiş ve 5M bileşiğinin 0, 25,50 µM'lık derişimlerdeki (24 saat), gen ekspresyon düzeyleri qRT-PCR kullanılarak, protein düzeyleri analizleri ise western blot gerçekleştirilmiştir.

5M bileşiğinin 25µM'lık (24h) maruziyet sonrası STAT3 gen ifadesinde bir artış Erk1 düzeyinde ise düşüş gözlemlenmiştir. 50 µM'lık maruziyet sonrası ise sadece Erk1 gen ekspresyon düzeyinde bir düşüş gözlemlenmiştir. 5M bileşiğinin gen ekspresyon düzeyleriyle paralel olarak STAT3 protein düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir artış ve Erk1 protein düzeylerinde ise istatistiksel olarak önemli bir düşüş gözlemlenmiştir. Ancak bu proteinlerin aktif formları olan fosforlanmış halleri STAT3-P, ERK1/2-P protein düzeylerinde bir değişiklik olmamıştır

Sonuç olarak yaptığımız çalışmada, yeni sentezlenen 4 flavonoid türevi bileşik arasından seçilen 5M bileşiğinin A549 hücre hattında antiproliferatif etkisinin olduğu ancak bu etkinin incelediğimiz JAK/STAT sinyal yolağı üzerinden değil MAPK gibi muhtemel başka sinyal yolları üzerinden gerçekleştiği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kanser, Flavonoidler, Sentez, JAK/STAT, STAT3

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniveristesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyokimya ve Genetik Proramı, Hatay.

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniveristesi, Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Hatay.

<sup>3</sup>Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Anorganik Kimya AD, Erzurum.

<sup>4</sup>Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya AD, Mersin.

## Investigation of Antiproliferative Effects of Newly Synthesized Flavonoid Derived Compounds in Lung Adenocarcinoma Cells via Jak/STAT Pathway

Haluk Uluca<sup>1</sup>  
Meral Urhan Küçük<sup>2</sup>  
Serdar Burmaoğlu<sup>3</sup>  
Öztekin Algül<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Health Sciences Institute, Molecular Biochemistry and Genetics, Hatay.

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Tayfur Ata Sökmen Medicine Faculty, Department of Medical Biology, Hatay.

<sup>3</sup>Atatürk University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Department of Anorganic Chemistry, Erzurum.

<sup>4</sup>Mersin University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Mersin.

### ABSTRACT

Lung cancer is one of the leading causes of death in the world. Toxic and side effects arising from the administration of drugs or active substances used for chemotherapy in lung cancer, constitute an important problem. For this reason, the discovery of new molecules that minimize these toxic effects and side effects of chemotherapeutic agents has gained great importance. The aim of this study is to investigate the antiproliferative effects of some newly synthesized flavonoid derivative compounds in A549 via the JAK/STAT signaling pathway.

The flavonoid derivative compounds used in our study were obtained by modifying the flavone backbone from various carbons by methoxylation and fluoridation. Gene expression levels of 5M compound were performed using qRT-PCR, and protein levels were analyzed by western blot.

An increase in STAT3 gene expression levels and a decrease in Erk1 level were observed after exposure of the 5M compound (25µM-24h). After 50µM-24h exposure, only a decrease in Erk1 gene expression level was observed. Parallel to this gene expression levels, an increase in STAT3 protein level and a decrease in Erk1 protein levels were observed. However, there was no change in the protein levels of STAT3-P, ERK1/2-P, the active forms of these proteins.

As a result, in our study, it was concluded that the 5M compound selected from among the 4 newly synthesized flavonoid derivative compounds has an antiproliferative effect on the A549 cell line, but this effect is not through the JAK/STAT signaling pathway, but through other possible signaling pathways such as MAPK.

Keywords: Cancer, Flavonoids, Synthesis, JAK / STAT, STAT3

## Epitelyal over kanserinde miR-451a ifade düzeyinin araştırılması

Khariga Jabbarlı  
Hulya Yazıcı  
Demet Akdeniz Odemish  
Yasemin Gider  
Gamze Uyaroglu, Bushra Kurt  
Sherif Bugra Tuncher  
Seda Kılıç  
Ozge Shukruoğlu Erdoghan  
Betul Chelik

İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser  
Genetiği Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

### ÖZET

Over kanseri erken tanısı oldukça zor olan bir kanser türüdür. Over kanserinin erken tanısı için, özellikle non-invaziv ve periferik kana ait biyobelirteçlerin olması hastalığın erken tanısında çok yararlı olacaktır. Ancak erken tanı için non-invaziv periferik biyobelirteç henüz bulunmamaktadır. Mir-451a'nın over kanseri açısından diskordant olan monozigotik ikizlerde over kanseri ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Çalışmada over kanseri ile ilişkili olduğu söylenen mir-451a'nın over kanserli hastaların periferik kanında hastalığın prognozu ve diyagnozunda biyobelirteç olma potansiyeli incelenmiştir.

150 over kanseri hasta ve hasta popülasyonu ile yaş, cinsiyet olarak eşleştirilmiş, ailesinde 3 jenerasyon boyunca kanser hastalığı görülmeyen 100 sağlıklı kişiden alınan periferik kan örneklerinde miR-451a'nın ekspresyon düzeyi Gerçek Zamanlı qPCR Reaksiyonu ile incelendi. miR-451a'nın anlatım düzeyi ve sonuçların klinik verilerle karşılaştırılmasında Kolmogorov-Smirnov Mann-Whitney U ve Receiver Operator Characteristics (ROC) analizleri kullanıldı

Bu iki grup arasında miR-451a ekspresyon düzeyinin 12.5 kat arttığı ve istatistiksel açıdan anlamlı ( $p < 0,05$ ) olduğu görüldü. miR-451a ekspresyon düzeyi ile metastaz varlığı, evreleme, tümör çapı, menopoz durumu, infertilite, hamilelik olmak üzere farklı parametreler arasında her hangi bir istatistiksel anlamlılık görülmezken, ailede var olan over kanseri ve meme kanser vaka sayıları ile miR-451a ekspresyonu arasında istatistiksel anlamlılık saptandı ( $p = 0,018$ ). ROC analizine göre miR-451a molekülünün yumurtalık kanseri için biyolojik belirteç niteliği taşıdığı belirlendi.

Bu çalışma, epitelyal over kanseri hastalarında biyobelirteç olarak miR-451a'nın değerini gösteren ilk çalışmadır. Çalışmada miR451a'nın epitelyal yumurtalık kanserinde aşırı eksprese edildiği, over kanserinin tanı ve takibinde potansiyel bir biyobelirteç olabileceği belirlenmiştir. Öte yandan miR-451a'nın, tedaviye direnç geliştirmedeki olası rolü sebebi ile yumurtalık kanserinin tedavisinde terapötik hedef olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biobelirteç, kanser genetiği, mir-451a, over kanseri

## Investigation of miR-451a Expression Level in Epithelial Ovarian Cancer

Khariga Jabbarli  
Hulya Yazici  
Demet Akdeniz Odemish  
Yasemin Gider  
Gamze Uyaroglu, Bushra Kurt  
Sheref Bugra Tuncher  
Seda Kılıç  
Ozge Shukruoğlu Erdoghan  
Betul Chelik

Istanbul University, Oncology Institute, Division of  
Cancer Genetics, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Ovarian cancer is a type of cancer that is difficult to diagnose early. For the early diagnosis of ovarian cancer, especially non-invasive and peripheral blood biomarkers will be very useful in the early diagnosis of the disease. However, there is no non-invasive peripheral biomarker for early diagnosis yet. The study examined the potential of mir-451a, which is claimed to be associated with ovarian cancer, as a biomarker in the prognosis and diagnosis of peripheral blood disease in patients with ovarian cancer. **Methods:** The expression level of miR-451a in peripheral blood samples taken from 150 ovarian cancer patients and patient population, and 100 healthy individuals who had no cancer in their families for 3 generations, matched for age and sex, were examined by Real-Time qPCR Reaction. Kolmogorov-S Mann-W, ROC analyzes were used to compare the expression level of miR-451a and the results with clinical data.

It was observed that the expression level of miR-451a increased 12.5 times between these two groups and was statistically significant. While there was no statistical significance between miR-451a expression level and different parameters such as presence of metastasis, staging, tumor diameter, menopausal status, infertility, pregnancy, a statistically significant difference was found between the number of ovarian and breast cancer cases in the family and miR-451a expression. According to ROC analysis, the miR-451a molecule has been identified as a biomarker for ovarian cancer.

**Conclusion** In the study, it was determined that miR451a was overexpressed in epithelial ovarian cancer, and it could be a potential biomarker in the diagnosis of ovarian cancer

**Keywords:** Biomarker, cancer genetics, mir-451a, ovarian cancer

## In vitro Translasyon ile Ribozom İşlev Tayini

Hasan Basri Kılıç<sup>1</sup>  
Arda Çetinkaya<sup>2</sup>  
Ayşe Nurten Akarsu<sup>2</sup>  
Yusuf Çetin Kocaefe<sup>1</sup>

### ÖZET

Hücrede genetik bilgi akışının son basamağı olan protein sentezi ribozomlar tarafından gerçekleştirilir. Ribozomun yapısındaki proteinlerin veya rRNA mutasyonları protein sentez işlevinin bozulması "ribozomopati" hastalıkları olarak sınıflandırılmaktadır. Ribozomopatiler içinde Diamond-Blackfan anemisi, Schwachman-Diamond, dyskeratosis congenita ve sarkopeni gibi patolojiler yer almaktadır. Bu genetik heterojenite, şüpheli vakalarda tanıyı zorlaştırmaktadır. Bu amaçla, ribozom yapı ve işlevinin incelendiği yüksek maliyetli, uzmanlık ve altyapı gerektiren, ribosome profiling uygulaması yapılmaktadır. Çalışmamız, şüpheli vakaların ileri genetik incelemelere alınabilmesi için in vitro translasyon yaklaşımıyla ribozom işlevini profilleyen hızlı ve pratik bir test geliştirilmeyi amaçlamaktadır.

Geliştirilen test yaklaşımı, floresan bildirici proteine ait mRNA translasyonunun gerçek zamanlı takibi prensibine dayanmaktadır. Bu amaçla, test materyali hücre lizatından ribozom alt birimleri ve translasyon için gerekli substrat ve ko-faktörler izole edilmiştir.

LaminA - yeşil floresan protein füzyon (LAMA-eGFP) mRNA'sını içeren hücre lizati; test materyali olan hücrelerin sitoplazmik fraksiyonu ile birlikte in-vitro translasyon sağlanmıştır. Yeni sentezlenen floresan proteine ait sinyal florometrik olarak gerçek zamanlı izlenebilmiştir. Ölçümlerde eGFP mRNA'sı eklenmiş test materyali sitoplazma fraksiyonunun 240. dakika sonunda, 24 saat boyunca LAMA-eGFP ifade etmiş kontrol hücreleri ile aynı ışımaya düzeyine ulaşmıştır. Negatif kontrol materyalinde ise, floresan ışımaya 300 dakika sonrasında azalmaya başlayarak 60 dakika içerisinde bazal düzeye inmiştir. Kinetik ölçümlerde, LAMA-eGFP mRNA'sı ile gerçekleşen in vitro translasyondan elde edilen floresan sinyal 240 dakika içerisinde kontrol örneklerine göre 2 kat artış sergilemiştir. Çalışma in vitro translasyon kinetiği ölçümü için yeni bir teknik önermektedir.

Önerilen profillemeye tekniğinin sağlıklı ve hasta örneklerinde tekrarlanması ile ribozomopati şüphesi vakalarında kantitatif in vitro translasyon profillemesi sağlayan yeni ve pratik bir test geliştirilmesi hedeflenmektedir.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından Horizon2020 projeleri kapsamında 319S617 proje numarası ile desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diamond Blackfan Anemisi, In vitro Translasyon, Ribozomopati

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD., Ankara.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD., Ankara.



## Ribosome Function Determination with In vitro Translation Assay

Hasan Basri Kılıç<sup>1</sup>  
Arda Çetinkaya<sup>2</sup>  
Ayşe Nurten Akarsu<sup>2</sup>  
Yusuf Çetin Kocaefe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe University, School of Medicine, Medical Biology Department, Ankara.

<sup>2</sup>Hacettepe University, School of Medicine, Medical Genetics Department, Ankara.

### ABSTRACT

The last step genetic knowledge flow is synthesizing proteins is performed by ribosomes. Mutations in the genes encoding ribosomal proteins and rRNAs results with ribosomopathies which cause Diamond-Blackfan anemia, Schwachman-Diamond syndrome, dyskeratosis congenita and sarcopenia. This genetic heterogeneity cause problems diagnosis in mild cases In order to detect those patients, ribosome profiling which requires infrastructure and expertise is performed. Our study aims assessing ribosome function in uncertain cases before the further genetic investigations.

Developed test approach is based on time coarse quantification of translation florescent protein mRNA. For this purpose, ribosomes, substrates and cofactors were isolated from cellular lysate of test material.

Lamin A- green florescent protein fused (LAMA-eGFP) mRNA containing cellular lysate were consubstantiated with test material cellular lysates in order to perform in vitro translation. The signal of newly synthesized proteins were observed real time. The eGFP added test material's signal were became equal at 240 minute with the signal of 24 hour control cells which expressed LAMA-eGFP for 24 hour. In negative control material, florescent signal were decreased after 300 minutes and reached the basal level in 60 minutes. In kinetic measurements, in vitro translation of LAMA-eGFP mRNA's florescent signal was increased 2 fold in 240 minutes when compared with controls. This study propose a new technique to quantification of in vitro translation.

Conducting this assay in different healthy control and patient cells would be the first step of identifying ribosomopathy patients with respect to their protein synthesis phenotype before any genetic test.

Keywords: Diamond Blackfan Anemia, In vitro Translation, Ribosomopathies

## Papiller tiroid kanseri gelişimi ve klinopatolojik özellikleri ile SOX2OT, DANCR ve TINCR uzun kodlamayan RNA ekspresyonları arasındaki ilişki

Fadime Mutlu İçduygu<sup>1</sup>  
Demet Şengül<sup>2</sup>  
Egemen Akgün<sup>3</sup>  
Asuman Özgöz<sup>4</sup>  
Ebru Alp<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Giresun.

<sup>2</sup>Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Giresun.

<sup>3</sup>Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun.

<sup>4</sup>Kastamonu Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Kastamonu.

### ÖZET

Uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar) 200 nükleotidden uzun protein kodlamayan ve gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rolleri olan moleküllerdir. Bu çalışmada farklı kanser türleri ile ilişkili olduğu bilinen SOX2OT, DANCR ve TINCR lncRNA'ların papiller tiroid kanseri ile ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Mevcut çalışmaya 102 erken evre papiller tiroid kanseri hastası dahil edilmiş olup hastaların formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş tümör ve komşu normal doku örneklerinden RNA izole edilerek cDNA ya dönüştürülmüştür. SOX2OT, DANCR ve TINCR ekspresyonları kantitatif Real Time PCR yöntemiyle çalışılmıştır. Tümör ve normal dokudan elde edilen ekspresyon verileri Wilcoxon Signed-Rank test kullanılarak karşılaştırılmıştır. Ayrıca hasta grubu düşük ve yüksek ekspresyon edenler olarak iki gruba ayrılmış ve klinopatolojik özelliklerle lncRNA'ların ekspresyonları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

SOX2OT ve DANCR ekspresyonunun tümör örneklerinde normal dokuya kıyasla arttığı belirlenirken, TINCR ekspresyonunda anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ayrıca SOX2OT ekspresyonu mikrokarsinom, tümör çapı ve primer tümörle ilişkili bulunurken, DANCR ekspresyonu yaş ve mikrokarsinomla ilişkili bulunmuştur.

Mevcut çalışmadan elde edilen veriler SOX2OT'nin papiller tiroid kanseri gelişimi ve ilerlemesine, DANCR'ın ise hastalığın gelişimine, katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Bu çalışma Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. (etik kurul numarası: 2018-06-10) ve Giresun Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (proje no:SAĞ-BAP-A-150219-39).

Anahtar Kelimeler: DANCR, papiller tiroid kanseri, SOX2OT, TINCR, uzun kodlamayan RNA

## Relationship between development and clinopathological features of papillary thyroid cancer and expressions of SOX2OT, DANCR and TINCR long noncoding RNAs

Fadime Mutlu İçduygu<sup>1</sup>  
Demet Şengül<sup>2</sup>  
Egemen Akgün<sup>3</sup>  
Asuman Özgöz<sup>4</sup>  
Ebru Alp<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Giresun University Faculty of Medicine Department of Medical Genetics, Giresun.

<sup>2</sup>Giresun University Faculty of Medicine Department of Pathology, Giresun.

<sup>3</sup>Giresun University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Giresun.

<sup>4</sup>Kastamonu University Faculty of Medicine Department of Medical Genetics, Kastamonu.

### ABSTRACT

Long non-coding RNAs (lncRNAs) are molecules that are longer than 200 base pairs, do not encode a protein but have a very important role in the regulation of gene expression. In this study, it was aimed to investigate the relationship of SOX2OT, DANCR and TINCR lncRNAs, which are known to be associated with different cancer types, and papillary thyroid cancer.

102 patients with early stage papillary thyroid cancer were included in the current study and RNA isolation were performed from formalin fixed paraffin embedded (FFPE) tumor and adjacent normal tissue samples. Then RNA samples were converted into cDNA. Quantitative Real Time PCR method was used to determine the relative gene expression levels of SOX2OT, DANCR and TINCR. Expression data obtained from tumor and normal tissue were compared using Wilcoxon signed-rank test. In addition patients were divided into two groups (high expression group and low expression group). The relationship between expressions of lncRNAs and clinical characteristics of patients were analyzed.

While it was determined that the expression of SOX2OT and DANCR was increased in tumor samples compared to normal tissues, no significant difference was observed in the expression of TINCR. In addition, SOX2OT expression was associated with microcarcinoma, tumor size, and primary tumor, while DANCR expression was associated with age and microcarcinoma.

Data from the present study indicate that SOX2OT may contribute to the development and progression of papillary thyroid cancer, and DANCR to the development of the disease.

Keywords: DANCR, long noncoding RNA, papillary thyroid cancer, SOX2OT, TINCR

## Çeşitli Mantar Ekstraktlarının Kolorektal Kanser Hücre Hatlarında Genotoksik, Apoptotik, Sitotoksik ve Gen Ekspresyonu Üzerine Etkisi

Yasin Tülüce  
Ahmet Yasin Keleş  
Sedat Köstekci  
Halil Özkol

### ÖZET

Kolorektal kanser, dünyada akciğer ve meme kanserinden sonra en fazla tanı konulan üçüncü kanser türüdür. Son yıllarda kanser tedavisi araştırmalarında doğal bileşikler ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmanın amacı *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii* ve *Inonotus hispidus* mantar ekstraktlarının HT-29 ve HCT-116 kolorektal kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik, apoptotik, DNA hasarı ve oksidatif stres etkilerini moleküler düzeyde araştırmaktır.

Bu doğrultuda mantar ekstraktlarının farklı dozları *in vitro* ortamda kolorektal kanser hücre hatları üzerine uygulanmış ve MTT deneyi ile IC50 sonucu elde edilmiştir. IC50 sonucuna göre, *Ganoderma lucidum* kullanılan mantarlar arasında en etkili sitotoksik değeri sahip olduğu tespit edilmiştir. *Ganoderma lucidum* ekstraktının oksidatif stres üzerindeki moleküler etkisinin araştırmak için TAS, TOS ve NRF-2 testleri, DNA hasarının belirlemek için DNA ladder, hücre göçü (migrasyon) analizi için Scratch assay yöntemi ve hücrelerin koloni oluşturma potansiyeli için koloni analiz yöntemi kullanıldı.

Elde edilen Sonuçlar, *Ganoderma lucidum* mantar özütünün hücre proliferasyonunu, koloni oluşumunu ve NRF-2'yi azalttığını, DNA hasarını indüklediğini, hücre göçünü yavaşlattığını ve oksidatif stresi arttırdığını göstermiştir.

Bu çalışmada, *Ganoderma lucidum* mantar ekstraktının hücre DNA'ya zarar vererek hücre çoğalmasını azalttığı ve kolorektal kanser hücre hatlarında sitotoksik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-2019-8184 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, Van.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, DNA Hasarı, *Ganoderma lucidum*, Kolorektal kanser, Sitotoksikite

## The Effect of Various Mushroom Extracts on Genotoxic, Apoptotic, Cytotoxic and Gene Expression in Colorectal Cancer Cell Lines

Yasin Tülüce  
Ahmet Yasin Keleş  
Sedat Köstekci  
Halil Özkol

Department of Medical Biology, Faculty of Medicine,  
Van Yuzuncu Yil University, Van.

### ABSTRACT

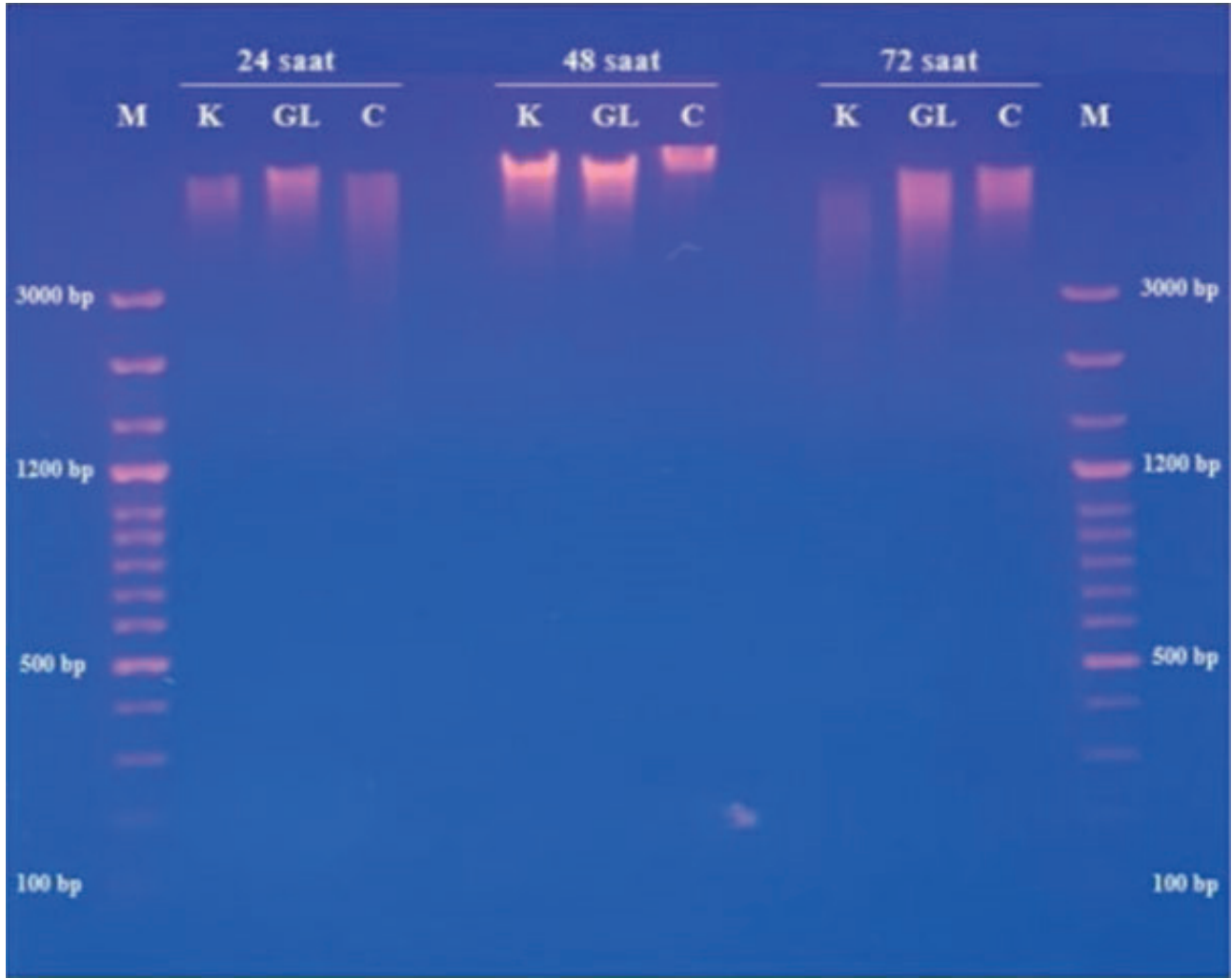
Colorectal cancer is the third most diagnosed cancer type in the world after lung and breast cancer. In recent years, natural compounds have come to the fore in cancer treatment research. The aim of this study is to investigate the cytotoxic, apoptotic, DNA damage and oxidative stress effects of *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii* and *Inonotus hispidus* mushroom extracts on HT-29 and HCT-116 colorectal cancer cell lines at the molecular level.

Accordingly, different doses of mushroom extracts were applied to colorectal cancer cell lines in vitro and IC50 result was obtained with MTT test. According to the IC50 result, *Ganoderma lucidum* was found to have the most effective cytotoxicity value among the mushrooms used. TAS, TOS and NRF-2 tests were used to investigate the molecular effect of *Ganoderma lucidum* extract on oxidative stress, DNA ladder for determining DNA damage, Scratch assay method for cell migration analysis, and colony assay method for colony formation potential of cells.

The results showed that *Ganoderma lucidum* mushroom extract reduces cell proliferation, colony formation and NRF-2, induces DNA damage, slows cell migration and increases oxidative stress

In this study, it has been shown that *Ganoderma lucidum* mushroom extract reduces cell proliferation by damaging cellular DNA and has a cytotoxic effect in colorectal cancer cell lines.

Keywords: Apoptosis, DNA Damage, *Ganoderma lucidum*, Colorectal cancer, Cytotoxicity



**Şekil 1.** Ganoderma lucidum ve cisplatin ile muamele edilmiş HCT-116 hücrelerindeki DNA hasarı.

**Figure 1.** DNA damage in HCT-116 cells treated with Ganoderma lucidum and cisplatin.

## Taksan dirençli prostat kanserlerinde direncin kırılmasında rol oynayan BRPF1/2 proteinlerinin moleküler etki mekanizmasının incelenmesi

Beyza Dedeoğlu<sup>1</sup>  
Buse Cevatemre<sup>2</sup>  
İpek Bulut<sup>3</sup>  
Tuğba Bağcı Önder<sup>4</sup>  
Ceyda Açılan<sup>4</sup>

### ÖZET

Kanser hücrelerinin epigenetik düzenlenmesi, kanser gelişimi, ilerlemesi ve ilaç direncini etkiler. Lokalize prostat kanseri; kastrasyon amacıyla androjen baskılama ve cerrahi müdahale ile tedavi edilebilirken, çok sayıda hastada birincil prostat kanserinden daha agresif ve/veya metastatik olan kastrasyona dirençli prostat kanseri (KDPK) gelişir. KDPK hastaları bu aşamada kemoterapötik taksanlarla (Dosetaksel ve Kabazitaksel) tedavi edilmeye çalışılır, fakat zaman içerisinde bu ilaçlara karşı direnç geliştirir. İlaç direncini yok eden/geri çeviren terapilerin geliştirilebilmesi için, dirençli hücrelerde epigenetik mekanizmaların belirlenmesi çok önemlidir. Laboratuvarımızda, taksan direncini kıran epigenetik düzenleyicileri belirlemek için Dosetaksel ve Kabazitaksel dirençli KDPK hücreleriyle (Du145 ve 22Rv1) yapılan epigenetik ilaç kütüphanesi ve CRISPR taramalarına göre BRPF inhibisyonunun taksan direncini geri çevirdiği görülmüştür. Amacımız, bu hücrelerde BRPF (Bromodomain grubu içeren epigenetik okuyucu proteinler) inhibisyonunun taksan direncini geri çevirmedeki epigenetik değişimleri ve moleküler yolları aydınlatılmasıdır.

BRPF1 ve BRPF2 anlatımın baskılanması siRNA ve CRISPR/Cas9 ile gerçekleştirilmiştir. Epigenetik değişiklikler H3K27 asetilasyonu ile takip edilmiştir. BRPF inhibisyonu sonrası SRB canlılık ve koloni oluşturma testleri yapılmıştır. Transkriptomik farklar RNAseq, direkt hedef olan genler ChIPseq dizileme metodu ile incelenmiştir.

Küçük moleküllerle yapılan BRPF inhibisyonu, taksan dirençli KDPK hücrelerini taksana yeniden duyarlı hale getirmiştir. Taksan dirençli KDPK hücrelerinin BRPF2 knock-out'u taksan direncini tersine çevirirken, beklendiği üzere parental hatların taksana cevabı BRPF2 knock-out'unda değişmemiştir. Dizileme sonuçları biyoinformatik analizlerle incelenmiştir, anlatımı anlamlı olarak değişen genler sunum kapsamında tartışılacaktır.

BRPF ailesi proteinleri taksan dirençli kanser hücrelerini taksana yeniden duyarlı hale getirmek için önemli epigenetik düzenleyiciler olarak karşımıza çıkmaktadır. Dolayısıyla bu bulgular BRPF inhibitörlerinin taksanlarla kombinasyonunun klinikte uygulanması için ümit vaat edici görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: BRPF, kastrasyon dirençli prostat kanseri, ilaç direnci, epigenetik, taksan

<sup>1</sup>Koç Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Koç Üniversitesi, Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>Koç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

<sup>4</sup>Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye.

## Investigation of the molecular mechanism of action of BRPF1/2 proteins, which play a role in reversing resistance in taxane-resistant prostate cancers

Beyza Dedeoğlu<sup>1</sup>  
Buse Cevatemre<sup>2</sup>  
İpek Bulut<sup>3</sup>  
Tuğba Bağcı Önder<sup>4</sup>  
Ceyda Açılan<sup>4</sup>

### ABSTRACT

Epigenetic regulation of cancer cells affects cancer development, progression and drug resistance. While localized prostate cancer can be treated with androgen suppression and surgery, many patients develop castration-resistant prostate cancer (CRPCa), which is more aggressive and/or metastatic. CRPCa patients are treated with chemotherapeutic taxanes (Docetaxel and Cabazitaxel), however they develop resistance to these drugs over time. It is important to determine epigenetic mechanisms in drug resistance in order to develop therapies. Epigenetic drug library and CRISPR screens with taxane resistant CRPCa cells (Du145 and 22Rv1) has shown that BRPF inhibition reverses taxane resistance. Our aim is to elucidate molecular pathways of BRPF (epigenetic reader proteins containing bromodomain group) inhibition in reversing taxane resistance in these cells.

Suppression of BRPF1 and BRPF2 expression was achieved with siRNA and CRISPR/Cas9. Following BRPF inhibition, cell viability and colony formation capacity were monitored via SRB analysis and colonogenic assay, respectively. Transcriptomic differences were examined by RNAseq, direct target genes were analyzed by ChIPseq method.

BRPF inhibition with small molecules resensitized taxane-resistant CRPCa cells to taxane. While BRPF2 knock-out of taxane-resistant CRPCa cells reversed taxane resistance, parental cells were not further sensitized to taxanes as predicted. The sequencing results were investigated by bioinformatic analysis, and the differentially expressed genes will be discussed within the scope of the presentation.

BRPF family proteins emerge as important epigenetic regulators to resensitize taxane-resistant cancer cells to taxane. These findings seem promising for clinical application of the combination of BRPF inhibitors with taxanes.

Keywords: BRPF, castration-resistant prostate cancer, drug resistance, epigenetics, taxane

<sup>1</sup>Koç University, Graduate School of Sciences and Engineering, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Koc University, Translational Medicine Research Center (KUTTAM), Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Koç University, Graduate School of Health Sciences, Istanbul, Turkey.

<sup>4</sup>Koc University, School of Medicine, Istanbul, Turkey.



## PRMT5 proteinin prostat kanserinde taksan direncini nasıl geri çevirdiğinin moleküler mekanizmasının araştırılması

Naz Uzunalioglu  
Buse Cevatemre  
İpek Bulut  
Ceyda Açılan

### ÖZET

Kastrasyon dirençli prostat kanserinde, taksan tedavisi (dosetaksel/ kabazitaksel) sıklıkla kullanılan bir kemoterapi metodudur. Ancak zaman içinde bu ilaçlara karşı direnç gelişmekte ve klinikte önemli bir sorun teşkil etmektedir. Laboratuvarımızda bu kemoterapötik ilaçlara karşı gelişen direnci kırmak amacıyla epigenetik ilaç ve CRISPR dropout taramaları gerçekleştirilmiş ve PRMT5 inhibisyonunun dirençli hücreleri taksanlara karşı tekrar duyarlı hale getirdiği görülmüştür. Projemizde, prostat kanserinde PRMT5'in taksan direncini nasıl geri çevirdiğinin moleküler düzeyde aydınlatılması hedeflenmektedir.

Laboratuvarımızda dosetaksel ve kabazitaksele dirençli prostat kanser hücre hatları (Du145 ve 22Rv1) doz artırımı metoduyla geliştirilmiştir. Bu hücrelerde PRMT5 inhibitörlerinin (HLCL61 ve GSK591) taksan direncindeki etkisi SRB ve klonojenik canlılık deneyleri ile test edilmiştir. PRMT5 ekspresyonunun baskılanması, siRNA'yla susturma ve CRISPR/ Cas9 knock-out yaklaşımları ile gerçekleştirilmiştir. PRMT5'in dirençli hücrelerde indüklediği transkriptomik değişiklikler RNA-seq metodu ile analiz edilmiştir. Ek olarak, PRMT5 baskılanmasının çoklu ilaç direnci üzerindeki (Multidrug resistance - MDR) etkileri RT-qPCR ve kalsein alımı testi ile incelenmiştir.

Yapılan canlılık ve klonojenik testler sonucunda, PRMT5 inhibitörleri parental duyarlı hücreler üzerinde bir etki yaratmazken, dirençli hücrelerde direnci doza bağlı olarak geri çevirdiği gözlemlenmiştir. PRMT5 baskılanması, bir MDR proteini olan ABCB1'in anlatımını azaltmış ve fonksiyonel testlerde hücre içi kalsein alımını düşürmüştür. Hücrelerde gelişen diğer gen anlatımı değişiklikleri sunum kapsamında tartışılacaktır.

PRMT5'in taksan direncindeki geri çevirici etkisi umut verici bir terapi yaklaşımı olarak karşımıza çıkmaktadır. Etki mekanizmaları aydınlatılarak, klinikte taksanlarla beraber kullanımı için in vivo fare modellerinde test edilmesi planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: PRMT5, taksan direnci, prostat kanseri, epigenetik

Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul.

## Investigation of the molecular mechanism of how PRMT5 reverses taxane resistance in prostate cancer

Naz Uzunalioglu  
Buse Cevatemre  
İpek Bulut  
Ceyda Açılan

### ABSTRACT

Taxane therapy (docetaxel/cabazitaxel) is a frequently used chemotherapy method in castration-resistant prostate cancer. However, resistance to these drugs develops over time and poses an important clinical problem. To revert taxane resistance, epigenetic drug screen and CRISPR dropout screens were performed in our laboratory. Our analysis showed that both inhibition and knockout of PRMT5 resensitized resistant cells to taxane treatment. In our project, we aim to elucidate how PRMT5 reverses taxane resistance in prostate cancers at the molecular level.

Docetaxel and cabazitaxel resistant prostate cancer cells (Du145 and 22Rv1) were developed using dose escalation method. The effect of PRMT5 inhibitors (HLCL61 and GSK591) on taxane resistance in these cells was tested by SRB and clonogenic viability assays. PRMT5 expression was suppressed by siRNA silencing and CRISPR/Cas9 knock-out approach. The transcriptomic changes induced by PRMT5 inhibition in resistant cells were analyzed by RNA-seq. Additionally, effect of PRMT5 suppression on multidrug resistance (MDR) was investigated by RT-qPCR and calcein uptake assay.

While PRMT5 inhibitors did not have an effect on sensitive parental cells, resistance was reversed in resistant cells as determined by viability and clonogenic assays. PRMT5 suppression not only reduced the expression of ABCB1, an MDR protein, but also decreased intracellular calcein uptake in functional tests. Other differentially expressed genes will be discussed during the presentation.

The reversal of taxane resistance via PRMT5 inhibition appears to be a promising therapeutic approach. Therefore, PRMT5 inhibitors and/or molecules through which PRMT5 is acting will be tested in combination with taxanes in mice resistant models.

Keywords: PRMT5, taxane resistance, prostate cancer, epigenetics

Koc University Medicine Faculty, Istanbul.

## Meme kanserinde demir homeostazıyla ilgili genlerin ekspresyonu

Tuba Mutlu<sup>1</sup>  
Didem Trabelus<sup>2</sup>  
Canan Kelten<sup>3</sup>  
Meltem Mete<sup>4</sup>  
Duygu Erhan<sup>4</sup>  
Mehmet Güven<sup>4</sup>

### ÖZET

Meme kanseri üzerinde son zamanlarda yapılan çalışmalarda demir metabolizması ile ilişkili genlerin ekspresyon düzensizliği gösterilmiş olup, bu değişimlerin hastalarda prognostik önem kazandığı görülmektedir. Çalışmamızda meme kanserli hastaların tümör ve normal dokularında demir homeostazıyla ilişkili Matriptaz 2 (TMPRSS6), Hemojuvelin (HFE2), Hepsidin (HAMP), IRP1, Ferroportin 1 (FPN1), Transferrin reseptör 1 (TFRC), miRNA 122 genlerinin ifade düzeylerini kıyasladık ve bu genlerin ifade düzeylerini birbirleriyle ve hastaların klinik verileri ile ilişkilendirdik.

Çalışmamıza, yeni meme kanseri tanısı konmuş, herhangi bir tedavi uygulanmamış 75 kadın hastadan alınan tümörlü ve normal dokuları dahil edildi. Demir homeostazıyla ilgili genlerin ifade düzeyleri qRT-PCR yöntemiyle tespit edildi.

Çalışmamızda TFRC, TMPRSS6, ve IRP1 genlerinin ifade düzeylerinin tümörlü dokuda normal dokuya göre arttığı saptanmıştır. FPN1, HFE2 ve miRNA122 genlerinin ise ifade düzeylerinin tümörlü dokuda normal dokuya göre azaldığı saptanmıştır. HAMP gen ifade düzeyi açısından tümörlü ve normal dokular arasında fark tespit edilmemiştir (p=0,911). TMPRSS6, TFRC, IRP1, HFE2 ve miRNA122 genlerin ifade düzeyleri ile hastaların bazı klinik veriler arasındaki ilişki incelendiğinde, sadece IRP1 ifade düzeyleri ile hematolojik verilerden PLT seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde bir korelasyon saptanmıştır (r=0,260; p=0,025). Çalışmamızda ayrıca IRP1 ile FPN1 arasında (r=0,266; p=0,022) ve IRP1 ile miRNA 122 arasında da istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde bir korelasyon saptanmıştır (r=0,231; p=0,048).

Demir homeostazında rol oynayan molekülleri kodlayan genlerdeki ifade düzeylerinin meme karsinogenezi ile ilişkisini araştırdığımız çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarımız, demir homeostaz gen ifadelerinin klinik önemini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Demir homeostazı, Meme kanseri, qRT-PCR

<sup>1</sup>İstanbul Arel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>3</sup>İzmir Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Patoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>4</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul.

## Expression of genes related to iron homeostasis in breast cancer

Tuba Mutlu<sup>1</sup>  
Didem Trabulus<sup>2</sup>  
Canan Kelten<sup>3</sup>  
Meltem Mete<sup>4</sup>  
Duygu Erhan<sup>4</sup>  
Mehmet Güven<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Istanbul Arel University Faculty of Medicine,  
Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul.

<sup>2</sup>Bahcesehir University Faculty of Medicine, Department  
of General Surgery, Istanbul.

<sup>3</sup>Izmir Health Sciences University Faculty of Medicine,  
Department of Pathology, Istanbul.

<sup>4</sup>Istanbul University-Cerrahpasa Faculty of Medicine,  
Department of Medical Biology, Istanbul.

### ABSTRACT

Studies on breast cancer have shown irregular expression of iron-related genes, and these changes seem to gain prognostic significance in patients. In this study, we compared the expression levels of Matriptase 2 (TMPRSS6), Hemojuvelin (HFE2), Heparin-binding EGF-like protein 2 (HAMP), IRP1, Ferroportin 1 (FPN1), Transferrin receptor 1 (TFRC), miRNA 122 genes in tumor and normal tissues of breast cancer patients. We correlated expression levels of genes with each other and clinical data of patients.

In this study, tumor and normal tissues taken from 75 women with newly diagnosed breast cancer without any treatment were included. Expression levels of genes related to iron homeostasis were determined by qRT-PCR method.

In our study, expression levels of TFRC, TMPRSS6, and IRP1 genes were found to increase in tumor tissue compared to normal tissue. Expression levels of FPN1, HFE2 and miRNA122 genes decreased in tumor tissue compared to normal tissue. Only a statistically significant positive correlation was found between IRP1 expression levels and PLT levels from hematological data ( $r = 0,260$ ;  $p = 0,025$ ). In our study, a statistically significant positive correlation was also found between IRP1 and FPN1 ( $r = 0,266$ ;  $p = 0,022$ ) and between IRP1 and miRNA 122 ( $r = 0,231$ ;  $p = 0,048$ ).

The results of our study, which investigated the relationship between levels of expression in genes encoding molecules involved in iron homeostasis and breast carcinogenesis, reveal the clinical importance of iron homeostasis gene expression.

Keywords: Iron homeostasis, Breast cancer, qRT-PCR

## Epitel doku fizyolojisinin temel düzenleyicilerinden Wnt sinyal yolağı ve Klf5 transkripsiyon faktörünün mezenkimal doku idamesindeki rolü ve önemi

Duygu Sevim  
Duygu Akçay  
Çetin Kocaefe

### ÖZET

KLF transkripsiyon faktörleri embriyonik kök hücrelerde, erişkin yaşamda ise epitel dokuda yaygın ifadesi olan, farklılaşma, çoğalma, hücre göçü ve apoptosis gibi temel işlevleri düzenlemektedir. Klf5, ifade olduğu doku ve hücre tipine göre değişken işlev gösteren bir transkripsiyon faktörüdür. İskelet kasında Klf5 ifade eksikliğinin farklılaşmayı engelledi, farklılaşma için gerekli süreci düzenleyen transkripsiyon ve düzenleyicilerin ifadesini baskıladığı araştırma ekibimiz tarafından daha önce gösterilmiştir. Klf5'in DNA bağlanma hedefleri ve etkileşimde bulunduğu proteinler çok çeşitlidir. Klf5 farklı dokularda, farklı hücrelerde, farklı koşullarda benzer veya zıt etki gösterebilmektedir. Bu nedenle, kas dokusundaki işlevinin diğer hücre tiplerindeki görevlerinden yola çıkarak öngörülmesi mümkün değildir. Wnt sinyal molekülü ailesi, embriyogenez, doku onarımı ve homeostazı gibi süreçleri düzenler. Wnt yolağı bileşenlerinin kas dokusunda varlığı ve etkileri hakkında zıt fikirler bulunmaktadır. Ancak bu etkinin moleküler yolları ve araçları bilinmemektedir. Klf5'in iskelet kası kök hücre aktivasyonu, çoğalma, farklılaşma süreçlerindeki düzenleyici görevi göz önüne alındığında Wnt bileşenleri tarafından düzenlenebileceği hipotezi kurulmuştur. Hipotezi araştırmak için fare myoblast hücreleri ile çalışıldı. Bu hücrelerde Wnt genleri ve Fzd reseptörleri ifadesi incelendi. Değişken Wnt uygulama yaklaşımlarında 10 farklı Wnt molekülünün hücre bölünmesi ve iskelet kası farklılaşmasına olası etkisi incelendi. Klf5 gen ifadesi mRNA ve protein düzeyinde gözlemlendi. 10 farklı Wnt molekülü için, iskelet kası çoğalma ve farklılaşma süreçlerinin etkilenmediği kalitatif olarak gösterildi. Bu süreçte Klf5 ifadesinin değişim sergilemediği kantitatif olarak ortaya kondu. Bu durum, epigenetik düzenleyicilerin embriyonik ve erişkin dönemde, epitel ve mezenkimal dokularda birbirinden farklı mekanizmalar tarafından yönlendirildiğine işaret etmektedir. Bulgularımızın başta yağ ve kıkırdak olmak üzere diğer mezenkimal dokularda geçerliliğinin doğrulanması planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Klf5, Wnt, İskelet kası

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, Ankara.

## The role and importance of Wnt Signaling pathway and Klf5 transcription factor which both of them are basic regulators of epithelial tissue physiology, in mesenchymal tissue maintenance

Duygu Sevim  
Duygu Akçay  
Çetin Kocaefe

### ABSTRACT

KLFs, regulates several basic cell physiology functions including differentiation, proliferation, migration and death in epithelial tissue. Klf5 is widely expressed in embryonic stem cells and more commonly in epithelial tissue in the adult life. Its function is strictly context dependent based on the tissue and cell type in which it is expressed. We have previously shown that lack of Klf5 expression inhibits differentiation in the in skeletal muscle. Since the DNA binding targets and interaction partners of Klf5 are very diverse, Klf5 shows both similar and opposing effects in various tissues, cells and conditions. Therefore, its role in skeletal muscle cannot be predicted based on known functions. Wnt family of signaling molecules are involved in processes such as embryogenesis, tissue repair. There are contradicting opinions on the role of Wnt pathway in muscle tissue. Meanwhile, the molecular pathways and mediators of Wnt signaling in skeletal muscle are unknown. Considering its regulatory role in skeletal muscle stem cell activation, proliferation and differentiation, Wnt components are plausible candidates for Klf5 expression. Here, we utilized C2C12 cells and mouse primary myoblasts as models to investigate this hypothesis and both the expressions of Wnt genes and Fzd receptors are elucidated. 10 Wnt molecules were challenged for the investigation of proliferation and differentiation of skeletal muscle myoblasts in various Wnt delivery approaches. Klf5 gene expression was documented at the mRNA and protein levels in three independent experimental approaches. The results clearly demonstrated that Wnt signaling is not a modulator of Klf5 expression and differentiation in skeletal muscle progenitor cells. These results indicate that diverse regulator mechanisms are interplaying in epithelial and mesenchymal tissues in embryonic and adult stages.

Keywords: Klf5, Wnt, Skeletal muscle

Hacettepe University Faculty Of Medicine Medical  
Biology Department, Ankara.

## Protein miktar tayininde yeni nesil kapiller immunoelktroforez sistemi

Duygu Sevim  
Çetin Kocaefe

### ÖZET

Western blot, protein tespiti için en yaygın kullanılan ve kabul edilen metodolojidir. Western blot yaygın kullanılan bir teknik olmasına rağmen, zayıf tekrarlanabilirlik, doğru kantitasyon eksikliği, protokolün uzun süre alması gibi sorunlara sahiptir. Yeni nesil protein kantitasyon tekniği olan immün kapiller tekniğinde tek bir kapiller içinde istifleme matrisi ve ilgilenilen bir proteinin boyut veya yüke dayalı olarak ayrılmasına izin veren bir ayırma matrisini içerir. Bu teknik ile eşitli boyutlardaki proteinler hassas ve tekrarlanabilir bir şekilde saptanabilir. Küçük miktarlarda numuneye ihtiyaç duyar ve WB'den çok daha az zaman alır. Proteinler kapillerde boyutlarına göre ayrılırlar, birincil ve HRP-konjuge ikincil antikorlarla ve son olarak Luminol/peroksidaz ile inkübe edilir. Üretilen kemilüminesans, çoklu maruz kalma sürelerinde tespit edilir. Elektroferogram, kapillerin uzunluğu boyunca tespit edilen yoğunluğu saniye başına gösterir ve eğri altındaki alanın (AUC) hesaplanmasıyla ölçülebilen otomatik olarak tespit edilen tepe noktaları gösterir.

Gereç-Yöntem: Bu teknik ile C2C12 fare myoblast, 3T3-L1 fare pre-adiposit ve OP9 fare fibroblastlar'da aynı anda hem housekeeping hemde AEBP1 protein miktarını ölçüldü. Ayrıca A549 adenokarsinomik insan alveolar bazal epitel hücrelerinde ilaç uygulaması sonrası Akt ve fosfo- Akt ile JNK ve fosfo-JNK ifadeleri tespit edildi.

Kontrol hücrelerine göre uygulama yapılan hücrelerde ilgilenilen proteinlerin anlamlı şekilde arttığı belirlendi.

Geleneksel Western Blot'a göre belirli bir proteinin küçük ağırlık farklılığına sahip izoformlarının kapiller immunoasay ile net şekilde birbirinden ayrılabilirdiği belirlendi. Çok küçük miktarda protein ile başlanması, küçük hacimlerde antikor kullanılmasıyla sonuçların elde edilmesi için 3-5 saatlik bir sürenin yeterli olması yeni nesil kapiller sisteminin kullanım avantajlarıdır.

Anahtar Kelimeler: protein miktarı, kapiller immunoelktroforez, Western blot

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, Ankara.

## Next generation capillary immunoelectrophoresis system for protein quantification

Duygu Sevim  
Çetin Kocaefe

### ABSTRACT

Western blot is the most widely used and accepted methodology for protein detection. Although WB is a widely used, it has problems such as poor reproducibility, lack of accurate quantitation, and long experimentation time. Capillary immunoelectrophoresis, a next generation protein quantitation technique, includes a stacking matrix and a separation matrix that allows separation of a protein of interest-based on size or charge, within a single capillary. It needs small amount of samples and takes much less time than WB. Proteins are sorted by size, incubated with primary and HRP-conjugated secondary antibodies and finally with Luminol/peroxidase. The chemiluminescence produced is detected at multiple exposure times. The electropherogram shows the detected intensity per second along the length of the capillary and automatically detects peaks that can be measured by calculating the area under the curve(AUC).

With this technique, both housekeeping and AEBP1 protein amounts were measured simultaneously in C2C12 mouse myoblast, 3T3-L1 mouse pre-adipocyte and OP9 mouse fibroblasts. In addition, Akt and phospho-Akt and JNK and phospho-JNK expressions were detected in A549 human carcinoma cells after drug treatment.

It was determined that the proteins of interest increased significantly in the treated cells compared to the control cells.

It was determined that isoforms with small weight differences of a particular protein could be clearly differentiated from each other by capillary compared to conventional WB. The advantages of using the capillary system are that starting with a very small amount of protein, using small volumes of antibodies and 3-5h are sufficient to obtain results.

Keywords: protein quantification, capillary immunoelectrophoresis, Western blot

Hacettepe University Faculty Of Medicine Medical  
Biology Department, Ankara.



## Karsinogenezde fosfoinozitid 3-kinaz (PI3K) izoform bağımlılığının moleküler mekanizmaları

Sena Atıcı  
Onur Çizmecioglu

### ÖZET

PI3K, hücre büyümesi, metabolizması ve sağkalımı açısından önemli bir yolaktır. PTEN kaybı ve PIK3CA'nın aktive edici mutasyonları çeşitli kanser türlerinde sıklıkla görülür. PIK3CA'daki mutasyonlar tümörleri p110 $\alpha$ 'ya bağımlı hale getirebilir. Buna karşılık, PTEN kaybı üzerine, PI3K'in p110 $\beta$  izoformu belirgin hale gelir. PI3K izoform prevalansının moleküler belirleyicileri hala yeterince anlaşılamamaktadır. RNA interferans ve uyarılabilir PTEN ifadesi ile dönüştürülmemiş fare embriyonik fibroblastlarında (MEF) ve PTEN-noksan prostat kanseri hücrelerinde, PI3K izoform bağımlılığının moleküler mekanizmasını anlamayı amaçladık. Öncelikle, PTEN susturulmuş MEF'lerde p110 $\alpha$  bağımlılığının azaldığını ve PTEN'in yeniden ifadesinde ise, p110 $\beta$ 'ya olan bağımlılığın eksildiğini gördük. İlginçtir ki, p110 $\beta$  aşırı ifadesi, PTEN tükenmesi ile birleştirildiğinde, hücrelerin p110 $\alpha$ 'ya çok daha az bağımlı hale geldiğini ve p110 $\beta$  bağımlılığının daha da arttığını gözlemledik. PI3K izoform prevalansında yer alan ek mekanizmaları ortaya çıkarmak için GEO veri kümelerini analiz edip, bazı metabolik gen transkriptlerinin prostat kanserinin aktif p110 $\beta$  aracılı fare modellerinde önemli ölçüde artış gösterdiğini belirledik. Bu genler arasında, kolesterol sentez yolağındaki anahtar enzimlerin ifadesinin, PI3K aktive hücre modelinde çoğaldığını, buna mukabil PTEN-noksan prostat kanserinde ise PTEN yeniden-ekspresyonu ile azaldığını gözlemledik. PTEN-null prostat kanserinin yanı sıra meme kanseri hücre hatlarının kolesterol sentez yolağındaki hız sınırlayıcı enzim inhibitörlerine karşı PTEN doğal fenotip hücrelere göre daha hassas olduğunu gösterdik. Sonuç olarak verilerimiz, kolesterol sentez yolağının, PI3K'nin metabolik bir efektörü olarak kritik önemini vurgulamaktadır. PTEN-noksan kanser türlerinde PI3K izoform prevalansının kolesterol sentezine bağımlılık nedeniyle ortaya çıkabileceğini ve bu durumun PI3K aktive kanserler için bir zafiyet oluşturabileceğini öneriyoruz.

Anahtar Kelimeler: Kolesterol sentezi, PI3K, PTEN-noksanlığı

İhsan Doğramacı Bilkent Üniversitesi, Fen Fakültesi,  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara.

## Molecular mechanisms of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) isoform prevalence in carcinogenesis

Sena Atıcı  
Onur Çizmecioglu

### ABSTRACT

PI3K pathway is important for cellular proliferation, survival and metabolism. PTEN-loss and activating mutations of PIK3CA are frequently seen in various types of cancers. Activating mutations in PIK3CA could render tumors p110 $\alpha$  dependent. Conversely, upon PTEN-loss, p110 $\beta$  isoform of PI3Ks becomes prominent. Molecular determinants of PI3K isoform prevalence is still incompletely elucidated. We aimed to understand the molecular mechanisms of PI3K isoform dependence in untransformed mouse embryonic fibroblasts (MEFs) and PTEN-null prostate cancer cells via RNA interference and regulated PTEN re-expression. Firstly, we found that dependence on p110 $\alpha$  decreased in PTEN-depleted MEFs and reciprocally dependence to p110 $\beta$  diminished upon PTEN re-expression. Interestingly, when p110 $\beta$  overexpression was combined with PTEN depletion, cells became less dependent on p110 $\alpha$  and more dependent on p110 $\beta$ . To reveal additional modules involved in PI3K isoform prevalence, GEO datasets were analyzed and transcripts of some metabolic genes were found to be significantly upregulated in activated p110 $\beta$  driven murine models of prostate cancer. Among these genes, key enzymes in cholesterol synthesis pathway were found to be upregulated PI3K activated cellular models and reciprocally decreased upon PI3K repression with PTEN re-expression in PTEN-null prostate cancer cells. PTEN-null prostate as well as breast cancer cell lines were found to be sensitive to inhibitors of rate-limiting enzymes of cholesterol synthesis pathway. All in all, our data emphasizes the critical importance of cholesterol synthesis pathway as a metabolic effector of PI3K pathway. We propose that PI3K isoform dependence in PTEN-null cancer types might occur due to an addiction to cholesterol synthesis.

Keywords: Cholesterol Synthesis, PI3K, PTEN-loss

Ihsan Dogramaci Bilkent University, Science Faculty,  
Department of Molecular Biology and Genetics, Ankara.

## Maküler Kornea Distrofisinin Mikroakışkan Platformda *In Vitro* Hastalık Modellenmesi

İrem Duman<sup>1</sup>  
Canan Aslı Utine<sup>2</sup>  
Sinan Güven<sup>3</sup>

### ÖZET

Kornea avasküler yapısıyla gözün dış kısmını korurken kırınım ve şeffaflık sağlayarak da görmeye yardımcı olur. Bu benzersiz doku yapısı glikozaminoglikan (GAG) ve kolajenden oluşan birliktelikle gözün dış kısmının sertliğini arttırmaktadır. Kornea distrofleri korneada bazı anomalilere sebep olan çoğunlukla nadir kalıtsal hastalıklardır. Maküler kornea distrofisi (MKD), N-asetilglukosamin-6-sülfotransferaz enzimini kodlayan CHST6 genindeki mutasyonlar nedeniyle oluşan anormal proteoglikan sentezinin görüldüğü otozomal resesif kalıtılan bir hastalıktır. Stroma keratositlerinde glikozaminoglikanların birikmesi korneada opaklaşmaya ve bu da görme bozukluğuna yol açar. Güncel klinik yaklaşımlar daha çok nüks risklerinin elimine edilemediği kornea transplantasyonları üzerinedir.

Bu çalışmada MKD'yi *in vitro* bir platformda oluşturarak mikroakışkan tekniklere hastalık modellenmesi gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Primer insan kornea hücreleri izole edilerek, korneanın biyokimyasal ve mekanik özelliklerini taklit eden kolajen, polietilen glikol ve 2-metakriloloksietil fosforil kolinden oluşan biyomühendislik ürünü bir hidrojel üzerine ekilmiştir. Hücre ekili hidrojeller, göz içi basıncına benzer dinamik koşullar sağlayan polimetil metakrilat (PMMA) ve polidimetilsiloksandan (PDMS) oluşan mikroakışkan çip yapısında sürekli laminer akış altında kültür edilmiştir. Uzun süreli kültür süresiyle 3'-fosfoadenosin-5'-fosfosülfatın (PAP'lar) kimyasal bir inhibitörü olan sodyum klorat kullanılmış ve sülfatlaşma inhibisyonunu sağlanmıştır. MKD ile ilişkili moleküler yanıtlar gen seviyesinde değerlendirilmiştir. Biyomühendislik teknikleri kullanılarak oluşturulan bu örnek hastalık modeli, MKD'nin daha iyi anlaşılması ve klinikte de kullanılabilecek alternatif yaklaşımların geliştirilmesi için uygun bir platform olacaktır.

Bu çalışma TÜBİTAK 318S208 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Maküler kornea distrofisi, Mikroakışkan sistem, Hastalık modeli, Nadir hastalık

<sup>1</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi;Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü.

<sup>2</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi;Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı.

<sup>3</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi;Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü;Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

## Microfluidic Platform for In Vitro Disease Modelling of Macular Corneal Dystrophy

İrem Duman<sup>1</sup>  
Canan Aslı Utine<sup>2</sup>  
Sinan Güven<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Cornea is an avascular structure providing refraction, transparency for vision and protecting anterior part of the eye. Its unique tissue structure formed by GAG and collagen supports physical attributes and increases rigidity of the outer eye sphere. Corneal dystrophies are rare and mostly heredity diseases which causes some abnormalities in cornea. Macular corneal dystrophy (MCD) is an autosomal recessively inherited disease in which there is abnormality of proteoglycan synthesis because of the mutations in CHST6 gene, encoding an enzyme designated corneal N-acetylglucosamine-6-sulfotransferase. Due to the accumulation of glycosaminoglycans within stroma keratocytes results in cornea opacity, leading to visual impairment. Current clinical approaches are mostly focus on corneal transplantations where recurrence risks are not eliminated.

Here we aim to develop a dynamic microfluidic platform to in vitro model MCD. Primary human corneal cells were isolated and seeded on a bioengineered hydrogel composed of collagen, polyethylene glycol and 2-methacryloyloxyethyl phosphoryl choline mimicking biochemical and mechanical properties of cornea. Cell seeded hydrogels were cultured under continuous laminar flow in microfluidic chip build from polymethyl methacrylate (PMMA) and polydimethylsiloxane (PDMS) providing dynamic conditions similar to intraocular pressure. We demonstrate sustainable long term cell viability and MCD related molecular response in gene level upon simulating the sulfation inhibition using sodium chlorate, a chemical inhibitor of 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate (PAPs). Bioengineered exemplary disease model will be a suitable platform for better understanding of the MCD and developing alternative approaches in clinics.

This study is supported by TUBITAK project number 318S208.

Keywords: Macular cornea dystrophy, Microfluidic system, Disease Modelling, Rare Disease

<sup>1</sup>Izmir Biomedicine and Genome Center;Dokuz Eylul University Izmir International Biomedicine and Genome Institute.

<sup>2</sup>Izmir Biomedicine and Genome Center;Dokuz Eylul University Faculty of Medicine Department of Ophthalmology.

<sup>3</sup>Izmir Biomedicine and Genome Center;Dokuz Eylul University Izmir International Biomedicine and Genome Institute;Dokuz Eylul University Faculty of Medicine Department of Medical Biology.

## Mikroakışkan biyoreaktörler kullanılarak dinamik kültür koşullarında osteojenik niş geliştirilmesi

İbrahim Halilullah Erbay<sup>1</sup>  
Elifsu Polatlı<sup>1</sup>  
Ali Can Koç<sup>1</sup>  
Resul Özbilgiç<sup>1</sup>  
Sinan Güven<sup>2</sup>

### ÖZET

Günümüz tıbbi tedavi araçlarına yardımcı olacak yeni doku ve organların ya da doku modellerinin yapay olarak kontrolü bir şekilde tasarlanıp yeniden yapılması doku mühendisliğinin hedefidir. Bunun yanında geleneksel yöntemler ile geliştirilen model sistemler in vivo ortamın taklidinde yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, in vivo ortamın daha iyi şekilde taklit edilmesini sağlayabilen ve böylece osteojenik ortamın dinamik davranışına erişmeye yardımcı olan fizyolojik olarak ilgili bir in vitro sisteme ihtiyaç vardır. Biyolojik sistem modellemesi ve manipülasyonu için kullanışlı bir araç olduğu zaten kanıtlanmış olan mikroakışkan cihazlar ve biyoreaktörler gibi dinamik sistemler, bu tür amaçlar için kullanılması uygun yaklaşımlardır.

Bu çalışmada, kemik rezorpsiyonu/sekresyonu yapabilen fonksiyonel bir osteojenik niş modeli amaçlanmıştır. Bu amaçla primer fare kemik iliği mezenkimal kök hücreleri ve monosit/makrofaj hücreleri, geliştirilen ve özellikleri; mekanik dayanım, yüzey porozitesi gibi analizler ile belirlenmiş  $\beta$ -trikalsiyum fosfat ( $\beta$ -TCP) iskeleleri üzerinde dinamik koşullarda kültüre edilip sırasıyla osteoblastik ve osteoklastik farklılaştırma ortamları ile beslenmiş ve kemik dokusunu oluşturan iki önemli eleman olan osteoblast ve osteoklasta farklılaşmaları amaçlanmıştır. Bu hücrelerin farklılaşmaları için dinamik koşullarda mikroakışkan çip içerisinde toplam 21 günlük in vitro kültürü gerçekleştirilmiştir. Oluşan osteojenik nişin validasyonu ve fonksiyonelliğinin belirlenmesi için grefler subkutan olarak C57/B6 farelere 8 hafta boyunca implante edilmiştir. Daha sonra elde edilen dokunun karakterizasyonu H&E boyamaları, TRAP boyaması ve immunfloresan görüntüleme ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar fare tibia kemiğinin görüntüleri ile karşılaştırılmış ve hücre ekilen greflerde H&E boyaması ile kemik dokusuna benzer bölgelerin oluştuğu, TRAP ile ise osteoklastik aktivitenin varlığı ve immunfloresan görüntülemelerde kemik dokusuna yönelik belirteçlerin ifade edildiği belirlenmiştir.

Çalışma TÜBİTAK 118S477 tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: kemik doku mühendisliği, mikroakışkan sistem, biyoreaktör, osteojenik niş

<sup>1</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi; Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü.

<sup>2</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi; Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı.

## Developing an osteogenic niche in dynamic culture conditions using microfluidic bioreactors

İbrahim Halilullah Erbay<sup>1</sup>  
Elifsu Polatlı<sup>1</sup>  
Ali Can Koç<sup>1</sup>  
Resul Özbilgiç<sup>1</sup>  
Sinan Güven<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Izmir Biomedicine and Genome Center; Dokuz Eylul University Izmir International Biomedicine and Genome Institute.

<sup>2</sup>Izmir Biomedicine and Genome Center; Dokuz Eylul University Izmir International Biomedicine and Genome Institute; Dokuz Eylul University Faculty of Medicine Department of Medical Biology.

### ABSTRACT

The goal of tissue engineering is to artificially reconstruct new tissues and organs that will assist today's medical treatment tools. Model systems developed with traditional methods are insufficient to imitate the in vivo environment. Therefore, there is a need for a physiologically relevant in vitro system that can provide better mimicry of the in vivo environment, thereby helping to achieve the dynamic behavior of the osteogenic environment. Dynamic systems such as microfluidic devices and bioreactors provide platforms for such purposes.

In this study, a functional osteogenic niche model capable of bone resorption/secretion was aimed. For this purpose, primary mouse bone marrow mesenchymal stem cells and monocyte/macrophage cells were cultured on the analysed  $\beta$ -tricalcium phosphate scaffolds under dynamic conditions. It is aimed to differentiate the cells into osteoblast and osteoclasts. For the differentiation of these cells, 21 days in vitro culture was carried out in a microfluidic chip under dynamic conditions. Grafts were implanted subcutaneously into C57/B6 mice for 8 weeks for validation of the formed osteogenic niche and determination of its functionality. Then, the characterization of the obtained tissue was performed with H&E, TRAP staining and immunofluorescence imaging. The results were compared with the images of mouse tibia bone and H&E staining formed areas similar to bone tissue in the cell-planted grafts, the presence of osteoclastic activity with TRAP staining and the expression of markers for bone tissue in immunofluorescence imaging were determined.

This study is supported by TUBITAK project number 118S477.

Keywords: bone tissue engineering, microfluidic system, bioreactors, osteogenic niche



*ell* **Poster Sunumları** *lee*

*ell* **Poster Presentations** *lee*





## Türk baş boyun skuamöz kanserli hasta grubunda mitokondriyal DNA gen mutasyonlarının belirlenmesi

Pelin Mutlu<sup>1</sup>  
Murad Mutlu<sup>2</sup>  
Serap Yalçın Azarkan<sup>3</sup>  
Kemal Keseroğlu<sup>2</sup>  
Ömer Bayır<sup>2</sup>  
Güleser Saylam<sup>2</sup>  
Mehmet Hakan Korkmaz<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Merkez Laboratuvarı, Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Ar-Ge, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara.

<sup>2</sup>Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kliniği, Sağlık Bakanlığı Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara.

<sup>3</sup>Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ahi Evran Üniversitesi, Kırşehir.

<sup>4</sup>Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Bölümü, Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ankara.

### ÖZET

Genomik DNA'daki varyasyonların yanı sıra, mitokondriyal DNA (mtDNA) mutasyonları da kanser dahil birçok hastalıktan sorumludur. Aynı ve/veya farklı etnik gruplar arasındaki bireylerde mtDNA dizilerinin oldukça polimorfik olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada Türk baş ve boyun yassı hücreli karsinomu (BBYHK) hasta grubunun mitokondriyal CO-1 ve ND4 gen dizileri incelenmiş ve CO-1 ve ND4 gen mutasyonları ile hastalığın gelişimi arasındaki olası ilişki bulunmaya çalışılmıştır.

Bu çalışmaya Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinden akraba olmayan 60 adet Türk HNSCC hastası ve 36 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Kan örneklerinden total DNA izolasyonu yapılmış ve mtDNA'nın CO-1 ve ND4 gen bölgelerinin amplifikasyonu PCR reaksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri saflaştırılmış ve gen bölgelerine ait sekanslar Sanger dizileme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışılan BBYHK hasta grubunda CO-1 geninde iki mutasyon tespit edilmiş ve aralarında A6272d mutasyonu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca mutasyonu taşıyan hastalarda proteinin alfa heliks yapısında farklılıklar gözlenmiştir. ND4 gen bölgesinde iki mutasyon (A11251G ve T11017TA) tanımlanmış, ancak bu mutasyonların hiçbirinin hastalık gelişiminden sorumlu olmadığı görülmüştür.

Sonuç olarak, çalışılan Türk hasta grubu için CO-1 genindeki A6272d mutasyonunun BBYHK gelişimi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte, ND4 geni için hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik tespit edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: BBYHK, mitokondriyal DNA, CO-1 geni, ND4 geni, Türk hasta grubu

## Identification of mitochondrial DNA gene mutations in a Turkish head and neck squamous cancer patient group

Pelin Mutlu<sup>1</sup>  
Murad Mutlu<sup>2</sup>  
Serap Yalçın Azarkan<sup>3</sup>  
Kemal Keseroğlu<sup>2</sup>  
Ömer Bayır<sup>2</sup>  
Güleser Saylam<sup>2</sup>  
Mehmet Hakan Korkmaz<sup>4</sup>

### ABSTRACT

Besides the variations in genomic DNA, mitochondrial DNA (mtDNA) mutations are also responsible for many diseases, including cancer. MtDNA among individuals from the same and different ethnic groups is highly polymorphic. In the present study, we screened mitochondrial CO-1 and ND4 gene sequences of Turkish head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) patient group and examined the possible relationship between CO-1 and ND4 gene mutations and the development of the disease.

Sixty unrelated Turkish HNSCC patients and thirty six unrelated healthy volunteers from different geographic regions of Turkey were included in this study. Total DNA isolation from blood samples were carried out and amplification of CO-1 and ND4 gene regions of mtDNA were performed by PCR method. PCR products were purified and sequencing was carried out by Sanger sequencing method.

Two mutations in CO-1 gene were identified and among them A6272d mutation was found as statistically significant in the studied HNSCC patient group with respect to control group. Also differences in the alpha helix structure of the protein in patients with mutations were observed. Two mutations (A11251G and T11017TA) in the ND4 gene region were identified, however, none of these mutations were seem to be responsible for the disease development.

As a conclusion, for the studied Turkish patient group we showed that A6272d mutation in CO-1 gene can be related to HNSCC development. However, we cannot detect a statistically significant alteration between patient and control groups for ND4 gene.

Keywords: HNSCC, mitochondrial DNA, CO-1 gene, ND4 gene, Turkish patient group

<sup>1</sup>Central Laboratory, Molecular Biology and Biotechnology Research Center, Middle East Technical University, Ankara.

<sup>2</sup>Department of Otorhinolaryngology, University of Health Sciences, Ministry of Health, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Training and Research Hospital, Ankara.

<sup>3</sup>Department of Molecular Biology and Genetics, Ahi Evran University, Kırşehir.

<sup>4</sup>Department of Otorhinolaryngology, Medical School, Yıldırım Beyazıt University, Ankara.

## Vücut sıvılarında multipl skleroz ilişkili mikro RNA ve miyelin bazik protein seviyeleri

Menderes Yusuf Terzi<sup>1</sup>  
Taşkın Duman<sup>2</sup>

### ÖZET

Yineleyici-düzelen multiple skleroz (RRMS) teşhisi konmuş hastaların serum ve gözyaşı örneklerinde MS-ilişkili miRNA'ların, serum anti-miyelin-bazik-proteini (MBP) antikor ve hastalık şiddeti ile olan ilişkisini incelemeyi amaçladık. Çalışmaya ilaç kullanmayan 39 RRMS hastası ve yaş, cinsiyet ve vücut kitle indeksi uyumlu 10 sağlıklı kontrol eklendi. MS hastalarının genişletilmiş özürülük durumu ölçeği (EDSS) ile hastalık şiddeti belirlendi. miRNA ve anti-MBP seviyeleri qRT-PCR ve ELISA yöntemiyle analiz edildi. Oligoklonal bant (OKB) pozitif MS hastalarının oranı %52,6 idi. MS hastalarının let-7c, miR-15b ve miR-223 seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık yoktu (2-deltaCt, p>0,05). anti-MBP serum seviyelerinde de bir değişiklik yoktu (ng/ml, p>0,05). Serum-gözyaşı miRNA, miRNA-EDSS, serum miRNA-anti-MBP arasında korelasyon bulunmazken (p>0,05), gözyaşı miRNA-anti-MBP, OKB-IgG indeksi, OKB-anti-MBP arasında korelasyon vardı (p<0,05). Önceki çalışmalarda, T-hücrelerinde bazı miRNA'ların eksikliğinin şiddetli pro-inflamatuvar/otoimmün reaksiyonlara sebep olmuştur. Böylece, immün hücrelerinde eksprese olan ve dolaşımda bulunan miRNA'ların umut verici MS biyobelirteci olabileceği öne sürülmüştür. Ancak biz MS hastalarında bakılan miRNA seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlemedik. Bu durum, T hücrelerindeki radikal miRNA deregülasyonunun, serum/gözyaşı gibi vücut sıvılarına yansımalarının, erken evre MS hastalarından ziyade ileri evre MS hastalarında olmasından kaynaklanabilir. Bu yüzden, farklı evrelere sahip daha büyük hasta popülasyonları ve fazla sayıda MS-ilişkili miRNA'lar kullanarak ileri analizlere ihtiyacımız var. Çalışmamızın önemli çıktılarından birisi de, analiz edilen miRNA'larının ilk kez gözyaşı örneklerinde tespit edilmesidir.

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 19.M.052).

Anahtar Kelimeler: Multipl skleroz, RRMS, miRNA, MBP

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye; Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyokimya ve Genetik Bölümü, Hatay, Türkiye.

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

## Levels of multiple sclerosis-related micro RNA and myelin basic protein in bodily fluids

Menderes Yusuf Terzi<sup>1</sup>  
Taşkın Duman<sup>2</sup>

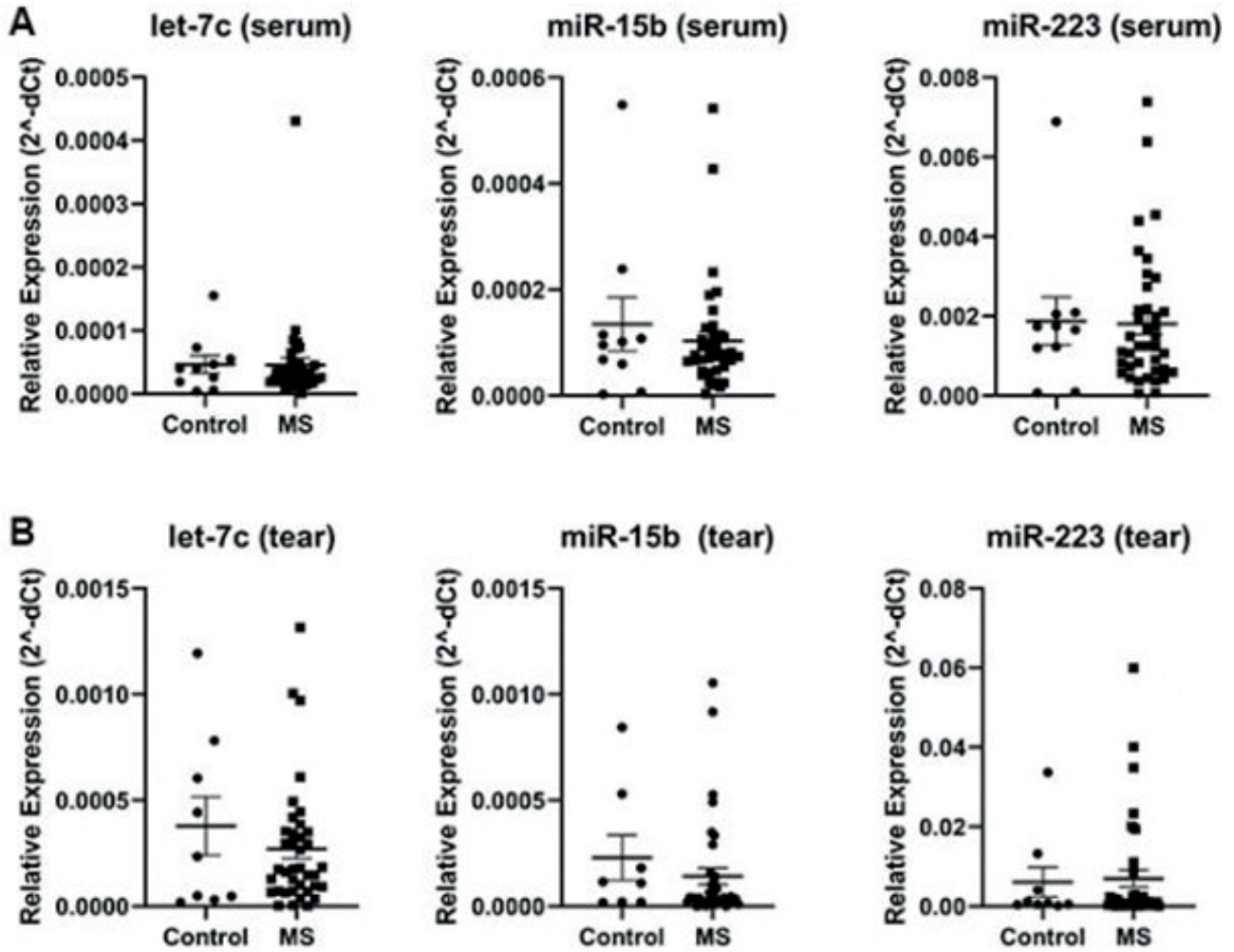
### ABSTRACT

We aimed to investigate association of multiple sclerosis (MS)-related miRNA levels in sera and tears and serum anti-myelin basic protein (MBP) antibody with MS severity of patients diagnosed with relapsing-remitting MS (RRMS). 39-washout RRMS patients and 10 age-, gender-, and body mass index-matched healthy controls were included in study. Disease severity of MS patients was scored with expanded disability status scale (EDSS). miRNA and anti-MBP levels were analyzed with qRT-PCR and ELISA. Rate of MS patients with positive oligoclonal bands (OCBs) was 52.6%. There was no difference in let-7c, miR-15b, and miR-223 levels of MS patients' sera and tears compared to control group (2-deltaCt,  $p > 0.05$ ). There was also no change in serum anti-MBP antibody levels (ng/ml,  $p > 0.05$ ). There was no correlation between serum-tear miRNA, miRNA-EDSS, serum miRNA-anti-MBP ( $p > 0.05$ ), but between; tear miRNAs-anti-MBP, OCBs-IgG index, OCBs-anti-MBP ( $p < 0.05$ ). In previous studies, diminishing levels of some miRNAs in T immune cells caused severe pro-inflammatory/auto-immune reactions. Thus, it was claimed that miRNAs, expressed in T-cells and present in circulation, can be promising MS-biomarkers. However, we did not observe any significant change in analyzed miRNAs in MS patients. This outcome may arise from that projection of radical miRNA deregulation in T cells to bodily fluids e.g. serum/tear can actualize more likely in advanced MS patients rather than early-stage ones. So, we need further analyses conducted with larger MS population with different disease stages and more MS-related miRNAs. Another important outcome of our study was detection of analyzed miRNAs very first time in tear samples.

Keywords: Multiple sclerosis, RRMS, miRNA, MBP

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Hatay, Turkey; Hatay Mustafa Kemal University, Graduate School of Health Sciences, Department of Molecular Biochemistry and Genetics, Hatay, Turkey.

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Medicine, Department of Neurology, Hatay, Turkey.



Şekil 1. MS-Oransal miRNA ekspresyonları

Figure 1. MS-Relative miRNA expressions

MS ve kontrol grubunun (A) serum ve (B) göz yaşı örneklerinde let-7c, miR-15b ve miR-223 qPCR seviyeleri. Veriler,  $2^{-\Delta Ct}$  yöntemiyle hesaplanan oransal gen ekspresyonu şeklinde ifade edilmiştir. RNU6 iç kontrol ve normalizasyon için kullanılmıştır.

qPCR levels of let-7c, miR-15b, and miR-223 in both (A) serum and (B) tear samples of the MS and control groups. The data were expressed as relative gene expression calculated with  $2^{-\Delta Ct}$  method. RNU6 was used as internal control and for normalization. MS: Multiple sclerosis.

Tablo 1. RRMS hastalarının ve sağlıklı kontrollerin klinik parametreleri ve MBP seviyeleri

Parametreler	SK (n=10)	RRMS (n=39)	p değeri
Yaş (yıl)	30.9±2.7	31.6±8.7	p=0.67
Cinsiyet n (%)			
Erkek	2 (20)	6 (15.4)	p=0,66
Kadın	8 (80)	33 (84.6)	
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	23.8±3.7	24.6±3.6	p=0.55
EDSS	N/A	0.8±1	N/A
MBP (ng/ml)	44.6±43.8	44.6±43.8	p=0.48
OKB n (%)			
Pozitif	N/A	20 (52.6)	N/A
Negatif	N/A	18 (47.4)	

VKİ: Vücut kitle indeksi, EDSS: genişletilmiş özürüllük durumu ölçeği, MBP: Myelin bazik proteini, OKB: Oligoklonal bant, SK: Sağlıklı kontrol, RRMS: Yineleyici-düzeltilen multiple skleroz, N/A: Uygulanabilir değil.

Table 1. Clinical parameters and MBP levels of RRMS patients and healthy controls

Parameters	HC (n=10)	RRMS (n=39)	p value
Age (Years)	30.9±2.7	31.6±8.7	p=0.67
Gender n (%)			
Male	2 (20)	6 (15.4)	p=0,66
Female	8 (80)	33 (84.6)	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.8±3.7	24.6±3.6	p=0.55
EDSS	N/A	0.8±1	N/A
MBP (ng/ml)	44.6±43.8	44.6±43.8	p=0.48
OCBs n (%)			
Positive	N/A	20 (52.6)	N/A
Negative	N/A	18 (47.4)	

BMI: Body mass index, EDSS: Expanded disability status scale, MBP: Myelin basic protein, OCBs: Oligoclonal bands, HC: Healthy control, RRMS: Relapsing-remitting multiple sclerosis, N/A: Not applicable.

## Köpeklerde dudak damak yarığının Bayeşçi genom çaplı analizi

Burak Karacaören

### ÖZET

Dudak damak yarığı (DDY) hamileliğin erken dönemlerinde bebeğin yüz bölgesinde görülebilen bir hastalıktır. DDY hem genetik hem de çevresel etmenlerden kaynaklanabilmektedir. Bu çalışmanın ana amacı DDY'nin genetik mimarisini incelemek için bir köpek ırkında (Nova Scotia Duck Tolling Retriever, NSDTR, ) çeşitli genomik analizler yapmaktır. Bu bağlamda hastalığın major bir gen (temel bileşenler regresyonu) ile veya küçük etkili çok sayıda genlerce (bayeşçi model) yönlendirildiği hipotezleri için değişik modeller karşılaştırılmıştır.

Bu çalışma kamuya açık bir veri seti kullanmıştır. 125 (113 vaka ve 12 kontrol) NSDTR ırkından köpek 173.662 SNP işaretleyicisi ile genotiplenmiştir. Fenotipler görsel inceleme ile belirlenip, ikili olarak kayıt edilmiştir. DDY'nin genom çaplı ilişki analizi için temel bileşenler regresyonu ile aşamalı bayeşçi modeller kullanılmıştır.

Temel bileşenler regresyonu ile tekil regresyon 27. kromozomdan güçlü sinyaller (bazçiftleri: 12358063-14430418) bulmuştur. Bayeşçi karışım modeli ise genomun çeşitli bölgelerinden (kromozom 27 dahil) 2204 SNP'yi hastalıkla ilişkilendirdi ve bu 2204 SNP toplam genetik çeşitliğin %2'sini açıkladı.

Hem tekil hem de çoklu genom regresyonu yaklaşımları 27. kromozomdaki SNP'lerin hastalık ile ilişkisini belirledi. Bu çalışma DDY ile ilgili karmaşık genetik mimarinin analizlere dahil edilmesinin önemini göstermiştir. Bizim sonuçlarımız DDY'nin etiyolojisi için çoklu gen yaklaşımının hastalığın genetik mimarisini açıklamada bilgi verici (öndeyi oluşturu) olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Bayeşçi analiz, dudak damak yarığı, genom tabanlı ilişki analizi, temel bileşenler regresyonu

Akdeniz Üniversitesi.

## Bayesian genome wide analyses of cleft lip and palate in dogs

Burak Karacaören

### ABSTRACT

Cleft lip with or without cleft palate (CL/P) are an facial defects and develops in unborn baby at the early stage of pregnancy in humans. CL/P is influenced by both genetic and environmental factors. The main aim of this study was to perform various genomic analyses on Nova Scotia Duck Tolling Retriever (NSDTR) breed to investigate genetic and genomic architecture of CL/P. To this end: we compared the results of model with a major gene (principal component regression) and model with numerous genes with tiny effect ( bayesian model).

125 (113 cases and 12 controls) NSDTR breed genotyped by 173.662 SNP markers (publicly available). Phenotypes were assessed by visual inspection of the dogs and recorded as a binary trait. We used principal component regression and hierarchical bayesian models for genome wide association analyses for CL/P.

We detected strong genomic signals from chromosome 27 (basepairs of 12358063-14430418) using a single SNP regression approach with principal components. We detected 2204 SNPs from various part of the genome (including 27th chromosome) using whole a Bayesian mixture model and the total amount of genetic variance explained by 2204 SNPs was 2%.

Both single and whole genome regressions detected SNPs from chromosome 27. These results show the importance of the complex structure of genetic susceptibility associated with CL/P. Based on our findings we suggest polygenic etiology for CL/P could give information (creative of hypothesis) for genetic architecture of the disease.

Keywords: Bayesian analyses, cleft lip with or without cleft palate, genome wide association analyses, principal component regression

Akdeniz University.



**Table 1.** Bayeşçi karışım modeli ile tahmin edilen SNP etkileri

CHROMOSOME	SNP NAME	POSITION(bp)	EFFECT SIZE
27	chr27.13664811	13664811	0.003147
27	chr27.12872326	12872326	0.002794
27	chr27.12394986	12394986	0.002787
27	chr27.12500582	12500582	0.002468
27	chr27.12358063	12358063	0.002412
27	chr27.14430418	14430418	0.002356
27	chr27.12627411	12737720	0.002244
27	chr27.12765954	12627411	0.001972
27	chr27.12765954	12765954	0.001959
27	chr27.12737720	12801775	0.001950

**Table 1.** Predicted SNPs effects by a bayesian mixture model

CHROMOSOME	SNP NAME	POSITION(bp)	EFFECT SIZE
27	chr27.13664811	13664811	0.003147
27	chr27.12872326	12872326	0.002794
27	chr27.12394986	12394986	0.002787
27	chr27.12500582	12500582	0.002468
27	chr27.12358063	12358063	0.002412
27	chr27.14430418	14430418	0.002356
27	chr27.12627411	12737720	0.002244
27	chr27.12765954	12627411	0.001972
27	chr27.12765954	12765954	0.001959
27	chr27.12737720	12801775	0.001950

## Myrtus communis L. yağının A549 kanser sferoidlerinde apoptoz ve koloni oluşumuna etkisi

Menderes Yusuf Terzi<sup>1</sup>  
Gülay Gülbol Duran<sup>2</sup>

### ÖZET

Mersin adıyla bilinen *Myrtus communis* L. (MC), Akdeniz ülkelerinde yetişen ve içerdiği çok sayıda aktif bileşeni nedeniyle halk tıbbında sıkça kullanılan aromatik bir bitkidir. Çalışmamızın amacı, MC yağının, A549 kanser sferoidlerindeki apoptoz, hücre farklılaşması ve koloni oluşum verimliliğine etkisini araştırmaktır. İlk olarak, A549 insan adenokarsinoma hücre hattından, özel kök hücre vasatında ve ultra düşük bağlanma koşullarında alt ekimi yapılarak kanser sferoid hücreleri elde edildi. MC yağının 24 (IC50: 219,9 µg/ml) saatlik inkübasyonu sonucundaki sitotoksik olmayan konsantrasyonunu tespit etmek için MTT analizi yapıldı. Sferoid oluşum verimliliği, sferoidlerin 100 µg/ml MC yağıyla muamelesi sonunda saptandı. Kök hücre, (CD44, PROM1, POU5F1), ilaç direnci (ABCG2) ve apoptotik (CASP3) markırların mRNA düzeyleri qRT-PCR yöntemiyle analiz edildi. MC maruziyetinin çeşitli konsantrasyonlarda hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığını bulduk (p<0.05). Sekiz günlük 100 µg/ml MC maruziyeti sferoid oluşum verimliliğini de önemli ölçüde azalttı (p<0.05). qPCR sonuçları gösterdi ki, 24 saatlik MC maruziyeti (100 µg/ml) CD44 mRNA seviyesini etkilemezken, PROM1, POU5F1, ABCG2 ve CASP3 mRNA düzeylerini önemli ölçüde düşürdü (p<0.05). MC maruziyeti sonrası ekspresyon seviyeleri azalan kök hücre markırlarından PROM1 ve ilaç direnç geni ABCG2 şunu göstermiştir ki, MC yağı A549 sferoid hücrelerinin kök hücre gen ekspresyon motifini engellemiştir. Ayrıca 24 saatlik MC maruziyeti beklenmedik şekilde CASP3 gen ekspresyon seviyesini de düşürmüştür ve muhtemelen bunun anlamı, apoptoz veya farklı mekanizmalar yoluyla azalan sferoid sayısının kaspaz bağımsız yollarla tetiklendiğidir.

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 20.M.039).

Anahtar Kelimeler: A549 sferoid hücresi, *Myrtus communis* L. yağı, apoptoz

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye; Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyokimya ve Genetik Bölümü, Hatay, Türkiye.

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

## Effect of *Myrtus communis* L. oil on the apoptosis and colony formation in A549 cancer spheroids

Menderes Yusuf Terzi<sup>1</sup>  
Gülay Gülbol Duran<sup>2</sup>

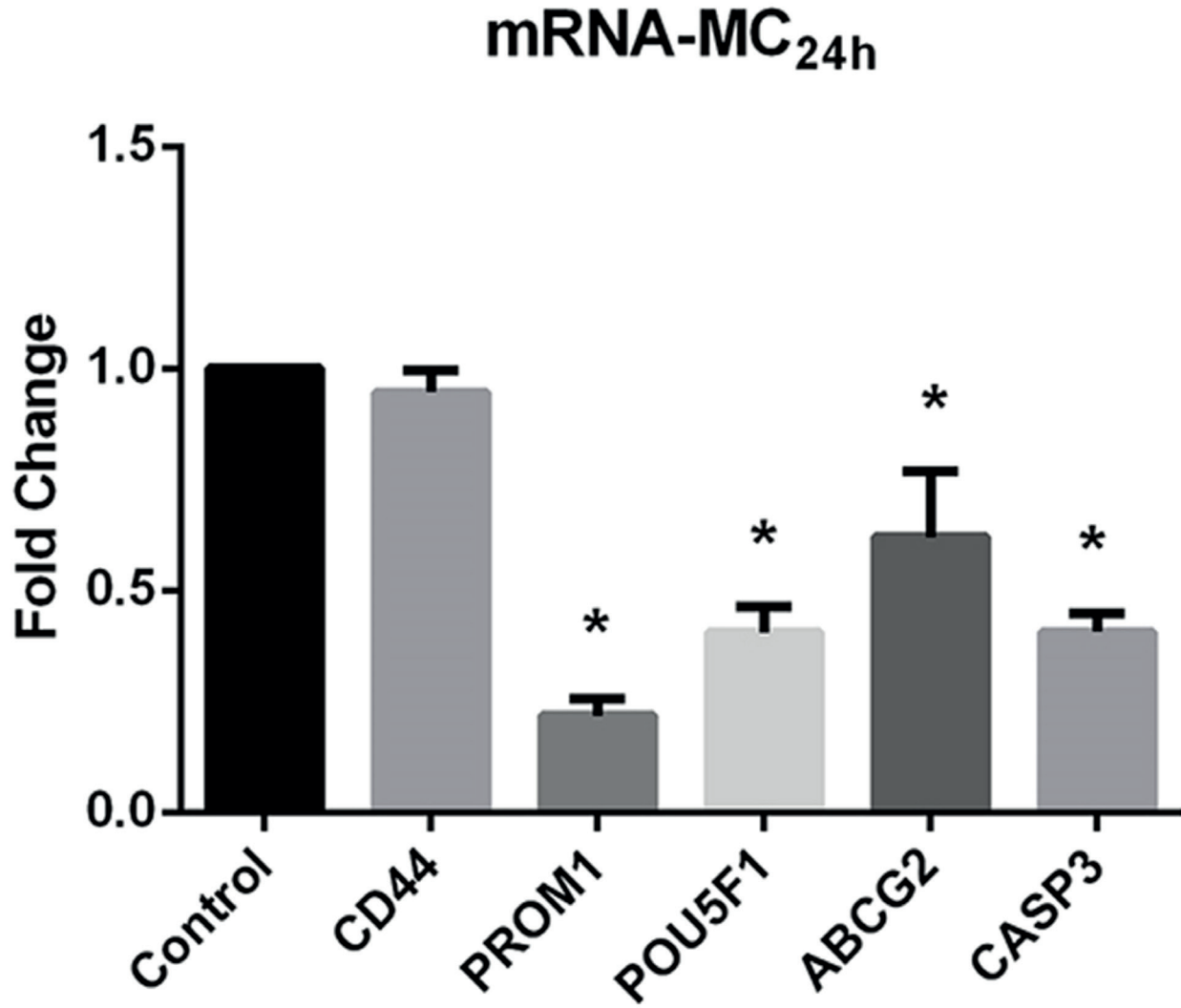
### ABSTRACT

*Myrtus communis* L. (MC), known as Mersin, is an aromatic plant which is endemic in Mediterranean countries and often utilized in public medicine owing to several active compounds in its composition. The aim of our study was to investigate the effects of *Myrtus communis* L. (MC) oil on apoptosis, cell differentiation, and colony formation efficiency in A549 cancer spheroids. First of all, cancer spheroids were produced by sub-culturing adherent A549 human adenocarcinoma cell line under special stem cell medium and ultra-low attachment conditions. MTT assay was performed to detect non-cytotoxic MC oil concentration for 24-hour (h) (IC<sub>50</sub>: 219,9 µg/ml) incubation. The spheroid formation efficiency was detected with 100 µg/ml MC treatment. mRNA levels of stem cell, (CD44, PROM1, POU5F1), drug resistance (ABCG2) and apoptotic (CASP3) markers were analyzed with qRT-PCR. We found that, MC treatment significantly reduced cell viability at several concentrations after 24-h incubation (p<0.05). MC treatment also reduced spheroid formation efficiency significantly after 8-day-long 100 µg/ml MC treatment (p<0.05). qPCR results revealed that 24-h treatment with MC (100 µg/ml) significantly reduced mRNA levels of PROM1, POU5F1, ABCG2, and CASP3 (p<0.05) while did not affect CD44. The decreased expression of stem cell markers i.e. PROM1 and drug resistance protein ABCG2 post-MC treatment suggests that MC oil could prevent stem cell gene expression pattern of A549 spheroid cells. 24-h MC treatment also reduced CASP3 gene expression unexpectedly, presumably meaning which, diminishing numbers of spheroids, via apoptosis or other mechanisms, was triggered by caspase-independent pathways.

Keywords: A549 spheroid cell, *Myrtus communis* L. oil, apoptosis

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Hatay, Turkey; Hatay Mustafa Kemal University, Graduate School of Health Sciences, Department of Molecular Biochemistry and Genetics, Hatay, Turkey.

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Hatay, Turkey.



**Şekil 1.** Oransal mRNA seviyeleri

**Figure 1.** Relative mRNA levels

24 saat MC maruziyeti sonrası qRT-PCR ile analiz edilen CD44, PROM1, POU5F1, ABCG2, CASP3'ün oransal mRNA seviyeleri. Veriler ortalama±SEM olarak sunulmuştur ve \*p<0,05. MC: Myrtus communis L. yağı.

Relative mRNA levels of CD44, PROM1, POU5F1, ABCG2, CASP3 analyzed with qRT-PCR post-MC treatment for 24-h incubation. Data were expressed as mean±SEM and \*p<0.05. MC: Myrtus communis L. oil.

## Meme Kanseri Radyoterapisinde Radyasyon Dozunun Optimizasyonu İçin Hücre Kültür Sistemlerinin Kullanılması

Hüseyin Kıvanç<sup>1</sup>  
Hande Canpınar<sup>2</sup>  
Demet Kaçaroğlu<sup>3</sup>  
Ayşe Kevser Özden<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,  
Biyomühendislik Anabilim Dalı, Ankara Türkiye.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Kanser Enstitüsü, Temel  
Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara Türkiye.

<sup>3</sup>Lokman Hekim Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, Ankara Türkiye.

### ÖZET

Metastatik meme kanseri, kadınlarda yüksek mortaliteye neden olur. Bu nedenle, etkin tedavi arayışları devam etmektedir. Radyoterapide tümöre uygulanacak optimal radyasyon dozu, çevre dokuya mümkün olduğunca en az hasar verecek şekilde belirlenmelidir. Bu çalışmanın amacı, hücre kültürü sistemleri ile farklı radyasyon dozlarının meme kanseri hücrelerindeki etkilerini belirlemektir.

Çalışmamızda, MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri kullanıldı. Farklı dozlarda uygulanan X-ışınlarının, bu hücreler üzerindeki antiproliferatif etkisi MTT testi ile ölçüldü. Metastatik potansiyeli değerlendirmek için yara iyileşme testi yapıldı. Son olarak, hücre döngüsünün değerlendirmek için de akım sitometrisi analizi kullanıldı.

Çalışmamızda radyasyon dozu olarak 2 Gy, 4 Gy ve 8 Gy uygulandı. Meme kanseri hücrelerinin proliferasyonu değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre anlamlı azalma görüldü ( $p < 0,05$ ). Ancak doza göre değerlendirildiğinde gruplar arasında farklılık bulunmadı ( $p > 0,05$ ). Radyasyon uygulanması, MDA-MB-231 hücrelerinin lateral mobilizasyon potansiyelini kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttı ( $p < 0,05$ ). Hücre döngüsü analizleri farklı dozlarda uygulanan radyasyonun S fazında bulunan kontrol hücrelerine göre daha çok G1 fazında kalmalarına neden olduğu görüldü.

Tartışma: Hücre kültürü sisteminde, meme kanseri hücrelerinin farklı dozlarda uygulanan radyasyonla, proliferatif ve metastatik özelliklerinde azalmaya neden olduğu belirlendi. Ancak, tedavide uygulanan radyasyonun diğer parametrelerinin hücre kültürü yoluyla irdelenmesi için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Meme kanserinin radyasyonla tedavisinde dozimetri araştırmaları için hücre kültür sistemlerinin kullanılabilirliği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, Radyasyon terapi, radyasyon dozimetri, metastaz

## Utilization of Cell Culture Systems to Optimize the Radiation Dose in Breast Cancer Radiotherapy

Hüseyin Kıvanç<sup>1</sup>  
Hande Canpınar<sup>2</sup>  
Demet Kaçaroğlu<sup>3</sup>  
Ayşe Kevser Özden<sup>3</sup>

### ABSTRACT

**Aim:** Metastatic breast cancer causes high mortality in women. Therefore, the search for effective treatment continues. The suitable radiation dose should be determined to cause minimum damage to the surrounding tissue. The aim of this study is to determine the feasibility of using cell culture systems and by applying different radiation doses on breast cancer cells.

In this study, MDA-MB-231 breast cancer cells were used. The antiproliferative effect of different doses of X-rays was measured by MTT test. Wound healing test was performed to assess the metastatic potential and flow cytometry analysis was used to evaluate the cell cycle.

It is found that, 2Gy, 4Gy and 8Gy radiation doses were applied to the cells. And cell proliferation was significantly decreased at all doses ( $p < 0.05$ ). However, there was not a significant decrease between the different dose groups ( $p > 0.05$ ). The lateral mobilization potential of MDA-MB-231 cells was decreased significantly in radiation applied cells as compared to the control. Cell cycle analyzes showed that different doses of radiation caused the cells to remain in the G1 as compared to control cells in the S phase.

In the cell culture system, it was determined that a decrease in proliferation and metastatic potential of breast cancer cells by the application of different doses of radiation. However, further studies should be carried out to assess radiation used in therapy by cell culture systems. It has been shown that cell culture systems can be used for dosimetry studies for the radiation therapy of breast cancer.

**Keywords:** Breast cancer, Radiation therapy, radiation dosimetry, metastasis

<sup>1</sup>Hacettepe University, Hacettepe University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Bioengineering, Ankara Turkey.

<sup>2</sup>Hacettepe University, Cancer Institute, Department of Basic Oncology, Ankara Turkey.

<sup>3</sup>Lokman Hekim University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara Turkey.

## HEK293T hücrelerinde valproik asidin apoptoz ve proliferasyon üzerine etkilerinin araştırılması

Hazal Banu Celebioglu<sup>1</sup>  
Yeliz Ekici<sup>1</sup>  
Abdullah Yılmaz<sup>2</sup>  
Umut Küçüksezer<sup>2</sup>  
Feyza Nur Tuncer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

### Ö Z E T

Adjuvan terapötik ajan valproik asidin (VPA), çeşitli kanser hücrelerinde proliferasyonu inhibe ederken apoptozu indüklediği bilinmektedir. Kısa süre önce yayınlanan ve VPA'nın PANC-1 hücrelerindeki eş zamanlı proliferatif ve apoptotik etkilerinin akış sitometrisi kullanılarak analiz edildiği yeni yaklaşımımızı temel alan bu çalışmanın amacı; VPA'nın kanser dışı hücelere etkisini tespit etmektir. Bu kapsamda HEK293T hücreleri kullanılarak farklı VPA dozlarının hücrelerdeki apoptoz ve proliferasyona etkisi akış sitometrisi ile değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda, 24 kuyucuklu plakalara 100.000 hücre/kuyu şeklinde ekilen HEK293T hücreleri, 2.5 ve 5 mM olmak üzere iki farklı konsantrasyonda VPA ile farklı sürelerde kültüre edilmiştir. Hücre besiyeri negatif kontrol olarak kullanılarak, CFSE ve Annexin V/PI boyamaları uygulanmış ve sırasıyla proliferasyon ve apoptozu izlemek için 24 saatte bir 4 güne kadar (24, 48, 72, 96 saat aralıklarında) alınan numunelerde akış sitometrisi ile ölçüm yapılmıştır. Tüm deneyler ikili tekrarlar şeklinde yapılmıştır.

VPA verilen deney grubu ve kontroller arasında herhangi bir zaman aralığı ve VPA dozları arasında istatistiksel bir anlamlılık saptanmamıştır. Erken apoptoz değerleri, kontrol hücreleri ve VPA ile muamele edilen hücrelerde 72 saate kadar stabil kalırken, VPA verilen hücrelerde 96. saat aralığında bir artış izlenmiştir.

Çalışmamıza ait ön sonuçlarımızda, VPA tedavisinin hücrelerde proliferatif etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Ancak uzun süreli inkübasyonlarda, VPA'nın apoptozu indükleyebildiği saptanmıştır. Bunlarla birlikte, VPA'nın toksik seviyelerinin belirlenmesi, hücrelerde proliferasyon ve apoptoz üzerindeki etkinliğinin araştırılması için artan konsantrasyonlarda ek VPA dozları uygulanmalıdır.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (TDP-2019-32763).

Anahtar Kelimeler: apoptoz, HEK293T, proliferasyon, valproik asit

## Investigation of the effects of valproic acid on apoptosis and proliferation in HEK293T cells

Hazal Banu Celebioglu<sup>1</sup>  
Yeliz Ekici<sup>1</sup>  
Abdullah Yılmaz<sup>2</sup>  
Umut Küçüksezer<sup>2</sup>  
Feyza Nur Tuncer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Aziz Sançar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul; Istanbul University, Graduate School of Health Sciences, Istanbul.

<sup>2</sup>Istanbul University, Aziz Sançar Institute of Experimental Medicine, Department of Immunology, Istanbul.

### ABSTRACT

Adjunctive therapeutic agent valproic acid(VPA) is shown to induce apoptosis while inhibiting proliferation in a variety of cancer cells. The aim of this study is to determine the effect of VPA on non-cancer cells. Thus it is based on our previous new approach, in which simultaneous proliferative and apoptotic effects of VPA in PANC-1 cells are analyzed using flow cytometry. Thus, we treated human embryonic kidney 293T (HEK293T) cells as non-cancer control cells, with VPA in different concentrations to monitor apoptosis and proliferation rates by flow cytometry.

HEK293T cells were seeded in 24 well-plates as 100,000 cells/well and treated with two different concentrations of VPA as 2.5 and 5 mM. Cell medium was used as negative control. CFSE and Annexin V/PI stainings were applied and flow cytometry was utilized on samples obtained every 24 hours up to 4 days to monitor proliferation and apoptosis, respectively. All experiments were conducted in duplicates.

No statistical significance was detected between two different doses of VPA-treated cells and the controls at any time point. While early apoptosis values remained stable until 72 hours in control cells and VPA-treated cells, an increase was monitored in 96 hours of VPA-treated cells.

Our preliminary results indicated no proliferative effect of VPA treatment. However it may induce apoptosis in long-term incubations. Nevertheless, additional doses of VPA in increased concentrations should be administered to explore toxic levels and the impact on proliferation and apoptosis.

This work was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of Istanbul University (TDP-2019-32763).

Keywords: apoptosis, HEK293T, proliferation, valproic acid



## Akut Lösemi Hücre Hatlarında Elektroporasyon İşleminin Hücreler Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Burcu Salman Yaylaz  
Şeyma Punar  
Zeliha Emrence  
Sema Sırma Ekmekci  
Damla Nur Şakar  
Berk İleri  
Büneyan Tüzün  
Neslihan Abacı

İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul.

### ÖZET

Akut Lösemiler, hematopoietik kök veya öncül hücrelerden kaynaklanan klonal malignitelerdir. Birçok alt grubu olmakla birlikte (ALL, AML, APL gibi) kemik iliği yetmezliği ile karakterizedir, agresif seyreder ve tedavi edilmediği takdirde ölüme yol açabilir. Vakaların büyük çoğunluğu sporadik olarak ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalara göre bir dizi konjenital sendromlar ve çevresel faktörler akut lösemilerin gelişimine yatkınlık göstermektedir. Bu çalışmada akut lösemi hücre hatlarında (JURKAT, NB4, HL-60, REH ve NALM6) elektroporasyonun hücre canlılığına ve DHRS2 ve p53 gen ifadelerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan tüm hücre hatları Amaxa™ Nucleofector™ II cihazı kullanılarak elektroporasyon işlemine maruz bırakılmıştır. Ardından bu hücrelerden RNA eldesi için 0. Ve 24. saat, hücre proliferasyonun belirlenmesi için ise 0., 24. Ve 48. saat MTT grupları oluşturuldu. Sürelerin sonunda RNA izolasyonları ve cDNA sentezi kit protokolleri takip edilerek yapıldı ve DHRS2 ile p53 gen ifadeleri qRT-PCR ile araştırıldı. Belirlenen sürelerin sonunda hücre proliferasyonu için ayrılmış gruplara MTT formazanı eklendi ve inkübasyon süresi sonunda MultiSkan Spektrum cihazı ile OD ölçümü yapıldı. Elektroporasyon işlemine maruz bırakılmış hücrelerin DHRS2 ve p53 ifadelerinde kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar bulundu ve bu iki genin zıt yönlü bir etkileşim içerisinde olduğu gözlemlendi. ( $p < .05$ ) MTT deneyleri ise hücre proliferasyonunun kontrol ve apoptotik grupla kıyaslandığında elektroporasyon yapılan hücrelerde orantılı olarak azaldığını göstermiştir. ( $p < .01$ ) Elde edilen çıktılar ışığında, araştırmalarda kullanılan elektroporasyon işleminin hücrelerin gen ifadelerini etkilediği, canlılığını ve proliferasyonlarını azalttığı söylenebilir. Akut lösemi hücre hatları için tasarlanması planlanan deneylerin bu çıktılar göz önüne alınarak yapılması önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Elektroporasyon, Akut lösemi hücre hatları, DHRS2, MTT

## Investigation of Electroporation Technique's Effects on Acute Leukemia Cell Lines

Burcu Salman Yaylaz  
Şeyma Punar  
Zeliha Emrence  
Sema Sırma Ekmekci  
Damla Nur Şakar  
Berk İleri  
Büneyan Tüzün  
Neslihan Abacı

Department of Genetics, İstanbul Universtiy Aziz  
Sancar Institute of Experimental Medicine, İstanbul,  
Turkey.

### ABSTRACT

Acute Leukemias are clonal malignancies originating from the hematopoietic stem or precursor cells. Although it has many subgroups (such as ALL, AML, APL), it is characterized by bone marrow failure, has an aggressive course. The great majority of cases occur sporadically. This study aimed to investigate the effects of electroporation on cell viability and DHRS2 and p53 gene expressions in acute leukemia cell lines (JURKAT, NB4, HL-60, REH, and NALM6). All cell lines used in the study were subjected to electroporation using the Amaxa™ Nucleofector™ II device. Then, 0th and 24th-hour groups were formed to obtain RNA, and 0, 24th, and 48th-hour MTT groups were formed to determine cell proliferation. At the end of the periods, RNA isolations and cDNA synthesis were performed following the kit protocols, and DHRS2 and p53 gene expressions were investigated by qRT-PCR. At the end of the specified periods, MTT formazan was added to the groups, and OD measurement was made.

Results: Significant differences were found in the DHRS2 and p53 expressions on the electroporated cells compared to the control group. These two genes were in an opposite interaction. ( $p < .05$ ) MTT experiments showed that cell proliferation decreased proportionally in electroporated cells compared to control and apoptotic groups. ( $p < .01$ )

Conclusion: In light of the obtained results, it can be said that the electroporation process used in research may change the cells' gene expressions, reducing their proliferation. The experiments that are planned to be designed for these cells must be carried out considering these outputs.

Keywords: Electroporation, Acute leukemia cell lines, DHRS2, MTT

## Timokinon ve Trastuzumab Kombinasyonunun Meme Kanseri Hücre Hattına Karşı Terapotik Etkinliğinin Araştırılması

Büşra Kurt

### ÖZET

Çalışma sonucu Meme kanserinde Timokinonun terapide kullanılan bir ajan olan trastuzumabla birlikte bir kanser terapotik olarak kullanabilme potansiyeli aydınlatılacaktır.

Sitotoksiste; TQ ve Trastuzumab (herceptin) dozları SKBR3 hücelere eklendi. Belirli oranlarda tripan mavisi ve hüceler muamele edilip Thoma lamında hüceler sayıldı.

Apoptoz;SKBR3 hüceleri timokinon ve trastuzumab(herceptin) dozları ile muamele edildi.24 saat inkübe edilen hüceler Giemsa boya ile boyanarak hücelerin yüzde değerleri hesaplandı.

Yara iyileşmesi(Migrasyon); SKBR3 hüceleri pipet ucuyla çizilerek yara genişliği oluşturuldu.Hüceler belirlenen Timokinon ve Trastuzumab dozlarıyla muamele edildi. 0,12 ve 24.saat görüntüleri alınarak hücre migrasyonu ölçüldü.

Sitotoksiste deneyinde SKBR3 hücelerinde tekli dozlarda sitotoksik etkisi daha fazla görüldü ve yapılan kombinasyon dozlarında sinerjik etki bulundu.

Timokinon, trastuzumab ve kombinasyonlarının SKBR3 hücelerindeki apoptotik etkisine bakıldığında konsantrasyon arttıkça apoptotik hücre sayıları artmıştır.Timokinon ve trastuzumab tek dozlara göre kombinasyon dozlarında apoptotik hücre sayısında daha fazla artış görülmüştür.Hücre göçü(yara iyileşmesi) çalışmasında, yara aralığı kontrolde kapandı, ancak kanser hüceleri tarafından Timokinon'un artan konsantrasyonlarıyla uygulanan kanser hücelerinde yara kapanması inhibe edilirken, kombinasyon dozlarında yara kapanması daha fazla inhibe edilmiştir.

Timokinon, Trastuzumab ve bunların birlikte kombinasyonları invitro şartlarda meme kanser hücelerin proliferasyonu, migrasyonlarını baskıladığı, apoptozu tetiklediği bulunmuştur.Timokinon ve Timokinon-Trastuzumab kombinasyonlarının anti-proliferatif etkilerinin invivo deneylerde de gösterilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Timokinon, Trastuzumab, Meme kanseri, SKBR3

İnönü üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Malatya, Türkiye.

## Investigation of Therapeutic Efficacy of Thymoquinone and Trastuzumab Combination Against Breast Cancer Cell Line

Büşra Kurt

### ABSTRACT

As a result of the study, the potential of thymoquinone to be used as a cancer therapeutic agent together with trastuzumab which used in therapy will be clarified in breast cancer.

Cytotoxicity; TQ and Trastuzumab (herceptin) doses were added to SKBR3. Certain ratios of trypan blue and cells were treated and the cells were counted on the Thoma slide.

Apoptosis:SKBR3 cells were treated with thymoquinone and trastuzumab doses. Cells incubated for 24 hours were stained with Giemsa dye and the percentage values of the cells were calculated.

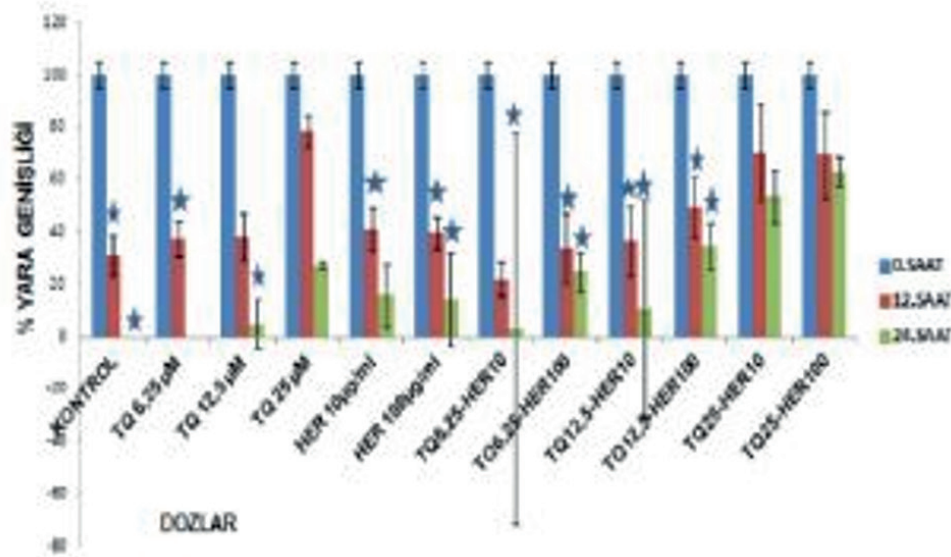
Wound healing (Migration); Wound width was created by drawing SKBR3 cells with a pipette tip. The cells were treated with the determined Thymoquinone and Trastuzumab doses. The 0,12 and 24th hour images were taken and the cell migration was measured

In the cytotoxicity experiment, the cytotoxic effect was higher in SKBR3 cells at single doses, and a synergistic effect was found at the combination doses. When the apoptotic effect of thymoquinone, trastuzumab and their combinations on SKBR3 cells increased, the number of apoptotic cells increased. In the cell migration (wound healing) study, the wound gap closed in control, but in cancer cells administered with increasing concentrations of Thymoquinone by cancer cells, wound closure was inhibited, while at combination doses Wound closure was further inhibited.

It has been found that Thymoquinone, Trastuzumab and their combinations suppress the proliferation and migration of breast cancer cells and trigger apoptosis in vitro.

Keywords: Thymoquinone, Trastuzumab, Breast cancer, SKBR3

İnönü University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetic, Medical Biology and Genetic Malatya, Turkey.



**Şekil 1.** Yara iyileşmesindeki grafiksel gösterimi

**Figure 1.** Graphical representation of wound healing

SKBR3 hücrelerinin çoğalması ve göçü üzerindeki etkisini değerlendirmek için yara iyileşmesi testi gerçekleştirildi. SKBR3 hücreleri çizilmeye maruz bırakılarak yaranın üzerine Kontrol ile birlikte, TQ'nun farklı konsantrasyonları (TQ-6.25 µM, TQ-12.5 µM, TQ-25 µM), Trastuzumab'ın farklı konsantrasyonları (Trastuzumab-10µg/ml-100 µg/ml) ve bu verilen TQ ve trastuzumab dozlarının kombinasyonları ile muamele edildi ve 24 saat boyunca 0-12-24. saat aralıklarla görüntüler alınarak yaraların kapanması gözlenmiştir. TQ12,5-HER100 dozu uygulandığında kanser hücrelerinde yara iyileşmesini inhibe etti. TQ'un artan konsantrasyonlarıyla uygulanan kanser hücrelerinde yara kapanması inhibe edilirken, kombinasyon dozlarında yara kapanması daha fazla inhibe edilmiştir (şekil 1)(T12,5-HER100, T25-HER10, T25-HER100 konsantrasyonlarda olduğu gibi) Grafikte görülen hata çubukları standart hatayı belirtir. Yıldız işaretleri ise kontrol ile TQ, trastuzumab ve Kombinasyonları arasındaki anlamlı farkı belirtir.

Wound healing assay was performed to evaluate its effect on proliferation and migration of SKBR3 cells. SKBR3 cells are scratched onto the wound, together with Control, different concentrations of TQ (TQ-6.25 µM, TQ-12.5 µM, TQ-25 µM), different concentrations of Trastuzumab (Trastuzumab-10µg/ml-100 µg/ml) and this was treated with combinations of given doses of TQ and trastuzumab and 0-12-24 for 24 hours. The closure of the wounds was observed by taking images at hourly intervals. When TQ12,5-HER100 dose was applied, it inhibited wound healing in cancer cells. Wound closure was inhibited in cancer cells applied with increasing concentrations of TQ, while wound closure was inhibited more at combination doses (figure 1)(T12,5-HER100, T25-HER10, As with T25-HER100 concentrations) Error bars in the graph indicate standard error. Asterisks indicate the significant difference between control and TQ, trastuzumab and Combinations.

**Tablo 1.** Kontrol, TQ ve Trastuzumab ve kombinasyonları ile 24 saat muamele edilmiş ve SKBR3 hücrelerinde % 'de Apoptotik etkinin gösterilmesi yüzde olarak gösterilmesi

KONTROL	21±1,5
TQ-6.25 µm	40±3,57
TQ-12,5 µM	53±3,22
TQ-25 µM	83±4,35
HER10µg/ml	33±4,43
HER100µg/ml	42±3,04
TQ6-HER10	49±2,25
TQ6-HER100	44±1,84
TQ12-HER10	58±13,45
TQ12-HER100	65±8,66
TQ25-HER10	81±9,04
TQ25-HER100	92±6,83

SKBR3 hücre kültüründeki apoptotik hücrelerin yüzdesi Tabloda yer almıştır. TQ ve Trastuzumab dozları arttıkça apoptotik hücre sayıları artmaktadır. Kombinasyon dozu olan TQ12,5-HER100 konsantrasyonun apoptotik hücrelerin yüzdesi T12.5 ve HER 100 dozlarına göre daha yüksektir. Hata çubukları standart sapmayı gösterir. Yıldız işaretleri, Kontrol ve TQ, trastuzumab ve kombinasyonları ile muamele edilen konsantrasyonlar arasındaki anlamlı farkı belirtir (p<0,05).

**Table 1.** Apoptotic effect in % in SKBR3 cells treated with control, TQ and Trastuzumab and their combinations for 24 hours

CONTROL	21±1,5
TQ-6.25 µm	40±3,57
TQ-12,5 µM	53±3,22
TQ-25 µM	83±4,35
HER10µg/ml	33±4,43
HER100µg/ml	42±3,04
TQ6-HER10	49±2,25
TQ6-HER100	44±1,84
TQ12-HER10	58±13,45
TQ12-HER100	65±8,66
TQ25-HER10	81±9,04
TQ25-HER100	92±6,83

The percentage of apoptotic cells in the SKBR3 cell culture is given in the Table. As TQ and Trastuzumab doses increase, the number of apoptotic cells increases. The percentage of apoptotic cells at the combination dose of TQ12,5-HER100 was higher than that of T12.5 and HER 100 doses. Error bars show the standard deviation. Asterisks indicate the significant difference between the concentrations treated with Control and TQ, trastuzumab and its combinations (p<0.05).

## Köpeklerde mavi göz renginin makine öğrenme ile tahmini

Burak Karacaören

### ÖZET

Fenotiplerin genomik tahmini (GT) genetik’de ana konulardandır. Genomik’de son yıllarda elde edilen teknolojik ilerlemeler yüzbinlerce moleküler işaretleyici (Tekil Nükleotid Polimorfizm, TNP, gibi) ile fenotipleri tahmin edecek istatistiksel modellere olan ihtiyacı arttırmıştır. Bugüne kadar yapılan araştırmaların çoğu fenotiplerin GT yerine genlerin keşfi ile ilgilenmiştir. Açık olmayan bir konu ise makine öğrenme modellerinin (MÖM) fenotiplerin tahminine olan etkileridir. Bu makale MÖM köpeklerde mavi göz rengini tahmin etmede kullanılabileceğini göstermeyi amaçlamaktadır.

Bu çalışma kamuya açık bir veriseti kullanmıştır. 3180 Sibirya Huski köpeği: mavi göz ve “diğer” göz renkleri olarak ikiye ayrılarak 213242 TNP ile genotiplenmiştir. Ağırlıklı alt uzay rassal ormanları (wRF), gradyan güçlendirilmiş ağaçlar (xgb), naïve Bayes (NB) ve K-yakınlıklı komşuluklar (KNN) MÖM kullanarak GT yapılmıştır. 5 katlı çapraz sorgulama ile: alıştırma ve tahmin süreçleri kullanılarak eğri altındaki alanlar (EAA) üzerinden tahmin doğrulukları hesaplanmıştır. MÖM ile kullanılacak TNP’ler: genom çaplı ilişki analizlerine (GÇİA) ait p değerleri ( $p < 0.01$ ) ve minör alel sıklıkları arasındaki farklara göre seçilmiştir.

xgb farklı deneme desenlerinde en yüksek doğruluğu verdi (EAA=0.81 (0.004)). Ama 15000 xgb TNP’si yerine wRF sadece 5000 GÇİA TNP ile benzer doğruluğu buldu (EAA=0.79 (0.004)). GÇİA ile belirlenen işaretleyicilerle kullanılan MÖM’nin yüksek doğruluklar vermesi: mavi göz ile ilişkili majör bir genin olduğunu da doğrulamaktadır.

Mavi göz’ün GT’nin MÖM ile mümkün olduğu xgb ve diğer modellerin verdiği yüksek doğruluklarla gösterilmiştir. Bu araştırmanın sonuçları fenotiplerin GT’de genomik mimari ile ilgili önabüllerin önemini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: genomik tahmin, göz rengi, makine öğrenme

Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Biyometri ve Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya.

## Using Machine Learning to predict blue eye colour in dogs

Burak Karacaören

### ABSTRACT

Genomic prediction (GP) of phenotypes is a major area in genetics. Developments in genomics have heightened the need for statistical models for GP of phenotypes using markers (as such single nucleotide polymorphism, SNP). Current research mostly focus on gene discovery rather than GP of phenotypes. What is not yet clear is the impact of machine learning models (MLM) for GP of phenotypes. This paper attempts to show that MLM could be used to predict blueeye colors in dogs.

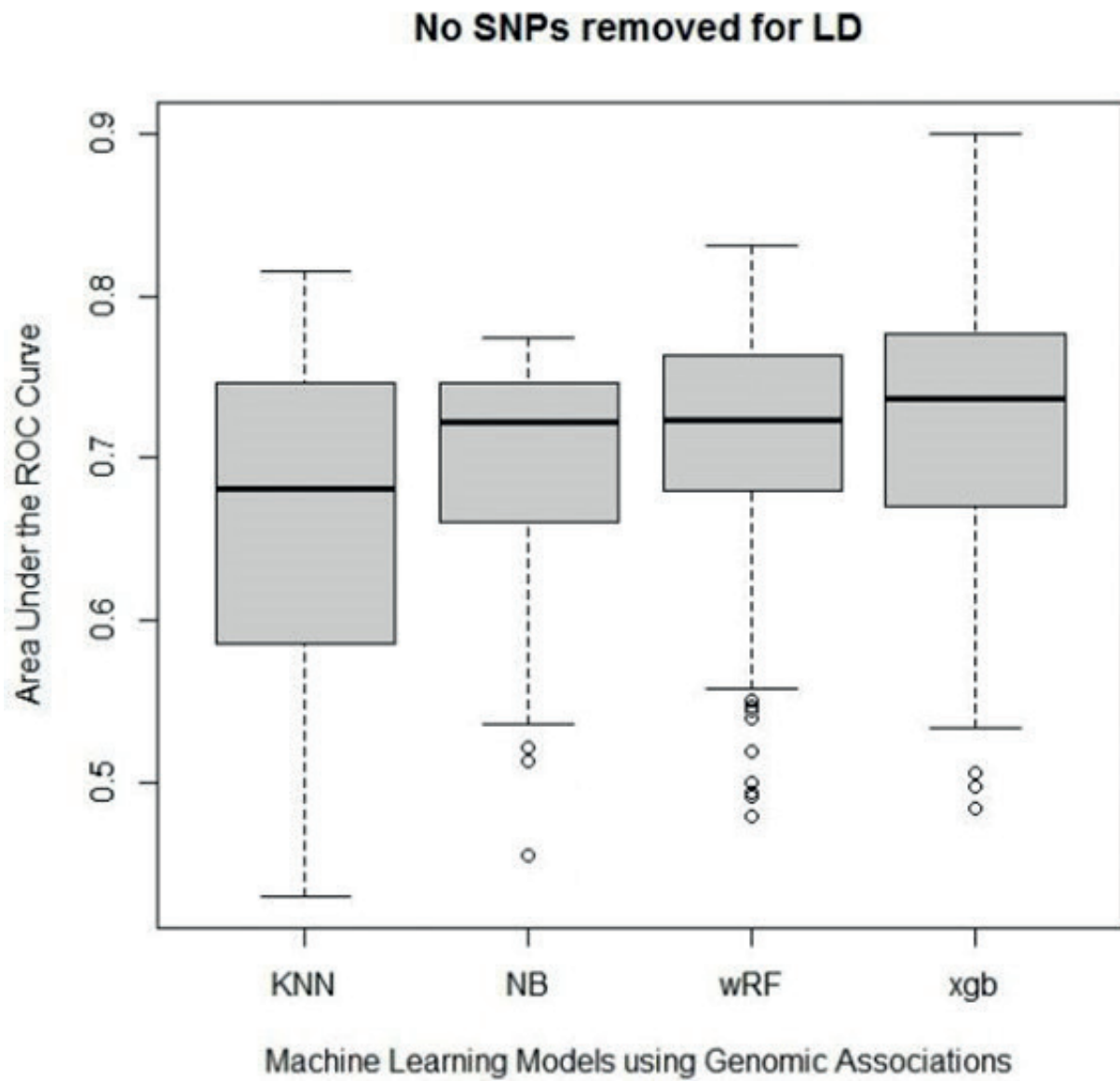
This study used a public dataset. 3180 Siberian Huskies was divided into two groups based on blue eye and "other" colors with 213245 SNPs. Different MLM used for GP: weighted subspace random forest (wRF), gradient boosted trees (xgb), naïve Bayes (NB) and K-nearest neighbors (KNN). Area under the curve (AUC) was used to investigate accuracies over training and testing procedures by using 5 fold cross validations. We filtered the SNPs based on genome wide association (GWAS) p values ( $p < 0.01$ ) and differences of minor allele frequencies

xgb resulted highest accuracies under most of the experimental settings (AUC=0.81 (0.004)). However wRF gave similar accuracy (AUC=0.79 (0.004)) with only 5000 GWAS SNPs (compared with 15000 SNPs of xgb). Accuracies of MLM with GWAS markers confirms that blue eye is associated with a major gene.

The relevance of GP of blue eyes using MLM is clearly supported by the high accuracies obtained from xgb and other models. This research provide insights for importance of assumptions regarding genomic architecture of the phenotypes for GP.

Keywords: eye color, genomic prediction, machine learning

Akdeniz University, Faculty of Agriculture, Section of Biyometry and Genetics, Antalya.



**Şekil 1.** Genom Çaplı İlişki Analizi ile elde edilen Makine Öğrenme Modellerine ait tahmin doğrulukları

**Figure 1.** Prediction accuracies of Machine Learning Models using Genom Wide Association Analyses



## HER2 V655I VE PHB 3'UTR C>T Polimorfizmlerinin Erkek İnfertilitesi ile Olası İlişkilerinin Araştırılması

İrem Yıldız<sup>1</sup>  
Nevin Karakuş<sup>1</sup>  
Fikret Erdemir<sup>2</sup>

### ÖZET

İnfertilite, korunmasız cinsel ilişkiye rağmen en az bir yıl içerisinde gebelik elde edilememesidir. ERBB2 reseptörü tirozin kinaz 2 (HER2) geni, reseptör tirozin kinazların epidermal büyüme faktörü (EGF) reseptör ailesinin bir üyesini kodlar. HER2'nin, erkeklerde spermatogenezde ve Leyding hücre steroidogenezinde rol alabileceği düşünülmüştür. Prohibitin (PHB), temel sperm mitokondriyal proteinlerinden olup, somatik hücrelerdeki eksikliği mitokondriyal membran depolarizasyonu ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin artışı ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada, Türk popülasyonunda HER2 ve PHB genlerindeki polimorfizmlerin, önemli bir sağlık sorunu olan infertiliteye sahip erkeklerde, etkisinin araştırılmasını amaçladık.

Bu çalışmaya infertilite hastalığı olan 133 erkek ve 100 sağlıklı erkek kontrol dahil edildi. Periferik kandan elde edilen hasta ve kontrol DNA'ları, PCR ve RFLP metotları uygulanarak incelendi. İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS (version 20.0) ve Openepi (version 3.01) yazılım programları kullanılarak ki-kare ve varyans analizleri ile yapıldı.

HER2 V655I (rs1136201) ve PHB 3'UTR C>T (rs6917) polimorfizmleri bakımından hasta ve kontrollerin genotip ve allel sıklıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Yapılan kompozit genotip analizinde, kompozit genotiplerin erkek infertilitesi için risk oluşturmadığı saptandı.

HER2 V655I ve PHB 3'UTR C>T gen polimorfizmleri ile erkek infertilitesi arasında bir ilişki bulunamamıştır. Örnek sayısı artırılarak ve farklı popülasyonlarda da bakılarak çalışma daha da genişletilebilir.

Anahtar Kelimeler: Erkek infertilitesi, HER2, PHB, polimorfizm

<sup>1</sup>Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Tokat.

<sup>2</sup>Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji AD, Tokat.

## Investigation Of The Possible Relationship Of HER2 V655I And PHB 3'UTR C>T Polymorphisms With Male Infertility

İrem Yıldız<sup>1</sup>  
Nevin Karakuş<sup>1</sup>  
Fikret Erdemir<sup>2</sup>

### ABSTRACT

**Objectives:** Infertility is the inability to achieve pregnancy in at least one year despite unprotected sexual intercourse. The ERBB2 receptor tyrosine kinase 2 (HER2) gene encodes a member of the tyrosine epidermal growth factor (EGF) receptor kinase. HER2 is thought to be involved in spermatogenesis and Leyding cell steroidogenesis in males.

Prohibitin (PHB) is one of the essential sperm mitochondrial proteins, and its deficiency in somatic cells has been associated with mitochondrial membrane depolarization and increased production of reactive oxygen species (ROS). In this study, we aimed to investigate the effects of polymorphisms in HER2 and PHB genes in men with infertility, which is an important health problem, in Turkish population.

133 men with infertility disease and 100 healthy male controls were included in this study. Patient and control DNAs obtained from peripheral blood were analyzed using PCR and RFLP methods. Statistical evaluation was performed with chi-square and variance analyzes using IBM SPSS (version 20.0) and Openepi (version 3.01) software programs.

There was no statistically significant difference in genotype and allele frequencies of patients and controls in terms of HER2 V655I (rs1136201) and PHB 3'UTR C>T (rs6917) polymorphisms ( $p>0.05$ ). In the composite genotype analysis, it was determined that composite genotypes did not pose a risk for male infertility.

**Conclusions:** No association was found between HER2 V655I and PHB 3'UTR C>T gene polymorphisms and male infertility. The study can be expanded further by increasing the number of samples and studying in different populations.

**Keywords:** Male infertility, HER2, PHB, polymorphism

<sup>1</sup>University of Tokat Gaziosmanpaşa, Faculty of Medicine, Medical Biology Department.

<sup>2</sup>University of Tokat Gaziosmanpaşa, Faculty of Medicine, Urology Department.

## Paternal Uniparental Dizomiyle Ortaya Çıkan Angelman Sendromlu Olgu

Tuğba Karaman Mercan<sup>1</sup>  
Özden Altıok Clark<sup>2</sup>  
Aslı Toylu<sup>2</sup>  
Banu Nur<sup>3</sup>  
Ercan Mihççi<sup>3</sup>  
Sibel Berker Karaüzüm<sup>1</sup>

### Ö Z E T

Angelman sendromu(AS; OMIM 105830) tipik olarak maternal kromozom 15q11.2-q13 delesyonu, Ubiquitin-protein ligase E3A(UBE3A) geni mutasyonları, paternal uniparental dizomi (UPD), imprinting merkezi mutasyonları, nedeniyle ortaya çıkan konjenital bir nörogelişimsel bozukluktur. Bu çalışmada karyotipinde der(15;15) gözlenen olgudaki bu durumun uniparental dizomi(UPD) kaynaklı olup olmadığının gösterilmesi amaçlanmıştır.

Olgu: 3 yaşındaki olgu konuşamama ve dengesiz yürüme şikayetleriyle Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri kliniğine gelmiştir. Olgunun periferik kan örneğinden yapılan kromozom analizinde her iki 15 numaralı kromozomun uzun kolları arasında robertsonian tipi translokasyonu olduğu tespit edilip karyotipi de 45,XX,der(15;15) (q10;q10)dn olarak belirlenmiştir. Prader-Willi/Angelman bölgeleri olarak bilinen kromozom 15q11-q13 bölgelerine lokus spesifik floresan in situ hibridizasyon yöntemiyle bakılarak mikrodelesyon olmadığı gözlenmiştir. Olgunun klinik ön tanısı Prader Willi sendromu olduğu için 15 numaralı kromozomlarda uniparental dizomi olup olmadığının gösterilebilmesi için yeni nesil dizilemeyle haplotip analizi yapılmıştır ve 15 numaralı kromozom açısından olgunun babanın haplotipi ile uyumlu olduğu gözlenmiştir

Literatürde, 15 numaralı kromozomun UPD'si ile ortaya çıkan AS'li olguların, klinik olarak mikrodelesyon gözlenen olgulardan daha hafif semptom vermeleri nedeniyle gözden kaçırılacakları düşünülmektedir. Bu nedenle t(15;15) gözlenen olguların UPD açısından mutlaka değerlendirilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Angelman Sendromu, robertsonian translokasyonu, uniparental dizomi

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Antalya, Türkiye.

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik, Antalya, Türkiye.

<sup>3</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Antalya, Türkiye.

## A Case with Angelman Syndrome Caused by Paternal Uniparental Disomy

Tuğba Karaman Mercan<sup>1</sup>  
Özden Altıok Clark<sup>2</sup>  
Aslı Toylu<sup>2</sup>  
Banu Nur<sup>3</sup>  
Ercan Mihçı<sup>3</sup>  
Sibel Berker Karaüzüm<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Angelman syndrome (AS; OMIM 105830) is a congenital neurodevelopmental disorder typically caused by maternal chromosome 15q11.2-q13 deletion, Ubiquitin-protein ligase E3A(UBE3A) gene mutations, paternal uniparental disomy (UPD), imprinting center mutations. In this study, we aimed to show whether the Robertsonian translocation between the chromosomes 15 observed in the karyotype of the case is caused by uniparental disomy (UPD) or not.

Case: A 3-year-old patient was referred the pediatric clinic of Akdeniz University Medical Faculty in Antalya, Turkey due to an absence of speech and ataxic gait. Conventional cytogenetic analyses was carried out using the case's peripheral blood. It was determined that there was a Robertsonian type translocation between the long arms of both chromosomes 15, so the karyotype was defined as 45,XX,der(15;15)(q10;q10)dn. Locus-specific fluorescent in situ hybridization method was then carried out on the case's chromosome 15q11-q13 regions, known as Prader-Willi/Angelman regions. There were not any microdeletions in the chromosome 15q11-q13 region of the case. Since the clinical pre-diagnosis of the case was Prader Willi syndrome, haplotype analysis was performed with next generation sequencing. There was uniparental disomy in the chromosomes 15. It was observed that the case was compatible with the father's haplotype of the chromosome 15.

In the literature, it is thought that cases with AS presenting with UPD of the chromosome 15 may be overlooked. Because they show milder clinical symptoms than cases with microdeletion. Therefore, cases with t(15;15) should be evaluated in terms of UPD.

Keywords: Angelman Syndrome, robertsonian translocation, uniparental disomy

<sup>1</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Antalya, Turkey.

<sup>2</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Antalya, Turkey.

<sup>3</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Health and Diseases, Antalya, Turkey.

## Fitohemaglutinin ile Uyarılmış İnsan Periferik Kan Mononükleer Hücrelerinde Hücre İçi Sitokinlerin Tespiti: İnkübasyon Sürelerinin Karşılaştırmalı Analizi

Ayşe Erol<sup>1</sup>  
Figen Abatay Sel<sup>1</sup>  
Mediha Süleymanoğlu<sup>1</sup>  
Gökhan Demirayak<sup>2</sup>  
Dürdane Serap Kuruca<sup>3</sup>  
Fatma Savan Oğuz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi.

<sup>3</sup>Istanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı.

### ÖZET

İnsan periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH'ler) rutin olarak tam kan örneklerinden izole edilir ve otoimmün hastalıklar, bağışıklık sistemi bozuklukları, kanserler, transplantasyonlar gibi çeşitli hastalık araştırma çalışmalarında kullanılır. PKMH 'ler, sitokin üreten immün sistem hücrelerini içerir. PKMH'ler, sadece stimülasyondan sonra önemli miktarda sitokin ekspresyon eder. Bu çalışmanın amacı, PKMH'lerde fitohemaglutinin (PHA) stimülasyonunun etkisini araştırmaktır.

Projemizde sağlıklı donörlerden izole edilen PKMH, PHA ile uyarıldı ve sitokin seviyeleri flow sitometri ile analiz edildi. Sağlıklı donörlerden alınan PKMH'ler, in vitro olarak farklı konsantrasyonlarda (5 µg/ml ve 10 µg/ml) 6, 12, 24, 72 saat boyunca PHA ile uyarıldı. PHA stimülasyonundan önce ve sonra hücre içi sitokin seviyeleri (Interleukin-4 (IL-4), Interferon-γ (IFN- γ) ve Interleukin-17A (IL-17A)) flow sitometri ile belirlendi.

Uyarılmamış ve uyarılmış tüm gruplar karşılaştırıldığında IL-4'te benzer düzeyde arttığını tespit edildi. Her iki konsantrasyondaki 6 ve 12 saatlik PHA aktivasyonunda sitokin seviyesi değişimi önemli derecede değildi. Ancak 6 saatte IL-17 ve IFN-γ hücre içi sitokin seviyeleri uyarılmamış gruba göre azalmıştı. IL-4, IFN- γ ve IL-17 hücre içi sitokin ekspresyon artışının en belirgin ve anlamlı olan grubun, 72 saat, 10 µg/ml PHA ile uyarılan grup olduğunu tespit ettik (Şekil 1).

PHA ile yapılan hücre aktivasyonu çalışmalarında daha doğru analizler elde edebilmek için, hücre uyarılarının stimülasyon inkübasyon süresi ve dozunun ön çalışmalarla denenerak optimum değerlerin saptanması gerekliliğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: PMKH, Sitokin, Fitohemaglotinin

## Detection of Intracellular Cytokines in Phytohemagglutinin Stimulated Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: Comparative Analysis of Incubation Times

Ayşe Erol<sup>1</sup>  
Figen Abatay Sel<sup>1</sup>  
Mediha Süleymanoğlu<sup>1</sup>  
Gökhan Demirayak<sup>2</sup>  
Dürdane Serap Kuruca<sup>3</sup>  
Fatma Savan Oğuz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Medical Biology Department.

<sup>2</sup>University of Health Sciences, Bakırköy Sadi Konuk Education and Research Hospital.

<sup>3</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Physiology Department.

### ABSTRACT

Human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) are routinely isolated from whole blood samples and used for several studies of research including autoimmune diseases, immune system disorders, cancers, transplantations. PBMCs include immune systems cells that produce cytokines. PBMCs express significant amount of cytokines particularly after stimulation. The aim of this study is to investigate effect of Phytohemagglutinin (PHA) stimulation in PBMCs.

In our project, the PBMC isolated from healthy donors were stimulated by PHA and investigated cytokines levels by flow cytometry. PBMCs from healthy donors were stimulated with PHA for 6, 12, 24, 72 h with different concentrations (5 µg/ml and 10 µg/ml) in vitro. Before and after PHA stimulation was determined intracellular cytokines levels (Interleukin-4 (IL-4), Interferon-γ (IFN-γ), and Interleukin-17A (IL-17A)) by flow cytometry.

We found the similar increase level in IL-4 when the unstimulated and stimulated groups were compared. Each of the concentrations of PHA with 6 and 12 h activation were not significant change for the cytokine levels. However, in 6 h, IL-17 and IFN-γ intracellular cytokine levels were decreased compared to the unstimulated group. We found that IL-4, IFN-γ and IL-17 intracellular cytokine productions were the most significant when stimulated with 10 µg/ml PHA for 72 hours (Figure 1).

We suggest that the stimulation incubation time and dose of cell stimuli should be tested with preliminary studies to determine the optimum values in order to obtain more accurate analyzes for cell activation studies with PHA.

Keywords: PBMC, Cytokine, Phytohemagglutinin

	6 hours			12 hours			24 hours			72 hours		
	UNS	5 µg/ml PHA	10 µg/ml PHA	UNS	5 µg/ml PHA	10 µg/ml PHA	UNS	5 µg/ml PHA	10 µg/ml PHA	UNS	5 µg/ml PHA	10 µg/ml PHA
CD4	55,3	51,9	48,9	62,5	62,1	59,5	57,8	54,2	52,3	53,1	55,2	55,1
IL17	0,23	0,14	0,14	0,04	0,04	0,07	0,11	0,13	0,11	0,06	0,13	0,2
IFN-G	0,09	0,03	0,04	0,02	0,04	0,05	0,05	0,11	0,1	0,02	0,05	0,16
IL-4	0	0,06	0,07	0	85,74	74,29	45,8	33,02	43,71	0,07	22,33	14,47

**Şekil 1.** PMKH'lerde stimülasyon sonrası sitokin seviyeleri

**Figure 1.** Cytokine levels in PBMC after stimulation

## Pediyatrik Akut Lenfoblastik Lösemide CXCR4, PDGFRB, RANTES, TWIST1 ve VEGFR2 Gen İfadelerinin Önemi

Şebnem Yanık Pehlivanoğlu<sup>1</sup>  
Burcu Salman Yaylaz<sup>1</sup>  
Funda Tayfun Küpesiz<sup>2</sup>  
Sibel Berker Karaüzüm<sup>3</sup>  
Suray Pehlivanoğlu<sup>4</sup>  
Sema Sırma Ekmekci<sup>1</sup>  
Neslihan Abacı<sup>1</sup>

### ÖZET

Akut lenfoblastik lösemi (ALL), lenfoid progenitör hücrelerin kemik iliği ve ekstramedullar bölgelerde klonal proliferasyonu ile karakterize olan, en yaygın çocukluk çağında görülen hematolojik bir malignitedir. Çalışmamızın amacı, nüks olan/olmayan, spesifik gen anomalileri ve füzyon gen ifadeleri gibi spesifik bir biyobelirteç bulundurmayan pediyatrik ALL olgularından alınan kan ve kemik iliği örneklerinde CXCR4, PDGFRB, RANTES, TWIST1 ve VEGFR2 gen ifade düzeylerinin pediyatrik ALL'de ve MRH' da klinik tablolara bağlı olarak bir biyobelirteç adayı olup olamayacağını araştırmaktır.

Çalışmaya, pediyatrik ALL tanısı konmuş 46 olgu ve 6 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Hastaların RNA'larından elde edilen cDNA örneklerinden kantitatif gerçek zamanlı PZR (qRT-PZR) yöntemi ile ACTB, CXCR4, PDGFRB, RANTES, TWIST1 ve VEGFR2 genlerinin ifade düzeyleri incelenmiştir.

Çalışılan tüm genlerin genel (hasta/ kontrol) ifade düzeyi incelendiğinde, anlamlı değişimler elde edilememiştir ( $p>0,05$ ). Ancak, RANTES ifade düzeyinin, pre-B ALL immüfenotipine sahip olgularda sağlıklı kontrollere göre, t(9;22) taşıyıcılarında t(1;19) taşıyıcılarına göre ve geç remisyondaki anlamlı düzeyde arttığı belirlenmiştir. ( $p<0,05$ ). CXCR4 ifade düzeyinde ise, t(9;22) taşıyıcılarında translokasyon taşımayan olgulara göre ve yüksek risk gruplarında standart risk gruplarına göre anlamlı bir artış saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Aynı zamanda PDGFRB ifade düzeyinde de geç remisyon saptanan olgularda, erken remisyonlara göre anlamlı artış olduğu gözlenmiştir ( $p<0,05$ ).

Günümüzde, RANTES ve ALL patogenezi arasındaki ilişkiyi ortaya koyan herhangi bir literatür bilgisine rastlanmamıştır. Bu çalışma ile genel olarak pediyatrik ALL'de RANTES ifade düzeylerinde anlamlı değişimler olduğu saptanmıştır. Çalışma sonucunda, RANTES'in ALL patogenezi için önemli bir rolü olduğu ve biyobelirteç adayı olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36170

**Anahtar Kelimeler:** Akut Lenfoblastik Lösemi, Minimal Rezidüel Hastalık, RANTES

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Antalya.

<sup>3</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya.

<sup>4</sup>Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Konya.



## The Prominent Role of CXCR4, PDGFRB, RANTES, TWIST1 and VEGFR2 Gene Expressions in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia

Şebnem Yanık Pehlivanoğlu<sup>1</sup>  
Burcu Salman Yaylaz<sup>1</sup>  
Funda Tayfun Küpesiz<sup>2</sup>  
Sibel Berker Karaüzüm<sup>3</sup>  
Suray Pehlivanoğlu<sup>4</sup>  
Sema Sırma Ekmekci<sup>1</sup>  
Neslihan Abacı<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Aziz Sancar Research Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul.

<sup>2</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Antalya.

<sup>3</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya.

<sup>4</sup>Necmettin Erbakan University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Konya.

### ABSTRACT

Acute lymphoblastic leukemia is the hematological malignancy characterized by clonal proliferation of lymphoid progenitor cells in the bone marrow. The aim of this study is to determine the clinical effects of CXCR4, PDGFRB, RANTES, TWIST1 and VEGFR2 gene expression levels, and also to investigate whether they could be candidate biomarkers in MRD in pediatric ALL cases.

46 cases diagnosed with pediatric ALL and 6 controls were included in the study. The expression levels of CXCR4, PDGFRB, RANTES, TWIST1 and VEGFR2 genes were investigated by quantitative real-time PCR (qRT-PCR) method from cDNA samples obtained from RNA samples of patients.

The general investigated expression levels of all studied genes showed no significant changes ( $p > 0.05$ ). However, it was determined that RANTES expression level increased significantly in cases with pre-B ALL immunophenotype compared to healthy controls, in t(9;22) carriers compared to t(1;19) carriers and in late remissions ( $p < 0.05$ ). A significant increase was found in CXCR4 expression level in t(9;22) carriers compared to non-translocation cases and in high-risk groups compared to standard risk groups ( $p < 0.05$ ). Moreover, it was found that a significant increase in PDGFRB expression level in cases with late remission compared to early remissions ( $p < 0.05$ ).

Currently, there is no literature data revealing the relationship between the pathogenesis of RANTES and ALL. In this study, it was determined that there were significant increase in RANTES expression levels in pediatric ALL cases. Eventually, it is could be considered that RANTES has an important role in the pathogenesis of ALL and could be evaluated as a candidate biomarker.

**Keywords:** Acute Lymphoblastic Leukemia, Minimal Residual Disease, RANTES

## Tinzaparin ve enoksaparin tedavisinin apoptoz ve hücre döngüsü genleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için oral skuamöz hücreli karsinom modelinin geliştirilmesi

Yeliz Ekici<sup>1</sup>  
Umut Can Küçüksezer<sup>2</sup>  
Elçin Bedeloğlu<sup>3</sup>  
Behçet Erol<sup>3</sup>  
Feyza Nur Tuncer<sup>1</sup>

### ÖZET

Oral skuamöz hücreli karsinom (OSHK) tüm oral kanserlerin %90'ını oluşturmaktadır. Çalışmamızda, oluşturduğumuz ksenograft oral kanser fare modeli kullanılarak, çeşitli kanser türlerinde primer tümör ve metastazı baskıladığı tespit edilen düşük molekül ağırlıklı heparinlerin (DMAH) proliferasyon, anjiyogenez ve apoptoz genleri üzerindeki etkisi irdelenmiştir.

Tinzaparin (n=2), enoksaparin (n=2) ve pozitif kontrol (n=2) gruplarından oluşan 4-6 haftalık atimik farelerin diline OSC-19 hücre hattı enjekte edilmiştir. 21 gün sonra, dillerde gelişen tümörlerden RNA izole edilmiştir. ACTB, BCL-2, BAX, VEGF-C ve CCNB1 genlerinin anlatım düzeyleri qRT-PCR kullanılarak ölçülmüştür. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri, tek yönlü varyans analizi (ANOVA), ardından post-hoc Tamhane çoklu karşılaştırma testi ile ölçülmüştür.  $P < 0,05$  anlamlı kabul edilmiştir. Ayrıca tümörlerin histomorfolojik ve immün boyanma özellikleri değerlendirilmiştir.

Tinzaparin uygulanan gruplarda BAX, VEGF-C ve CCNB1 genlerinin anlatım düzeylerinde, enoksaparin uygulanan gruplarda ise BCL-2, BAX ve CCNB1 genlerinin anlatım düzeylerinde anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ( $P < 0,05$ ). Tüm tümör hücreleri, her grupta aynı histopatolojik özellikleri göstermiştir. Bax, Bcl-2 ve Ki-67 primer antikoları ile yapılan immünohistokimyasal incelemelere göre, deney grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ki-67 belirteci olan tüm gruplarda proliferasyon indeksi %15-20 bulunmuştur.

CCNB1'in anlamlı düşüşü DMAH uygulamasının proliferasyon baskılanmasına yardımcı olduğunu işaret edilmektedir. Tinzaparin uygulamasının VEGF-C anlatımını baskılaması da bunu desteklemektedir. Ancak bulgular DMAH için yapılan bir ön çalışma niteliğindedir. Ön bulguların örneklem sayısını arttırarak valide edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (TKD-2018-29724).

Anahtar Kelimeler: OSC-19, DMAH, Oral kanser

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı; İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünnoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>İstanbul Aydın Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Bölümü, İstanbul, Türkiye.

## Development of oral squamous cell carcinoma model to evaluate the effect of tinzaparin and enoxaparin treatment on apoptosis and cell cycle genes

Yeliz Ekici<sup>1</sup>  
Umut Can Küçüksezer<sup>2</sup>  
Elçin Bedeloğlu<sup>3</sup>  
Behçet Erol<sup>3</sup>  
Feyza Nur Tuncer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics; Istanbul University, Graduate School of Health Sciences Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Immunology, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Istanbul Aydin University, Faculty of Dentistry, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Oral squamous cell carcinoma (OSCC), accounts for 90% of all oral cancers. In our study, we developed xenograft oral squamous cell carcinoma mouse model to assess the effect of low molecular weight heparins (LMWH) on proliferation, angiogenesis and apoptosis genes.

The OSC-19 cell line was injected into the tongues of 4-6 week old athymic mice consisting of tinzaparin (n=2), enoxaparin (n=2) and positive control (n=2) groups. After 21 days, RNA was isolated from tumors developed in the tongues. Expression levels of genes were measured using qPCR. Statistical significance was analyzed using one-way ANOVA, followed by post-hoc Tamhane multiple comparison.  $p < 0.05$  was considered significant. In addition, histomorphological and immunostaining features of the tumors were evaluated.

A significant decrease was found in the expression levels of BAX, VEGF-C and CCNB1 genes in tinzaparin groups and BCL-2, BAX and CCNB1 genes in enoxaparin groups ( $p < 0.05$ ). All tumor cells showed the same histopathologic features in the each group. In immunohistochemical examination, no significant difference was observed between the groups in the staining of Bax, Bcl-2 and Ki-67 primary antibodies. A proliferation index of 15-20% was found in all groups with the Ki-67 marker.

The significant decrease of CCNB1 indicates that LMWH helps suppress proliferation. The suppression of VEGF-C expression by Tinzaparin also supports this. However, the findings are a preliminary study for LMWH. Preliminary findings need to be validated by increasing the sample size.

This work was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit of Istanbul University (TKD-2018-29724).

Keywords: OSC-19, LMWH, Oral cancer

## Glial beyin tümörleri ile ilgili merkez genleri tanımlamak için gen ifadesi profil verilerinin analizi

Nurhan Külcü  
Deniz Sünnetçi Akkoyunlu  
Naci Çine  
Seda Eren Keskin  
Hakan Savlı

### ÖZET

Glial beyin tümörleri (GBT), tüm malign beyin tümörlerinin %80'ini oluşturur. GBT'nin oluşumunda ve gelişiminde çok sayıda gen ve proteinin rol aldığı bilinse de moleküler mekanizmalar net değildir. Bu çalışmanın amacı, GBT'de yer alan merkez genleri taramak ve potansiyel moleküler mekanizmaları keşfetmektir.

150 GBT örneğine ve 15 normal beyin dokusuna ait ifade profilleri, Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanından indirildi. Ham veriler analiz edilerek, diferansiyel olarak eksprese edilmiş genler (DEG'ler) elde edildi. DEG'lerin protein-protein etkileşim ağları oluşturuldu ve yüksek derecede bağlantıya sahip ilk 15 gen merkez gen olarak seçildi. DEG'lerin ve merkez genlerin potansiyel bilgilerini belirlemek için Gen Ontolojisi (GO) ve yolak zenginleştirme (KEGG) analizleri gerçekleştirildi.

Yolak analizleri, DEG'lerin; nöroakrif ligand-reseptör etkileşimi, sitokin-sitokin reseptör etkileşimi ve hücre yapışma molekülleri ile: merkez genlerin ise proteoglikanlar, PI3K-Akt sinyal yolu, mesane kanseri ve HIF-1 sinyal yolu ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu ortaya koydu. DEG'lerin ve merkez genlerin GO analizleri sonucunda; sinyal iletimi, apoptotik sürecin negatif düzenlenmesi, protein bağlanması ve hücre çoğalması gibi terimler GBT ile ilişkilendirildi. Merkez genlerden; ALB, EGF, EGFR, FN1, IL6, IL10, MYC, NOTCH1, SRC, STAT3, TNF, TP53 ve VEGFA'nın önceki çalışmalar doğrultusunda GBT ile ilişkisi desteklendi. CXCL8, GAPDH, GNG7, GNG13, GNGT1, INS, KNG1 ve MAPK1 genlerinin ileride yapılacak çalışmalarla araştırılması gereken birer potansiyel biyobelirteç adayı olduğu belirlendi.

GBT'nin ilerlemesi ile yakından ilişkili olan yolaklarla birlikte merkez genleri belirledik. Tüm bulgular, GBT'nin teşhisi için yeni bilgiler sağlayabilir ve gelecekte GBT'nin altında yatan mekanizmaları incelemek için yol gösterici olabilir.

Anahtar Kelimeler: Glioma, gen ekspresyon, mikrodizin analizi, metabolik ağlar ve yollar

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik  
Anabilim Dalı, Kocaeli.

## Gene expression profile data analysis to identify hub genes associated with glial brain tumors

Nurhan Külcü  
Deniz Sünnetçi Akkoyunlu  
Naci Çine  
Seda Eren Keskin  
Hakan Savlı

Medical Genetics Department, Medicine Faculty,  
Kocaeli University, Kocaeli, Turkey.

### ABSTRACT

Glial brain tumors (GBT) account for 80% of all malignant brain tumors. Although many genes and proteins have been known as being involved in the formation of GBT, the mechanisms remain unknown. The aim of this study is to scan the hub genes associated with the GBT and to explore the mechanisms.

Expression profiles belonging to a total of 150 GBT samples including, as well as 15 normal brain tissues, were downloaded from the GEO database. Differentially expressed genes (DEGs) were obtained by analysis the raw data. Protein-protein interaction networks of DEGs were formed, with the first 15 highly linked genes selected as hub genes. Gene Ontology (GO) and pathway enrichment analysis was performed to identify potential information of DEGs and hub genes.

Pathway analysis revealed that DEGs are associated with neuroactive ligand-receptor interaction, cytokine-cytokine receptor interaction, and cell adhesion molecules, while hub genes are significantly associated with proteoglycans, PI3K-Akt signaling pathway, bladder cancer, and HIF-1 signaling pathway. GBT was associated with terms such as signal transduction, protein binding, and cell proliferation as a result of GO analysis of DEGs and hub genes. From the hub genes; While the association of some genes with GBT is supported in line with previous studies, CXCL8, GAPDH, GNG7, GNG13, GNGT1, INS, KNG1 and MAPK1 genes were determined to be potential biomarker candidates that should be investigated in future studies.

All findings may provide new information for the diagnosis of GBT and may be a guiding light in examining the underlying mechanisms of GBT.

Keywords: Glioma, gene expression, microarray analysis, metabolic networks and pathways

## Retinal distrofiler için vazoaktif intestinal peptit kodlayan lentiviral gen tedavi vektörünün in vitro terapötik etkinliğinin değerlendirilmesi

Bahar Akkaya<sup>1</sup>  
Elif Özgecan Şahin<sup>1</sup>  
Fulya Erendor<sup>1</sup>  
Ahmet Burak Bilgin<sup>2</sup>  
Serdar Ceylaner<sup>3</sup>  
Salih Şanlıoğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Gen ve Hücre Tedavisi Anabilim Dalı, Antalya, 07058, Türkiye.

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Antalya, 07058, Türkiye.

<sup>3</sup>İntergen Genetik Hastalıklar Tanı, Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara, 06510, Türkiye.

### ÖZET

Retinal mikroglia hücrelerinin aşırı ve uzun süreli aktivasyonu oksidatif stresle sonuçlanır. Hipoksik koşullar, zamanla çeşitli sitokin ve inflamatuvar yanıtın üretimine yol açarak fotoreseptörlerin dejenerasyonuna ve görme fonksiyonunda çeşitli bozukluklara neden olur. Bu bağlamda gen tedavi yaklaşımları, fotoreseptör dejenerasyonunu durdurabilme veya önleyebilme kapasitesine sahiptir. Bu çalışmada, nöroprotektif ve antiinflamatuvar özellikleriyle bilinen Vazoaktif İntestinal Peptit (VIP) kodlayan gen tedavi vektörünün retinaya aktarımıyla, VIP'in retinal bozukluklar üzerindeki potansiyel terapötik etkilerinin araştırılması hedeflendi. Bu amaçla, ilk olarak, Gateway klonlama teknolojisi kullanılarak VIP ekspresyon plazmidini (pLentiVIP) oluşturuldu. Ekspresyon plazmidini ve paketleme plazmitlerinin, 293T hücrelerine CaPO<sub>4</sub> metoduyla geçici ko-transfeksiyonu, HIV tabanlı üçüncü nesil lentiviral vektör (LentiVIP) üretimiyle sonuçlandı. LentiVIP vektörünün insan mikroglia (HMC3) ve insan retina pigment epitel (ARPE-19) hücre hatlarında transdüksiyon etkinliği ELISA testi ile belirlendi. MTT analizi ile bu hücrelerde VIP ekspresyonunun, CoCl<sub>2</sub>'ün (hipoksiyi taklit eden bir ajan) neden olduğu hücre ölümünü azalttığı gösterildi. CoCl<sub>2</sub> ile indüklenen HIF-1 $\alpha$  ekspresyonunun LentiVIP transdüksiyonu sonucunda azaldığı ise immünofloresan boyamalarla gösterildi. Son olarak, ekzojen VIP ekspresyonu, CoCl<sub>2</sub>-indüklü mikroglial aktivasyonu ve proinflamatuvar sitokin salınımını (TNF $\alpha$  ve IL-6) baskıladı. Bu sonuçlarla, CoCl<sub>2</sub> ile dejenerasyonu indüklenmiş ARPE-19 ve HMC3 hücrelerinde lentiviral aracılı VIP ekspresyonunun in vitro terapötik etkinliği belirlenmiş oldu.

Projemiz TÜbitak tarafından desteklenmekte olup proje numarası TÜBİTAK-2185543'dir.

Anahtar Kelimeler: retinal dejenerasyon, lentiviral vektörler, vazoaktif intestinal peptit

## Propofolün İnsan Meme Kanseri Hücre Hattında (MCF-7) Sitotoksik ve Uzun Kodlanmayan Rna (lncRNA) Ekspresyonlarına Etkisinin Moleküler Düzeyde Araştırılması

Tuba Edgünlü<sup>1</sup>  
Çığır Biray Avcı<sup>2</sup>  
Neslihan Pınar Özateş<sup>2</sup>  
Bakiye Göker Bağca<sup>2</sup>  
Ayşegül Demirtaş<sup>1</sup>  
Bakiye Uğur<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Muğla.

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir.

<sup>3</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Ana Bilim Dalı, Muğla.

### ÖZET

Propofol (2,6-diizopropilfenol) 1989 yılında kullanıma sunulmuş kısa etkili bir sedatif ve hipnotik ajandır. Klinikte yaygın olarak kullanılan anestezi ajanlarından biri olan propofol, çoklu anestezi avantajlarının yanı sıra, antitümör aktivitesi de dahil olmak üzere birçok anestetik olmayan etki uygular. Propofol kanser yayılım süreci üzerinde önemli bir etkiye sahiptir ancak, altında yatan moleküler mekanizmalar net olarak bilinmemektedir. Öte yandan, propofol, konak immün fonksiyonunu modüle eder ve immünoşüpresyon derecesini etkileyerek, moleküler düzeyde hem mikroRNA'ları (miRNA'lar) hem de uzun kodlanmayan RNA'ları (lncRNA) düzenler. Çalışmamızda, propofolün toksik etkilerini ve özellikle meme kanser hücre hattında bulunan lncRNA'lar üzerindeki etkilerini belirleyerek ileriki aşamalarda meme kanseri hastası olan bireylerde ihtiyaç durumunda propofolün kullanımının rolü ve malignite üzerindeki moleküler etki mekanizmalarını aydınlatmak amacıyla meme kanseri hücre hattında (MCF-7) yaptığı sitotoksik etki ve kanserde etkili olduğu bilinen lncRNA'ların ifade düzeyine etkisi belirlenmiştir. Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre propofol uygulaması meme kanser hücrelerinde uygulanmamış kontrol hücrelerine göre tümör supresör özellikli lncRNA olan MEG3 geninin ekspresyonunu 3.8 kat, TUSC7 geninin ekspresyonunu da 2 kat arttırmıştır. Bu yönüyle propofol uygulamasının anti-kanser özelliğinin lncRNA'lar üzerinden etki ederek de desteklediği önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Propofol, lncRNA, MCF-7, Sitotoksikite

## Molecular Level Investigation of Propofol's Effect on Cytotoxic and Long Non-Coding Rna (lncRNA) Expressions in Human Breasts Cancer Cell Line (MCF-7)

Tuba Edgünlü<sup>1</sup>  
Çığır Biray Avcı<sup>2</sup>  
Neslihan Pınar Özateş<sup>2</sup>  
Bakiye Göker Bağca<sup>2</sup>  
Ayşegül Demirtaş<sup>1</sup>  
Bakiye Uğur<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Medicine, Muğla/Turkey.

<sup>2</sup>Department of Medical Biology, Ege University, Faculty of Medicine, İzmir/Turkey.

<sup>3</sup>Department of Anesthesiology and Reanimation, Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Medicine, Muğla/Turkey.

### ABSTRACT

Propofol (2,6-diisopropylphenol) is a short-acting sedative and hypnotic agent that was introduced in 1989. As one of the widely used anesthetic agents in the clinic, propofol exerts many non-anesthetic effects, including antitumor activity, besides its multiple anesthetic advantages. Propofol has an important effect on the spread of cancer, but the molecular mechanisms underlying it are not clearly known. On the other hand, propofol modulates host immune function and regulates both microRNAs (miRNAs) and long noncoding RNAs (lncRNAs) at the molecular level, affecting the degree of immunosuppression. In our study, by determining the toxic effects of propofol and especially its effects on lncRNAs in the breast cancer cell line, the role of propofol in case of need in individuals with breast cancer and its cytotoxic effect on the breast cancer cell line (MCF-7) in order to elucidate its molecular effect mechanisms on malignancy and its effect on the expression level of lncRNAs known to be effective in cancer. According to the findings we obtained in our study, propofol application increased the expression of the MEG3 gene, which is a tumor suppressor lncRNA, by 3.8 times and the expression of the TUSC7 gene by 2 times in breast cancer cells compared to untreated control cells. In this respect, it can be suggested that the anti-cancer properties of propofol application are also supported by acting on lncRNAs.

Keywords: Propofol, lncRNA, MCF-7, Cytotoxicity



## Likit biyopside glioblastoma multiforme genetik biyobelirteçlerinin araştırılması

Büşra Kaya<sup>1</sup>  
Aziz Hatiboğlu<sup>2</sup>  
Fahri Akbaş<sup>3</sup>

### ÖZET

Glioblastoma multiforme (GBM) erişkinlerde en sık görülen beyin tümörüdür. En hızlı seyirli ve ölümcül tümörlerdendir. GBM'nin yüksek heterojenliği, tanıyı ve terapötik müdahaleyi engeller ve doğru hasta sınıflandırmasına ve kişisel tedaviye olanak tanıyan erken tanı için biyobelirteçlerin belirlenmesine ihtiyaç duyar. Tümör ilerlemesinin moleküler profilini tanımlamak için tekrarlanan cerrahi her zaman mümkün olmayabilir. Bu nedenle, likit biyopsi özellikle GBM'leri saptamak, moleküler olarak karakterize etmek için umut verici bir yaklaşımdır.

Araştırmamızda hasta (n=7) ve kontrol grubu (n=3), GBM ile önceden ilişkilendirilmiş ve ayrıca ilişkili olabileceği düşünülen 63 gen bölgesi, hotspot ekzon ile ekzon-intron birleşme bölgelerini içeren yeni nesil dizileme paneli (YND) ile incelendi. Panel yedi gönüllü hastanın solid tümör ve plazmalarında, sağlıklı kontrol grubunun ise plazmalarında Illumina NextSeq 550Dx ile gerçekleştirildi. Biyoinformatik analizler ham veri üzerinden tarafımızca yapıldı.

Çalışılan iki hastanın doku ve plazmasında patojenik varyanta rastlanmadı. Ancak beş hastanın dokusunda patojenik olduğu bilinen ve/veya novel varyantlar saptandı. Beş hastanın hepsinde ortak olarak TP53 geninde mutasyon saptandı. Saptanan TP53 mutasyonuna ek olarak, iki hastada PTEN, bir hastada MET, bir hastada EGFR geninde mutasyon saptandı. Hastaların dokusunda saptanan mutasyonlar, likit biyopsi örneklerinde tespit edilemedi.

Plazmadaki somatik mutasyonları saptama yeteneği, plazmada tümörden türetilen dolaşımdaki DNA fraksiyonuna bağlıdır. Tümör fraksiyonu kanserin tipine, evresine ve lokasyonuna göre değişiklik gösterebilir. GBM'de kan-beyin bariyerinin tümör kaynaklı DNA'nın kana salınmasına engel olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle düşük varyant alel fraksiyonu seviyeleri, YND'nin uygulamaları sırasında oluşabilecek hataları ayırt etmeyi zorlaştırmaktadır. Bununla birlikte, bu non-invaziv biyobelirteç yönteminin farklı tekniklerle ve daha geniş hasta gruplarında araştırılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyoteknoloji, panel dizileme, biyobelirteç, onkoloji, glioblastoma

<sup>1</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

## Investigation on glioblastoma multiforme genetic biomarkers in liquid biopsy

Büşra Kaya<sup>1</sup>  
Aziz Hatiboğlu<sup>2</sup>  
Fahri Akbaş<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Glioblastoma multiforme(GBM) is the most common brain tumor in adults.It is the most rapidly progressing and deadly tumors.High heterogeneity of GBM hinders diagnosis, therapeutic intervention and needs the identification of biomarkers for early diagnosis that allows accurate patient classification and personalized treatment.Repeat surgery may not always possible to define molecular profile of tumor progression.Therefore, liquid biopsy promising approach to detect and molecularly characterize GBMs.

In our study, patients(n=7) and control groups(n=3) were examined with next-generation sequencing(NGS) panel,which includes 63 gene regions previously associated with GBM and may also be associated,hotspot exon and exon-intron junctions.Panel was performed with IlluminaNextSeq550Dx in solid tumors and plasma of seven patients and the plasma of control.Bioinformatic analyzes were performed by us on raw data.

No pathogenic variant was found in tissue and plasma of two patients. However,known pathogenic and/or novel variants were detected in tissues of five patients.Mutations in TP53 gene were common in all five patients.In addition to detected TP53 mutation, two patients had PTEN, one patient had MET, one patient had a mutation in EGFR.Mutations detected in tissues of patients could'nt detected in liquid biopsy.

Ability to detect somatic mutations in plasma depends on fraction of circulating tumor-derived DNA in plasma.Tumor fraction may vary depending on type, stage and location of cancer. In GBM,blood-brain barrier is thought to prevent release of tumor-derived DNA into blood. Therefore,low variant allele fraction levels make it difficult to distinguish errors may occur during applications of NGS.However,non-invasive biomarker method needs to be investigated with different techniques and in larger cohorts.

Keywords: Biotechnology, panel screening, biomarker, oncology, glioblastoma

<sup>1</sup>Department of Biotechnology, Institute of Health Sciences, Bezmialem Vakif University, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Bezmialem Vakif University, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Bezmialem Vakif University, Istanbul, Turkey.

## MASP2 geninde meydana gelen sessiz varyantların biyoinformatik analizi

Begüm Işıkgil<sup>1</sup>  
Sinem Fırtına<sup>1</sup>  
Aslı Kutlu<sup>2</sup>

### ÖZET

MASP2 eksikliği enfeksiyonlara veya otoimmün hastalıklara yatkınlık ile karakterize nadir görülen (6/10.000) bir kompleman eksikliğidir. MASP2 (Mannoz bağlayan lektin ile ilişki serin proteaz 2), kompleman sisteminin lektin yolu (LP) aktivasyonunda rol oynayan bir enzim olup, Masp2 proteininde meydana gelen tek nükleotid polimorfizmlerinin (single nucleotide polymorphism-SNP) enzimatik aktivitesini doğrudan değiştirdiği ve LP kompleman yanıtını azalttığı gösterilmektedir. Bugün MASP2 genindeki bazı SNPler sistemik lupus eritematosus gibi otoimmün hastalıklar ya da hepatit C virüs veya tüberküloza duyarlılık gibi enfeksiyonlarla ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada literatürde bilinen MASP2 genindeki sessiz (silent) SNP'lerin var olan amino asit türünü değiştirmese de mRNA ve protein kararlılığına etkisini işlemsel olarak göstermek ve enzim aktivitesine etkisini tartışmak amaçlanmıştır. ClinVar ve dbSNP veri tabanları kullanılarak MASP2 geninde meydana gelen 25 sessiz değişim (9 iyi huylu (benign), 2 muhtemel iyi huylu (likely benign), 13 belirsiz anlamlı (unknown significance - VUS) ve 1 patojenik varyasyon) çalışmaya dahil edilmiş ve RNAfold biyoinformatik aracı ile sessiz mutasyonlar sonucunda oluşan mRNA'ların termodinamik kararlılığını değerlendirmek için MFE (minimum serbest enerji) değerleri hesaplanmıştır ve anlamlı bir korelasyon görülmemiştir. Varyantların translasyon üzerindeki etkisini anlamlandırmak için Rfamapp biyoinformatik aracıyla anti-kodon kullanılabilirliği hesaplanmıştır. Sessiz varyantlar mRNA'yı daha kararsız hale getirerek, mRNA'nın yarı ömrünün kılmasına ve daha az protein üretimine sebep olabilmektedir. Özellikle artan tüm genom çalışmaları sayesinde alel frekansı düşük sessiz varyantların hastalıklarla ilişkisi anlaşılmaya başlanmıştır. Bu çalışma ile enzimatik aktivitesi olan MASP2 genindeki bazı sessiz değişimlerin mRNA kararlılığı ve anti-kodon kullanılabilirliği gösterilmiştir. Genetik hastalıklarda özellikle alel frekansı düşük sessiz varyantların etkili olabileceği unutulmamalıdır.

Anahtar Kelimeler: MASP2, primer immün yetersizlik, sessiz mutasyon

<sup>1</sup>İstinye Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>İstinye Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyoinformatik ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye.

## Bioinformatics analysis of silent variants occurring in the MASP2 gene

Begüm Işıkgil<sup>1</sup>  
Sinem Firtına<sup>1</sup>  
Aslı Kutlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istinye University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Molecular Biology and Genetics Department, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Istinye University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Bioinformatics and Genetics Department, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

MASP2 deficiency is a rare (6/10,000) complement deficiency characterized by susceptibility to infections or autoimmune diseases. MASP2 (Mannan-binding lectin associated serine protease-2) is an enzyme involved in the activation of the lectin pathway (LP) of the complement system, and its deficiency has been shown to cause complement defects. In this study, it was aimed to show the effect of silent SNPs in the MASP2 gene known in the literature on mRNA and protein stability, and to discuss the effect on enzyme activity. Using the ClinVar and dbSNP databases, 25 silent changes in the MASP2 gene (9 benign, 2 likely benign, 13 uncertain significance (VUS) and 1 pathogenic variation) were included in the study and thermodynamic analysis of mRNAs resulting from silent mutations with the RNAfold bioinformatics tool. MFE (minimum free energy) values were calculated to evaluate its stability and no significant correlation was observed. To make sense of the effect of silent variants on translation, anti-codon availability was calculated with the RFMapp bioinformatics tool. Silent variants can make mRNA more unstable, resulting in shorter half-life of mRNA and less protein production. Especially thanks to increasing whole genome studies, the relationship of low allele frequency silent variants with diseases has begun to be understood. This study demonstrated the mRNA stability and anti-codon availability of some silent changes in the MASP2 gene, which has enzymatic activity. It should not be forgotten that silent variants with low allelic frequency may be effective in genetic diseases.

Keywords: MASP2, primary immune deficiency, silent mutation

## Glioblastoma multiforme'un TP53 sinyal yolağı genleriyle ilişkisi

Gözde Öztan

### Ö Z E T

Glioblastoma Multiforme(GBM),astrositik farklılaşmaya sahip bir sınıf IV neoplazmı, merkezi sinir sisteminin en yaygın malign tümörüdür. Çalışmada, TP53 sinyal yolağındaki GBM progresyonu ile ilişkili genetik alterasyonların belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada,Kanser çalışmalarından gelen verilere erişim sağlayan ve çok yönlü kanser genomik veri setlerinin araştırılmasında açık erişim kaynağı olan cBio Kanser Genomik Portalındaki(<https://www.cbioportal.org>) TCGA,PanCancer Atlas verileri kullanılmıştır.Tüm genom ve transkriptom dizilemesi yapılan 592 Glioblastoma multiforme'lu olgularda TP53 sinyal yolağında yer alan 4 genin(CDKN2A, MDM2, MDM4,TP53)mutasyon verileri değerlendirilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 592 GBM'li olgularda 4 gendeki genomik alterasyonlar oncoprint ile gösterildi(Şekil 1).592 olgunun %55,41'inde CDKN2A, %8,45'inde MDM2, %10,14'ünde MDM4, %22,8'inde TP53 gen değişiklikleri(TP53,MDM4 mRNA artış ve azalışları (RNA Seq V2 RSEM),MDM2,MDM4 gen amplifikasyonları,TP53,CDKN2A deep delesyonlar) tespit edildi (z skor eşiği:±2).

6 olgunun 2'sinde CDKN2A geninde nonsense(W110\*),1'inde FS del(L78Hfs\*41),2'sinde füzyon(CDKN2A-FAM124A ve DMXL2-CDKN2A), 1'inde missense(G111D),MDM2 geninde 3 olguda missense(D86Y, S127F, I303M),2 olguda füzyon (MDM2-CACNA1C ve CTDSP2-MDM2), MDM4 geninde 3 olguda missense(T160S, R18S, L433I) mutasyon gözlemlendi.

Yapılan çalışmada,CDKN2A ve TP53 ( $p<0.001$ ) ile CDKN2A ve MDM2 ( $p:0.006$ ) arasında karşılıklı ayrıcalık (mutual exclusivity) tespit edildi.

TCGA PanCancer Atlası göre TP53 pathwayinde eşleşen genler(skor:4) (CDKN2A,MDM2, MDM4, TP53) belirlenmiştir.TP53 mutasyonları GBM'de onkojenik özellik gösterirken, GBM ilerlemesinde MDM2, MDM4 ve CDKN2A genlerinin mutasyona uğraması söz konusudur. TP53 geni, onkojenikstres,hücre sağkalımı ile proliferasyonu,yaşlanma ve apoptozda önemli role sahiptir. TP53 yolağında,özellikle TP53,CDKN2A,MDM2 ve MDM4 genlerindeki mutasyon, gen amplifikasyonu, deep delesyon veya çoklu alterasyonların tespiti sonucunda elde ettiğimiz verilere göre, glioblastomada görülen genetik değişikliklerin erken dönemde tespitiyle hastalık alt tiplerinin belirlenerek hastalık riskinin ayırt edilmesiyle hastaya klinik fayda sağlayabileceği ihtimali artmaktadır.

Anahtar Kelimeler: GBM, TP53 yolağı, genetik alterasyonlar.

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul.

## Association of glioblastoma multiforme with TP53 signaling pathway genes

Gözde Öztan

### ABSTRACT

Glioblastoma Multiforme(GBM), a class IV neoplasm with astrocytic differentiation, is the most common malignant tumor of the central nervous system. In this study, it was aimed to determine the genetic alterations associated with GBM progression in the TP53 signaling pathway.

In the study, TCGA, PanCancer Atlas data from the cBio Cancer Genomics Portal(<https://www.cbioportal.org>) were used. Mutation data of 4 genes(CDKN2A,MDM2,MDM4,TP53) in the TP53 signaling pathway were evaluated in 592 cases with GBM, whose whole genome and transcriptome were sequenced.

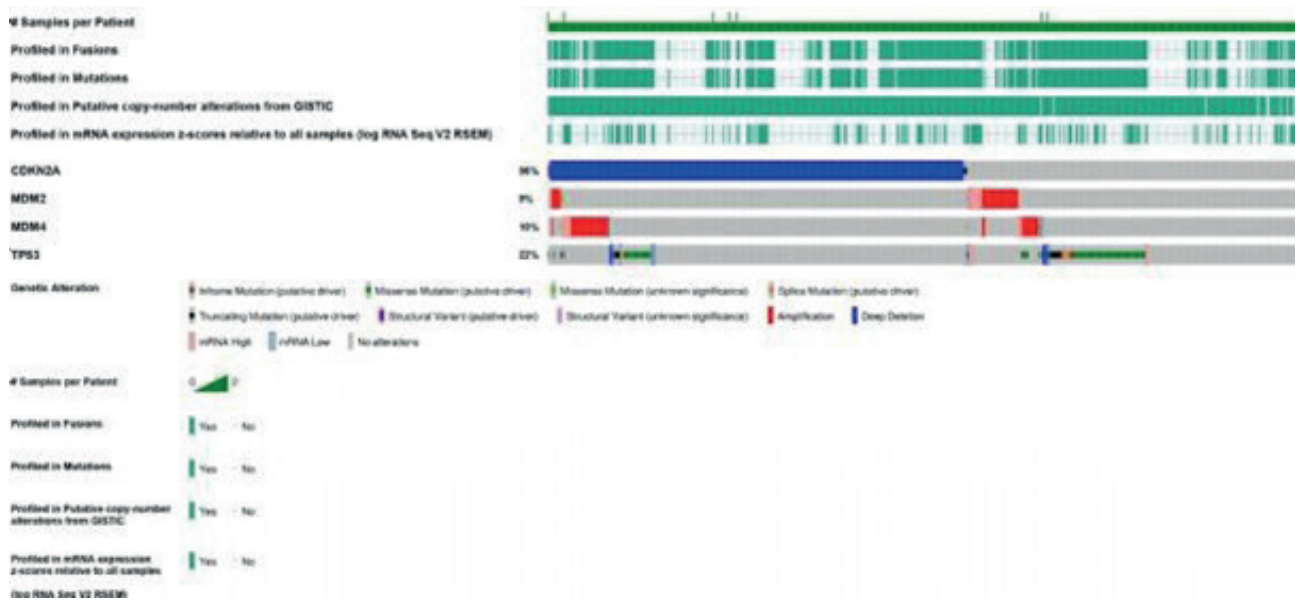
Genomic alterations in 4 genes of 592 cases with GBM included in the study were demonstrated by oncoprint(Figure 1).CDKN2A gene changes in 55.41%,MDM2 in 8.45%, MDM4 in 10.14%, TP53 in 22.8% of 592 cases(TP53,MDM4 mRNA increases and decreases (RNA Seq V2 RSEM),MDM2,MDM4 gene amplifications,TP53,CDKN2A deep deletions) were detected(z score threshold: $\pm 2$ ).

Nonsense in CDKN2A gene(W110\*) in 2 of 6 cases,FS del(L78Hfs\*41) in 1,fusion(CDKN2A-FAM124A ve DMXL2-CDKN2A) in 2,missense(G111D) in 1,missense(D86Y, S127F, I303M) in 3 cases in the MDM2 gene,fusion(MDM2-CACNA1C ve CTDSP2-MDM2) in 2 cases,and missense(T160S,R18S,L433I) mutation in 3 cases in the MDM4 gene were observed.

In the study, mutual exclusivity was detected between CDKN2A and TP53( $p < 0.001$ ),CDKN2A and MDM2( $p: 0.006$ ).Matching genes(score:4) were identified in the TP53 pathway according to the TCGA PanCancer Atlas.While TP53 mutations show oncogenic feature in GBM,MDM2,MDM4 and CDKN2A genes are mutated in GBM progression. According to the data obtained by the detection of mutation, gene amplification, deep deletion or multiple alterations in the TP53 pathway genes, the possibility of determining the disease subtypes in glioblastoma and providing clinical benefit to the patient increases.

Keywords: GBM, TP53 pathway, genetic alterations

Istanbul University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul.



**Şekil 1.** GBM'de TP53 yolağındaki genetik alterasyonlar (Oncoprint)  
**Figure 1.** Genetic alterations in the TP53 pathway in GBM (Oncoprint)

## Kolorektal Kanserde Mezenkimal Kök Hücre Kaynaklı Tedavi Yaklaşımı

Figen Abatay Sel<sup>1</sup>  
Mediha Süleymanoğlu<sup>1</sup>  
Ayşe Erol<sup>1</sup>  
Çiğdem Kekik Çınar<sup>1</sup>  
Gökhan Demirayak<sup>2</sup>  
Dürdane Serap Kuruca<sup>3</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>

### Ö Z E T

Kolorektal kanser (KRK), kanser türleri arasında üçüncü sıklıkta görülmesinin yanı sıra, tedavisine ve başarısına doğrudan etki eden karmaşık mekanizması ile gündeme gelmektedir. Kök hücre kaynaklı tedaviler, kanser dahil çeşitli hastalıklarının tedavisi için terapötik potansiyel sergilerler. Son zamanlarda mezenkimal kök hücre (MKH), rejeneratif tıp ve apoptotik etkisi sebebiyle kanser tedavileri için oldukça ilgi uyandırmıştır. Bu çalışmada, kordon kanı kaynaklı MKH (KK-MKH) ve Wharton Jeli kaynaklı MSC'nin (WJ-MKH), HT-29 hücre hattındaki terapötik etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Her iki MKH türü, Flow Sitometri (FS) ile karakterize edildi. HT-29 kolon kanseri hücre hattı ve MKH'ler farklı oranlarda (1:5 ve 1:10) transwell ko-kültür sistemde 72 saat inkübe edildi. Tripkan mavisi boyama yöntemiyle canlılık değerlendirmesi yapıldı. HT-29 hücrelerinin apoptoz oranları da Annexin V-FITC ve PI boya kullanılarak FS ile analiz edildi.

Çalışmamızın sonuçlarına göre HT-29 kolon kanseri hücre hattının WJ-MKH ve KK-MKH ile 1:5 oranında ko-kültürü sonucundaki apoptoz artışları sırasıyla 1,62 ve 1,28 idi. 1:10 oranındaki apoptoz değerlendirmesinde ise her iki hücre hattında da anlamlı bir artış saptanmadı. WJ-MKH'lerin HT-29 hücrelerini daha yüksek oranda (%35,4) apoptozla yönlendirdiği tespit edildi.

Çalışmamızda MKH'lerin terapötik etkisini KRK hücre hattı üzerinde in vitro olarak araştırdık. Bu deneysel çalışma, gelecekte planlanan klinik araştırmalar için KRK tedavilerine yeni bir bakış açısı kazandırması açısından bir ön çalışmadır. Sonuçlarımıza göre KRK araştırmalarında WJ-MKH ve KK-MKH'lerinin hücre tedavilerde kullanılmasına yönelik çalışmaların artırılmasını öngörmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, kolorektal kanser, kök hücre, mezenkimal kök hücre

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Jinekolojik Onkoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.



## Mesenchymal Stem Cell Derived Therapy Approach For The Colorectal Cancer

Figen Abatay Sel<sup>1</sup>  
Mediha Süleymanoğlu<sup>1</sup>  
Ayşe Erol<sup>1</sup>  
Çiğdem Kekik Çınar<sup>1</sup>  
Gökhan Demirayak<sup>2</sup>  
Dürdane Serap Kuruca<sup>3</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine,  
Department of Medical Biology, Istanbul.

<sup>2</sup>University of Health Sciences, Bakırköy Dr. Sadi Konuk  
Training and Research Hospital, Department of  
Gynecologic Oncology, Istanbul.

<sup>3</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine,  
Department of Physiology, Istanbul.

### ABSTRACT

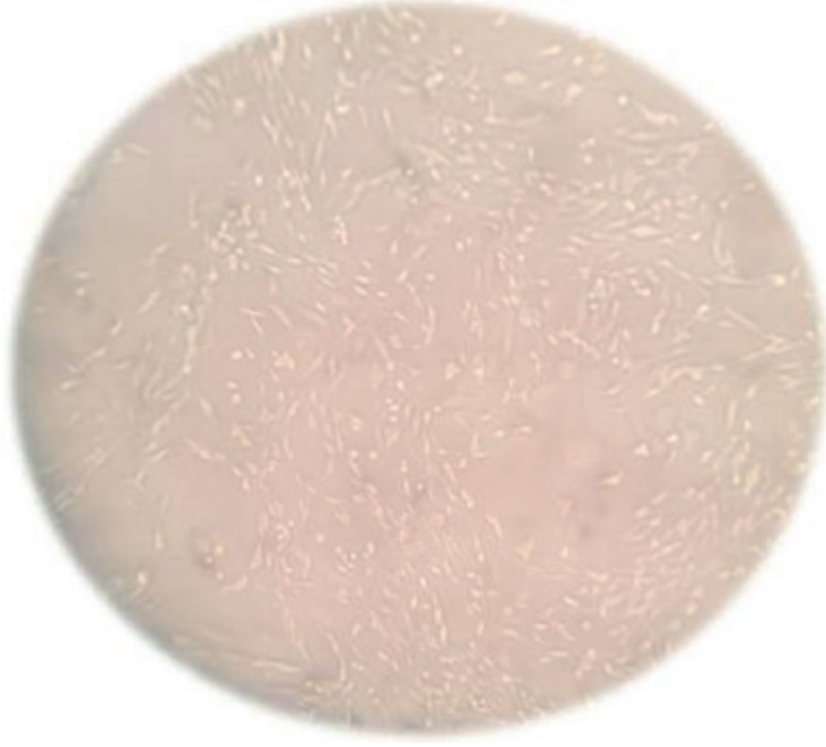
Colorectal cancer (CRC) is risen up with its complex mechanism that directly impacts on its treatment and success as well as third common among the cancer types. Stem cell-based therapies exhibit profound therapeutic potential for treating various human diseases, including cancer. Mesenchymal stem cell (MSC) has been recently generated interest for regenerative medicine and a treatment option for cancer due to its apoptotic effect. We aimed to evaluate the therapeutic effect of cord blood derived-MSC (CB-MSC) and Wharton Jelly's derived-MSC (WJ-MSC) in HT-29 cells.

MSC were obtained from each sources, characterized by flow cytometer (FC). HT-29 cells and MSCs were incubated in different ratios (1:5, 1:10) in transwell co-culture for 72 hours. Cell viability was evaluated by Trypan blue. The apoptosis rates of HT29 cells were also analyzed by FC using Annexin V-FITC and PI.

The apoptosis increases as a result of co-culture of HT-29 with WJ-MSC or CC-MSC at a ratio of 1:5 were 1.62 and 1.28, respectively. There was no significant increase for 1:10 ratio. WJ-MSCs were found to induce apoptosis at a higher rate (35.4%) of HT-29 cells.

In our study, we investigated the therapeutic effect of MSCs on the CRC cell line in vitro. This experimental study is a preliminary study in terms of providing a new perspective on CRC treatments for planned clinical trials in the future. According to our results, we anticipate more studies on the use of WJ-MSCs and CC-MSCs in cellular therapies in CRC studies.

Keywords: Apoptosis, colorectal cancer, stem cell, mesenchymal stem cell



**Resim 1.** HT-29 insan kolon adenokarsinoma hücreleri.

**Figure 1.** HT-29 human colon adenocarcinoma cells.

72 saatlik inkübasyon sonrası insan kolon adenokarsinoma HT-29 hücreleri

HT-29 human colon adenocarcinoma cells after 72 hours incubation

## ***Pichia Pastoris* Maya Hücrelerinde İzositrat Dehidrogenaz Enziminin Rekombinant Üretimi**

Fatmanur Köktaşoğlu<sup>1</sup>  
Fahri Akbaş<sup>2</sup>  
Nur Damla Korkmaz<sup>2</sup>  
Ayşe Zehra Gül<sup>1</sup>  
Şahabettin Selek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

### ÖZET

1970'lerde kullanımına başlanan rekombinant metotlar ile protein üretimi tanı kiti geliştirme de dahil olmak üzere tıpta oldukça yaygın kullanım alanına sahiptir. Serumdan izositrat dehidrogenaz (IDH) enzim aktivitesinin otomatize ölçüm metodunun geliştirilme çalışmalarında kalibratör-kontrol materyali olarak kullanılmak üzere *Pichia pastoris* maya hücrelerinden insan NADP+-bağımlı IDH (H-IDH1) enziminin rekombinant üretimi amaçlanmıştır.

Ticari olarak pSLIK- FLAG vektörü içerisinde temin edilen 1242 baz çifti uzunluğundaki insan IDH1 genetik kodu spesifik primerler tasarlanarak pPICZα-A vektörüne aktarılmıştır. *Pichia pastoris* X-33 suşuna Li-Cl metodu ile transformasyonu gerçekleştirilmiştir. Transgenik *P.pastoris* X-33 suşu metanol ile indüklenerek H-IDH1 enziminin ekspresyonu yapılmıştır. Ekstrasellüler üretilen H-IDH1 enzimi santrifüj edilen kültür mayi süpernatantının liyofilizasyonu ile konsantre edilmiştir.

PCR yöntemiyle 1242 baz çifti uzunluğuna sahip insan IDH1 genetik kodunun vektör içerisinde varlığı doğrulanmıştır. Konsantre liyofilizasyon materyalinden alınan aktiviteye göre rekombinant üretilen H-IDH1 enziminin izositrat için Vmax ve KM değerleri sırasıyla 4,55 µM/dk ve 108 µM olarak bulunmuştur.

Literatürde farklı canlılarda eksprese edilen insan IDH1 enzimi için gözlenen izositrat için KM değerleri 5,0 – 220 µM aralığında değişmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler literatürde yer alan çalışma sonuçlarıyla uyumludur. *Pichia pastoris* X-33 suşundan pPICZα-A vektörü aracılığıyla insan NADP+-bağımlı IDH1 enziminin rekombinant üretimi gerçekleştirilmiştir. İnsan serumundan izositrat dehidrogenaz enzim aktivitesi ölçümü amacıyla geliştirilmesi planlanan kitin kalibratör-kontrol materyali elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pichia pastoris* X-33, IDH1, pPICZα-A, rekombinant enzim

## Recombinant Production of Isocitrate Dehydrogenase Enzyme in *Pichia Pastoris* Yeast Cells

Fatmanur Köktaşoğlu<sup>1</sup>  
Fahri Akbaş<sup>2</sup>  
Nur Damla Korkmaz<sup>2</sup>  
Ayşe Zehra Gül<sup>1</sup>  
Şahabettin Selek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biochemistry, Bezmialem Vakif University School of Medicine, İstanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Medical Biology, Bezmialem Vakif University School of Medicine, İstanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Protein production with recombinant methods, which started to be used in the 1970s, has a very common use in medicine, including the development of diagnostic kits. Recombinant production of human NADP<sup>+</sup>-dependent IDH (H-IDH1) enzyme from *Pichia pastoris* yeast cells was aimed to be used as a calibrator-control material in the development of the automated measurement method of IDH enzyme activity from sera.

The human IDH1 genetic code of 1242 base pairs was purchased in the SLIK-FLAG vector. After designing specific primers genetic code transferred to the pPICZα-A vector. Li-Cl method was carried out for the transformation of *Pichia pastoris* X-33. Transgenic *Pichia Pastoris* X-33 strain was induced with methanol to express the H-IDH1 enzyme. Extracellularly produced H-IDH1 enzyme was concentrated by lyophilization of centrifuged culture fluid supernatant.

The confirmation of whether human IDH1 genetic code with a length of 1242 base pairs integrated in the vector was carried out by PCR. According to the activity obtained from the concentrated lyophilization material, the V<sub>max</sub> and K<sub>M</sub> values for isocitrate of the recombinant human IDH1 enzyme were found to 4.55 μM/min and 108 μM, respectively.

The data we obtained in our study are compatible with the results of the studies in the literature (The K<sub>M</sub> values: 5.0 to 220 μM). Recombinant production of human NADP<sup>+</sup>-dependent IDH (human IDH1) enzyme was carried out by pPICZα-A vector from *Pichia pastoris* X-33 strain. The calibrator-control material of the kit, for the measurement of isocitrate enzyme activity from human sera was obtained.

Keywords: *Pichia pastoris* X-33, IDH1, pPICZα-A, recombinant enzyme

## Alsin proteini aracılı motor nöron patolojisinin juvenil başlangıçlı motor nöron hastasına ait indüklenmiş pluripotent kök hücre kaynaklı motor nöron hücrelerinde araştırılması

Elif Bayraktar<sup>1</sup>  
Ayşe Yeşbek Kaymaz<sup>2</sup>  
Christopher Grunseich<sup>3</sup>  
Ayşe Nazlı Başak<sup>1</sup>  
Kenneth Fischbeck<sup>3</sup>

### ÖZET

Alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2 (ALS2) geninin kodladığı alsin proteininin, birçok sinyal yolağında görevli Ras süperailisi guanozin trifosfatlar için guanine dönüştürücü faktör (GEF) olarak işlev yaptığı düşünülmektedir. ALS2 genindeki işlev kaybı mutasyonların farklı erken başlangıçlı motor nöron hastalıklarına neden olduğu bilinmektedir: juvenil-başlangıçlı motor nöron hastalığı ALS2, bebeklik dönemi-başlangıçlı herediter spastik parapleji ve juvenil-başlangıçlı primer lateral skleroz.

Güncel ALS2 modelleri hastalarda görülen fenotipi yansıtmada başarılı olamamıştır. Bu nedenle, hasta hücreleriyle yapılan işlevsel analizler olası hastalık mekanizmalarını açığa çıkartmada önemli bir rol oynamaktadır. Bu bağlamda, mutant alsin patofizyolojisinin, ALS2 hastalığında baskın olarak etkilenen nöron hücrelerine benzeyen indüklenmiş pluripotent kök hücre (iPSC) kaynaklı kortikal motor nöronlar (i3N) kullanılarak aydınlatılması amaçlanmıştır.

Homozigot ALS2 işlev kaybı mutasyonu taşıyan çocuk hastadan alınan fibroblastlar iPSC'ye programlanmış; transkripsiyon faktörü-temelli yeniden programlama ile i3N hücrelerine dönüştürülmüştür. Bu hücrelerde immün işaretleme teknikleri kullanılarak alsin proteini, Rac1-GTPaz ve erken endozom antikoru 1 (EEA1) ifade ve yerleşimleri analiz edilmiştir.

Hasta i3N hücrelerinde kontrol hücrelerinin aksine alsin protein ifadesi saptanmamıştır. Rac1 ve EEA1 proteinlerinin de ifade ve hücresel lokalizasyonlarının etkilendiği belirlenmiştir.

Rac1 ve EEA1 proteinlerinin hücre-içi taşıma ve endozomal trafikte rol aldıkları bilinmektedir. Bulgularımız, alsin proteinindeki işlev kaybının, motor nöronlardaki veziküler trafiği aksatarak nerodejenerasyona neden olabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nörodejenerasyon, juvenil-başlangıçlı motor nöron hastalığı, iPSC, Alsin, endoveziküler trafik

<sup>1</sup>Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi, Nörodejenerasyon Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye.

<sup>3</sup>Ulusal Sağlık Enstitüleri, Nörolojik Hastalıklar ve İnme Enstitüsü, Nörogenetik Bölümü, Bethesda, Amerika Birleşik Devletleri.

## Investigating the alsin protein-related motor neuron pathology in induced pluripotent stem cell-derived motor neuron cells from a juvenile-onset motor neuron disease patient

Elif Bayraktar<sup>1</sup>  
Ayşe Yeşbek Kaymaz<sup>2</sup>  
Christopher Grunseich<sup>3</sup>  
Ayşe Nazlı Başak<sup>1</sup>  
Kenneth Fischbeck<sup>3</sup>

### ABSTRACT

The alsin protein encoded by alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2 (ALS2) gene is suggested to act as a guanine exchange factor for Ras superfamily guanosine triphosphatases (GTPases) involved in various signalling cascades. Loss-of-function (LOF) mutations in ALS2 are known to cause early-onset motor neuron diseases (MND), including juvenile-onset motor neuron disease ALS2, infantile-onset hereditary spastic paraplegia, and juvenile-onset primary lateral sclerosis.

Current ALS2 model systems have not been successful in reflecting the phenotype seen in the patients. Therefore, functional analyses in patient-derived cells are essential to unravel possible disease mechanisms. In this respect, we aimed to analyse the pathophysiology of mutant alsin in induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived cortical neurons (i3Ns), which resemble the neuronal cells predominantly affected in the disease.

Fibroblasts from an early-onset MND patient with homozygous LOF mutation in the ALS2 gene were reprogrammed into iPSCs. i3Ns were obtained by transcription factor-based reprogramming. Alsine protein, Rac1-GTPase and early endosomal antigen 1 (EEA1) expression and localization were analysed by immunolabeling.

In contrast with the control line, the alsin protein expression was not detected in patient i3Ns. The expression and the localization of Rac1 and EEA1 proteins were disrupted in the patient cells.

Rac1 and EEA1 are known to be involved in endosomal trafficking. These findings may indicate that LOF of the alsin protein causes neurodegeneration by disruption of vesicular trafficking in motor neurons.

Keywords: Neurodegeneration, juvenile-onset motor neuron disease, iPSC, Alsine, endovesicular trafficking

<sup>1</sup>Research Centre for Translational Medicine, Neurodegeneration Research Laboratory, Koç University, İstanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Hacettepe University, Ankara, Turkey.

<sup>3</sup>Neurogenetics Branch, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA.

## Ponatinib let-7a-5p, miR-19b-3p, miR-19a-3p ve miR-210-3p ifadelerini düzenleyerek MCF-7 hücre proliferasyonunu inhibe eder

Çağla Kayabaşı<sup>1</sup>  
Sunde Yılmaz Süslüer<sup>1</sup>  
Tuğçe Balcı Okcanoğlu<sup>2</sup>  
Besra Özmen Yelken<sup>3</sup>  
Zeynep Mutlu<sup>1</sup>  
Cansu Çalışkan Kurt<sup>1</sup>  
Bakiye Göker Bağca<sup>4</sup>  
Çiğır Biray Avcı<sup>1</sup>  
Cumhur Gündüz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

<sup>2</sup>Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Lefkoşa, KKTC.

<sup>3</sup>İzmir Bakırçay Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

<sup>4</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.

### ÖZET

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen malignitelerdendir. Disregüle FGFR, meme kanserinde önemli bir risk faktörüdür. Ponatinib, BCR-ABL1'e ek olarak SRC ailesi kinazları, FGFR, KIT, VEGFR, PDGFR gibi farklı kinazı inhibe eden, çok hedefli, ATP-kompetitif bir tirozin kinaz inhibitörüdür. miRNA'lar, gen ifadelerinin epigenetik düzenlenmesinde rol oynayan, 18-25 nükleotid uzunluğunda, tek zincirli, kodlamayan RNA molekülleridir.

Bu çalışmada, ponatinibin meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik ve apoptotik etkisini değerlendirmeyi ve meme kanseri ile ilişkili miRNA ekspresyon düzeylerindeki değişiklikleri belirlemeyi amaçladık.

Ponatinibin MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri xCELLigence sistemi ile belirlendi ve apoptotik etkileri flow-sitometrisinde DNA fragmentasyon ölçümü ile saptandı. Ponatinib uygulaması sonrasında miRNA'ların ekspresyon seviyelerindeki değişimler qRT-PCR ile kantite edildi.

Ponatinibin IC50 dozu 4.59 µM olarak hesaplandı. Bu dozun MCF-7 meme kanseri hücrelerinde yaklaşık 3 kat apoptozu indüklediği belirlendi. Meme kanserinde ifadesi azalan tümör supresör hsa-let-7a-5p ifadesinin ponatinib uygulaması sonrasında 24.99 kat yukarı regüle edildiği belirlendi. Onkogenik özellikteki miR-17-92 kümesinin üyelerinden hsa-miR-19b-3p ekspresyonunun ponatinib ile 4.37 kat baskılandığı, hsa-miR-19a-3p ekspresyonunun ise tamamen baskılandığı saptandı. Ayrıca, meme kanserinde hsa-miR-210-3p aşırı ekspresyonu, tümör büyümesi, proliferasyon, migrasyon ve invazyon ile ilişkilidir ve bu onkomiR'in ponatinib uygulaması sonrasında 5.16 kat aşağı regüle edildiği ortaya koyuldu.

Sonuç olarak, ponatinib meme kanseri ile ilişkili miRNA'ların ekspresyonunu düzenleyerek meme kanseri hücre proliferasyonunu inhibe etmek için umut verici bir ilaç olabilir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, miRNA, Ponatinib

## Ponatinib inhibits MCF-7 cell proliferation by regulating miRNA expressions including let-7a-5p, miR-19b-3p, miR-19a-3p, and miR-210-3p

Çağla Kayabaşı<sup>1</sup>  
Sunde Yılmaz Süslüer<sup>1</sup>  
Tuğçe Balcı Okcanoğlu<sup>2</sup>  
Besra Özmen Yelken<sup>3</sup>  
Zeynep Mutlu<sup>1</sup>  
Cansu Çalışkan Kurt<sup>1</sup>  
Bakiye Göker Bağca<sup>4</sup>  
Çığır Biray Avcı<sup>1</sup>  
Cumhur Gündüz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege University, Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Izmir, Turkey.

<sup>2</sup>Near East University, Vocational School of Health Sciences, Nicosia, Cyprus.

<sup>3</sup>Izmir Bakircay University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Izmir, Turkey.

<sup>4</sup>Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Aydın, Turkey.

### ABSTRACT

Breast cancer remains the most common malignancy in women. Dysregulated FGFR is a significant risk factor in breast cancer. Ponatinib is a multi-targeted, ATP-competitive tyrosine kinase inhibitor that inhibits BCR-ABL1 and also several kinases such as SRC family kinases, FGFR, KIT, VEGFR, PDGFR. miRNAs are single strand, non-coding RNA molecules with the length of 18-25 nucleotides which have role in the epigenetic regulation of gene expressions.

In this study, we aimed to evaluate the cytotoxic and apoptotic effect of ponatinib on breast cancer cells and determine the changes in miRNA expression levels associated with breast cancer.

We measured the cytotoxicity of ponatinib on MCF-7 cells with xCELLigence system and apoptosis with DNA fragmentation assay in flow-cytometry. We quantified the expression levels of miRNAs by qRT-PCR.

IC50 dose of ponatinib was calculated as 4.59µM. It was shown that IC50 dose of ponatinib induced apoptosis approximately 3 fold according to the control cells. The tumor suppressor hsa-let-7a-5p that is down-regulated in breast cancer is up-regulated 24.99 fold with ponatinib treatment (4.59µM). Two of the members of oncogenic miR-17-92 cluster hsa-miR-19b-3p expression down-regulated 4.37 fold change and hsa-miR-19a-3p expression completely suppressed. In breast cancer hsa-miR-210-3p overexpression is associated with tumor growth and proliferation, migration and invasion and this oncomiR is also down-regulated 5.16 fold with ponatinib treatment.

In conclusion, ponatinib can be a promising drug for inhibiting breast cancer cell proliferation via regulating expressions of miRNAs which are related with breast cancer.

Keywords: Breast cancer, miRNA, Ponatinib



## Protokatekuik asit 'in insan kolon kanseri caco-2 hücre hattı üzerindeki sitotoksik ve apoptik etkilerinin araştırılması

Fatma Yıldız  
Hamiyet Eciroğlu

### ÖZET

Kolon kanseri dünyada en sık karşılaşılan kanserlerden biridir ve morbidite /mortalite oranları yüksektir. Çalışmamızda, PCA'nın doza ve zamana bağlı olarak insan kolon kanseri (Caco-2) hücre hattı üzerindeki olası sitotoksik ve apoptotik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada PCA'nın farklı dozlarının (25-50-100-250-500-1000-2000  $\mu$ M) 24 ve 48 saat süre sonundaki hücre çoğalması üzerindeki baskılayıcı etkileri ve IC50 dozu 3-(4,5- Dimetiltriazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromid (MTT) yöntemi ile belirlenirken apoptotik etkisi apoptoz kiti (Cell Death Detection ELISA Kit) kullanılarak belirlendi.

PCA'nın farklı dozlarının 24 saatlik süre sonunda hücre canlılığı üzerindeki etkisinin daha az olduğu görülmüştür. Ancak, PCA'nın 48 saatte hücre canlılığı üzerindeki baskılayıcı etkisi 50  $\mu$ M ( $p<0.05$ ) dozdan itibaren görülmeye başlamıştır ve IC50 dozu 694,1  $\mu$ M olarak belirlenmiştir. Farklı dozlarda PCA uygulanmış Caco-2 hücreleri madde verilmeyen kontrollerle kıyaslandığında, bu hücrelerde yüksek apoptoz oranları görülmüştür ( $p<0.05$ ).

Çalışmamızda PCA'nın Caco-2 hücre hattı üzerindeki sitotoksik ve apoptotik etkisi ilk defa belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre PCA'nın Caco-2 hücrelerinde 48. saatte sitotoksik ve apoptotik etki gösterdiği ve bu etkinin doza ve zamana bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, PCA'nın kolon kanseri hücrelerinde etkin bir anti-tümör ajanı olabileceği ya da çeşitli ilaç kombinasyonları ile kullanılabilceğine inanmaktayız.

Bu çalışma, ALKÜ BAP tarafından 2019-15-01-MAP01 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, Caco-2, Kolon kanseri, Protokatekuik asit, Sitotoksisite

Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Alanya, Türkiye.

## Investigation of cytotoxic and apoptic effects of protocatechuic acid on human colon cancer caco-2 cell line

Fatma Yıldız  
Hamiyet Eciroğlu

### ABSTRACT

Colon cancer is one of the most common cancers in the world and its morbidity/mortality rates are high. In our study, it was aimed to investigate the possible cytotoxic and apoptotic effects of PCA on the human colon cancer (Caco-2) cell line depending on the dose and time.

In this study, the suppressive effects of different doses of PCA (25-50-100-250-500-1000-2000  $\mu$ M) on cell proliferation after 24 and 48 hours and the IC50 dose 3-(4,5-Dimethyltriazol-2-yl) While -2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT) method was determined, its apoptotic effect was determined using apoptosis kit (Cell Death Detection ELISA Kit).

It was observed that different doses of PCA had less effect on cell viability at the end of the 24-hour period. However, the suppressive effect of PCA on cell viability at 48 hours started to be seen from the dose of 50  $\mu$ M ( $p < 0.05$ ) and the IC50 dose was determined as 694.1  $\mu$ M. Higher apoptosis rates were observed in Caco-2 cells treated with different doses of PCA when compared to controls without substance ( $p < 0.05$ ).

In our study, the cytotoxic and apoptotic effect of PCA on the Caco-2 cell line was determined for the first time. According to the results obtained, it was determined that PCA showed cytotoxic and apoptotic effects in Caco-2 cells at 48 hours, and this effect increased depending on dose and time. In conclusion, we believe that PCA can be an effective anti-tumor agent in colon cancer cells or can be used with various drug combinations.

Keywords: Apoptosis, Caco-2, Colon cancer, Protocatechuic acid, Cytotoxicity

Alanya Alaaddin Keykubat University, Vocational School of Health Services, Department of Medical Services and Techniques, Alanya, Turkey.

## Memeli Mastl kinazın aktivasyon mekanizmasının temellerinin saptanması

Mehmet Ergüven<sup>1</sup>  
Ezgi Karaca<sup>1</sup>  
Muhammed Kasım Diril<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi; Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir.

<sup>2</sup>İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi; Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir; Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

### ÖZET

Mastl, anafazın hatasız bir şekilde tamamlanması için zorunlu olan bir mitotik kinazdır ve bu nedenle hücrelerin çoğalması için gereklidir. Yüksek düzeyde ifade edilme gibi sebeplerle Mastl kinaz aktivitesinde izlenen artışların, kanser ilerlemesini uyardığı ve birçok kanserde kötü bit prognoza yol açtığı bilinmektedir. Mastl kinazın aktivasyon mekanizması *in vitro* deneylerde kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve çeşitli kritik fosforilasyon rezidüleri belirlenmiştir. Ancak, bu fosforilasyonların önemi *in vivo* koşullarda valide edilmemiştir.

Mastl geninin koşullu knockout (Cre/LoxP) edilebildiği bir fare hücre hattı kullanarak, yayınlarda aktivasyon için zorunlu olduğu gösterilmiş farklı fosforilasyon rezidülerini taradık. Retroviral bir ekspresyon sistemi kullanarak farklı Mastl mutantlarını hücrelerde ifade ettik ve endojen proteinin kaybını telafi edip edemediklerini analiz ettik.

Ser861 fosforilasyonunun, biyokimyasal deneylerde kinaz aktivitesi için zorunlu olduğu önerilmekteydi. Ancak, bu rezidünün fosforile edilemeyen alanın rezidüsüne dönüştürülmesi, *in vivo* deney sistemimizde mitotik bölünmeyi negatif bir şekilde etkilemedi.

Sonuçlarımız, kinazların aktivasyon basamaklarının belirlenmesinde *in vitro* eseylerin yeterli olmadığını ve *in vivo* validasyona ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Memeli Mastl kinazın aktivasyonu hakkında daha fazla bilgi edinilmesi, kanser tedavisinde hedefe yönelik moleküler terapiler tasarlanmasına yardımcı olacaktır.

2016.KB.SAG.014 nolu Dokuz Eylül Üniversitesi bilimsel araştırma projesi ve 217Z248 nolu TÜBİTAK 1002 projesi ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mastl, kinaz aktivasyonu, fosforilasyon, hücre döngüsü, mitoz

## Identification of the essentials of mammalian Mastl kinase activation mechanism

Mehmet Ergüven<sup>1</sup>  
Ezgi Karaca<sup>1</sup>  
Muhammed Kasım Diril<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Izmir Biomedicine and Genome Centre, Izmir, Turkey; Izmir International Biomedicine and Genome Institute, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey.

<sup>2</sup>Izmir Biomedicine and Genome Centre, Izmir, Turkey; Izmir International Biomedicine and Genome Institute, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey; Department of Medical Biology, Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey.

### ABSTRACT

Mastl is a mitotic kinase that is essential for error-free completion of anaphase, and therefore required for cell proliferation. Increases in Mastl kinase activity, for example by overexpression, have been shown to play a stimulating role in cancer progression and are associated with poor prognostic outcome in several cancers. The activation mechanism of Mastl kinase has been extensively studied *in vitro* and several critical phosphorylation sites have been identified. However, the significance of these phosphorylations have not been validated *in vivo*.

Using a Mastl conditional knockout mouse cell line, we have screened the various published phosphorylation sites with putative essential roles for its activation. Different Mastl mutants were expressed by a retroviral expression system and their ability to rescue the loss of endogenous protein has been analyzed.

Ser861 phosphorylation was previously established to be indispensable for kinase activity in biochemical assays. However, mutagenesis of this residue to a non-phosphorylatable alanine, did not hinder mitotic division in our *in vivo* experimental system.

Our results show that, *in vitro* assays are not sufficient to deduce the essential activation steps of kinases and *in vivo* confirmation of the results is essential. Gaining insight into the mechanistics of mammalian Mastl kinase activation will aid in designing targeted molecular therapies against it in cancer treatment.

Keywords: Mastl, kinase activation, phosphorylation, cell cycle, mitosis

## Obezite ve tip 2 diyabet fare modellerinde lentiviral vektör aracılı ve çözülebilir TRAIL uygulaması pankreatik dokuda proliferatif etki gösterdi

Özlem Yılmaz<sup>1</sup>  
Ahter Dilşad Şanlıoğlu<sup>1</sup>  
Hasan Ali Altunbaş<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Gen ve Hücre Tedavisi Uygulama ve Araştırma Merkezi, Antalya.

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim.

### ÖZET

TNF-ilişkili apoptoz-indükleyici ligand (TRAIL), hem tip 1 diyabet (T1D) hem de tip 2 diyabet'te (T2D) koruyucu etkisi olduğu düşünülen, antiinflamatuvar özelliği ile karakterize bir TNF süper ailesi üyesidir. Çalışmamızda, pankreatik beta hücreleri üzerinde proliferatif etkisini in vitro şartlarda gösterdiğimiz TRAIL molekülünün C57BL6 obezite ve T2D fare modellerine Lentiviral vektör aracılı ve çözülebilir molekül olarak aktarımının pankreastaki proliferatif etkisini araştırmayı hedefledik.

Yüksek yağlı diyetle (YYD) obezite geliştirilen ve YYD yanında Streptozotosin (STZ) ile kısmi beta hücre hasarı oluşturulan T2D modeli C57BL6 farelere Lentiviral vektör aracılı ve çözülebilir TRAIL uygulaması gerçekleştirildi. Hayvanların takipleri periyodik kilo ve kan şekeri ölçümlerinin yanısıra intraperitoneal glukoz tolerans testi (IPGTT) ve insülin tolerans testi (IPITT) ile yapıldı. TRAIL uygulanmamış kontrol ve TRAIL uygulanmış deneysel grupların pankreatik dokularında insülin ve Ki67 proliferasyon belirteciye yönelik immunohistokimyasal analizler gerçekleştirildi.

TRAIL uygulanmış gruplarda, kontrol gruplarına kıyasla pankreatik dokudaki Ki67 ifadesinde artış olduğu gözlemlendi.

Sonuçlarımız, obezite ve diyabetteki rolü henüz tüm yönleriyle açığa çıkarılmamış olan TRAIL molekülünün, bilinen koruyucu ve antiinflamatuvar etkileri yanında pankreasta proliferatif etkisinin de mevcut olduğuna yönelik in vivo kanıt sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: T2D, TRAIL, Lentiviral vektör, obezite, C57BL6

## Lentiviral vector-mediated and soluble TRAIL treatment lead to a proliferative effect in the pancreatic tissues of obese and type 2 diabetic mouse models

Özlem Yılmaz<sup>1</sup>  
Ahter Dilşad Şanlıoğlu<sup>1</sup>  
Hasan Ali Altunbaş<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz University, Gene and Cell Therapy Application and Research Center, Antalya.

<sup>2</sup>Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine.

### ABSTRACT

TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is a TNF superfamily member which is claimed to have a proliferative effect in both type 1 (T1D) and type 2 diabetes (T2D), also characterized with its antiinflammatory activity. We have previously shown the proliferative effect of TRAIL on pancreatic beta cells under in vitro conditions. In this study, we aimed to investigate the in vivo proliferative effect of Lentiviral vector-mediated and soluble TRAIL treatment on the pancreatic tissues of C57BL6 obesity and T2D models.

The high-fat-diet (HFD)-fed obesity models and T2D models which were additionally treated with Streptozotocin (STZ) for partial beta cell depletion received Lentiviral vector-mediated and soluble TRAIL treatment. The animals were followed-up via periodic weight and blood sugar measurements, along with intraperitoneal glucose tolerance (IPGTT) and insulin tolerance tests (IPITT). Immunohistochemical analyses for the Ki67 proliferation marker were performed in the pancreatic tissues of the TRAIL-untreated control and TRAIL-treated experimental groups.

Ki67 expression was higher in the TRAIL-treated groups.

Our results provides in vivo evidence concerning the proliferative effect of TRAIL in the pancreatic tissue, in addition to its known protective and antiinflammatory effects. The role of TRAIL in obesity and diabetes has not been clearly defined yet.

Keywords: T2D, TRAIL, Lentiviral Victoria, obesity, C57BL6

## Philadelphia kromozomu negatif miyeloproliferatif neoplazilerinde kalretikülin mutasyonları

Gonca Gülbay<sup>1</sup>  
Harika Gözükara Bağ<sup>2</sup>  
Elif Yeşilada<sup>3</sup>  
Mehmet Ali Erkurt<sup>4</sup>

### Ö Z E T

Kalretikulin (CALR) multifonksiyonel bir proteindir. Esansiyel trombositemi ve primer miyelofibrozu olan hastalarda CALR geni mutasyonları driver mutasyonlardan biridir. Bu çalışmanın amacı, Janus Kinaz2 (JAK2) V617F mutasyonu negatif ve trombopoietin reseptör geni (MPL) mutasyonu negatif esansiyel trombositemi (ET) ve primer miyelofibrozis (PMF) olgularında CALR mutasyonlarının insidansını, biyolojik ve klinik özelliklerini vurgulayarak Philadelphia Kromozom Negative Myeloproliferative Neoplazilerin patogeneğinde CALR tip1 ve tip2 mutasyonlarının fonksiyonel ilişkisini anlamak ve hastalık fenotipi üzerindeki etkilerini belirlemektir.

Esansiyel trombositemi ve primer miyelofibroz tanısı alan vakaların laboratuvar sonuçları geriye dönük olarak analiz edilmiştir.

Çalışmamızda ET vakalarında % 18,4 oranında CALR ekson9 mutasyonu,% 5,1 oranında MPL mutasyonu ve % 57,1 oranında da JAK2 V617F mutasyonu belirlenmiştir. Olgularımızın % 19,4'ü bu üç mutasyonun hiçbirini taşımamaktadır. CALR mutasyonu pozitif olan ET vakalarımızın % 61,1'inde tip1, % 27,8'inde tip2 ve % 11,1'inde ise tip1 ve tip2 dışında mutasyonlar bulunmaktadır.

PMF vakalarında ise % 27,7 CALR ekson9 mutasyonu, % 3,6 oranında MPL mutasyonu ve % 47 oranında da JAK2 V617F mutasyonu belirlenmiştir. Olgularımızın % 21,7 oranı ise üçlü negatiftir. CALR mutasyonu pozitif olan PMF hastalarımızın% 69,6'sında tip 1,% 30,4'ündeise tip2 mutasyonları bulunmaktadır.

CALR mutasyonları, Philadelphia Kromozom Negative Myeloproliferative Neoplazi vakaları için yeni ve önemli bir moleküler belirteçtir. Hastalıkların klinik ve laboratuvar parametrelerinin etkilerini araştırmak için daha uzun takip ve daha büyük vaka popülasyonlarına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Kalretikulin, Esansiyel trombositemi, Primer miyelofibrozis

<sup>1</sup>Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Ordu, Türkiye.

<sup>2</sup>İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biostatistik AD, Malatya, Türkiye.

<sup>3</sup>İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Malatya, Türkiye.

<sup>4</sup>İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji AD, Malatya, Türkiye.

## Calreticulin mutations in philadelphia chromosome negative myeloproliferative neoplasms

Gonca Gülbay<sup>1</sup>  
Harika Gözükara Bağ<sup>2</sup>  
Elif Yeşilada<sup>3</sup>  
Mehmet Ali Erkurt<sup>4</sup>

### ABSTRACT

Calreticulin (CALR) is a multifunctional protein. CALR gene mutations are one of the driver mutations in patients with essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF). The aim of this study is to understand the functional relationship of CALR type1 and type2 mutations in the pathogenesis of Philadelphia Chromosome Negative Myeloproliferative Neoplasms (MPNs) by emphasizing the incidence, biological and clinical features of CALR mutations in Janus Kinase2 (JAK2) V617F mutation negative and thrombopoietin receptor gene (MPL) mutation negative ET and PMF cases, and to determine their effect on the disease phenotype.

The laboratory results of cases diagnosed with essential thrombocythemia and primary myelofibrosis were analyzed retrospectively.

In our study of the ET cases, 18,4% CALR exon9 mutation carried, 5,1% a thrombopoietin receptor gene (MPL) mutation, and 57,1% JAK2 V617F mutation. 19,4% of our cases do not carry any of these three mutations. Our ET patients with CALR mutation positive, 61,1% have type1, 27,8% have type2 and 11,1% have mutations other than type1 and type2.

In our study of the PMF cases, 27,7% CALR exon9 mutation carried, 3,6% a MPL mutation, and 47% JAK2 V617F mutation. 21,7% cases are triple negative. Our PMF patients with CALR mutation positive, 69,6% have type1, 30,4% have type2 mutations.

CALR mutations are a new and important molecular marker for Philadelphia Chromosome Negative Myeloproliferative Neoplasm cases. Longer follow-up and larger case populations are needed to investigate the effects of clinical and laboratory parameters of diseases.

Keywords: Calreticulin, Essential thrombocythemia, Primary myelofibrosis

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Ordu University, Ordu, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Biostatistics, Faculty of Medicine, Inonu University, Malatya, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Inonu University, Malatya, Turkey.

<sup>4</sup>Department of Hematology, Faculty of Medicine, Inonu University, Malatya, Turkey.



## Epstein-barr virüs pozitif multipl skleroz hastalarında mikroRNA-186 seviyesinin değerlendirilmesi

Merve Anapalı<sup>1</sup>  
Eda Balkan<sup>1</sup>  
Nuray Bilge<sup>2</sup>

### ÖZET

Multipl skleroz (MS), merkezi sinir sisteminde görülen otoimmün bir hastalıktır. Ayrıca, genetik ve çevresel faktörlerin etki ettiği multifaktöriyel bir hastalıktır. İnsan Herpes virüs-4 olarak bilinen Epstein-Barr virüsü (EBV) gibi çevresel faktörlerin MS ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Hücre siklusu; hücrenin büyümesi, genomunun replike olması ve bölünmesiyle ilgili süreçtir. G1/S fazında hücre siklusunun regülasyonunda meydana gelen bozulma önemli olarak değerlendirilmektedir. Hücre-siklus inhibitör proteini, p27, G1 hücre siklus fazının negatif regülatörü olarak rol almaktadır. F box protein S-faz kinaz-etkileşimli-protein2 (SKP2) p27 ekspresyonunu inhibe edebilmektedir. mikroRNA'lar (miRNA) 22-25 nükleotid uzunluğunda, kodlanmayan, tek zincirli endojen moleküllerdir. miRNA'lar post transkripsiyon seviyesinde mRNA'ları hedefleyerek protein sentezini kontrol etmektedir. miRNA'lar hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. miRNA-186'nın inhibisyonu hücre proliferasyonunu ve hücre siklusunda G1/S faz geçişini artırdığından, miRNA-186 SKP2 ekspresyonunu negatif olarak düzenlemektedir. Bu pilot çalışmada, EBV-pozitif ataklı-yineleyici MS (RRMS) hastalarında ve sağlıklı bireylerde SKP2 ve p27 hücre siklus genlerini hedefleyen miRNA-186'nın ekspresyon seviyesinin açıklanması amaçlandı.

19 RRMS hastası ve 20 sağlıklı birey pilot çalışmaya dahil edildi. miRNA'lar periferel kandan izole edildi. Sentezlenen cDNA'lar kullanılarak miRNA-186 real-time PCR ile değerlendirildi. Tüm bulgular istatistiksel olarak analiz edildi.

RRMS hastalarında miRNA-186 ekspresyonunda azalma tespit edildi ve SNORD61 kontrol gen olarak kullanıldı.

miRNA-186/SKP2 aksisinin p27-aracılı hücre siklusunun regülasyonunu düzenlediği gösterildi. Bu pilot çalışmanın MS hastalarında EBV yolağının aydınlatılmasında önemli bir basamak olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: epstein-barr virüs, mikroRNA, multipl skleroz

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Erzurum.

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Ana Bilim Dalı, Erzurum.

## Evaluation of microRNA-186 level in epstein-barr virus positive multiple sclerosis patients

Merve Anapali<sup>1</sup>  
Eda Balkan<sup>1</sup>  
Nuray Bilge<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disease of the central nervous system and also multifactorial disease which is influenced by both genetic factors and environment. Environmental factor, such as Epstein-Barr virus (EBV), also known as human herpes virus-4, has been reported to be associated with MS. The cell-cycle is the process related with cells grow, replicate their genome and divide. Deregulation of cell cycle at G1/S phase is considered as significant. Cell-cycle inhibitory protein, p27, functions as a negative regulator of G1 cell-cycle phase. F-box protein S-phase kinase-interacting-protein2 (SKP2) can inhibit p27 expression. MicroRNAs (miRNAs) are noncoding, endogenous and 22-25 nucleotides length single-stranded molecules. miRNA's control protein synthesis by targeting mRNAs at the posttranscriptional level. miRNA's have roles regulation of cell proliferation. Since miRNA-186 inhibition promotes cell proliferation and G1/S phase transition, miRNA-186 negatively regulates SKP2 expression. In this pilot study, we aimed to explain expression level of miRNA-186 targeting the cell-cycle SKP2 and p27 genes were examined in EBV positive relapsing-remitting MS (RRMS) patients and healthy individuals.

19 RRMS patients and 20 healthy individuals were included in study. miRNAs were isolated from peripheral blood and miRNA-186 was evaluated with real-time PCR using synthesized cDNA. All values were analyzed with statistical methods.

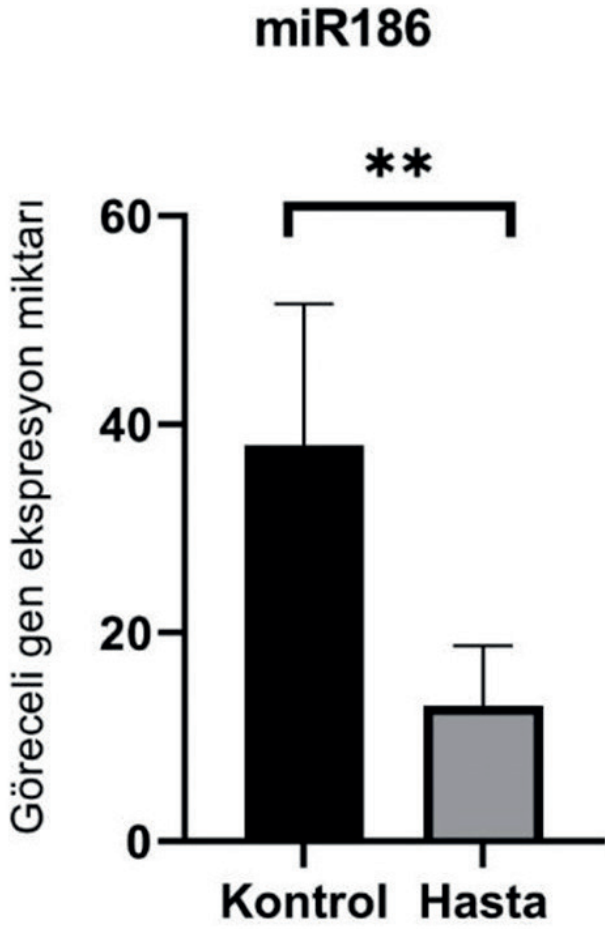
In this study, miRNA-186 has been find out to be downregulated in RRMS patients and SNORD61 was used as housekeeping gene.

We demonstrated that miRNA-186/SKP2 axis modulates p27-mediated cell-cycle regulation. We speculate this pilot study is a milestone for elucidating the EBV pathway in MS patients.

Keywords: epstein-barr virus, microRNA, multiple sclerosis

<sup>1</sup>Ataturk University Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Erzurum.

<sup>2</sup>Ataturk University Faculty of Medicine, Neurology Department, Erzurum.



**Şekil 1.** mikroRNA-186 ekspresyon seviyesi

**Figure 1.** microRNA-186 expression level

*mikroRNA-186 ekspresyon seviyesinin sağlıklı gruba kıyasla RRMS grubunda daha düşük olduğu tespit edildi (\*\*p<0,01)*

*microRNA-186 expression level was determined lower in RRMS group compare to healthy group (\*\*p<0,01)*

## İnsan plasentasından izole edilen mezenkimal kök hücre kültürlerinde Kisspeptin, Nörokinin B ve reseptörlerinin mRNA ekspresyonlarının incelenmesi

Hale Öksüz<sup>1</sup>  
 Nermin Seda Ilgaz<sup>1</sup>  
 Gamze Gizir<sup>1</sup>  
 Erkan Maytılman<sup>2</sup>  
 Merve Çapkın Yurtsever<sup>3</sup>  
 Hüsnü Ümit Lüleyap<sup>1</sup>  
 Selim Büyükkurt<sup>4</sup>  
 Fazilet Aksu<sup>5</sup>  
 Seray Karaçay<sup>1</sup>  
 Ezgi Damla Yılmaz<sup>6</sup>  
 Mehmet Bertan Yılmaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Adana.

<sup>2</sup>Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya.

<sup>3</sup>Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Adana.

<sup>4</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Adana.

<sup>5</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Adana.

<sup>6</sup>Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, Adana.

### ÖZET

Mezenkimal kök hücreler (MKH) günümüzde hem elde edilmiş kolaylığı hem de birçok hücre tipine farklılaşma potansiyelleri ile rejeneratif tıp uygulamalarında giderek ilgi çekici bir hale gelerek kliniğe daha fazla girmekte olan yeni bir tedavi yaklaşımıdır. Bu hücrelerin kaynaklardan biri plasentadır. Kisspeptinler Kiss1 geninden kodlanan ve Kisspeptin reseptörü GPR54 (KISS1R) aracılığı ile hipotalamo-hipofizer-gonadal aksı etkileyerek özellikle puberte ve fertiltede anahtar rol oynayan farklı uzunluklardaki peptitlerdir. Tamir hücreleri olarak kullanılan MKH'larda, bu protein ve reseptörlerin bulunması özellikle nörodejeneratif hastalıklarda, fertilitte işlevinin devamlılığında veya yeniden kazanılmasında önem arz etmektedir. Bu çalışmada, plasenta zarından hücre kültürü ile elde edilen MKH'larda Kisspeptin, Nörokinin ve reseptörlerinin varlığını araştırmak hedeflenmiştir.

Mezenkimal kök hücreler, annelerin onamı alınarak, cerrahi yöntemle doğumu gerçekleştiren 5 adet bebeğin tıbbi atık olarak değerlendirilen plasenta örneklerinin koryonik membranlarından elde edildi. Çalışmada kültüre edilen plasenta dokusuna ait hücreler akım sitometri analizleri ile kök hücre özellikleri açısından değerlendirilerek mezenkimal kök hücre yapısında olduğu teyit edilmiştir.

Mezenkimal kök hücrelerin KISS1 ve KISS1R mRNA ekspresyonlarının pasaj sayısına bağlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Nörokinin ve nörokinin reseptörü ekspresyonu ise plasental mezenkimal hücrelerde gözlenmemiştir.

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre hücre bölünmesi, pasaj sayısı arttıkça parental özellikte azalma meydana gelip KISS1 ve KISS1R ekspresyon miktarında azalma gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kisspeptin, kisspeptin reseptörü, mezenkimal kök hücre, nörojenik farklılaşma

## Examination of mRNA expressions of Kisspeptin, Neurokinin B and receptors in mesenchymal stem cell cultures isolated from human placenta

Hale Öksüz<sup>1</sup>  
Nermin Seda Ilgaz<sup>1</sup>  
Gamze Gizir<sup>1</sup>  
Erkan Maytalman<sup>2</sup>  
Merve Çapkin Yurtsever<sup>3</sup>  
Hüsnü Ümit Lüleyap<sup>1</sup>  
Selim Büyükkurt<sup>4</sup>  
Fazilet Aksu<sup>5</sup>  
Seray Karaçay<sup>1</sup>  
Ezgi Damla Yılmaz<sup>6</sup>  
Mehmet Bertan Yılmaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, University of Cukurova, Adana.

<sup>2</sup>Department of Medical Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Alanya Alaaddin Keykubat, Antalya.

<sup>3</sup>Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, University of Adana Alparslan Turkes Science and Technology, Adana.

<sup>4</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, University of Cukurova, Adana.

<sup>5</sup>Department of Medical Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Cukurova, Adana.

<sup>6</sup>Department of Biotechnology, Institute of Natural and Applied Sciences, University of Cukurova, Adana.

### ABSTRACT

Mesenchymal stem cells (MSCs) are a new treatment approach that has become increasingly interesting in regenerative medicine applications, both with its ease of obtaining and its potential to differentiate into many cell types. One of these sources is the placenta. Kisspeptins are peptides of different lengths, which are encoded from the Kiss I gene and play a key role especially in puberty and fertility by affecting the hypothalamo-pituitary-gonadal axis via Kisspeptin receptor GPR54 (KISS1R). The presence of these proteins and receptors in MSCs used as repair cells is particularly important in neurodegenerative diseases, maintenance or recovery of fertility function. In this study, it was aimed to examine the presence of Kisspeptin, Neurokinin and its receptors in MSCs obtained by cell culture from the placental membrane.

Mesenchymal stem cells were obtained from the chorionic membranes of placenta samples of 5 babies who were delivered surgically, with the consent of the mothers. Cells from cultured placental tissue were evaluated in terms of stem cell properties by flow cytometry analysis, and it was confirmed that they are in the structure of mesenchymal stem cells.

It was observed that KISS1 and KISS1R mRNA expressions of mesenchymal stem cells decreased depending on the passage number. No Neurokinin and Neurokinin receptor expressions were observed in placental mesenchymal cells.

The findings obtained in our study indicate that as the cell division and the number of passages increased, a decrease was observed in the parental characteristics and in the expressions of KISS1 and KISS1R.

Keywords: Kisspeptin, Kisspeptin receptor, mesenchymal stem cells, neurogenic differentiation

## Marfan sendromu ön tanılı olgularda FBN1 geninde saptanan varyantların değerlendirilmesi

Mert Coşkun<sup>1</sup>  
Gökçen Karamık<sup>2</sup>  
Aslı Toylu<sup>1</sup>  
Nuray Öztürk<sup>2</sup>  
Banu Nur<sup>2</sup>  
Feyza Altunbaş<sup>1</sup>  
Duygu Gamze Dikici<sup>1</sup>  
Alp Peker<sup>1</sup>  
Özden Altıok Clark<sup>1</sup>  
Ercan Mihççi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya.

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Pediyatrik Genetik Bilim Dalı, Antalya.

### ÖZET

**Amaç:** Marfan sendromu göz, iskelet ve kardiyovasküler sistem tutulumlarıyla seyreden, yüksek derecede klinik değişkenliğe sahip, otozomal dominant kalıtılan bir hastalıktır. Fibrillin 1 (FBN1) geninde saptanan varyantlar hastalığın patogenezi ile ilişkilendirilmektedir. Çalışmamızda Marfan sendromu klinik ön tanılı olgularımızda FBN1 genindeki nükleotid değişimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Olguların periferik kanlarından elde edilen genomik DNA kullanılarak, FBN1 (NM\_000138.5) geni kodlayıcı ekzonları ve ekzon-intron geçiş bölgeleri yeni nesil dizileme yöntemiyle (Ion S5 Sistemi -ThermoFisher Scientific) incelendi. Saptanan varyantlar Ion Reporter Software (ThermoFisher Scientific Inc.) ve SEQ (Genomize) programları yanında dbSNP, ClinVar, Ensembl ve VarSome varyant bilgi sunucuları kullanılarak analiz edildi. Varyant değerlendirmelerinde "American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)" ölçütleri kullanıldı.

**Bulgular:** Çalışmada 33 olgunun 5'inde (%15), FBN1 geninde Marfan sendromu klinik bulguları ile ilişkili olabileceği öngörülen heterozigot missense değişimler saptanmıştır. Bu varyantların hiçbiri mevcut toplum çalışmalarında bildirilmemiştir. Varyantların üçü, çok sayıda analiz programı tarafından protein yapısını etkileyecek "olasılıkla patojenik" değişimler olarak öngörülmektedir. Diğer iki varyantın ise öngörülen etkileri hakkında programlar birbirlerine karşıt sonuçlar vermektedir ve bu değişimler "klinik önemi bilinmeyen" varyant olarak sınıflandırılmıştır.

**Sonuç:** Olgularımızda FBN1 geninde saptadığımız missense değişimlerin, öngörülen olası fonksiyonel etkileri nedeniyle Marfan sendromu ilişkili aday varyantlar olabileceği düşünülmektedir. Genotip-fenotip ilişkisinin daha iyi aydınlatılabilmesi için olguların ailelerindeki varyant dağılımı görülecek ve daha geniş toplum verileri incelenecektir. Sonuçlarımız Marfan sendromunda FBN1 geni ilişkili, daha önce bildirilmemiş yeni varyantların saptanmaya devam edildiğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Marfan sendromu, varyant analizi, yeni nesil dizileme

## Evaluation of detected FBN1 gene variants in patients pre-diagnosed with Marfan syndrome

Mert Coşkun<sup>1</sup>  
Gökçen Karamık<sup>2</sup>  
Aslı Toylu<sup>1</sup>  
Nuray Öztürk<sup>2</sup>  
Banu Nur<sup>2</sup>  
Feyza Altunbaş<sup>1</sup>  
Duygu Gamze Dikici<sup>1</sup>  
Alp Peker<sup>1</sup>  
Özden Altıok Clark<sup>1</sup>  
Ercan Mihçı<sup>2</sup>

### ABSTRACT

**Objective:** Marfan syndrome is an autosomal dominant inherited disease involving eye, skeletal and cardiovascular systems with abundant clinical variability. Variants detected in the Fibrillin 1 (FBN1) gene are associated with pathogenesis of the disease. Our study aimed to determine the nucleotide changes of the FBN1 gene in cases with clinical pre-diagnosis of Marfan syndrome.

**Materials-Methods:** Using the genomic DNA isolated from peripheral blood samples, the FBN1 (NM\_000138.5) gene coding exons and exon-intron transition regions were analyzed by next generation sequencing (Ion S5-ThermoFisher Scientific). Variants were analyzed using Ion Reporter Software (ThermoFisher Scientific Inc.) and SEQ (Genomize) programs, examining variant information servers dbSNP, ClinVar, Ensembl, VarSome and "American College of Medical Genetics and Genomics" criteria used for evaluations.

**Results:** In 5 of 33 cases (15%), heterozygous missense changes, predicted to be associated with the clinical findings of Marfan syndrome, were detected in the FBN1 gene. None were reported in population studies. Three were predicted by multiple analysis programs as "likely pathogenic" changes that will affect protein structure. Programs gave conflicting results regarding the predicted effects of other two variants, and these changes were classified as variants of unknown clinical significance.

**Conclusion:** Detected missense variants in our study are presumed candidate variants that could be attributed to Marfan syndrome, considering predicted functional effects. To better elucidate genotype-phenotype correlation, the segregation analysis of variants in the families will be evaluated and also larger population data will be examined. As a result, previously unreported FBN1 gene variants could still be found in Marfan syndrome.

**Keywords:** Marfan syndrome, next generation sequencing, variant analysis

<sup>1</sup>Department of Medical Genetics, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Pediatric Genetics, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey.

## ATG12, ATG5, ATG16 genlerinin meme kanserinde ifadeleri ve prognostik faktörlerle ilişkisi

Sevide Şencan<sup>1</sup>  
Mustafa Ulaşlı<sup>1</sup>  
Zehra Bozdağ<sup>2</sup>  
Ahmet Arslan<sup>1</sup>

### ÖZET

Meme kanseri, çeşitli sinyal yollarının aktivasyon/inaktivasyonun bir sonucudur. Otofaji, uzun ömürlü proteinleri, hasarlı organelleri, mikroorganizmaları lizozomlar aracılığıyla yok eden hücre içi yıkım yoludur. Çok sayıda çalışma, otofaji ve meme kanseri arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir, ancak otofajinin meme kanserindeki rolü hala belirsizdir. Atg12-Atg5-Atg16 kompleksi otofagozom oluşumu için gereklidir. Çalışmamızın amacı, meme kanserinde ATG12, ATG5, ATG16 genlerinin ekspresyonunu ve östrojen, progesteron ve insan epidermal büyüme faktörü ile ilişkisini araştırmaktır.

Bu çalışmada, 69 meme kanseri hastasının normal ve tümör doku örnekleri IFC Controller HX ve BioMark™ HD System ile Real-Time PCR kullanılarak ATG12, ATG5 ve ATG16 genlerinin ekspresyonu analiz edildi.

ATG12, ATG5 ve ATG16 genlerinin ekspresyon seviyeleri tümör dokularında anlamlı derecede düşük bulundu. ATG5 geninin ekspresyonu östrojen pozitif ve negatif hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (\*\*p= 0.007). ATG12, ATG5, ATG16 genlerinin ekspresyon seviyeleri ile hem progesteron hem de insan epidermal büyüme faktörü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

Bu çalışma meme kanseri dokularında ATG12, ATG5 ve ATG16 otofaji genlerinin ekspresyon düzeylerinin önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. Bu bulgular, otofaji ve meme kanseri arasındaki ilişkinin anlaşılmasına yardımcı olabilir. Ayrıca, otofaji meme kanseri için yeni tedavi stratejileri sağlayabilir.

Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından TF.13.23 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: ATG12, ATG5, ATG16, otofaji, meme kanseri

<sup>1</sup>Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D., Gaziantep.

<sup>2</sup>Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji A.D., Gaziantep.



## The expression levels of ATG12, ATG5, ATG16 genes in breast cancer and relation with prognostic factors

Sevide Şencan<sup>1</sup>  
Mustafa Ulaşlı<sup>1</sup>  
Zehra Bozdağ<sup>2</sup>  
Ahmet Arslan<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Breast cancer is a consequence of activation/inactivation various signal pathways. Autophagy is an intracellular degradation pathway that eradicate to long-lived proteins, damaged organelles, microorganism through lysosomes. Numerous studies have shown a strong relationship between autophagy and breast cancer but role of autophagy in breast cancer is still unclear. Atg12-Atg5-Atg16 complex is necessary for autophagosome formation. The aim of our study was to investigate ATG12, ATG5, ATG16 genes expression in breast cancer and relation to estrogen, progesterone, and human epidermal growth factor.

In this study, ATG12, ATG5 and ATG16 genes expression levels were analyzed with Real-Time PCR by IFC Controller HX and BioMark™ HD System using normal and tumor tissue samples of 69 breast cancer patients.

The expressions levels of ATG12, ATG5 and ATG16 genes were found to be significantly lower in tumor tissues. The expression levels of ATG5 gene were found to be statistically significantly between estrogen positive and negative patients (\*\*p= 0.007). There is no statistically significant difference between ATG12, ATG5 and ATG16 genes expression levels and both progesterone and human epidermal growth factor.

This study demonstrated that the expressions levels of ATG12, ATG5 and ATG16 genes associated autophagy are decreased significantly in breast cancer tissues. These findings may help in the understanding of the relationship between autophagy and breast cancer. Furthermore, autophagy may provide novel treatment strategies for breast cancer.

Keywords: ATG12, ATG5, ATG16, autophagy, breast cancer

<sup>1</sup>Department of Medical Biology and Genetics, School of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep.

<sup>2</sup>Department of Pathology, School of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep.

## Nörofibromatozis ön tanılı olgularda *NF1* geninde saptanan varyantların yorumlanması

Feyza Altunbaş<sup>1</sup>  
Nuray Öztürk<sup>2</sup>  
Aslı Toylu<sup>1</sup>  
Banu Nur<sup>2</sup>  
Gökçen Karamık<sup>2</sup>  
Mert Coşkun<sup>1</sup>  
Duygu Gamze Dikici<sup>1</sup>  
Alp Peker<sup>1</sup>  
Özden Altıok Clark<sup>1</sup>  
Ercan Mihçı<sup>2</sup>

### ÖZET

Nörofibromatozis (NF) hastalığı cafe au lait lekeleri, aksiller-inguinal çillenme, kutanöz nörofibromlar, iriste Lisch nodülleriyle karakterize otozomal dominant bir hastalıktır. Nadir ancak ciddi belirtiler arasında optik sinir-merkezi sinir sistemi gliomları ve malign periferik sinir kılıfı tümörleri görülmektedir. NF tanısı genellikle klinik bulgulara dayanır ancak hastalıktan büyük oranda Neurofibromin 1 (*NF1*) genindeki patojenik varyantlar sorumludur. Çalışmamızda NF ön tanılı olgularda, *NF1* genindeki varyantların belirlenmesi amaçlanmıştır.

Olguların periferik kan örneklerinden elde edilen genomik DNA kullanılarak, *NF1* ve *NF2* genleri kodlayıcı ekzonları, ekzon-intron geçiş bölgeleri yeni nesil dizileme yöntemiyle (Ion S5 Sistemi -ThermoFisher Scientific) incelendi. Saptanan varyantlar Ion Reporter Software (ThermoFisher Scientific Inc.) ve SEQ (Genomize) programları yanında dbSNP, ClinVar, Ensembl ve VarSome varyant bilgi sunucuları kullanılarak analiz edildi. Varyant değerlendirmelerinde "American College of Medical Genetics and Genomics" ölçütleri kullanıldı.

NF ön tanılı 11 olguda *NF1* geni varyantı saptanmıştır. Olguların yedisinde, literatürde patojenik olduğu bildirilmiş varyantlar gözlenmiştir. İki olguda toplum çalışmalarında bildirilmiş fakat klinik anlamı tam olarak belirlenememiş varyantlar tespit edilmiştir. Diğer iki olguda, çok sayıda analiz programı tarafından protein fonksiyonuna etkisi patojenik olarak öngörülen ancak mevcut veri tabalarında bildirilmemiş varyantlar belirlenmiştir. *NF1* geninde saptadığımız değişimler arasında 5 stop kodonu, 3 çerçeve kayması, 2 kırılma bölgesi ve bir missens varyant yer almaktadır.

Olgularımızda *NF1* geninde saptadığımız varyantların, öngörülen fonksiyonel etkileri nedeniyle Nörofibromatozis kliniğiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Genotip-fenotip ilişkisinin daha iyi aydınlatılabilmesi için olguların ailelerindeki varyant dağılımı belirlenecek, daha geniş toplum verileri incelenecektir. Bulgularımız, *NF1* geninde çeşitli tiplerde varyantlar gözlenebildiğini ve daha önce bildirilmemiş yeni varyantların saptanabildiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Nörofibromatozis, yeni nesil dizileme, varyant analizi

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya.

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Pediatrik Genetik Bilim Dalı, Antalya.

## Evaluation of variants detected in *NF1* gene in patients pre-diagnosed with Neurofibromatosis

Feyza Altunbaş<sup>1</sup>  
Nuray Öztürk<sup>2</sup>  
Aslı Toylu<sup>1</sup>  
Banu Nur<sup>2</sup>  
Gökçen Karamık<sup>2</sup>  
Mert Coşkun<sup>1</sup>  
Duygu Gamze Dikici<sup>1</sup>  
Alp Peker<sup>1</sup>  
Özden Altıok Clark<sup>1</sup>  
Ercan Mihçı<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Neurofibromatosis (NF) is an autosomal dominant inherited disease characterized by café-au-lait spots, axillary-inguinal freckling, cutaneous neurofibromas, iris Lisch nodules, optic nerve-central nervous system gliomas. The diagnosis is usually based on clinical findings but mostly pathogenic variants in *NF1* gene are responsible for NF. Our study aimed to determine variants in *NF1* gene in patients pre-diagnosed with NF.

Using genomic DNA, *NF1* and *NF2* genes coding exons, exon-intron transition regions were analyzed with next generation sequencing (Ion S5-ThermoFisher Scientific). Variants were analyzed using Ion Reporter Software and SEQ (Genomize) programs and by examining variant information servers dbSNP, ClinVar, Ensembl, VarSome. For evaluations, "American College of Medical Genetics and Genomics" criteria were used.

*NF1* gene variants were detected in 11 cases. Seven cases were found to carry previously reported pathogenic *NF1* variants. Two were found to carry variants that were reported in population studies, but whose clinical significance not yet determined. Two were found to have variants not included in current databases but predicted as pathogenic by in silico analyses. The variant types included 5 stop gain, 3 frameshift, 2 splicing and 1 missense variant.

It's considered that variants we detected in *NF1* gene in our cases, might be associated with NF, regarding predicted functional effects. To further clarify correlation of genotype-phenotype, segregation analysis of variants in families will be determined with wider population data examined. Our findings suggest that different types of variants can be observed in *NF1* gene and new variants not previously reported can also be detected.

Keywords: Neurofibromatosis, next generation sequencing, variant analysis

<sup>1</sup>Department of Medical Genetics, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Pediatric Genetics, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey.

## Ataksi Telenjektazili Türk hastada yeni bir varyant: ATM geninde dur kodon kaybı

Betül Okur Altındaş<sup>1</sup>  
Kübra Metli<sup>1</sup>  
Ayşe Gül Zamani<sup>1</sup>  
İsmail Reisli<sup>2</sup>  
Mahmut Selman Yıldırım<sup>1</sup>

### Ö Z E T

Ataksi Telenjektazi; serebellar ataksi, okulomotor apraksi, oküler telenjektaziler, immün yetmezlik ve neoplazilere yatkınlık ile karakterize, nadir bir nörodejeneratif hastalıktır. ATM genindeki patojenik varyasyonlardan kaynaklanır ve otozomal resesif olarak kalıtılır. Hastaların takibi multidisipliner bir yaklaşım gerektirmektedir. Bu rapor ile, yeni bir varyantı bildirerek ATM geninde saptanacak varyasyonların yorumlanmasını kolaylaştırmayı amaçladık.

Olgu: 11 yaşında bir kız hasta, 6 yıldır mevcut olan yürüme bozukluğu ve tekrarlayan enfeksiyon şikayetleriyle Tıbbi Genetik polikliniğine yönlendirildi. Fizik muayenesinde baş sallanması, ataksi ve bilateral sklerada telenjektaziler olduğu saptandı. Hastanın semptom ve bulguları Ataksi-Telenjektazi ile uyumlu olduğundan, ATM genine hedefli yeni nesil dizileme analizi (ENST00000278616.4) ve delesyon analizi yapıldı.

Analiz sonucunda ATM geninde delesyon olmadığı, ancak birleşik heterozigot formda iki farklı sekans varyantı olduğu görüldü. Bunların ilki c.331+5G>C (rs752135143) intronik varyantı; diğeri ise c.9170G>C, dur kodon kaybı (\*3057S) varyantıydı. Tespit edilen bu değişimler Sanger dizileme yöntemiyle doğrulandı ve vakanın aile üyeleri taramaya alındı.

Gözlenmiş olan intronik varyant (c.331+5G>C) gen splice mekanizmasını bozduğu bilinen ve patojenik olarak raporlanmış olan bir varyanttı. Ancak, dur kodonunda kayba yol açan c.9170G>C varyantı daha önce literatürde bildirilmemiş, yeni bir varyanttı. Hastanın klinik değerlendirmesi Ataksi-Telenjektazi Sendromu ile uyum gösterdiğinden, bu varyasyon olası patojenik şekilde yorumlandı.

Önemi bilinmeyen varyantların fenotip ile ilişkisinin kurulması, bir tıbbi genetikçi için günlük uygulamada ciddi bir yük oluşturmaktadır. Bu nedenle yeni varyantların klinik bulgularla birlikte rapor edilmesi literatüre katkı sağlayarak hastaların tanı almasını kolaylaştıracaktır.

Anahtar Kelimeler: Ataksi-Telenjektazi, ATM, yeni nesil dizileme, immün yetmezlik

<sup>1</sup>Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya.

<sup>2</sup>Çocuk İmmunolojisi ve Allerji Bilim Dalı, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya.

## Novel Stop-Lost Variant of the ATM gene in a Turkish patient with Ataxia-Telangiectasia

Betül Okur Altındaş<sup>1</sup>  
Kübra Metli<sup>1</sup>  
Ayşe Gül Zamani<sup>1</sup>  
İsmail Reisl<sup>2</sup>  
Mahmut Selman Yıldırım<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Ataxia-Telangiectasia (AT) is a rare neurodegenerative disorder; characterized by cerebellar ataxia, oculomotor apraxia, ocular telangiectasias, immunodeficiency and susceptibility to neoplasms. It is inherited in an autosomal recessive manner and caused by pathogenic variations of the ATM gene. Management of the disease requires multidisciplinary approach. With the report of a novel variation, we aimed to further facilitate variant interpretation of the ATM gene.

Case: An 11 years-old female patient was referred to our medical genetics department; with complaints of gait disturbances and recurrent infections, starting at the age of 5. Her physical examination revealed; head tilting, ataxia and bilateral scleral telangiectasias. Her presenting features were suggestive of AT, and targeted next-generation sequencing (ENST00000278616.4) and deletion analysis of the ATM gene were performed.

The results showed; no deletion, but two different sequence variants in a compound heterozygous state. First variation was c.331+5G>C (rs752135143), the second was c.9170G>C, stop-lost variant (\*3057S). These variations were confirmed with Sanger sequencing analysis. Family members of the patient were screened.

The intronic variant (c.331+5G>C) was known to effect splicing machinery and had been reported as pathogenic; on the other hand, the stop lost variant (\*3057S) was previously unreported in the literature. Since the clinical features of the patient was concordant with Ataxia-Telangiectasia, the latter variation was interpreted as likely pathogenic.

Variants of unknown significance constitute a huge burden in the daily practice of medical genetics, when it comes to phenotypically correlate them. Reporting novel variations along with relevant clinical findings serves as a contribution to the literature.

Keywords: Ataxia-Telangiectasia, ATM, next-generation, immunodeficiency

<sup>1</sup>Department of Medical Genetics, Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Pediatric Immunology and Allergy, Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey.

## Kontrol Grubunda Novel Bir Mutasyon, Ne Yapmalı?

Merve Sultan Embel<sup>1</sup>  
Tuğba Karaman Mercan<sup>1</sup>  
Yunus Arıkan<sup>2</sup>  
Erdal Kurtoğlu<sup>3</sup>

### Ö Z E T

Beta Talasemi (BT), beta globin üretimini azaltan veya ortadan kaldıran, otozomal resesif kalıtılan bir kan hastalığıdır. Majör ve intermedia bireyler farklı transfüzyon ihtiyaçlarına sahipken taşıyıcı bireyler asemptomatik olup transfüzyon almazlar. Hastalarda transfüzyon sıklığını etkileyen faktörlerden birisi, hemoglobin elektroforezinde tespit edilebilen fetal hemoglobinin (HbF) seviyesidir. Yetişkin hastalarda yüksek HbF seviyesine sahip olanların klinik şiddetinde azalma olduğu bilinmektedir. Genom çalışmalarında, HbF'in ekspresyonunu düzenleyen pek çok faktör ve "modifier gen" tanımlanmıştır. B hücreli lenfoma (BCL11A) bunlardan ilk ortaya çıkarılanıdır. Aynı yolakta görev aldığı düşünülmemiz ZBTB7A/Pokemon/LRF (Lösemi lenfoma ilişkili faktör) geninin bir başka modifier olabileceğini hipotezledik.

Erişkin hastalarda bulduğumuz mutasyonun HbF seviyesi üzerine etkisini değerlendirmek istedik. Bunun için uygun kan parametrelerine sahip, 60 erişkin kontrol bireyden ZBTB7A genine spesifik primerler ile sanger dizileme işlemlerini gerçekleştirdik. MutationTaster, PolyPhen2, EVS, ExAC, gnomAD gibi veri tabanlarında elde ettiğimiz sonuçlarımızı analiz ettik.

Kontrol grubundaki talasemi taşıyıcısı bir bireyde heterozigot "disease causing" özellikte bir frameshift mutasyonu bulduk. Olgunun HbF ve HbA2 değerleri sırasıyla 1.5 ve 5.9 olarak değerlendirdik. Olgunun annesinin de talasemi taşıyıcısı olduğunu öğrendik.

Talasemi taşıyıcısı bireyde ZBTB7A geninde bulduğumuz frameshift mutasyonu ilk defa literatüre bildirmekteyiz. Probandın segregasyon analizi ve mutasyonu taşıyan ebeveynlerinin kan parametreleri ve elektroforez sonuçlarını elde ettikten sonra kongremizde literatür eşliğinde paylaşmayı hedefliyoruz. Projemizde ilk defa hasta grupta hipotezlediğimiz bir mutasyon ve kontrol grubunda novel "disease causing" bir mutasyonu ortaya çıkarmış olduk. Bulunacak yeni modifier genler, hemoglobin switchinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Beta Talasemi, Fetal Hemoglobin, ZBTB7A

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.

<sup>2</sup>Yozgat Bozok Üniversitesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Yozgat, Türkiye

<sup>3</sup>Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Hematoloji Bilim Dalı, Antalya, Türkiye.

## A Novel Mutation In The Control Group, What To Do Then?

Merve Sultan Embel<sup>1</sup>  
Tuğba Karaman Mercan<sup>1</sup>  
Yunus Arıkan<sup>2</sup>  
Erdal Kurtoğlu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Antalya, Turkey.

<sup>2</sup>Yozgat Bozok University, Department of Medical Genetics, Yozgat, Turkey.

<sup>3</sup>Antalya Training and Research Hospital, Department of Hematology, Antalya, Turkey.

### ABSTRACT

Beta-thalassemia is an autosomal recessive disorder that reduces or eliminates beta globin production. Major/intermedia individuals have different transfusion needs, carriers are asymptomatic and don't require blood-transfusions. One of the factors affecting frequency of transfusion, is level of fetal hemoglobin (HbF). High HbF levels in patients have a decrease in clinical severity. Among many factors and "modifier genes" regulating expression of HbF have been identified, B-cell lymphoma (BCL11A) was the first. We hypothesized ZBTB7A/Pokemon/LRF (Leukemia lymphoma-related factor), may be involved in same pathway, could be another modifier.

We wanted to evaluate the effect of the mutation in adult patients on HbF level. After performing sanger sequencing with ZBTB7A primers from 60 adult controls, we analyzed our results in databases such as MutationTaster, PolyPhen2, EVS, ExAC, gnomAD.

We found a novel heterozygous disease-causing-frameshift-mutation in a thalassemia carrier. We evaluated the HbF and HbA2 values of the case as 1.5 and 5.9, respectively. Mother of the case was found to be a carrier.

We report the frameshift mutation in ZBTB7A gene for the first time, in a thalassemia carrier. After segregation analysis and obtaining the blood parameters and electrophoresis results of the parents carrying same the mutation, we aim to share those outcomes with the literature. For the first time, we discovered a mutation that we hypothesized in the patient group and a novel "disease-causing" mutation in the control group. The new modifier genes to be detected will contribute to a better understanding of the hemoglobin switch.

Keywords: Beta Thalassemia, Fetal Hemoglobin, ZBTB7A

## SARS-COV-2 enfeksiyonlarında MEFV gen varyantlarının olası etkisi

Tayfun Hilmi Akbaba<sup>1</sup>  
Bilgesu Şafak Özdemir<sup>1</sup>  
Ahmet Çağkan İnkaya<sup>2</sup>  
Zahit Taş<sup>2</sup>  
Tuğçe Ünalın<sup>3</sup>  
Burçin Halaçlı<sup>4</sup>  
Lale Özışık<sup>5</sup>  
Alpaslan Alp<sup>3</sup>  
Arzu Topeli<sup>4</sup>  
Gökhan Metan<sup>2</sup>  
Seza Özen<sup>6</sup>  
Banu Balci Peynircioglu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Turkey.

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yoğun Bakım Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

<sup>5</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

<sup>6</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Romatoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

### ÖZET

**Amaç:** Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA), MEFV mutasyonlarının neden olduğu kalıtsal bir otoinflamatuvar hastalıktır. MEFV geni varyasyonları son zamanlarda veba için koruyucu bir faktör olarak tanımlanmıştır ve bu varyasyonlar Doğu Akdeniz popülasyonunda seçilime uğradığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, Türk popülasyonunda sık görülen MEFV gen varyasyonlarının COVID-19 enfeksiyonu için koruyucu olup olmadığını değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Hastalar ve Yöntemler:** Bu kesitsel çalışmaya toplam 112 COVID-19 hastası dahil edilmiştir. MEFV genindeki sık görülen varyasyonlar (E148Q, M680I, M694V, V726A) PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmiştir. Allel frekansları daha önce bildirilen sağlıklı Türk popülasyonu çalışması ile karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** Hastaların 66'sı (%58,9) kadın iken median yaşı 46,5 (19-88) olarak bulunmuştur. 64 hastada pnömoni ve 15 hastada oksijen desteği gerektiren hipoksi durumu saptanmıştır. COVID-19 hasta grubunda E148Q, M680I, M694V ve V726A varyasyonlarının taşıyıcı oranları sırasıyla 0,08 (9/108), 0,0 (0/108), 0,019 (2/108) ve 0,037 (4/108) olarak bulunmuştur. Sağlıklı Türk popülasyonuna (%20) kıyasla Türk COVID-19 hastalarında daha düşük MEFV varyasyon taşıyıcılık oranı (%13,89) bulundu ancak azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Ayrıca, bileşik heterozigot olan ve AAA semptomları olmayan iki COVID-19 hastası saptanmıştır.

**Sonuçlar:** MEFV genindeki varyantların COVID-19'a karşı önemli bir koruyucu rolü bu çalışmada kullanılan hasta sayısı ile anlamlı olarak gösterilememiştir. AAA hastalarında uygulanan kolşisin tedavisinin COVID-19 enfeksiyonuna etkisi olup olmadığı daha ileri çalışmaları beklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** COVID-19, MEFV mutasyonu, FMF, COVID-19'a duyarlılık



## Possible Effect of MEFV gene variants in SARS-COV-2 infection

Tayfun Hilmi Akbaba<sup>1</sup>  
Bilgesu Şafak Özdemir<sup>1</sup>  
Ahmet Çağkan İnkaya<sup>2</sup>  
Zahit Taş<sup>2</sup>  
Tuğçe Ünalın<sup>3</sup>  
Burçin Halaçlı<sup>4</sup>  
Lale Özışık<sup>5</sup>  
Alpaslan Alp<sup>3</sup>  
Arzu Topeli<sup>4</sup>  
Gökhan Metan<sup>2</sup>  
Seza Özen<sup>6</sup>  
Banu Balci Peynircioglu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases, Ankara, Turkey.

<sup>3</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Ankara, Turkey.

<sup>4</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of Intensive Care Medicine, Ankara, Turkey.

<sup>5</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Ankara, Turkey.

<sup>6</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pediatric Rheumatology, Ankara, Turkey.

### ABSTRACT

**Objectives:** Familial Mediterranean Fever (FMF) is a hereditary autoinflammatory disease caused by MEFV mutations. MEFV gene variations were recently defined as a protective factor for plague and variations in this region were selected in the eastern Mediterranean population. We have aimed to assess whether common MEFV gene variations were protective for COVID-19 infection in the Turkish population.

**Patients and Methods:** A total of 112 COVID-19 patients were included in this cross-sectional study. Common variations (E148Q, M680I, M694V, V726A) in the MEFV gene were determined by the PCR-RFLP method. Allele frequencies were compared with the previously reported healthy Turkish population data.

**Results:** Median age of the patients were 46.5 years (19-88) and 66 (58.9%) were women. Pneumoniae was present in 64 patients and 15 had hypoxia necessitating oxygen supplementation. Carrier rates of E148Q, M680I, M694V, and V726A variations in the COVID-19 patient group were 0.08 (9/108), 0.0 (0/108), 0.019 (2/108), and 0.037 (4/108), respectively. Although we found a lower MEFV variation carrier rate (13.89 %) in Turkish COVID-19 patients when compared to the healthy Turkish population (20%), the difference was not significant. We identified two COVID-19 patients who were compound heterozygous and had no symptoms of FMF.

**Conclusions:** We have failed to show a significant protective role of the variants in the MEFV gene against COVID-19 with our sample size. Whether colchicine treatment in FMF patients has a role in COVID-19 infection awaits further studies.

**Keywords:** COVID-19, MEFV mutation, FMF, susceptibility to COVID19

## Koroner Arter Hastalarında DNA Hasar Tamir Sürecinde Rol Oynayan Moleküllerin ve İlişkin Mikro RNA' ların Ekspresyonlarının Araştırılması

Narmina Malikova<sup>1</sup>  
Gizem Erdoğan<sup>1</sup>  
Eser Durmaz<sup>2</sup>  
Bilgehan Karadağ<sup>2</sup>  
Mehmet Güven<sup>1</sup>

### ÖZET

Aterosklerozun kalbi besleyen damarlarda görülmesi durumuna, koroner arter hastalığı (KAH) denir; kalbi besleyen damarların duvarında kolesterol birikimi ile gelişen ve oluşan plağın kan akışını engellediği patolojik bir durumdur. PARP1 ve BRCA1, DNA tamirinde rol oynayan önemli proteinlerdir. PARP1'in ifadesi miR-21-5p ve miR-193b-3p ve BRCA1'in ifadesi ise miR-484 ile düzenlenebilmektedir. Çalışmamızda, KAH hastalarında bu moleküllerin gen ifade durumları ve birbiri ile olan ilişkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'nda tanısı konmuş toplam 50 koroner arter hastası ve 50 sağlıklı kontrol çalışmaya alınmıştır. Çalışmamızda, çalışılan moleküllerin gen ifade düzeylerini, iki basamaklı gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu kullanarak saptadık.

Hasta ve kontrol gruplarında araştırdığımız moleküllerin gen ifade düzeylerinde herhangi bir farklılık olmadığı tespit edildi. Hasta grubunda, BRCA1 ile miR-484 ( $r=0,56$ ;  $p=0,000023$ ), PARP1 ile miR-21-5p ( $r=0,66$ ;  $p=0,0001$ ), PARP1 ile miR-193b-3p ( $r=0,66$ ;  $p=0,0001$ ), kontrol grubunda ise PARP1 ile miR-21-5p ( $r=0,47109$ ;  $p=0,00055$ ) ve PARP1 ile miR-193b-3p ( $r=0,403$ ;  $p=0,00371$ ) arasında gen ifade düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı, pozitif yönde bir korelasyon saptandı.

Tartışma: BRCA1 ve PARP1 gen ifadesi ile bu moleküllerin düzenleyicisi olan mi-RNA gen ifade düzeyleri arasındaki ilişki, birbiriyle bağlantılı olduğunu doğrular niteliktedir.

Sonuçlarımızın bu alanda yapılacak çalışmalara temel oluşturacağını umut etmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: BRCA1, DNA Hasarı, KAH, miRNA, PARP1

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kardiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul.

## Investigation of Expression of Molecules and Related Micro RNAs Playing a Role in DNA Damage Repair Process in Coronary Artery Patients

Narmina Malikova<sup>1</sup>  
Gizem Erdoğan<sup>1</sup>  
Eser Durmaz<sup>2</sup>  
Bilgehan Karadağ<sup>2</sup>  
Mehmet Güven<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University Cerrahpaşa-Cerrahpaşa Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Istanbul.

<sup>2</sup>Istanbul University Cerrahpaşa-Cerrahpaşa Faculty of Medicine Department of Cardiology, Istanbul.

### ABSTRACT

When atherosclerosis is seen in the vessels feeding the heart, it is called coronary artery disease (CAD); It is a pathological condition that develops with the accumulation of cholesterol in the wall of the vessels that feed the heart and prevents the blood flow. PARP1 and BRCA1 are important proteins involved in DNA repair. Expression of PARP1 can be regulated by miR-21-5p and miR-193b-3p and BRCA1 by miR-484. In our study, it is aimed to examine the gene expression states of these molecules and their relationships with each other.

In our study, 50 coronary artery disease patients and 50 healthy controls were evaluated who referred to İstanbul University - Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty Department of Cardiology. We evaluated BRCA1 and PARP1 gene expression level by using qRT-PCR method.

In the patient group, BRCA1 with miR-484 ( $r = 0.56$ ;  $p = 0.000023$ ), PARP1 with miR-21-5p ( $r = 0.66$ ;  $p = 0.0001$ ), PARP1 with miR-193b-3p ( $r = 0.66$ ;  $p = 0.0001$ ), in the control group PARP1 with miR-21-5p ( $r = 0.47109$ ;  $p = 0.00055$ ) and PARP1 with miR-193b-3p ( $r = 0.403$ ;  $p = 0.00371$ ) in terms of gene expression levels of a statistically significant positive correlation was found.

Discussion: The relationship between BRCA1 and PARP1 gene expression and mi-RNA gene expression levels, which are the regulators of these molecules, confirms their interconnectedness.

We hope that our results will form the basis for further studies in this area.

Keywords: BRCA1, DNA Damage, KAH, miRNA, PARP1

## Türk Fanconi Anemisi hastalarında HLA alel sıklığı ve ilişkisi

Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>  
Hayriye Şentürk Çiftçi<sup>1</sup>  
Behnoush Nasr Zanjani<sup>1</sup>  
Çiğdem Kekik Çınar<sup>1</sup>  
Tiraje Tülin Celkan<sup>2</sup>  
Nevin Yalman<sup>3</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Doku Tipleme Laboratuvarı, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Bölümü, İstanbul.

<sup>3</sup>Yeditepe Üniversitesi Hastanesi, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Bölümü, Çocuk Kemik İliği Nakil Merkezi, İstanbul.

### ÖZET

Fanconi anemisi (FA), kemik iliği yetmezliği, çeşitli konjenital fiziksel anomaliler, kansere yatkınlık, kromozomal instabilite ve çapraz bağlama ajanlarına aşırı duyarlılık ile karakterize otozomal resesif geçişli bir çocukluk çağı hastalığıdır. Daha önceki bazı çalışmalar, FA'li hastalarda belirli İnsan Lökosit Antijeni (HLA) alellerinin daha yüksek frekanslarını bildirmiştir. Bu çalışmanın amacı, Türk FA hastalarında HLA alellerinin sıklığını belirlemektir.

Fanconi anemisi olan 86 Türk hasta ve 300 sağlıklı kontrolde HLA-A,-B,-DRB1 alellerini genotiplendirdik. HLA-A,-B ve -DRB1 alellerini saptamak için polimeraz zincir reaksiyonu dizisine özgü oligonükleotit kullanıldı. Ki-kare veya Fisher'in kesin testi kullanıldı.

Fanconi Anemili hastalarda en sık görülen sınıf I ve sınıf II HLA alelleri sırasıyla HLA-A\*02 (%21,5), HLA-B\*35 (%20,9) ve HLA-DRB1\*11 (%19,2) idi. Sağlıklı kontrollerde en yaygın sınıf I ve sınıf II HLA alelleri HLA-A\*02 (%25,3), HLA-B\*35 (%17,2) ve HLA-DRB1\*04 (%17,2), HLA-DRB1\*11 idi. sırasıyla (%16,8). HLA-A\*03, HLA-B\*38, HLA-B\*14 alellerinin sıklığı, sağlıklı kontrollere kıyasla FA'li hastalarda anlamlı olarak daha yüksekti (OR=2.118, p=0.015; OR=1.993, p=0.047; VEYA =3.757, sırasıyla p<0.0001). HLA-A\*23, HLA-DRB1\*07'nin alel sıklığı, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında FA ile anlamlı olarak daha düşüktü (sırasıyla OR=0.169, p=0.001; OR=0.433, p=0.023).

FA hastalarında yüksek frekansa sahip olan HLA alelleri, hastaların durumunu belirleyen immunregülasyonun ana faktörüdür. Bu sonuçlar, immün regülasyon, T hücresi alloreaktif tanıma ve transplantasyon prosedürleri sırasındaki komplikasyonların patogenezi üzerindeki etkilerini belirlemeye yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Fanconi Anemisi, HLA, PZR, frekans

## HLA alleles frequencies and susceptibility to Fanconi Anemia in a group of Turkish patients

Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>  
Hayriye Şentürk Çiftçi<sup>1</sup>  
Behnoush Nasr Zanjani<sup>1</sup>  
Çiğdem Kekik Çınar<sup>1</sup>  
Tiraje Tülin Celkan<sup>2</sup>  
Nevin Yalman<sup>3</sup>

### ABSTRACT

Fanconi anemia (FA) is an autosomal recessive childhood disease characterized by bone marrow failure, various congenital physical anomalies, susceptibility to cancer, chromosomal instability, and hypersensitivity to cross-linking agents. Some previous studies reported higher frequencies of certain Human Leukocyte Antigen (HLA) alleles in patients with FA. The aim of this study is to determine the role of HLA alleles in Turkish FA patients.

We genotyped HLA-A,-B,-DRB1 alleles in 86 Turkish patients with Fanconi anemia and 300 healthy controls. The polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide was used to analyze of HLA-A, -B and -DRB1 alleles. Chi-square or Fisher's exact test were used.

The most common class I and class II HLA alleles in patients with FA were HLA-A\*02 (21.5%), HLA-B\*35 (20.9%), and HLA-DRB1\*11 (19.2%) respectively. The most common class I and class II HLA alleles in healthy controls were HLA-A\*02 (25.3%), HLA-B\*35 (17.2%), and HLA-DRB1\*04 (17.2%), HLA-DRB1\*11 (16.8%) respectively. The frequency of HLA-A\*03, HLA-B\*38, HLA-B\*14 alleles were significantly higher in patients with FA compared with healthy controls (OR=2.118, p=0.015; OR=1.993, p=0.047; OR=3.757, p<0.0001 respectively). The allele frequency of HLA-A\*23, HLA-DRB1\*07 were significantly lower in with FA as compared with healthy controls (OR=0.169, p=0.001; OR=0.433, p=0.023 respectively).

HLA alleles, which have a high frequency in FA patients, are the main factor for immunoregulation that determines the status of patients. These results will help to determine the effects of these results on immune regulation, T cell alloreactive recognition, and the pathogenesis of complications during transplantation procedures.

Keywords: Fanconi Anemia, HLA, PCR, frequency

<sup>1</sup>Istanbul University, Faculty of Medicine, Tissue Typing Laboratory, Department of medical Biology, Istanbul.

<sup>2</sup>Istinye University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Hematology and Oncology, Istanbul.

<sup>3</sup>Yeditepe University Hospital, Department of Pediatric Hematology and Oncology, Pediatric Bone Marrow Transplant Center, Istanbul.

## Membranöz Nefropatili Hastalarda PLA2R1 Polimorfizmi ve GDF-15 Düzeyinin Etkisi

Aida Adikozalova<sup>1</sup>  
Hayriye Şentürk Çiftçi<sup>1</sup>  
Sebahat Usta Akgül<sup>1</sup>  
Erol Demir<sup>2</sup>  
Halil Yazıcı<sup>2</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>  
Çiğdem Kekik Çınar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı, İstanbul.

### ÖZET

Membranöz nefropati (MN), erişkinlerde nefrotik sendromun en sık nedenidir. Büyüme farklılaşma faktörü (GDF)-15, strese duyarlı bir sitokindir ve seviyesinin kardiyovasküler hastalıklar, obezite, insülin direnci, kronik böbrek hastalığında arttığı ve hastalığın ilerlemesi ve prognozu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Fosfolipaz A2 reseptörü (PLA2R1), mannoz reseptör ailesine ait glikoproteindir. PLA2R1'in idiyopatik MN patogenezi ile ilişkili olduğu bulunmuş ve PLA2R1 antikorlarının varlığı hastalık ile ilişkili bulunmuştur. Çalışmanın amacı, GDF-15 düzeyi ve PLA2R1 rs35771982'nin Membranöz Nefropati ile ilişkisini araştırmaktır.

Çalışmaya MN'li 88 hasta ve 101 sağlıklı birey dahil edildi. Hastaların serum GDF-15 düzeyleri ELISA yöntemi ile çalışıldı. Hasta ve kontrol gruplarının PLA2R1 rs35771982'si Real Time PCR yöntemi ile incelendi.

Yaşlı hastalarda GDF-15 düzeyi yüksek bulundu ve GDF-15'i yüksek olan hastalarda eGFR'de düşüş gözlemlendi. GDF-15 düzeyi düşük olan hastaların remisyonda olduğu görüldü. Hastaları sağlık kontrolleri ile karşılaştırdığımızda hastalarda rs35771982 GG genotipi anlamlı olarak yüksek bulundu.

Bizim bulgularımız doğrultusunda serum GDF-15, membranöz nefropati tanısı için olmasa da hastalığın ilerlemesini öngörmede kullanılabilecek bir biyobelirteç olabilir. PLA2R1 rs35771982 GG genotipinin MN'ye yakınlıkla ilişkili olduğunu bulduk. Literatüre destek olarak Türk popülasyonunda en sık rs35771982 genotipinin CG genotipi olduğunu tespit ettik.

Anahtar Kelimeler: PLA2R1, GDF-15, Membranöz nefropati, rs35771982

## The Effect Of PLA2R1 Polymorphism And GDF-15 Level In Patients With Membranous Nephropathy

Aida Adikozalova<sup>1</sup>  
Hayriye Şentürk Çiftçi<sup>1</sup>  
Sebahat Usta Akgül<sup>1</sup>  
Erol Demir<sup>2</sup>  
Halil Yazıcı<sup>2</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>  
Çiğdem Kekik Çınar<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Membranous nephropathy (MN) is the most common cause of nephrotic syndrome in adults. Growth differentiation factor (GDF)-15 is a stress-sensitive cytokine and its level has been shown to be increased in cardiovascular diseases, obesity, insulin resistance, chronic kidney disease and associated with disease progression and prognosis. Phospholipase A2 receptor (PLA2R1) is glycoprotein belonging to the mannose receptor family. PLA2R1 was found to be associated with idiopathic MN pathogenesis and the presence of PLA2R1 antibodies was supported by the diseases. In this study, the relation of GDF-15 level and PLA2R1 rs35771982 with Membranous Nephropathy was investigated.

The study included 88 patients with MN and 101 healthy individuals. The serum GDF-15 level of the patients was studied by ELISA method. PLA2R1 rs35771982 of the patient and control groups were examined by Real Time PCR method.

GDF-15 level was found to be high in elderly patients and a decreases in eGFR was observed in patients with high GDF-15. Patients with low GDF-15 levels were found to be in remission. When we compared patients with health controls, rs35771982 GG genotype was found to be significantly higher in patients.

In line with our findings, serum GDF-15 may be a biomarker that can be used to predict the progression of the disease, not to diagnosed membranous nephropathy. We found that the PLA2R1 rs35771982 GG genotype was associated with susceptibility to MN. In support of the literature, we found that the most common rs35771982 genotype in the Turkish population was the CG genotype.

Keywords: PLA2R1, GDF-15, Membranous nephropathy, rs35771982

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul.

<sup>2</sup>Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul.

## Prostat kanseri hücrelerinin salinomisin ve Wnt yolu inhibitörü ile ön tedavisi, apoptozu uyarır ve proliferasyonu inhibe eder

Rıza Serttaş  
Suat Erdoğan

### ÖZET

Kanseri başlatan hücreler, yani kanser kök hücreleri (KKH), hastalığın tekrarlamasına neden olarak ilaca direnç geliştirebilir veya kemoterapinin etkinliğini azaltabilir. Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolu, KKH'nin hayatta kalmasındaki ana aktörlerden birisidir. Bu nedenle, Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yolağının inhibisyonu, kemoterapi ajanlarının etkisini artırabilir. Salinomisin, KKH'nin hayatta kalmasını, kök hücre özelliklerinin devamlılığını ve hücre göçü yeteneğini seçici olarak inhibe etmektedir. Bu çalışmada, kemoterapötik ajan olan kabazitaksel uygulamasından önce Wnt yolağı inhibitörü XI ve salinomisin ön tedavisinin, KKH ve ayrıca solid tümör dokularını ortadan kaldırarak terapi etkinliğini artıracığı varsayılmıştır.

İnsan kastrasyona dirençli prostat kanseri hücreleri (PC3), 48 saat boyunca 6,25  $\mu$ M Wnt inhibitörü XI ve 0,5  $\mu$ M salinomisine, ardından 48 saat boyunca 2,5 nM kabazitaksele maruz bırakıldı. Daha sonra hücre sağkalım oranı MTT testi ile belirlendi. Apoptoz, görüntüleme temelli sitometri ve Hoechst 33342 boyama ile değerlendirildi. mRNA ve protein ekspresyonu, sırasıyla RT-qPCR ve Western blotlama yöntemleri ile analiz edildi.

Bu çalışmada kullanılan tedavi stratejisi, tekli tedavilere kıyasla daha yüksek sitotoksik etki oluşturmasının yanında apoptoz oranını da önemli ölçüde artırdı. Hücrelere ön tedavi uygulanması, kaspaz 3, kaspaz 8, Bax, Apaf 1 ve sitokrom c'nin ekspresyonunu önemli ölçüde artırdı. Ayrıca, Bcl-XL'nin mRNA ekspresyonu, Bcl-2'nin protein ekspresyonu ve transkripsiyon faktörü olan NF- $\kappa$ B protein ekspresyonunun, tedavi ile birlikte önemli oranda azaldığı tespit edildi.

Verilerimiz kabazitaksel kemoterapisinden önce wnt inhibitörü ve salinomisin uygulamasının terapi etkinliğini potansiyel olarak artırdığını gösterdi. Kastrasyona dirençli prostat kanseri tedavisinde bu stratejinin uygulanabilirliğinin in vivo olarak test edilmesini öneriyoruz.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, kemoterapi, prostat kanseri, salinomisin, wnt yolağı

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Trakya Üniversitesi, Balkan Yerleşkesi, Edirne, Türkiye.



## Pretreatment of prostate cancer cells by salinomycin and Wnt inhibitor induces apoptosis and inhibits proliferation

Riza Serttaş  
Suat Erdoğan

### ABSTRACT

Cancer-initiating cells, namely cancer stem cells (CSCs), may develop drug resistance or decrease the effectiveness of chemotherapy by causing the disease to relapse. The Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway is one of the main actors in CSC survival. Therefore, inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling may enhance the effect of chemotherapy agents. Salinomycin selectively inhibits CSC survival, stemness properties and cell migration. In this study, it was hypothesized that pretreatment of Wnt inhibitor XI and salinomycin prior to chemotherapeutic agent cabazitaxel administration would increase therapy efficacy by eliminating CSCs as well as bulky tumor cells.

Human castration-resistant prostate cancer PC3 cells were exposed to 6.25  $\mu$ M Wnt inhibitor XI and 0.5  $\mu$ M salinomycin for 48 hours, followed by 2.5 nM cabazitaxel for an additional 48 hours. Then, the cell survival was determined by MTT test. Apoptosis was assessed by image-based cytometry and Hoechst 33342 staining. Selected mRNA and protein expression were performed by RT-qPCR and Western blotting, respectively.

The treatment strategy significantly increased the rate of apoptosis while producing higher cytotoxic effects compared to single treatments. Pretreatment of the cells significantly upregulated the expression of caspase 3, caspase 8, Bax, Apaf 1 and cytochrome c. Besides, mRNA expression of Bcl-XL, protein expression of Bcl-2 and transcription factor NF- $\kappa$ B were downregulated by the treatment.

Our data showed that administration of the Wnt inhibitor and salinomycin prior to cabazitaxel chemotherapy potentially increases therapy efficacy. We suggest testing the feasibility of this strategy in the treatment of castration-resistant prostate cancer in vivo.

Keywords: Apoptosis, chemotherapy, prostate cancer, salinomycin, wnt pathway

Department of Medical Biology, School of Medicine,  
Trakya University, Balkan Campus, Edirne, Turkey.

## Kemik iliği mezenkimal kök hücre yaşlanmasında PKNOX2 transkripsiyon faktörü NF-κB/p65'e eşlik ediyor olabilir

Esra Koçak  
Özge Burcu Şahan  
Duygu Uçkan Çetinkaya  
Ayşen Günel Özcan

### Ö Z E T

Kemik iliği mezenkimal kök hücreleri (Kİ-MKH) kültür ortamında pasajlamalar sırasında fizyolojik değişimlere uğrar, kök hücre özelliklerinin yitilmesiyle sonuçlanan replikatif senesense girer. Kültür ortamında yaşlanma H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi oksidatif strese yol açan eksojen faktörlerle de indüklenebilir. Çalışmamızda in vitro koşullarda replikatif yaşlandırılan ve oksidatif stres oluşturulan Kİ-MKH'lerde 1) NF-κB/p65 ve PKNOX2 protein düzeylerinin incelenmesi, 2) PKNOX2-proteomiks çalışmamızda saptamış olduğumuz NF-κB/p65 ve PKNOX2 etkileşiminin doğrulanması amaçlandı.

Kİ-MKHlerde replikatif senesens pasaj ilerletmeleriyle, stres kaynaklı yaşlanma ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklendi. Senesens belirteçleri olan SA-β-Gal aktivitesi ve p21 ve p16 protein düzeyleri pasaj 6, 9 ve 12'de sırasıyla sitokimyasal boyama ve western blotlama ile incelendi. γH2AX odakları immünofloresans yöntemiyle incelenerek genomik stres belirlendi. PKNOX2, NF-κB/p65 seviyelerindeki değişimler western blot analizleriyle belirlendi. PKNOX2 ve NF-κB/p65 protein-protein etkileşimleri hem PLA hem de co-IP teknikleriyle incelendi. Replikatif yaşlanma ile etkileşimde meydana gelen değişimler PLA analiziyle incelendi.

Çalışmamızla PKNOX2 protein seviyelerinin replikatif senesens ve oksidatif stresle azalma eğiliminde olduğu ilk kez gösterildi. NF-κB/p65 seviyeleri özellikle metabolik aktiviteyi bozmayan 200μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stres koşulunda arttı. PKNOX2 ve NF-κB/p65 etkileşimleri PLA ve ko-IP teknikleriyle doğrulandı. PLA analizleri PKNOX2 ve NF-κB/p65 etkileşimlerinin Kİ-MKHlerde hem sitoplazmada hem de çekirdekte var olduğunu gösterdi. Etkileşimler pasaj9'da artarken pasaj12'de azaldı.

Sonuç olarak PKNOX2, NF-κB/p65 ile birlikte Kİ-MKH yaşlanmasında rol oynayabileceği yönünde ilk bulgular elde edildi.

Bu proje Hacettepe Üniversitesi-BAP ile desteklenmiştir (Proje numarası:THD-2019-18451).

Anahtar Kelimeler: Mezenkimal Kök Hücreler, NF-κB/p65, PKNOX2, Replikatif Yaşlanma

Hacettepe Üniversitesi, Kök Hücre Bilimleri Ana Bilim Dalı, Ankara.

## Transcription factor PKNOX2 may be associated with NF- $\kappa$ B/p65 in bone marrow derived mesenchymal stem cell senescence

Esra Koçak  
Özge Burcu Şahan  
Duygu Uçkan Çetinkaya  
Ayşen Günel Özcan

Hacettepe University, Department of Stem Cell Sciences, Ankara.

### ABSTRACT

Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) undergo physiological changes during passages in culture, resulting in replicative senescence with loss of stem cell properties. Senescence can also be induced by exogenous factors in culture media, such as H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. In our study, we aimed to 1)examine the protein levels of NF- $\kappa$ B/p65 and PKNOX2 in vitro with replicative senescence and oxidative stress induced BM-MSCs 2)confirm the interaction of NF- $\kappa$ B/p65 and PKNOX2, which we had detected in PKNOX2-proteomics study.

In BM-MSCs, replicative senescence was induced by serial passaging, stress-induced senescence was induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The senescence biomarkers, SA- $\beta$ -Gal activity and protein levels of p16 and p21 were analyzed by cytochemical staining and western blotting at passage 6, 9 and 12.  $\gamma$ H2AX foci were examined by immunofluorescence staining to determine genomic stress. Changes in PKNOX2 and NF- $\kappa$ B/p65 protein levels were determined by western blot analysis. Interactions of PKNOX2 and NF- $\kappa$ B/p65 were examined by both PLA and co-IP techniques.

Our results revealed that PKNOX2 tended to decrease with replicative senescence and oxidative stress. NF- $\kappa$ B/p65 levels increased notably with 200 $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, which did not impair metabolic activity in BM-MSCs. PKNOX2 and NF- $\kappa$ B/p65 interactions were confirmed by PLA and co-IP. PLA analysis showed that interactions of PKNOX2 and NF- $\kappa$ B/p65 existed both in the cytoplasm and nucleus of BM-MSCs. These interactions increased in passage9 and decreased in passage12.

In conclusion preliminary findings were obtained that PKNOX2 may play a role in senescence of BM-MSC with NF- $\kappa$ B/p65.

This project was supported by Hacettepe University-BAP (Project number:THD-2019-18451).

Keywords: Mesenchymal Stem Cells, NF- $\kappa$ B/p65, PKNOX2, Replicative Senescence

## Esansiyel Trombositoz; CALR geni ekzon 9'da saptanan yeni bir patojenik variant

Ahmet Burak Arslan  
Betül Okur Altındaş  
Ayşe Gül Zamani  
Betül Turan  
Sümeyye Kaya  
Mahmut Selman Yıldırım

### ÖZET

**Giriş:** Esansiyel Trombositemi (ET); Miyelofibroz (MF) ve Polisitemi Vera (PV) ile birlikte Philadelphia Kromozomu Negatif Miyeloproliferatif Neoplazmaları olarak bilinen heterojen bozukluklar grubundaki üç fenotipten biridir. Klinik tabloyu genellikle yorgunluk, kaşıntı, kilo kaybı, splenomegali ve değişken laboratuvar anomalileri oluşturmaktadır. ET; reaktif trombositoz olmaksızın  $450 \times 10^9/L$ 'den yüksek trombosit sayısı, kemik iliği biyopsisinde megakaryositik proliferasyon ve JAK2, CALR ve/veya MPL genlerinde saptanan patojenik varyantlar ile karakterizedir. 1. Tahmini prevalansı yaklaşık %0.038 ile %0.057 arasındadır. 2. Bu çalışmada, CALR geninde daha önce tanımlanmamış patojenik varyant saptadığımız bir vakayı sunarak ET'nin moleküler patofizyolojisi hakkındaki literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

**Vaka:** 80 yaşında kadın hasta, tekrarlayan senkoplar ile başvurdu. Hastanın anamnezinde, nörolojik ve kardiyolojik sistem muayenelerinde ek özellik saptanmadı. Tam kan sayımında, trombosit sayısı  $700 \times 10^3/L$  idi. Son 5 yıl süresince yapılan takiplerinde trombosit sayısı  $538 \times 10^3/L$  ile  $700 \times 10^3/L$  arasında, MPV'si 7.2 ile 10.3 fL arasında seyretmişti. Periferik kan yaymasında, trombositlerde ve miyeloid progenitör hücrelerde artış gözlemlendi. Klinik tablosu ET ile uyumluydu. Tıbbi genetik bölümüne sevk edilen hastada JAK2, MPL, CALR ve CSF3R genleri yeni nesil dizi analizi ile incelendi. CALR geninde tek nükleotid delesyonu (c.1125del / K375Nfs\*55), 82%lik allel fraksiyonu ile saptandı.

**Tartışm:** CALR patojenik varyantları, ET hastalarının %29 kadar yüksek bir kısmında gösterilmiştir. 3 Myeloproliferatif neoplazmlar hakkındaki en güncel NCCN Kılavuzları, CALR varyantları MPN tanısında önemli bir kriter olarak belirtilmiştir. CALR genlerinde görülen patojenik varyantların çoğu, ekzon 9 içindeki indellerdir ve yeni nesil dizileme ile saptanabilir. Hastamızda görülen ve literatürde daha önce bildirilmemiş bu varyantın rapor edilmesi, bu bölgedeki indellerin önemini daha iyi kavramak açısından faydalı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** CALR, esansiyel trombositoz, ekzon 9

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Konya.

## Novel pathogenic variant in the exon 9 of the CALR gene in a patient with essential thrombocythemia

Ahmet Burak Arslan  
Betül Okur Altındaş  
Ayşe Gül Zamani  
Betül Turan  
Sümeyye Kaya  
Mahmut Selman Yıldırım

Necmettin Erbakan University Meram Faculty of  
Medicine, Department of Medical Genetics, Konya.

### ABSTRACT

**Introduction:** Essential Thrombocythemia(ET) is one of the phenotypes in the group of heterogenous disorders collectively known as Philadelphia Negative Myeloproliferative Neoplasms.In ET, the most common findings are a platelet count of greater than  $450 \times 10^9/L$  and a pathogenic genetic alteration detected in either JAK2, CALR and/or MPL genes.The estimated prevalence of ET was shown to be approximately between 0.038 to 0.057%.In this study, by phenotypically correlating a previously undefined pathogenic variant in the CALR gene, we aimed to contribute to the literature.

**Case:** The proband was a 80 year old female, presented with the primary symptom of recurrent syncope.Additional features weren't found in the patient's anamnesis and examinations.CBC revealed a platelet count of  $700 \times 10^3/L$ .In her 5-year follow-up, platelet count was between  $538 \times 10^3/L$ - $700 \times 10^3/L$  and MPV was between 7.2-10.3 fL.A blood peripheral smear showed increased thrombocytes and myeloid progenitor cells. Her clinical picture was in concordance with ET.NGS analysis of JAK2, MPL, CALR and CSF3R genes were performed; and showed a single nucleotide deletion in the CALR gene(c.1125del / K375Nfs\*55), with an allele frequency of 82%.

**Discussion:** CALR pathogenic variants was shown to be harboured in as high as 29% of ET patients. The latest NCCN Guidelines about myeloproliferative neoplasms enlists CALR variants as a major criterion in the diagnosis of MPNs. Most of the mutations seen in CALR genes are indels within exon 9.Reporting the particular locus seen in our patient which was never reported before could be useful; to further delineate the importance of indels within this region.

**Keywords:** CALR, essential thrombocytosis, exon 9

## Hipertrofik Kardiyomiyopati Hastalarında $\beta$ 1-adrenoreseptör Gen Polimorfizmlerinin Sıklığının Araştırılması

Elif Çıtak<sup>1</sup>  
Gizem Erdoğan<sup>1</sup>  
Damla Koca<sup>2</sup>  
Eser Durmaz<sup>2</sup>  
Mehmet Güven<sup>1</sup>

### ÖZET

Hipertrofik kardiyomiyopati (HKMP), kardiyomiyosit hipertrofisi ve fibrozisi ile karakterize otozomal dominant bir hastalıktır.  $\beta$ 1-adrenoreseptörler (ADRB1) kalp, böbrek ve yağ dokuda bulunan, sempatik cevabı kontrol eden G protein ile kenetlenmiş reseptörlerdir. ADRB1 geninin C-terminal bölgesinde yer alan 389. pozisyonundaki Arjinin yerine Glisin (Arg389Gly) gelmesi ve 49. pozisyonundaki Serinin yerine Glisin (Ser49Gly) gelmesine yol açan polimorfizmlerinin klinik önemi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı, HKMP hastalarında ADRB1 gen polimorfizminin hastalığa eğilimindeki rolünün araştırmaktır.

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'nda HKMP tanısı konulmuş hastalar ve sağlıklı kontroller çalışmaya katılmıştır. Ser49Gly polimorfizmi ile ilgili genotiplemeyi, 230 (137 HKMP ve 93 kontrol) kişide ve Arg389Gly polimorfizmi ile ilgili genotiplemeyi 197 (115 HKMP ve 82 kontrol) kişide, iki basamaklı gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu kullanarak saptadık.

Ser49Gly polimorfizmi için hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Arg389Gly polimorfizmi için hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla homozigot genotipte anlamlı fark saptandı ( $p < 0.001$ ). Gly389Gly genotipi hastalığa eğilim yaratmaktadır.

Tartışma: Literatürde yapılan çalışmalarda hipertansiyon ve kalp yetersizliği gibi kardiyovasküler hastalıklarda sempatik aktivitenin ve buna bağlı olarak ADRB1 gen polimorfizmlerinin etkin rolü olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ADRB1 genindeki polimorfizmlerin HKMP'inde içinde olduğu birçok kardiyovasküler hastalığın tedavisinde sıklıkla kullanılan beta-bloker ilaçların aktivitesini de değiştirdiği gösterilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre HKMP hastalarında kontrol grubuna kıyasla Arg389Gly polimorfizminin daha fazla görüldüğü belirlenmiştir.

Çalışmamızın sonuçları, ADRB-1 Gly389Gly polimorfizminin HKMP ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: ADRB1,  $\beta$ 1-adrenoreseptör, Hipertrofik Kardiyomiyopati

<sup>1</sup>Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kardiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul.

## Frequency of $\beta$ 1-adrenoreceptor Gene Polymorphisms in Hypertrophic Cardiomyopathy Patients

Elif Çıtak<sup>1</sup>  
Gizem Erdoğan<sup>1</sup>  
Damla Koca<sup>2</sup>  
Eser Durmaz<sup>2</sup>  
Mehmet Güven<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is an autosomal dominant disease characterized by cardiomyocyte hypertrophy and fibrosis.  $\beta$ 1-adrenoreceptors (ADRB1) are G protein-coupled receptors found in the heart, kidney, and adipose tissue that control the sympathetic response. Amino acid substitution and related polymorphic variations can be seen naturally in the gene encoding ADRB1. Some of these are the forms formed by replacing Arginine at position 389 with Glycine (Arg389Gly) in the C-terminal region of the ADRB1 gene and replacing Serine at position 49 with Glycine (Ser49Gly). The aim of this study is to investigate the ADRB1 gene polymorphism in HCM patients.

Patients diagnosed with HCM and healthy controls participated in the study. In our study, we detected changes in ADRB1 gene polymorphisms Ser49Gly in 230 patients (137 HCM and 93 Control) and Arg389Gly in 197 patients (115 HCM and 82 Controls) using a real-time quantitative polymerase chain reaction.

There was no significant difference between the patient and control groups for Ser49Gly polymorphism. There was a significant change in homozygous genotype for Arg389Gly polymorphism in the patient group compared to the control group ( $p < 0.001$ ).

Discussion: Many studies had demonstrated that sympathetic activity and, accordingly, ADRB1 polymorphisms have an effective role in cardiovascular diseases. Also, it has been reported that ADRB1 gene polymorphisms may change the activity of beta-blocker agents, which are frequently used in the treatment of many cardiovascular diseases, including HCM.

Our results demonstrated that the Gly389Gly polymorphism in the ADRB1 gene was significantly associated with HCM.

Keywords: ADRB1,  $\beta$ 1-adrenoreceptor, Hypertrophic Cardiomyopathy

<sup>1</sup>Istanbul University Cerrahpasa- Cerrahpasa Medical Faculty Department of Medical Biology, Istanbul.

<sup>2</sup>Istanbul University Cerrahpasa- Cerrahpasa Medical Faculty Department of Cardiology, Istanbul.

## Diyabetli hastalarında albuminüri ve kardiyovasküler hastalık patogenezi ile ilişkili sinyal yollarının araştırılması

Meltem Seziş Demirci<sup>1</sup>  
Neslihan Pınar Özateş<sup>2</sup>  
Aslı Tetik Vardarlı<sup>2</sup>  
Leila Sabour Takanlou<sup>2</sup>  
Elton Soydan<sup>3</sup>  
Mehmet Erdoğan<sup>4</sup>  
Mehmet Özkahya<sup>1</sup>  
Gökhan Atay<sup>5</sup>  
Çığır Biray Avcı<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nefroloji Bilim Dalı, İzmir.

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ad, İzmir.

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Bilim Dalı, İzmir.

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri, İzmir.

<sup>5</sup>Bakırçay Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nefroloji, İzmir.

### ÖZET

Diyabet, erken morbidite ve mortalite açısından küresel bir tehlike göstermekte olup tüm dünyadaki ölümlerin 5. nedenidir. Diyabetik hastalarda artmış kardiyovasküler riskin idrarda albuminüri varlığı ile yakın ilişkili olduğu bugüne kadar pek çok çalışmada gösterilmiştir ve albuminürinin renin anjiyotensin inhibitörleri ile azaltılmasının kardiyak olay görülme sıklığını azalttığı bilinmektedir. Bu mikrovasküler bir komplikasyon olup Tip 1 diyabetli hastaların yaklaşık %30'unda ve Tip 2 diyabetli hastaların yaklaşık %40'ında gelişmektedir. Diyabetik hastalarda mikroalbuminürinin son dönem böbrek yetmezliğine progresyonu ve kardiyovasküler olayları ön görmede iyi bir gösterge olduğu yapılmış çalışmalarda düşünülse de yine de daha erken, duyarlı ve spesifik markırlara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda, 40 diyabetik hasta ve kontrol olarak seçilen sağlıklı kişiden elde edilen idrar örnekleri kullanılarak RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Total RNA örneklerinden cDNA sentezi gerçekleştirilerek, AMPK, Wnt/ $\beta$ -catenin, mTOR, Rho /ROCK ve Endoplazmik Retikulum Stresi-aracılı sinyal yollarına ait 92 genlerdeki ekspresyon değişimlerinin belirlenmesi için qPCR çalışması RT<sup>2</sup> Profiler™ PCR Array Custom plakalar kullanarak gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen bulgular Tip1 ve Tip2 diyabetik hastalarında Wnt/ $\beta$ -catenin yolağına ait genlerin: GSK3, APC ve Axin genlerin down-regülasyonu, DVL1 ve Wnt1 genlerin up-regüle edildiği gösterilmiştir. Diyabetik hastalarında ER stresi ile ilişkili XBP1, ATF4 ve HSPA5 genlerin down-regüle edildiği gösterilmiştir. RhoA yolağına ait RhoA ve RAC1 genlerin ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir. mTOR ve RPTOR genlerin up-regüle olduğu ve RicTOR ve MLST8 genleri down-regüle oldukları gösterilmiştir. Diyabetik hastalarda kardiyovasküler riskini daha erken aşamada, mTOR ve RhoA sinyal yolları belirteç olarak kullanılabilirliği öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kardiyovasküler, Albuminüri, Diyabetik, Sinyal yolları



## Investigation of signaling pathways associated with albuminuria and cardiovascular disease pathogenesis in patients with diabetes

Meltem Seziş Demirci<sup>1</sup>  
Neslihan Pınar Özateş<sup>2</sup>  
Aslı Tetik Vardarlı<sup>2</sup>  
Leila Sabour Takanlou<sup>2</sup>  
Elton Soydan<sup>3</sup>  
Mehmet Erdoğan<sup>4</sup>  
Mehmet Özkahya<sup>1</sup>  
Gökhan Atay<sup>5</sup>  
Çığır Biray Avcı<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department Of Nephrology, Faculty Of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>2</sup>Department Of Medical Biology, Faculty Of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>3</sup>Department Of Cardiology, Faculty Of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>4</sup>Ege University, Faculty Of Medicine, Internal Medicine, Izmir, Turkey.

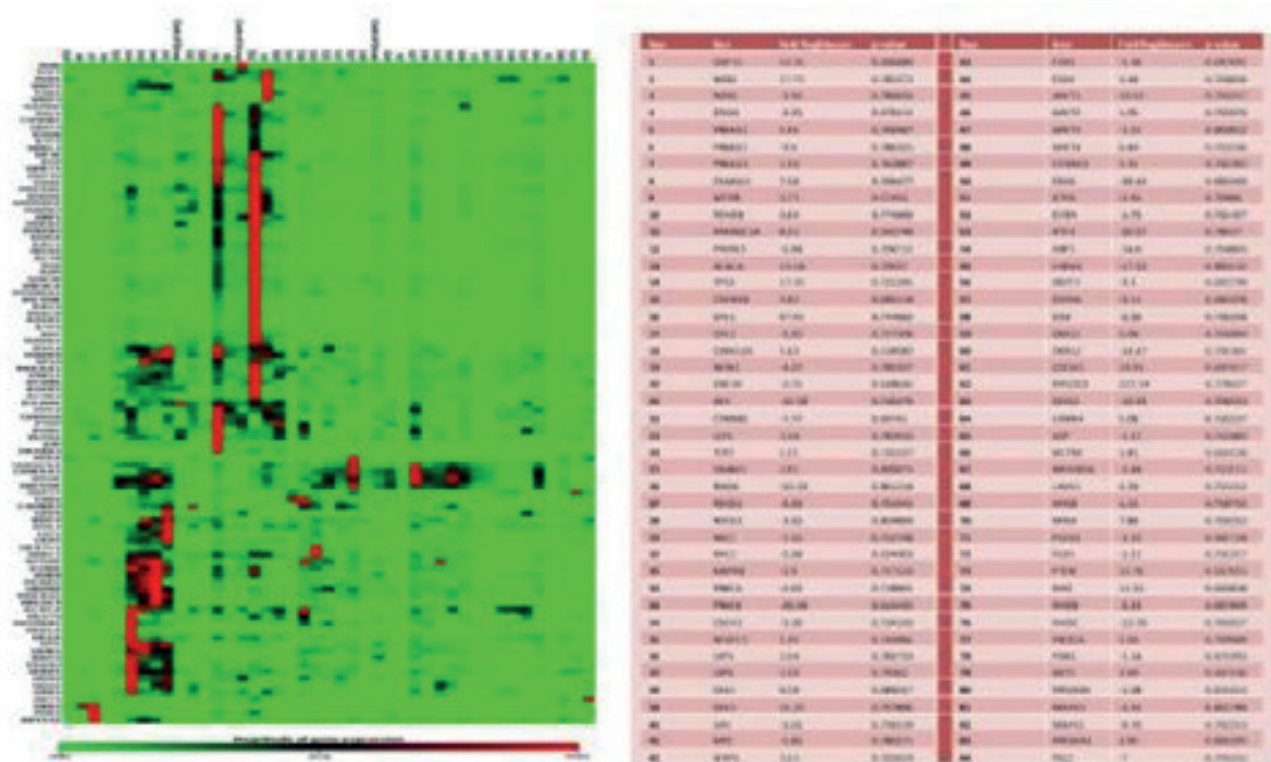
<sup>5</sup>Bakırca University, Faculty Of Medicine, Nephrology, Izmir, Turkey.

### ABSTRACT

Diabetes is a global threat in terms of early morbidity and mortality and is the fifth leading cause of death worldwide. It has been shown in many studies that increased cardiovascular risk in diabetic patients is closely associated with the presence of albuminuria in the urine, and it is known that reducing albuminuria with renin angiotensin inhibitors reduces the incidence of cardiac events. This is a microvascular complication and develops in approximately 30% of patients with Type1 diabetes and approximately 40% of patients with Type2 diabetes. Although it is thought that microalbuminuria is a good indicator in predicting the progression to end-stage renal disease and cardiovascular events in diabetic patients, earlier, sensitive and specific markers are still needed.

In our study, RNA isolation was performed using urine samples obtained from 40 diabetic patients and healthy controls. By performing cDNA synthesis, qPCR study was performed using RT<sup>2</sup> Profiler™ PCR Array Custom plates to determine expression changes in 92 genes of AMPK, Wnt/β-catenin, mTOR, Rho/ROCK and ER Stress-mediated Pathways. It has been shown that genes belonging to the GSK, APC and Axin genes are down-regulated and DVL1, Wnt1 are up-regulated in Type1, Type2 diabetic patients. It has been shown that XBP, ATF4, HSPA5 associated with ER stress are down-regulated in diabetic patients. A decrease in the expression of RhoA and RAC1 belonging to the RhoA pathway was detected. It has been shown that mTOR and RPTOR genes are up-regulated and RicTOR and MLST8 are down-regulated. It is predicted that mTOR, RhoA signaling pathways can be used as markers of cardiovascular risk in diabetic patients at an earlier stage.

Keywords: Cardiovascular, Albuminuria, Diabetes, Signaling Pathways



**Şekil 1.** Podosit hasarı ile ilişkili olabilecek sinyal yollarına ait genlerdeki (96 gen) ekspresyon değişimleri ve Heatmap grafiği

**Figure 1.** Expression changes in genes (96 genes) of signaling pathways that may be associated with podocyte damage and heatmap graph

## Diyabetik Hastalarda Podositüri ile İlişkili Olabilecek Potansiyel Markırların Araştırılması

Meltem Seziş Demirci<sup>1</sup>  
Neslihan Pınar Özateş<sup>2</sup>  
Aslı Tetik Vardarlı<sup>2</sup>  
Maryam Sabour Takanlou<sup>2</sup>  
Elton Soydan<sup>3</sup>  
Mehmet Erdoğan<sup>4</sup>  
Mehmet Özkahya<sup>1</sup>  
Gökhan Atay<sup>5</sup>  
Çiğir Biray Avcı<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nefroloji Bilim Dalı, İzmir.

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ad, İzmir.

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Bilim Dalı, İzmir.

<sup>4</sup>Ege University, Dahili Tıp Bilimleri, İzmir.

<sup>5</sup>Bakırçay Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nefroloji, İzmir.

### ÖZET

Diyabetik nefropati ve diğer kronik glomerüler hastalıklarda, glomerül içi podositlerin azalmasına paralel olarak idrarda podosit atılımı (podositüri) artmaktadır. Podositlerin ana görevi; glomerüler kapiller yatağa yapısal destek sağlaması ve glomerüler filtrasyon bariyerinin devamlılığını sağlayıp protein kaçısını engellemeleridir. Podositlerin tüm glomerül hastalıklarının aktivitesini belirleme açısından proteinüriden daha üstün olması, hassas ve spesifik hücre belirteçleri görevi görebilen benzersiz proteinler ve mRNA'lara sahip oldukça uzmanlaşmış hücreler olması, düşük döngülü ve uzun ömürlü hücreler olması nedeniyle podosit kaybına bakılarak glomerül başına düşen podosit sayısı tahmin edilerek hastalık gidişatını ön görmesi açısından biyomarkır olma potansiyeli vardır. Podositlerin en büyük dezavantajı farklılaşmış hücreler olup hasar durumunda yenilenmemeleridir.

Çalışmamızda, 40 diyabetik hasta ve kontrol olarak seçilen sağlıklı kişiden elde edilen idrar örnekleri kullanılarak RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Total RNA örneklerinden cDNA sentezi gerçekleştirilerek, qPCR çalışması için podositüri ile ilişkili olabilecek potansiyel 20 gen RT<sup>2</sup> Profiler™ PCR Array Custom plakalar kullanarak, gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen bulgular Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hastarında DAG1, TRPC6, HSPG2, CD2AP, SYNPO, TJP1, CDH1, LAMA1 genlerin down-regüle edildiğini göstermiştir. Ayrıca, diyabetik hastarında NPHS1 ve EZR genlerin ifadesinde up-regülasyon gözlenmiştir.

Sonuç olarak, podositüri ile ilgili literatürde yer alan deneysel araştırmalara mevcut çalışmada elde edilen klinik verilerin katkısı ile podositüri ile ilişkili potansiyel genlerin diyabetik hastalarda erken bir kardiyovasküler biyomarkır olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: podositüri, ateroskleroz, Diyabet

## Investigation of Potential Markers Associated with Podocyturia in Diabetic Patients

Meltem Seziş Demirci<sup>1</sup>  
Neslihan Pınar Özateş<sup>2</sup>  
Aslı Tetik Vardarlı<sup>2</sup>  
Maryam Sabour Takanlou<sup>2</sup>  
Elton Soydan<sup>3</sup>  
Mehmet Erdoğan<sup>4</sup>  
Mehmet Özkahya<sup>1</sup>  
Gökhan Atay<sup>5</sup>  
Çığır Biray Avcı<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department Of Nephrology, Faculty Of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>2</sup>Department Of Medical Biology, Faculty Of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>3</sup>Department Of Cardiology, Faculty Of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>4</sup>Internal Medicine, Faculty Of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>5</sup>Bakircay University, Faculty Of Medicine, Nephrology, Izmir, Turkey.

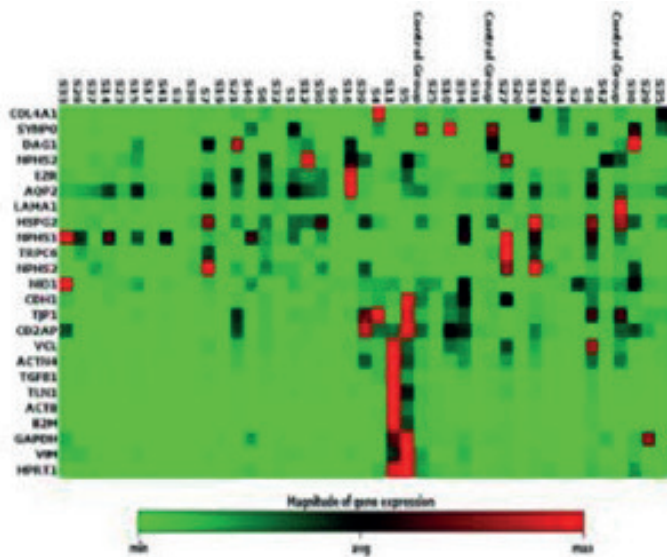
### ABSTRACT

In diabetic nephropathy and other chronic glomerular diseases, urinary podocyte excretion (podocyturia) increases in parallel with the decrease in intraglomerular podocytes. The main task of podocytes; They provide structural support to the glomerular capillary bed and prevent protein leakage by maintaining the glomerular filtration barrier. Because podocytes are superior to proteinuria in determining the activity of all glomerular diseases, they are highly specialized cells with unique proteins and mRNAs, that can act as sensitive and specific cell markers, and they are low-cycle and long-lived cells, by estimating the number of podocyte per glomeruli by looking at podocyte loss, It has the potential to be a biomarker in terms of predicting its course. The biggest disadvantage of podocytes is that they are differentiated cells and are not regenerated in case of damage.

In our study, RNA isolation was performed using urine samples obtained from 40 diabetic patients and healthy controls. By performing cDNA synthesis from total RNA samples, for the qPCR study, 20 genes of potential to be associated with podocyturia were performed using RT<sup>2</sup> Profiler™ PCR Array Custom plates.

The findings showed that DAG1, TRPC6, HSPG2, CD2AP, SYNPO, TJP1, CDH1, LAMA1 genes are down-regulated in Type 1 and Type 2 diabetic patients. In addition, up-regulation of the expression of NPHS1 and EZR genes was observed in the diabetic patient.

Keywords: Diabetes, atherosclerosis, podocyturia



Gene	Mean	Fold-Regulation	p-value
CD44	1.02		0.762884
SYMPD	-0.42		0.762884
DAG1	0.85		0.819322
HNF1B	-0.22		0.762884
E2F	0.28		0.854568
AQP2	-0.21		0.854568
LAMA1	-0.99		0.712007
HNF1B	-0.01		0.211380
TRPC6	-0.32		0.854568
HNF1B	1.12		0.812387
CDH1	1.80		0.877386
TPST	-0.81		0.841289
CDGAP	-0.26		0.762884
VCL	-0.29		0.854568
ACTH4	0.95		0.751782
TGF1	-0.99		0.854568
TLN1	0.77		0.757628
ACTB	1.44		0.812387
R2H	-0.88		0.762884
GAPDH	0.77		0.757628
VIM	1.17		0.751782

**Şekil 1.** Podositüri ilişkili genlerdeki (20 gen) ekspresyon değişimleri ve Heatmap grafiği  
**Figure 1.** Expression changes in podocyturia-related genes (20 genes) and Heatmap Graph

## Beta-Talasemi Majör Hastalarında Gamma Globin Geni Promotor Mutasyonlarının Taranması ve Yüksek Fötal Hemoglobin ile İlişkisinin Araştırılması

Murat Billor<sup>1</sup>  
Alpay Yeşilaltay<sup>2</sup>  
Türker Bilgen<sup>3</sup>  
Erdal Kurtoğlu<sup>4</sup>  
İbrahim Keser<sup>1</sup>

### ÖZET

Beta talasemi otozomal resesif kalıtılan hastalıklarından biri olup, dünyada ve ülkemizde en yaygın görülen hemoglobinopatilerdendir. Bu çalışmamızın amacı; dünyada, ülkemizde ve Antalya'da yaygın olan beta-talasemi majör (BTM) hastalarında, yetişkin dönemde mutant formda iken bazı transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını sağlayarak, fötal hemoglobinin (HbF) yükselmesine neden olduğu düşünülen ve HbF yapısında yer alan G-gamma ve A-gamma globin genlerinin promotorundaki mutasyonları taramak, HbF yüksekliği ile ilişkisini ortaya çıkarmaktır.

Çalışmada HbF'i yüksek olan 30 BTM hastasında ve talasemik olmayan 30 sağlıklı bireyde periferik kandan DNA eldesini takiben, hedefi tanıyan primerlerin kullanıldığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile G-gamma ve A-gamma promotor bölgeleri amplifiye edildi. Pürifikasyonu takiben PZR ürünleri, Sanger DNA Dizileme Yöntemi ile dizilenecek mutasyonlar için tarandı.

Çalışmaya alınan 30 BTM hastadan 27'si (13 erkek, 14 kadın) değerlendirmeye alındı. HbF değerleri %2,2 ile %61,4 arasında değişmekte olup, HbF ortalaması %11,18'di. Hastaların 20'si (%74,07) splenektomizedi. 27 BTM hastada 5 farklı beta-globin gen mutasyonu ve 7 farklı genotip bulundu. En sık görülen genotip IVS.110(G>A) homozigot olup 17 hastada tespit edildi. 27 BTM hastası ve 30 sağlıklı kontrol bireyinin hem G-gamma hem de A-gamma promotor bölgelerinin DNA dizi analizi sonucunda normal genotipte oldukları bulundu.

Çalışmamızda, Antalya toplumunda HbF'i yüksek olan BTM hastasının G-gamma ve A-gamma promotor bölgelerinin DNA dizileme yöntemi ile normal bulunması, HbF'i artıran faktörlere, yollara, epigenetik ve genom editing stratejilerine zemin oluşturması, dikkat çekmesi bakımından önemli bir bulgudur. Sonuç olarak, ilişkili sonuçlara ulaşmak için, klinik bakımdan hasta değerlendirmesinin standardize edilmesi ve hasta sayısının artırılarak çalışılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Bu araştırma TYL-2019-4566 Proje Numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Beta-talasemi major, Gamma globin, Hb F yüksekliği, Mutasyon, Promotor bölge

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya.

<sup>2</sup>Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>3</sup>Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Tekirdağ.

<sup>4</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Adem Tolunay Talasemi Merkezi, Antalya.

## Screening of Gamma Globin Gene Promotor Mutations in Patients with Beta-Thalassemia Major and Investigation of Their Relationship with High Fetal Hemoglobin

Murat Billor<sup>1</sup>  
Alpay Yeşilaltay<sup>2</sup>  
Türker Bilgen<sup>3</sup>  
Erdal Kurtoğlu<sup>4</sup>  
İbrahim Keser<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Hematology, Faculty of Medicine, Başkent University, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Nutrition and Dietetics, School of Health, Namık Kemal University, Tekirdağ, Turkey.

<sup>4</sup>Adem Tolunay Thalassemia Center, Antalya Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Antalya, Turkey.

### ABSTRACT

Beta thalassemia is one of the autosomal recessive inheritance diseases and the most common hemoglobinopathies in the world. The aim of this study was to screen for mutations in the promoter of G-gamma and A-gamma globin genes in the HbF structure and to reveal their association with HbF elevation in beta-thalassemia major (BTM) patients with high level of HbF in Antalya.

In this study, G-gamma and A-gamma promoter regions were amplified by polymerase chain reaction (PCR) following DNA extraction in 30 BTM patients with high HbF and 30 healthy controls. Following purification, PCR products were screened for mutations by the Sanger DNA Sequencing.

Of the 30 BTM patients, 27 (13M, 14F) were evaluated. HbF values ranged from 2.2% to 61.4%. The average of HbF was 11.18%. Twenty (74.07%) of the patients were splenectomized. Five different beta-globin gene mutations and 7 different genotypes were found in the patients. The most common genotype was IVS.110(G>A) homozygous in 17 patients. G-gamma and A-gamma promoter regions were found to be of normal genotype in the patients and controls by DNA sequencing.

In our study, the G-gamma and A-gamma promoter regions of BTM patients with high HbF were found to be normal by DNA sequencing. This was an important finding in terms of factors that increase HbF such as pathways, epigenetic and genome editing strategies. In conclusion, we suggest that the clinical patient evaluation should be standardized and the number of patients should be increased in order to achieve relevant results.

**Keywords:** Beta-thalassemia major, Gamma globin, HbF elevation, Mutation, Promoter region

## Beta-Talasemi Majör Hastalarında TAL1 Geni Ekspresyon Düzeyinin Belirlenmesi ve Yüksek HbF Düzeyi ile İlişkisinin Araştırılması

Tuğba Nur Uyguç<sup>1</sup>  
Alpay Yeşilaltay<sup>2</sup>  
Türker Bilgen<sup>3</sup>  
Erdal Kurtoğlu<sup>4</sup>  
İbrahim Keser<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya.

<sup>2</sup>Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>3</sup>Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Tekirdağ.

<sup>4</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Adem Tolunay Talasemi Merkezi, Antalya.

### ÖZET

Hemoglobinopatiler dünyada görülen en yaygın tek gen hastalıklarıdır. Hemoglobinopatilerden biri olan beta-talasemi için postnatal dönemde fetal  $\gamma$ -globin ekspresyonunun HbF düzeyini yükseltmesi, modifiye edici faktörlerden biri olup, hastalık semptomlarını azaltmaktadır. Bu çerçevede projemizin amacı, HbF düzeyi yüksek olan beta-talasemi majör hastalarında gamma globin promotor bölgesini regüle eden transkripsiyon faktörü TAL1'in ekspresyonu ve HbF yüksekliği arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Çalışmamızda 30 beta-talasemi majörlü ve 30 normal kontrol bireyinde, RNA izolasyonunu takiben, cDNA elde edilerek, TAL1 ekspresyon profili tayini için qRT-PCR yöntemi kullanıldı. Çalışmada referans olarak bir housekeeping gen olan GAPDH kullanıldı. Normalizasyonu takiben, TAL1 ile GAPDH ve normal kontrollerin ekspresyon düzeyleri kıyaslandı. HbF yüksekliği ile TAL1 ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldı ve tüm sonuçlar yüzde olarak hesaplandı.

Çalışmamıza alınan HbF'i yüksek beta talasemi majörlü 30 hastanın ortalama hemoglobin değeri 8,63 iken, ortalama HbF değerinin %10,23 olduğu görüldü. En sık görülen allelin %55 sıklıkla IVS.1.110 (G>A) alleli olduğu bulundu. qRT-PCR sonuçlarında 30 hastanın %76,6'sında (23 hastada) 1,1 ila 5,2 kat arasında artış gözlenirken, 7 hastada normal seviyede tespit edildi. İki katın altında TAL1 ekspresyonu 13 hastada gözlenirken, 2 katın üzerinde görülen 10 hastadan 8'inin en yüksek HbF düzeyine sahip olduğu bulundu.

Çalışmamızda hasta sayısının az olmasına rağmen, HbF'i yüksek olan beta-talasemi majör hastalarımızın %76'sında yüksek HbF oranı ile artmış TAL1 geni ekspresyon seviyesi arasında pozitif yönde bir ilişki bulunmuştur. Bu sonuç bize, TAL1 ve onun bağlandığı bölgelerin, HbF indüksiyonu ile tedavi seçeneği için yeni araştırma hedefleri olabileceğini göstermektedir.

Bu araştırma TYL-2019-4573 Proje Numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir

Anahtar Kelimeler: Beta-talasemi majör, HbF, Hemoglobinopatiler, qRT-PCR, TAL1



## Investigation of TAL1 Expression and Its Relationship with High HbF Level in Beta-Thalassemia Major Patients

Tuğba Nur Uyguç<sup>1</sup>  
Alpay Yeşilaltay<sup>2</sup>  
Türker Bilgen<sup>3</sup>  
Erdal Kurtoğlu<sup>4</sup>  
İbrahim Keser<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Hematology, Faculty of Medicine, Başkent University, İstanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Nutrition and Dietetics, School of Health, Namık Kemal University, Tekirdağ, Turkey.

<sup>4</sup>Adem Tolunay Thalassemia Center, Antalya Training and Research Hospital, University of Health Sciences, Antalya, Turkey.

### ABSTRACT

Hemoglobinopathies are the most common single gene diseases in the world. For beta-thalassemia, the increase of fetal gamma-globin expression in the postnatal period is one of the modifying factors and decreases the symptoms of the disease. Our aim was to investigate the relationship between the expression of the transcription factor TAL1 that regulates the gamma globin promoter region and HbF elevation in beta-thalassemia major (BTM) patients with high HbF levels.

In our study, qRT-PCR method was used for TAL1 expression profile by obtaining cDNA following RNA isolation in 30 BTM patients and 30 controls. GAPDH was used as a reference in the study. Following normalization, expression levels of TAL1 and GAPDH and normal controls and, HbF height and TAL1 expression levels were compared.

The mean hemoglobin value of 30 patients was 8.63, while the mean HbF value was 10.23%. The IVS.I.110 (G> A) allele was the most common allele(55%). An increase between 1.1 and 5.2 times was observed in TAL1 expression in 23(76.6%) of 30 patients. Seven patients were normal. TAL1 expression was observed less than two times in 13 patients. 8 out of 10 patients with more than 2 folds were found to have the highest HbF.

Despite the small number of patients in our study, a positive relationship was found between high HbF and increased TAL1 gene expression in 76% of our BTM patients with high HbF. These results show that TAL1 and its binding sites may be new research targets for the treatment option with HbF induction.

Keywords: Beta-thalassemia major, HbF, Hemoglobinopathies, qRT-PCR, TAL1

## Kemik iliği bağışçılarında HLA ve COVID-19 ilişkisi

Ayşe Erol<sup>1</sup>  
 Yeliz Duvarcı Öğret<sup>1</sup>  
 Demet Kıvanç<sup>1</sup>  
 Mediha Süleymanoğlu<sup>1</sup>  
 Murat Özbalak<sup>2</sup>  
 Beliz Beşışık<sup>2</sup>  
 Çiğdem Kekik Çınar<sup>1</sup>  
 Hayriye Şentürk Çiftçi<sup>1</sup>  
 Sevgi Kalayoğlu Beşışık<sup>2</sup>  
 Tufan Tükek<sup>3</sup>  
 Ümmihan İsoğlu Alkaç<sup>4</sup>  
 Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı HLA Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>4</sup>İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

### ÖZET

Kök hücre nakli gereken ve HLA uyumlu aile içi vericisi bulunmayan hastalar için kan kök hücre kaynağı, gönüllü vericilerden oluşturulan kemik iliği bankaları ve kordon kanı bankalarından sağlanmaktadır. HLA molekülleri antijen sunumu aracılığı ile patojenlere karşı bağışıklık yanıtta görevlidirler. SARS-CoV-2, HLA sınıf I ve II antijenlerinin ifadesini baskılayarak antijen sunumunu kısıtladığı için adaptif immünite reaksiyonlarında önemli bir role sahiptir. Amacımız kemik iliği kök hücre bağışçılarının COVID-19 geçirme durumları ile taşıdıkları HLA allel ilişkisini belirlemektir.

Çalışma için İstanbul Tıp Fakültesi Kemik İliği Bankası veri tabanında kayıtlı 1200 gönüllü arandı. Katılımcı 499 gönüllüye hazırladığımız anket soruları yöneltildi. Gönüllü HLA-A,-B,-C,-DRB1,-DQB1 lokusları "Yeni Nesil Dizileme" yöntemi ile çalışılmış olarak retrospektif değerlendirilip çalışma grubu COVID-19 geçirme durumuna göre 2 gruba ayrıldı.

Gönüllülerin %18'i (n:90/499) COVID-19 geçirdiğini beyan etti, %80,9'u pandemi döneminde de nakil organizasyonu işlemlerine başlayabileceğini bildirirken, %6,4 (n:32)'ü ise kararsız olduğunu bildirdi. COVID-19 geçiren ve geçirmeyen gönüllü vericilerde en sık görülen alleller HLA-A\*0201, B\*5101, C\*0401, DRB1\*1104, DQB1\*0301 olarak bulundu. COVID-19 geçirmeyen gönüllü vericilerle karşılaştırıldığında, COVID-19 geçirenlerde HLA-A\*0301 (p=0,035), HLA-A\*0101 (p=0,042) ve DRB1\*0402 (p=0,003) allellerinde artış saptandı ancak doğrulama testi sonrası HLA-A\*0101 (pc=0,059) alleli anlamlılığını kaybetti. Ayrıca COVID-19 geçiren gönüllü vericilerde DRB1\*0404 allelinde artış (p:0,064), DRB1\*1601 (p:0,074) allelinde ise azalış saptandı ancak bu artış ve azalışın istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı görüldü. Her bir lokus ele alındığında COVID-19 geçiren ve geçirmeyenlerde homozigotluk durumu ile ilgili anlamlı fark saptanmamıştır.

Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda HLA alelleri ile COVID-19 enfeksiyonu arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Bulgularımız; HLA-A\*0301 ve DRB1\*0402'nin hastalığa yatkınlıkla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: COVID-19, HLA, Kemik İliği Donörü

## Relationship between HLA and COVID-19 in unrelated bone marrow donors

Ayşe Erol<sup>1</sup>  
Yeliz Duvarcı Öğret<sup>1</sup>  
Demet Kıvanç<sup>1</sup>  
Mediha Süleymanoğlu<sup>1</sup>  
Murat Özbalak<sup>2</sup>  
Beliz Beşışık<sup>2</sup>  
Çiğdem Kekik Çınar<sup>1</sup>  
Hayriye Şentürk Çiftçi<sup>1</sup>  
Sevgi Kalayoğlu Beşışık<sup>2</sup>  
Tufan Tükek<sup>3</sup>  
Ümmihan Işoğlu Alkaç<sup>4</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, HLA Laboratory, Istanbul University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Hematology, Istanbul University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Internal Diseases, Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey.

<sup>4</sup>Department of Physiology, Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

SARS-CoV-2 has an important role in adaptive immunity reactions as it suppresses the expression of HLA class I and II antigens and limits antigen presentation. Our aim is to determine the association of HLA allele with the COVID-19 infection among bone marrow stem cell donors.

Volunteers registered in the Istanbul Medical Faculty Bone Marrow Bank database were reached out and a questionnaire was administered through phone. The study group was divided into 2 groups according to their COVID-19 infection status (infected vs not-infected). HLA-A,-B,-C,-DRB1,-DQB1 loci were sequenced retrospectively using the Next Generation Sequencing.

Out of 1200 volunteers, 499 agreed to participate, 90 (18%) had been infected with COVID-19. N=467 (81%) reported that they felt safe to start the transplantation organization procedures during the pandemic period, while 6.4% (n:32) reported that they were undecided. The most common alleles overall were found to be HLA-A\*0201, B\*5101, C\*0401, DRB1\*1104, DQB1\*0301. Between groups, HLA-A\*0301 (p=0.035), HLA-A\*0101 (p=0.042) and DRB1\*0402 (p=0.003) alleles were more frequent in the infected group. However, post-confirmation HLA The -A\*0101 (pc=0.059) allele lost significance. In addition, an increase in the DRB1\*0404 allele (p:0.064) and a decrease in the DRB1\*1601 (p:0.074) allele were found in infected donors, but this did not reach statistical significance. Considering each locus, no significant difference in homozygosity status was found between groups.

Studies in different populations have reported a relationship between HLA alleles and COVID-19 infection. Our findings suggest that HLA-A\*0301 and DRB1\*0402 may be associated with disease susceptibility.

Keywords: COVID-19, HLA, Bone Marrow Donor

## Yüksek yağ/yüksek fruktoz diyeti ile indüklenen metabolik sendromlu sıçanlarda D vitamini takviyesinin aort dokusunda p16 ve $\alpha$ -SMA üzerine etkisi

Betül Zorkaya<sup>1</sup>  
Ayşe Seda Akdemir<sup>2</sup>  
Fatma Kaya Dağistanlı<sup>2</sup>  
Aynur Abdulova<sup>3</sup>  
Gamze Tanrıverdi<sup>3</sup>  
Evrım Kömürcü Bayrak<sup>4</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>4</sup>İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye; İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

### ÖZET

p16, hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynayan ve vasküler yaşlanma ile ilişkili olan bir tümör baskılayıcı proteindir. Alfa düz kas aktin ( $\alpha$ -SMA) vasküler düz kas hücrelerinde eksprese edilir ve fibrogenezde rol oynar. Bu çalışmada, yüksek yağlı ve fruktozlu diyetle indüklenen metabolik sendrom(MetS) sıçanların aort dokusunda ateroskleroz gelişim sürecinde VitaminD takviyesinin vasküler yaşlanma ve fibrogenez üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

29 adet erkek sıçan rastgele Kontrol(K, n=7), Kontrol+VitaminD(K+VitD, n=7), Metabolik Sendrom(MetS, n=8) ve Metabolik Sendrom+Vitamin D(MetS+VitD, n=7) olarak dört gruba ayrılmıştır. 16 hafta boyunca MetS gruplarına yüksek yağ(%17)-fruktoz(%17)'lu yem ve %20 fruktozlu su verildi. VitD(170 IU/ hafta) uygulandı. Aort doku kesitleri Hematoksilin-Eosin, Masson Trichrome ve Von Kossa boyamaları kullanılarak ve ayrıca p16(sc-81156,1:100,SantaCruz) ve  $\alpha$ -SMA(ab5694,1:100,Abcam) antikorlarıyla immünohistokimyasal boyama yapıldı.

VitD'nin gruplarda kan şekeri ve bel çevresi değerleri başlangıçtakine göre 16.haftada anlamlı bir etki gösterdiği belirlendi(p<0.05). MetS grubunda elastik liflerin ondüle özelliklerini kaybederek düzleştiği, bunların aralarındaki düz kas hücrelerinin bazı alanlarda vakuolize olarak sağlıklı görünümünden uzaklaştığı saptandı. Von Kossa histokimyasal boyamayla MetS grupta aterom plaklarında kalsifiye alanlar saptandı. VitD uygulanan grupta düzleşmeler görülsede damar morfolojisinin kontrol grubuna benzer özellikler gösterdiği tespit edildi. MetS grubunda diğer gruplar ile kıyaslandığında p16 ve  $\alpha$ -SMA ekspresyon düzeylerinde artış olduğu görüldü.

Yüksek yağ ve yüksek fruktoz diyeti ile indüklenen metabolik sendromlu sıçanlarda, damar yapısının bozulduğu ve vitD tedavisi ile bu hasarın büyük ölçüde düzeldiği saptandı.

Anahtar Kelimeler: Ateroskleroz, metabolik sendrom, vitamin D, p16,  $\alpha$ -SMA

## Effects of vitamin D supplementation on p16 ve $\alpha$ -SMA in aortic tissue with high fat high fructose diet induced metabolic syndrome in rats

Betül Zorkaya<sup>1</sup>  
Ayşe Seda Akdemir<sup>2</sup>  
Fatma Kaya Dağıştanlı<sup>2</sup>  
Aynur Abdulova<sup>3</sup>  
Gamze Tanrıverdi<sup>3</sup>  
Evrım Kömürçü Bayrak<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup>Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Istanbul, Turkey.

<sup>4</sup>Istanbul Faculty of Medical, Department of Medical Genetics, Istanbul, Turkey; Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

p16 is a tumor suppressor protein that plays a role in the regulation of cell cycle and is associated with vascular senescence. The alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) is expressed in vascular smooth muscle cells and plays a role in fibrogenesis. In this study, it was aimed to determine the effect of Vitamin D supplementation on vascular senescence and fibrogenesis during the development of atherosclerosis in aortic tissue of metabolic syndrome (MetS) model rats.

**Materials-Method:** 29 male rats were randomly divided into four groups as Control (K), K+VitD, MetS and MetS+VitD. For 16 weeks, MetS groups were fed high fat (17%)-fructose (17%) chow and 20% fructose water. VitD(170IU/week) was administered. Aortic tissue sections were stained using Hematoxylin-Eosin, Masson Trichrome, Von Kossa Staining, as well as immunohistochemically with p16 and  $\alpha$ -SMA antibodies.

VitD had a significant effect on blood glucose and waist circumference values in the groups at the 16th week compared to the beginning ( $p < 0.05$ ). In the MetS group, it was determined that the elastic fibers lost their convoluted properties and became significantly flatter, and the smooth muscle cells between them were vacuolized in some areas and moved away from their healthy appearance. Von Kossa staining revealed calcified areas in atheroma plaques in the MetS group. Increased p16 and  $\alpha$ -SMA expression levels were observed in the MetS group when compared to the other groups.

It was determined that the metabolic syndrome rats induced by high-fat/high-fructose diet disrupted the vascular structure, and this damage was largely corrected vitD supplementation.

**Keywords:** Atherosclerosis, metabolic syndrome, vitamin D, p16,  $\alpha$ -SMA

## Nöroblastomada Onkogenik Wip1 Fosfatazın Otofaji İndüksiyonunda Rolü

Nazlıcan Kaygusuz<sup>1</sup>  
Hatice Pilevneli<sup>1</sup>  
Ayfer Karlıtepe<sup>1</sup>  
Ceylan Ak<sup>1</sup>  
Mehtap Kılıç Eren<sup>2</sup>

### Ö Z E T

Wip1, sağlıklı hücrelerde genotoksik stresle aktive olarak DNA hasarı cevabının regülasyonunda görev alan bir fosfatazdır. Ancak solid tümörlerde yaygın olarak aşırı ifade edilir ve böylece onkogenik karaktere sahip olmuştur. Son çalışmalar Wip1'in sağlıklı hücrelerde genotoksik stres indüklü otofajide rolüne işaret etmektedir. Bu çalışmada Wip1'i aşırı ifade eden nöroblastom (SH-SY5Y ve IMR32) hücreleri kullanılarak bazal, genotoksik ve metabolik stres aracılı otofajide Wip1'in rolünün açığa çıkarılması amaçlanmıştır.

Otofaji indüksiyonu HBSS ve etoposid uygulanmasıyla sağlanmıştır. LC3A/B dönüşümü ve p62 degradasyonu, total ve fosforile Ulk1 ve Wip1 ekspresyonları WB analizi ile gösterilmiştir. LC3 I/II punkta oluşumu immunfloresan analiz ile gösterilmiştir. Wip1-Ulk1 interaksyonu için co-IP analizi yapılmıştır. Hücre döngüsü ve apoptoz analizi sırasıyla Brdu/PI ve Annexin V/7AAD testleriyle yapılmıştır.

IMR32 ve SHY5Y hücrelerinde LC3A/B dönüşümü, ve LC3B punkta formasyonu, p62 degradasyonu ile hem bazal hem de genotoksik hem de metabolik stres aracılı otofaji tespit edilmiştir. Bazal, genotoksik ve metabolik stres aracılı otofaji sırasında ULK1 fosforilasyonunun (sırasıyla Ser 757, Ser 638 ve Ser 555) azaldığı, Wip1 baskılandığında ise arttığı görülmüştür. Yapılan Co-IP analizi sonucunda ise Wip1 ve Ulk1 birlikte çöktürülmüştür.

Sonuçlarımız nöroblastomada onkogenik Wip1 fosfataz'ın Ulk1'le interaksyonuna ve Wip1'in Ulk1'i defosforile etmek yoluyla bazal, genotoksik stres ve metabolik stres indüklü otofajiye aracılık ettiğine işaret etmektedir. Nöroblastomada Wip1-Ulk1 eksenini bir terapötik hedef olabilir ve anti-kanser terapilerinden daha etkili sonuç alınmasını sağlayabilir.

Bu çalışma TÜBİTAK 119S135 no'lu 1001 proje ve kısmen BAP TPF-20045 ile desteklenmektedir

Anahtar Kelimeler: otofaji, nöroblastoma, wip1, ULK1

<sup>1</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Aydın.

<sup>2</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Aydın.

## Role of oncogenic Wip1 phosphatase in induction of autophagy in neuroblastoma

Nazlıcan Kaygusuz<sup>1</sup>  
Hatice Pilevneli<sup>1</sup>  
Ayfer Karlıtepe<sup>1</sup>  
Ceylan Ak<sup>1</sup>  
Mehtap Kılıç Eren<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Wip1 is a phosphatase activated by genotoxic stress in healthy cells and is involved in the regulation of DNA damage response. However, it is widely overexpressed in solid tumors and thus exerts an oncogenic character. Recent studies have indicated that Wip1 might play a role also in genotoxic stress-induced autophagy in healthy cells. In this study, it was aimed to reveal the role of Wip1 in basal, genotoxic and metabolic stress-induced autophagy by using Wip1 overexpressing neuroblastoma cells.

Autophagy induction was achieved by administration of etoposide HBSS. LC3A/B formation, p62 degradation, total and phosphorylated Ulk1 and Wip1 expressions were tested by WB analysis. Formation of LC3 I/II puncta was measured by immunofluorescence analysis. Co-IP analysis was performed to test Wip1-Ulk1 interaction. Cell cycle and apoptosis analysis were performed with the Brdu/PI and Annexin V/7AAD tests, respectively.

In IMR32 and SHY5Y cells, induction of basal, genotoxic and metabolic stress-mediated autophagy was confirmed by LC3A/B formation, LC3B puncta formation, p62 degradation. During basal, genotoxic and metabolic stress-mediated autophagy, phosphorylation of ULK1 was (Ser757, Ser638 and Ser555, respectively) decreased, while it was increased with suppression of Wip1. As a result of Co-IP analysis, Wip1 and Ulk1 were precipitated together.

Our results indicate that oncogenic Wip1 mediates basal, genotoxic stress and metabolic stress-induced autophagy by dephosphorylating Ulk1. Wip1-Ulk axis may be a useful therapeutic target in neuroblastoma which may lead to get more effective results from anti-cancer therapies.

This work is supported by TUBITAK Gr.N.119S135 and in part by ADÜ-BAP TPF-20045

Keywords: autophagy, neuroblastoma, wip1, ULK1

<sup>1</sup>Aydın Adnan Menderes University, Health Science Institute, Department of Medical Biology, Aydın.

<sup>2</sup>Aydın Adnan Menderes University, Medical School, Department of Medical Biology, Aydın.

## Hematopoitik Hücre Malignitelerinde Telomeraz ile İlişkili Biyobelirteç Olabilecek Nüklear Protein Ekspresyonlarının Belirlenmesi

Pınar Akpınar Oktar

### ÖZET

**Amaç:** Kanser patogenezi ile ilgili çalışmaların önemli bir kısmını, hedeflenebilir genetik değişikliklerin belirlendiği çalışmalar oluşturmaktadır. Çalışmamızda hedef proteini saptayabilmek için bazı eritroid ve myeloid kökenli kanser hücre serilerinde biyobelirteç olmaya aday nükleer proteinlerin ifadenmelerini değerlendirerek, telomeraz aktiviteleri ile ilişkilendirmeyi amaçladık. Çalışmamızda K562 ve HL-60 hücre serilerinde PIN2/TRF1-etkileşimli telomeraz inhibitörü 1 (PinX1) ve guanine nucleotide-binding protein-like 3 (nükleostemin) (NS) ifadenmeleri ile telomeraz düzeylerini saptanarak birbirleriyle olan ilişkileri araştırılmıştır.

**Gereç-Yöntem:** \*HL-60 ve K562 hücre grupları qRT-PCR analizleri için Universal probeLibrary prob (Roche Diagnostics) #16 (Nükleostemin) ve Universal probeLibrary prob # 82 (PinX-1) kullanıldı.

\*HL-60 ve K562 hücre gruplarında telomeraz düzeyi ölçümü için "ELISA Kit for Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) (Uscn life science inc.)" eliza kiti kullanıldı.

**Bulgular:** \*NS'nin ekspresyon seviyesinin K562 hücre serisine göre 1,5 kat daha fazla olan HL-60 hücre serilerinde, telomeraz enzim miktarının daha düşük olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ).

\*Pin X-1 ekspresyon seviyesi HL-60 hücre serisine göre yüksek olan K562 hücre serisinde ise telomeraz miktarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).

\*K562 ve HL60 hücre serilerindeki Telomeraz enzim miktarının ise sağlıklı vericilerden elde ettiğimiz hematopoitik kök hücrelere göre önemli ölçüde yüksek olduğu belirlenmiştir( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Kanser hücre serilerinde NS oranının yüksek olması kontrolsüz hücre çoğalmasında NS'nin kendini yenileme potansiyelini gösteren önemli bir bulgudur. Pin X-1 ifadenmesinin yüksek olduğu hücre gruplarında telomeraz düzeyinin yüksek olması, kanser biyolojisinde bu proteinin telomeraz regülasyonundaki rolünün, göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Nükleostemin ve PinX1 ile ekspresyon seviyelerini bu hücre gruplarında incelemek, telomeraz enzim miktarı ile değerlendirmek patolojik hematopoiesis ile seyreden klonal hematolojik hastalıkların tanısında önemli bir boşluğu dolduracaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Telomeraz inhibitörü 1 (PinX-1), Nükleostemin (GNL3), Telomeraz (TERT).

LÖSEV - LÖSANTE Çocuk ve Yetişkin Hastanesi.



## Determination of Nuclear Protein Expressions That Could Be a Telomerase-Associated Biomarker in Hematopoietic Cell Malignancies

Pinar Akpınar Oktar

### ABSTRACT

**Objective:** An important part of the studies on the pathogenesis of cancer consists of studies in which targetable genetic changes are determined. In our study, PIN2/TRF1-interacting telomerase inhibitor1 (PinX-1) and guanine nucleotide-binding protein-like 3 (nucleostemin) (NS) expressions and telomerase levels were determined in K562 and HL-60 cell lines and their relationships with each other were investigated.

**Materials-Methods:** Universal probeLibrary probe (Roche Diagnostics) #16 (Nucleostemin) and Universal probeLibrary probe #82 (PinX-1) were used for qRT-PCR analysis of HL-60 and K562 cell groups.

“ELISA Kit for Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) (Uscn life science inc.)” was used to measure telomerase levels in HL-60 and K562 cell groups. Experiments were repeated three times.

**Results:** It was determined that the amount of telomerase enzyme was lower in HL-60 cell lines, where the expression level of NS was 1.5 times higher than that of the K562 cell line ( $p < 0.05$ ).

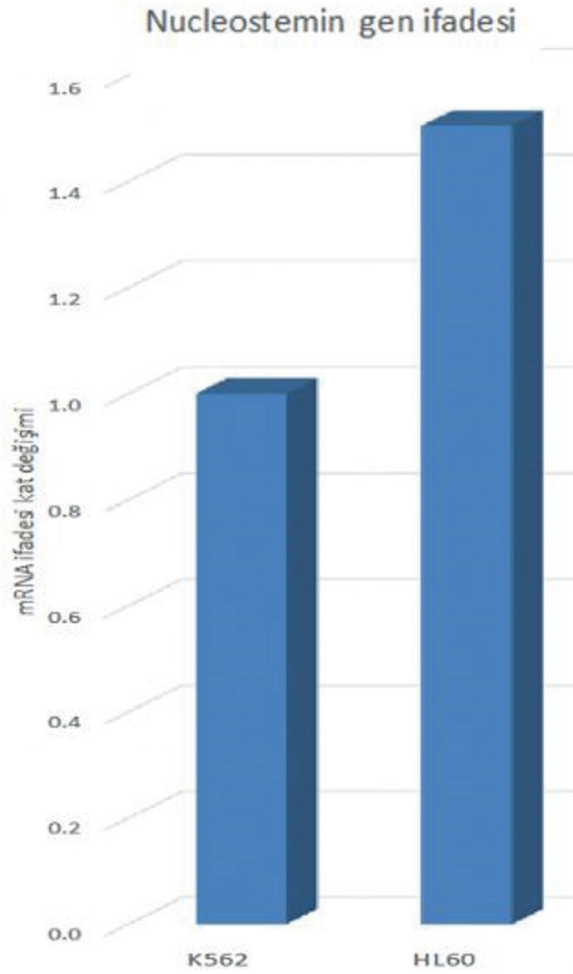
It was determined that the amount of telomerase was higher in the K562 cell line, whose PinX-1 expression level was higher than in the HL-60 cell line ( $p < 0.05$ ).

Telomerase enzyme amount in K562 and HL60 cell lines was determined to be much higher than that in hematopoietic stem cells obtained from healthy donors ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** The high rate of NS in cancer cell lines is an important finding that shows the self-renewal potential of NS in uncontrolled cell proliferation. The high level of telomerase in cell groups with high PinX-1 expression can be considered as an indicator of the role of this protein in cancer biology telomerase regulation.

**Keywords:** Telomerase inhibitor 1 (PinX-1), Guanine nucleotide-binding protein-like 3 (nucleostemin, GNL3), Telomerase Reverse Transcriptase (TERT)

LÖSEV - LÖSANTE Child and Adult Hospital.



**Şekil 1.** Eritroid ve myeloid kökenli kanser hücre serilerinde nükleostemin ifadelenmeleri kat artışı

**Figure 1.** Expression of nucleostemin fold increase in erythroid and myeloid cancer cell lines

NS'nin ekspresyon seviyesi, HL-60 hücre serilerinde K562 hücre serisine göre 1,5 kat daha fazladır.

The expression level of NS is 1.5 times higher in HL-60 cell lines than in K562 cell lines.

**Tablo 1.** Kanser hücre serilerinde NS, PinX-1 ile TERT enzim düzeylerinin değerlendirilmesi

	Nucleostemin gen ifadesi kat değişimi	Pinx-1 gen ifadesi kat değişimi	TERT enzim miktarı (pg/ml)
K562	1.000	1.000	1050.11
HL60	1.505	0.824	898.82

Her bir örnek için elde edilen "Telomerase Reverse Transcriptase (TERT)"enzim miktarı ile NS ve PinX-1 gen ifadelenmeleri kat değişimleri.

**Table 1.** Evaluation of NS, PinX-1 and TERT enzyme levels in cancer cell lines

	Nucleostemin gene expression fold change	Pinx-1 gene expression fold change	TERT enzyme amount (pg/ml)
K562	1.000	1.000	1050.11
HL60	1.505	0.824	898.82

Fold changes in NS and PinX-1 gene expressions with the amount of "Telomerase Reverse Transcriptase (TERT)" enzyme obtained for each sample.

## Prediyabetik Hayvan Modelinde Metformin Ve Egzersiz Tedavilerinin Irs-1 Gen İfadesi Üzerindeki Etkisi

Şehrazat Oğuzkan Öztürk<sup>1</sup>  
Murat Korkmaz<sup>1</sup>  
İbrahim Yılmaz<sup>2</sup>  
Sibel Oğuzkan Balcı<sup>1</sup>  
Ersin Akarsu<sup>3</sup>

### Ö Z E T

Çalışmanın amacı önemli bir sağlık sorunu olan diyabetin gelişimine zemin hazırlayan prediyabetin diyabete ilerlemesini engellemek için kullanılan tedavi yöntemlerini deneysel olarak analiz etmektir. Bu amaçla prediyabetli hayvan modelinde egzersiz ve metformin tedavilerinin, karaciğer dokusunda Irs-1 (insüline-reseptor-substrat-1) gen ifadesi üzerine etkileri araştırıldı.

Çalışmada 42 Wistar albino sıçan kullanıldı. Deneysel prediyabet oluşturmak için kontrol grubu dışındaki denekler yüksek yağlı diyet (HFD) ile beslendi. Prediyabetik model oluşturulduktan sonra tedavi amacı ile ilaç grubuna metformin egzersiz grubuna ise yüzme egzersizi uygulandı. Deney süresince tüm gruplardan kuyruk veni kan örneklerinde açlık kan glikoz değerleri saptandı. Onaltı haftanın sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek karaciğer izolasyonu yapıldı. Karaciğer dokularından elde edilen mRNA örneklerinden Real-Time PCR yöntemi ile Irs-1 gen ifade analizleri yapıldı. Verilerin istatistiksel analizinde, çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı.

Gruplardan günlük alınan kuyruk veni kan glikoz değerlerinin ortalamaları karşılaştırıldığında; metformin ve egzersiz tedavi gruplarının açlık kan glikoz değerlerinin prediyabet grubuna göre anlamlı olarak düşüş gösterdiği saptandı ( $p < 0.01$ ). Gen ifade analizi sonuçlarında; Irs-1 gen ifadesinde kontrol grubuna kıyasla tedavi sonrasında metformin ve egzersiz gruplarında anlamlı fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Sonuç ve Yorum: Prediyabetli sıçanlarda kan glikoz değerlerinde tedavi sonrasında anlamlı bir düşüş görülürken, karaciğerde Irs-1 molekülünde gen ifade düzeyinde farklılık olmadığı saptanmıştır. Daha önce yapmış olduğumuz bir çalışmada diyabetli sıçanlarda egzersiz ve metformin tedavileri sonucunda karaciğer dokusunda Irs-1 molekülünde artış olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak prediyabette karaciğer Irs-1 gen ifadesinde değişim olmadığı, prediyabette diyabete dönüşümde bu molekülün önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Prediyabet, Metformin, Egzersiz, Irs-1

<sup>1</sup>Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep.

<sup>2</sup>Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Gaziantep.

<sup>3</sup>Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Gaziantep.

## Effect Of Metformin and Exercise Therapies On Irs-1 Gene Expression In A Prediabetic Animal Model

Şehrazat Oğuzkan Öztürk<sup>1</sup>  
Murat Korkmaz<sup>1</sup>  
İbrahim Yılmaz<sup>2</sup>  
Sibel Oğuzkan Balcı<sup>1</sup>  
Ersin Akarsu<sup>3</sup>

### ABSTRACT

**Objectives:** The aim of the study is to experimentally analyze the treatment methods used to prevent the progression of prediabetes, which causes the way for the development of diabetes, which is an important health problem. For this purpose, effects of exercise and metformin treatments on Irs-1 (insulin-receptor-substrate-1) gene expression in liver were investigated in prediabetes animal model.

**Material-Methods:** 42 Wistar albino rats were used. Subjects were fed a high-fat-diet(HFD) other than the control group to induce experimental prediabetes. After the prediabetic model was created, metformin and swimming exercise were applied to groups for treatment purposes. Fasting-blood-glucose were determined in tail-vein-blood samples from all groups. Animals were sacrificed and liver was isolated. Irs-1 gene expression were performed by Real-Time-PCR method from mRNA samples isolated from liver. In statistical analysis, multiple comparison tests were used.

**Result:** When the averages of glucose values taken from groups were compared; It was determined glucose values of metformin and exercise treatment groups decreased significantly compared to prediabetes group( $p<0.01$ ). There was no significant difference of Irs-1 gene expression in treatment groups compared to the controls( $p>0.05$ ).

While significant decrease was observed in glucose values after treatments in prediabetics there was no difference in Irs-1 gene expression. Our previous study, it was shown there was an increase in the Irs-1 molecule of liver as a result of exercise and metformin treatments in rats with diabetes. We think that there is no change in liver Irs-1 gene expression in prediabetes, and this molecule may be important in the progression from prediabetes to diabetes.

**Keywords:** Prediabetes, Metformin, Exercise, Irs-1

<sup>1</sup>Gaziantep University Medical Faculty, Department of Medical Biology.

<sup>2</sup>Gaziantep University Medical Faculty, Department of Biophysics, Gaziantep.

<sup>3</sup>Gaziantep University Medical Faculty, Department of Endocrinology and Metabolic Diseases.

## Yeni geliştirilen hassas ve hızlı RT-PCR array yöntemiyle prostat kanseri olgularının idrar ve parafin doku örneklerinden 12 farklı gen füzyonunun eş zamanlı tespiti

Hale Güler Kara<sup>1</sup>  
Ege Sevinç Yeşil<sup>2</sup>  
Adnan Şimşir<sup>4</sup>  
Duygu Döndü Aygüneş Jafari<sup>1</sup>  
Banu Sarsık Kumbaracı<sup>3</sup>  
Sait Şen<sup>3</sup>  
Çağdaş Aktan<sup>5</sup>  
Buket Kosova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyoloji AD. İzmir.

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji AD. İzmir.

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Patoloji AD. İzmir.

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Üroloji AD. İzmir.

<sup>5</sup>Beykent Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyoloji AD. İstanbul.

### ÖZET

Gen füzyonları prostat kanseri (PK) gelişimindeki itici gücü oluştururlar. Örneğin, TMPRSS2-ERG gen füzyonu ERG transkripsiyon faktörünün yüksek ifadesine yol açarak, androjen reseptörünün ekspresyonunu etkiler ve bu şekilde PK gelişimini hızlandırır. Çalışmamızda PK'de en yaygın görülen 12 adet gen füzyonundan C15ORF217-ETV1, CANT1-ETV4, DDX5-ETV4, FLJ35294-ETV1, HERV-ETV1, HNRPA2B1-ETV1, SLC45A3-ETV1, SLC45A3-ETV5, TMPRSS2-ERG, TMPRSS2-ETV1, TMPRSS2-ETV4 ve TMPRSS2-ETV5'in rutinde tanı amaçlı kullanılabilirliklerini araştırdık.

Bunun için, radikal prostatektomi olan olgulardan ameliyat öncesi idrar (n=58) ve sonrası PK parafin doku (n=53) örneği toplayarak, 12 füzyon geninin tespitine özgü RT-PCR array yöntemi geliştirdik, aldığımız sonuçları agaroz jel elektroforeziyle de teyit ettik (EÜTF Klinik Araştırmalar Etik Kurul İzin No.: 18-2/42).

HNRPA2B1-ETV1 gen füzyonunu 27 adet idrar (% 46.5) ve 13 adet doku (%24.5) örneğinde saptadık. Ayrıca, idrarda 1'er adet TMPRSS2-ERG ve SLC45A3-ETV5 ile 2'şer adet SLC45A3-ETV1, FLJ35294-ETV1 ve DDX-ETV4 gen füzyonunu; dokuda da 1 adet FLJ35294-ETV1 ve 5 adet DDX-ETV4 gen füzyonunu saptadık. İki gen füzyonunun birlikte bulunduğu durumlar ise idrarda SLC45A3-ETV1 ve HNRPA2B1-ETV1, idrar ve dokuda FLJ35294-ETV1 ve HNRPA2B1-ETV1 ve yine idrar ve dokuda HNRPA2B1-ETV1 ve DDX-ETV4'tü. Altı adet gen füzyonuna ise hiçbir olguda rastlamadık.

Literatürde PK'de en sık görülen füzyon TMPRSS2-ERG olmasına rağmen, çalışmamızda en sık gözlenen gen füzyonu %46.5 oranıyla HNRPA2B1-ETV1 oldu ve idrar örneğinde daha yüksek hassasiyetle tespit edilebildi. Sonuç olarak, 12 farklı gen füzyonunun eş zamanlı tayini için geliştirdiğimiz hızlı RT-PCR array yönteminin PK'nin tanı ve takibinde kullanılabileceğini ve özellikle kolay ve non-invaziv yolla elde edilebilen idrar örneklerinden daha hassas sonuçlar alındığını gösterdik.

Yapılan çalışma BAP tarafından desteklenmiştir (2.101.2017.0141).

Anahtar Kelimeler: prostat kanseri, füzyon gen, RT-PCR, idrar, parafin doku

## Simultaneous detection of 12 different gene fusions from urine and paraffin tissue samples of prostate cancer cases with the newly developed sensitive and fast RT-PCR array method

Hale Güler Kara<sup>1</sup>  
Ege Sevinç Yeşil<sup>2</sup>  
Adnan Şimşir<sup>4</sup>  
Duygu Döndü Aygüneş Jafari<sup>1</sup>  
Banu Sarsık Kumbaracı<sup>3</sup>  
Sait Şen<sup>3</sup>  
Çağdaş Aktan<sup>5</sup>  
Buket Kosova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>2</sup>Department of Medical Biology, Graduate School of Health Sciences, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>3</sup>Department of Medical Pathology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>4</sup>Department of Urology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey.

<sup>5</sup>Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Beykent University, Istanbul, Turkey.

### ABSTRACT

Gene fusions are driving force in the development of prostate cancer (PCa). E.g. TMPRSS2-ERG gene fusion leads to high expression of ERG, affecting the expression of androgen receptor, thereby accelerating the development of PCa. In our study, we investigated routine diagnostic use of C15ORF217-ETV1, CANT1-ETV4, DDX5-ETV4, FLJ35294-ETV1, HERV-ETV1, HNRPA2B1-ETV1, SLC45A3-ETV1, SLC45A3-ETV5, TMPRSS2-ERG, TMPRSS2-ETV1, TMPRSS2-ETV4 and TMPRSS2-ETV5, the 12 most common gene fusions in PCa.

Hence, we developed a RT-PCR array specific to detection of 12 fusions by collecting preoperative urine (n=58) and postoperative PCa paraffin tissue (n=53) samples from patients who had radical prostatectomy, and confirmed our results with agarose electrophoresis (EUFM Clinical Research Ethics Committee Permission No:18-2/42).

We detected HNRPA2B1-ETV1 fusion in 27 urine (46.5%) and 13 tissue (24.5%) samples. We also detected one TMPRSS2-ERG and SLC45A3-ETV5 and two SLC45A3-ETV1, FLJ35294-ETV1 and DDX-ETV4 fusions in urine; one FLJ35294-ETV1 and five DDX-ETV4 fusions in tissue. The coexistence of two fusions were SLC45A3-ETV1 and HNRPA2B1-ETV1 in urine, FLJ35294-ETV1 and HNRPA2B1-ETV1 in urine and tissue, HNRPA2B1-ETV1 and DDX-ETV4 in urine and tissue. The other six fusions couldn't be detected.

Although the most common fusion in PCa in literature was TMPRSS2-ERG, the most common fusion in our study was HNRPA2B1-ETV1 (46.5%) and detected with higher sensitivity in urine. In conclusion, we showed that the rapid RT-PCR array method we developed for simultaneous determination of 12 different gene fusions can be used in diagnosis and follow-up of PCa, and that more sensitive results are obtained especially from urine samples that can be collected non-invasively.

Keywords: prostate cancer, gene fusion, RT-PCR, urine, paraffin tissue

## Parkinson Hastalığında Uzun Kodlamayan RNA Profillerinin Araştırılması

Fatma Gizem Sariekiz<sup>1</sup>  
Ayşe Gaye Tomatır<sup>1</sup>  
Pervin Elvan Tokgün<sup>2</sup>  
Levent Sinan Bir<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

<sup>2</sup>Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Denizli.

<sup>3</sup>Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Denizli.

### ÖZET

Bu araştırmada, Parkinson Hastalığı tanısı almış bireylerde kodlamayan RNA'ların ve onların hedef mRNA'larının belirlenmesi amaçlandı.

Araştırma için; PAÜ Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran 50 yaş ve üzeri "Parkinson Hastalığı" tanısı almış, tek taraflı başlangıç öyküsü bulunan ve ilk yıllarda dopaminerjik tedaviye iyi yanıt veren 10 gönüllü birey seçildi. Başka nedenlere bağlı ikincil parkinsonizm olguları ile diğer dejeneratif hastalıklarla ilintili parkinsonizm vakaları dışlandı. Kontrol grubu ise 50 yaş üzeri 10 gönüllü bireyden oluşturuldu. Olgulardan, K2EDTA antikoagülant tüplere 10 ml periferik kan örneği alındı ve 400x g' de 30 dakika santrifüjlenerek plazmaları ayrıldı. Örneklerden mononükleer hücre izolasyonları density gradient santrifügasyonla gerçekleştirildi. Hücrelerden, total RNA izole edildi ve NanoDrop yardımıyla RNA konsantrasyonu belirlendi. Parkinson'lu hastalardan ve sağlıklı kontrol grubundan alınan örneklerden, Mikroarray ekspresyon profili analizi gerçekleştirildi.

Araştırmamızda ön çalışma bulguları olarak; hasta grubunda LOC101928020 ve SNORD104'ün down regüle, LIN7C ve LINC00211'in up regüle olduğu belirlendi.

Elde edilen bulguların qRT-PCR yöntemi ile doğrulamasından sonra Parkinson Hastalığında belirlenecek kodlamayan RNA'ların daha önce paylaşılmamış ve gelecekteki araştırmalara önemli katkılar sağlayabilecek veriler olacağı kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Parkinson, lncRNA, miRNA, qRT-PCR, mikroarray

## Investigation of Long Non-coding RNA Profiles in Parkinson's Disease

Fatma Gizem Sariekiz<sup>1</sup>  
Ayşe Gaye Tomatır<sup>1</sup>  
Pervin Elvan Tokgün<sup>2</sup>  
Levent Sinan Bir<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medicine, Department of Medical Biology,  
Pamukkale University, Denizli, Turkey.

<sup>2</sup>Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics,  
Pamukkale University, Denizli, Turkey.

<sup>3</sup>Faculty of Medicine, Department of Neurology,  
Pamukkale University, Denizli, Turkey.

### ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the non-coding RNAs and their target mRNAs in individuals diagnosed with Parkinson's Disease.

For research; Ten volunteers, aged 50 and over, diagnosed with Parkinson's Disease, who applied to PAU Faculty of Medicine, Department of Neurology, had a history of unilateral onset and responded well to dopaminergic treatment in the first years were selected. Cases of secondary parkinsonism due to other causes and cases of parkinsonism related to other degenerative diseases were excluded. The control group consisted of 10 volunteers over the age of 50. 10 ml peripheral blood samples were taken from the patients in K2EDTA anticoagulant tubes and their plasmas were separated by centrifugation at 400x g for 30 minutes. Mononuclear cell isolations from samples were performed by density gradient centrifugation. Total RNA was isolated from cells and RNA concentration was determined with the help of NanoDrop. Microarray expression profile analysis was performed on samples taken from patients with Parkinson's disease and healthy control group.

In our study, it was determined that LOC101928020 and SNORD104 were down-regulated, LIN7C and LINC00211 were up-regulated in the patient group as preliminary study results.

We believe that the non-coding RNAs to be determined in Parkinson's Disease will be data that have not been previously shared and can make a significant contribution to future research after confirming the findings using the qRT-PCR method.

Keywords: Parkinson, lncRNA, miRNA, qRT-PCR, microarray



## WIP1 Fosfataz Ulk1 defosforilasyonu yoluyla bazal ve genotoksik stres indüklü otofajiye aracılık eder

Ceylan Ak<sup>1</sup>  
Ayfer Karlıtepe<sup>1</sup>  
Hatice Pilevneli<sup>1</sup>  
Nazlıcan Kaygusuz<sup>1</sup>  
Mehtap Kılıç Eren<sup>2</sup>

### ÖZET

PPM1D /WIP1 sağlıklı hücrelerde DNA hasarı tepkisinde, proliferasyon, hücre döngüsü, senesens, apoptoz ve otofaji regülasyonunda görev alan önemli bir Ser/Thr fosfatazdır. Meme kanserinde Wip'in regülasyonunun bozulduğu ve onkogenik fonksiyonlara sahip olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, onkogenik Wip1'in meme kanserinde bazal ve genotoksik stres indüklü otofajide rolü ve otofajinin diğer hücrel cevaplarla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Otofaji indüksiyonu için etoposid, baskılanması için Chloroquin (CQ), Wip1 inhibisyonu için GSK2830371 kullanılmıştır. Otofaji inhibisyon ve indüklenmesi LC3 I/II dönüşümü ve P62 degradasyonu, total Ulk1 ve fosforile Ulk1 (p-Ser757) seviyeleri WB analizi ile belirlenmiştir. LC3 proteininin nokta sayımı için, DAPI boyaması sonrası immünfluoresan analizi görüntüleri alınmıştır. Wip1-Ulk1 etkileşimi üzerinden co-IP analizi yapılarak gösterilmiştir. Apoptoz AnnexinV/7AAD, hücre siklusunu analizi BrdU/PI ve senesens SAβ-gal boyaması ile gösterilmiştir.

MCF-7 hücrelerinde, Wip1'e bağlı bazal ve genotoksik stres indüklü otofaji varlığı LC3-II olan birikimi, p62 degradasyonu, ve LC3II punkta oluşumu ile gösterilmiştir. Otofaji sırasında Ulk1 (p-Ulk1-757)'in Wip1 varlığında defosforilasyonu, ve baskılanması sonucu ise fosforilasyonu gözlenmiştir. co-IP analizi için Wip1 ve Ulk1 proteinleri beraberce çöktürülmüştür. Otofaji inhibisyonu sonucunda senesensin indüklendiği tespit edilmiştir.

Onkogenik Wip1 meme kanserinde bazal ve genotoksik stres indüklü otofajiye aracılık etmektedir. Wip1 otofajinin en belirgin basamaklarından biri olan Ulk1 defosforilasyonuna olan etkisi ve otofaji baskılanması sonucu senesens indüksiyonu yeni bir terapötik bakış açısı oluşturabilir ve meme kanseri patogenezi için yeni bilgiler üretilmesini sağlayabilir. Böylece kanser tedavilerinde daha etkin rol sağlayacak yeni bir yöntem geliştirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Otofaji, Wip1, Ulk1

<sup>1</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Aydın.

<sup>2</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Aydın.

## WIP1 Phosphatase mediates basal and genotoxic stress-induced autophagy through Ulk1 dephosphorylation in breast cancer

Ceylan Ak<sup>1</sup>  
Ayfer Karlıtepe<sup>1</sup>  
Hatice Pilevneli<sup>1</sup>  
Nazlıcan Kaygusuz<sup>1</sup>  
Mehtap Kılıç Eren<sup>2</sup>

### ABSTRACT

In healthy cells, PPM1D/WIP1 is a key Ser/Thr phosphatase involved in regulation of cell proliferation, senescence, apoptosis and autophagy in response to DNA damage. Wip is also known to be impaired in most human cancers and thus exerts oncogenic functions. Here, we aimed to investigate the role of oncogenic Wip1 in basal and genotoxic stress-induced autophagy as well as the relationship between autophagy and other cellular responses in breast cancer.

Etoposide was used for autophagy induction and Chloroquin (CQ) for suppression, GSK2830371 for Wip1 inhibition. LC3 I/II conversion P62 degradation, total and phosphorylated (Ulk1 p-Ser757) levels were by analysed WB. Wip1-Ulk1 interaction was demonstrated by co-IP analysis. LC3 puncta formation was analysed by and immunofluorescence staining. Apoptosis, cell cycle, and senescence were measured by by AnnexinV/7AAD, BrdU/PI analysis and SA $\beta$ -gal staining, respectively

In MCF-7 cells, Wip1-dependent basal and genotoxic stress-induced autophagy was demonstrated by accumulation of LC3-II, degradation of p62, and formation of LC3II puncta. During autophagy, Wip1 dependent dephosphorylation of Ulk1 (p-Ulk1-757) and co-precipitation of Wip1 and Ulk1 were detected. In addition induction of senescence was also detected upon inhibition of autophagy.

In conclusion oncogenic Wip1 mediates basal and genotoxic stress-induced autophagy via Ulk1 dephosphorylation in breast cancer. The effect of Wip1 on Ulk1 dephosphorylation, in other words the most prominent steps of autophagy, may create a new therapeutic perspective. Senescence inhibition as a result of autophagy activation may provide new insights into the pathogenesis of breast cancer.

This work is supported by TUBITAK Gr.N.119S135.

Keywords: Autophagy, Wip1, Ulk

<sup>1</sup>Aydın Adnan Menderes University, Health Science Institute, Department of Medical Biology, Aydın.

<sup>2</sup>Aydın Adnan Menderes University, Medical School, Department of Medical Biology, Aydın.

## Sodyum Deoksikolat Maddesinin Meme Kanseri Hücre Hattında Apoptotik, Sitotoksik ve DNA Hasarı Üzerine Etkisi

Yasin Tülüce  
Huda Alhummud  
Ahmet Yasin Keleş  
Sedat Köstekci

### ÖZET

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanserdir ve dünya çapında kanser ölümlerinin önde gelen nedenidir. Kemoterapi genellikle metastaz azaltmak ve tümörün küçülmesi için uygulanan antineoplastik ilaçlar ile yapılan bir tedavidir. Bu çalışmanın amacı Sodyum deoksikolat maddesinin meme kanser hücre hattında (MCF-7) sitotoksik, apoptotik ve DNA hasarının moleküler mekanizmaları üzerine etkisini araştırmaktır.

Bu çalışmada kanser hücrelerini etkileme potansiyeline sahip olduğu hipotezine dayanarak Sodyum deoksikolatın meme kanser hücre hattında farklı dozları kullanılmıştır. Antikanser özellik tespiti için Sodyum deoksikolat maddesinin MCF-7 meme kanser hücreleri ile kontrol grubu olarak sağlıklı normal meme hücreleri (CRL- 4010) üzerindeki sitotoksik etkisi MTT yöntemiyle incelendi. Sitotoksik etkinin belirlenmesinden sonra, Sodyum deoksikolatın aktif dozunun apoptoz ve DNA hasarı üzerindeki etkinliği apoptotik DNA ladder ve Western Blot metodu ile incelenmiştir. Bunun yanı sıra oksidatif stres indeksi ve hücre göçü testleri yapıldı.

Sonuç olarak Sodyum deoksikolat maddesinin MCF-7 ve CRL-4010 hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi gösterdiği ama hücrelerin DNA'larına zarar vermediği tespit edildi ve apoptozise yol açan birkaç proApoptotik proteinlerin varlığı tespit edildi. Sodyum deoksikolatın MCF-7 kanser hücrelerinde, kanser için bir prediktif risk faktörü olarak değerlendirilebileceğimiz paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitesini önemli ölçüde azalttığı tespit edildi. Ayrıca Sodyum deoksikolatın hücre göçünü zamana bağlı olarak geciktirdiği belirlendi.

Sonuçlar, Sodyum deoksikolatın meme kanseri hücrelerinde antimetastatik bir etkiye sahip olduğunu ve daha ileri kanser çalışmaları için potansiyel bir ajan olduğunu göstermiştir.

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-2019-7354 numaralı proje ile desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptoz, DNA Hasarı, Meme Kanseri, Sitotoksikite, Sodyum Deoksikolat

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı, Van.

## The Effect of Sodium Deoxycholate Materials on Apoptotic, Cytotoxic and DNA Damage of Breast Cancer Cell Line

Yasin Tülüce  
Huda Alhamud  
Ahmet Yasin Keleş  
Sedat Köstekci

### ABSTRACT

Breast cancer is the most common cancer in women and the leading cause of cancer death worldwide. Chemotherapy is a treatment usually performed with antineoplastic drugs to reduce metastasis and shrink tumor. The aim of this study was to investigate the effect of sodium deoxycholate on the molecular mechanisms of cytotoxic, apoptotic and DNA damage in the breast cancer cell line (MCF-7).

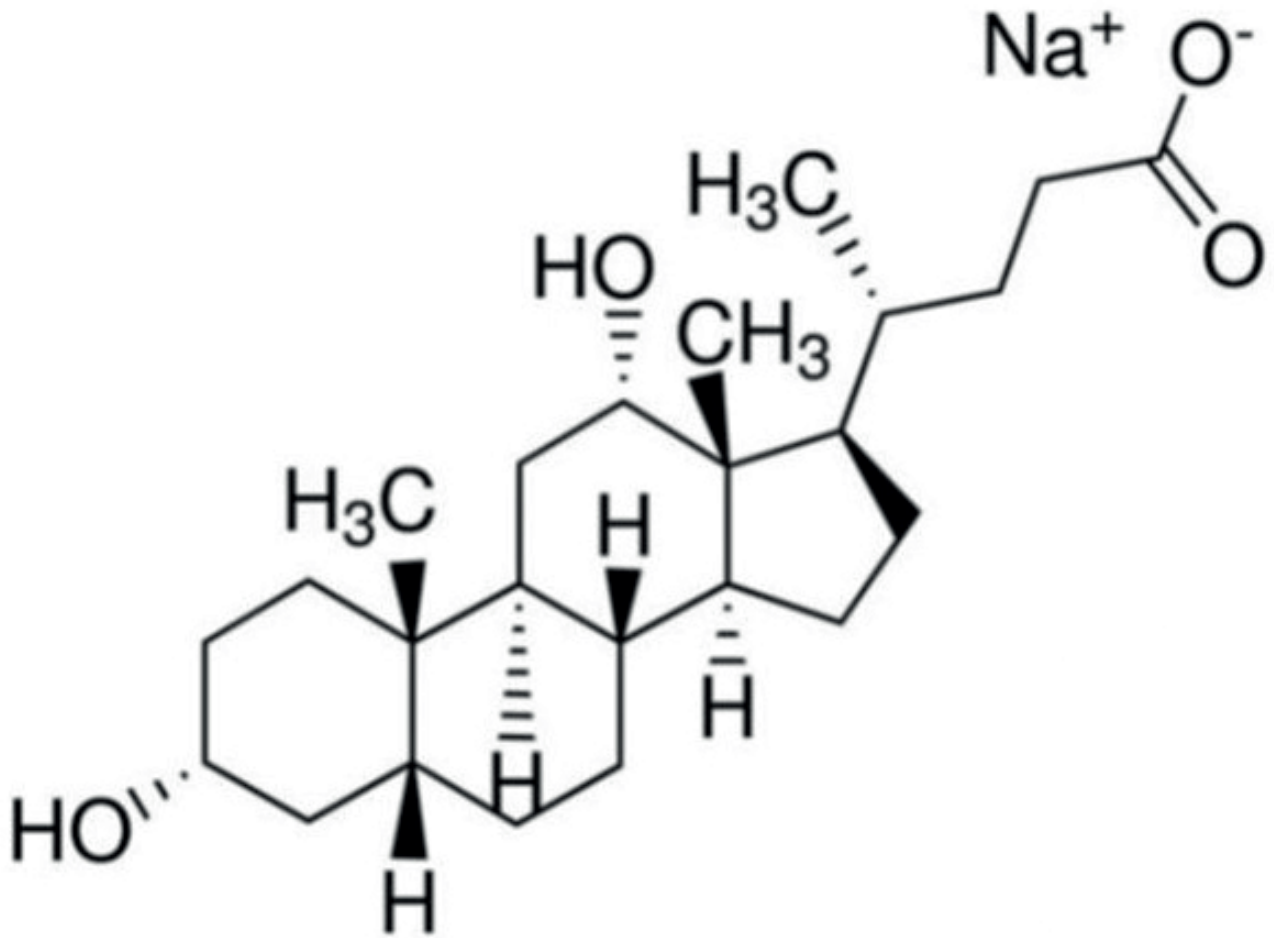
In this study, different doses of sodium deoxycholate are used in MCF-7 based on the hypothesis that it has the potential to affect cancer cells. Cytotoxic effect of sodium deoxycholate on MCF-7 breast cancer cells and healthy normal breast cells (CRL-4010) was examined by MTT method for anticancer property detection. After determining the cytotoxic impact, the efficacy of active sodium deoxycholate dose on apoptosis and DNA damage was examined by apoptotic DNA ladder and Western Blot methods. In addition, oxidative stress index and cell migration tests were performed.

As a result, it was determined that sodium deoxycholate showed cytotoxic effect on MCF-7 and CRL-4010 cells but did not damage the DNA of the cells, and the presence of several proApoptotic proteins causing apoptosis were determined. Sodium deoxycholate was found to significantly reduce the activity of paraoxonase and arylesterase enzyme in MCF-7 cancer cells, which can be considered as a predictive risk factor for cancer. Sodium deoxycholate was also found to delay cell migration over time.

The results showed that Sodium deoxycholate has an antimetastatic effect in breast cancer cells and is a potential agent for further cancer studies.

Keywords: Apoptosis, Breast Cancer, Cytotoxicity, DNA Damage, Sodium Deoxycholate

Department of Medical Biology, Faculty of Medicine,  
Van Yuzuncu Yil University.



Şekil 1. Sodyum deoksikolatın moleküler yapısı

Figure 1. Molecular structure of sodium deoxycholate

## Yüksek Fruktoz-Düşük Streptozotosin Diyabet Modelinde Vitamin D Uygulamasının Pankreas Adacık Hücreleri ve ER Stresi Üzerine Etkisi

Fatma Kaya Dağıstanlı<sup>1</sup>  
Ayşe Seda Akdemir<sup>1</sup>  
Merve Anapalı<sup>2</sup>  
Gamze Tanrıverdi<sup>3</sup>  
Turgut Ulutin<sup>1</sup>  
Melek Öztürk<sup>1</sup>

### ÖZET

Tip 2 Diyabetin patogeneğinde insülin direnci,  $\beta$ -hücre ölümü ve adacık kütle kaybı yer almaktadır. Vitamin D'nin (VitD) glukoz  $\beta$ -hücre fonksiyonunu olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir. Bu çalışmada, VitD tedavisinin adacık hücre organizasyonu, proliferasyon ve endoplazmik retikulum stresi üzerindeki etkilerini, modifiye edilmiş yüksek doz fruktoz diyeti ve düşük doz streptozotosin (STZ) ile indüklenen Tip 2 diyabet modeli kullanarak araştırdık.

Çalışmada, 8 haftalık Sprague-Dawley sıçanlar dört gruba ayrıldı: 1) Diyabetik grup, iki hafta % 10 fruktoz çözeltisi ile beslendi ve 2. haftanın sonunda STZ(40mg/kg) enjekte edildi, daha sonra üç hafta boyunca tekrar %10 fruktoz çözeltisi ile beslendi. 2)Diyabetik+VitD grubu, diyabetik gruba dört hafta boyunca vitD (170 IU/hafta) uygulandı. 3)Diyabetik olmayan sıçanlara dört hafta boyunca VitD uygulandı. 4)Kontrol grubu. Deney sonunda (9. Hafta) tüm sıçanlar sakrifiye edildi ve pankreas dokuları alındı. Deney süresince vücut ağırlığı ve kan şekeri (KŞ) seviyeleri ölçüldü. Pankreas doku kesitlerine insülin, somatostatin, glukagon, PCNA ve PDX-1, GRP78 and CHOP antikorları ile immünohistokimyasal boyama yapıldı.

Diyabetik grubu ile kıyaslandığında KŞ düzeyleri Diyabetik+VitD grubunda anlamlı olarak azaldı. Diyabetik grubunun adacıklarında insülin, pdx-1 and PCNA pozitif hücrelerin diğer gruplara göre azaldığı glukagon ve somatostatin (+) hücrelerin ise arttığı saptandı. Diyabetik+VitD grubunda, Diyabetik grubu ile kıyaslandığında insülin, pdx-1 ve PCNA (+) pozitif hücre sayıları artarken glukagon ve somatostatin pozitif hücre sayılarının azaldığı görüldü. GRP78 ekspresyonu, diyabetik gruba kıyasla Diyabetik+VitD grupta azalırken CHOP ekspresyonu açısından her iki grup arasında fark bulunmadı.

VitD uygulamasının bozulmuş olan glukoz homeostazının ve adacık organizasyonunun düzenlenmesi ve ER stresinin önlenmesinde etkili olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: CHOP, Diabetes mellitus, GRP78, pankreas, vitamin D

<sup>1</sup>Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

<sup>3</sup>Istanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

## Effect of Vitamin D Administration on Pancreatic Islet Cells and ER Stress in a High Fructose-Low Streptozotocin Diabetes Model

Fatma Kaya Dağistanlı<sup>1</sup>  
Ayşe Seda Akdemir<sup>1</sup>  
Merve Anapalı<sup>2</sup>  
Gamze Tanrıverdi<sup>3</sup>  
Turgut Ulutin<sup>1</sup>  
Melek Öztürk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Istanbul.

<sup>2</sup>Atatürk University, Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Erzurum.

<sup>3</sup>Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Histology and Embryology Department, Istanbul.

### ABSTRACT

Insulin resistance,  $\beta$ -cell death, and loss of islet mass are involved in the pathogenesis of Type-2 Diabetes. Vitamin D(VitD) has been shown to positively affect glucose  $\beta$ -cell function. In this study, we investigated the effects of VitD treatment on islet cell organization, proliferation, and ER stress using a high-dose fructose diet and a low-dose streptozotocin(STZ) induced Type-2 Diabetes model.

In this study, Sprague-Dawley rats were randomly divided into 4 groups; 1)Diabetic group; supplied with a 10% fructose solution ad libitum, two weeks later, injected with streptozotocin(40 mg/kg) and supplied with 10% fructose solution for three weeks. 2)Diabetic group; administered with VitD(170 IU/week) for four weeks. 3)Nondiabetic group; administered with VitD for four weeks. 4)Control group. During the experiment, body weight and blood glucose(BG) levels were measured. Pancreatic tissue sections were immunostained with insulin, glucagon, somatostatin, PCNA, PDX-1, GRP78, and CHOP.

BG levels were significantly decreased in the Diabetic+VitD group compared to the diabetic group. Insulin, pdx-1 and PCNA(+) cells were decreased in the islets of the diabetic group, while glucagon and somatostatin(+) cells increased. In the Diabetic+VitD group, when compared to the Diabetic group, the number of insulin, pdx-1 and PCNA(+) positive cells increased, while the number of glucagon and somatostatin positive cells decreased.GRP78 expression was decreased in the Diabetic+VitD group compared to the diabetic group, but there was no difference between the two groups in terms of CHOP expression.

It was concluded that vitD administration was effective in regulating impaired glucose homeostasis and islet organization and preventing ER stress.

Keywords: CHOP, Diabetes mellitus, GRP78, pancreas, vitamin D

## Hereditör Anjioödemli Hastalarda *SERPING1* Gen Varyasyonları

Aycan Aşık<sup>1</sup>  
Nihal Mete Gökmen<sup>2</sup>  
Sunde Yılmaz Süslüer<sup>1</sup>  
Okan Gülbahar<sup>2</sup>  
Çığır Biray Avcı<sup>1</sup>  
Zekeriya Düzgün<sup>3</sup>  
Cumhur Gündüz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıklar Alerjik ve Klinik İmmünoloji.

<sup>3</sup>Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

### ÖZET

Hereditör anjioödem (HAÖ), tekrarlayan ve potansiyel olarak ölümcül anjioödem atakları ile karakterize otozomal dominant geçişli nadir bir hastalıktır (1/10.000- 1/150.000). HAÖ, büyük ölçüde C1INH'yi kodlayan *SERPING1* genindeki mutasyonlardan kaynaklanır. En yaygın HAÖ tipi Tip 1 HAÖ-C1INH'dir.

HAÖ-C1INH vakalarının %5-10'unda ayrıntılı moleküler incelemelere rağmen *SERPING1* geninde mutasyon tespit edilememiştir. Tip 1 HAÖ-C1INH tanısı konan bu vakalarda *SERPING1* gen mutasyonu olmamasına rağmen, neden düşük C1INH fonksiyonuna ve düşük C1INH ve C4 seviyelerine sahip olduğu bilinmemektedir.

Bu çalışmada, önceden gerçekleştirilmiş *SERPING1* hedefli dizileme çalışması ile mutasyon taşımadığı bildirilen Tip 1 HAE-C1INH tanılı beş hastada tüm ekzom dizileme (WES) gerçekleştirilerek *SERPING1* ve diğer genlerdeki olası varyasyonları saptamayı amaçladık. WES, Illumina-NextSeq550 sisteminde gerçekleştirildi. Ham verilerinin biyoinformatik analizi CLC Genomics 20.0.4 yazılımı ile gerçekleştirildi. Analiz sonucu saptanan varyasyonlar, VarSome ve Franklin Genoox veri tabanlarında taranarak incelendi. Varyasyonların kalıtsal olup olmadığı ise qRT-PCR ile yüksek çözünürlüklü erime (HRM) analizi ve Sanger dizileme gerçekleştirilerek değerlendirildi.

Bu beş hastanın birinde *SERPING1* geninin promotorunda heterozigot tek nukleotit varyasyonu (c.-22-2A>G) saptanırken, bir diğer hastada çerçeve kaymasına yol açarak terminasyon kodonu oluşmasına neden olan 7 bazlık bir heterozigot delesyon (c.826\_832del, p.Arg276Ter) saptanmıştır. Bu varyasyonlar, VarSom'da "patojenik", Franklin Genoox'da "olası patojenik" olarak tanımlanmaktadır.

Bu çalışma ile düzenleyici bölgedeki c.-22-2A>G varyasyonunun ilk kez Türkiye popülasyonunda da mevcut olduğu gösterilmiştir. Protein kodlayan bölgede olmamasına rağmen, bu varyasyon HAÖ-C1INH'de C1INH defekti için klinik değerlendirmede göz önünde tutulmalıdır. Mevcut tanımlanmış *SERPING1* varyasyonları içerisinde yer almayan ve defektif protein üretimine yol açabilmesi ile klinik önemi çok açık gözükken çerçeve kayması varyasyonunun varlığı ise bu çalışma ile ortaya çıkarılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hereditör Anjioödem, Tüm ekzom dizileme, *SERPING1*, C1INH



## ***SERPING1* Gene Variations in Patients with Hereditary Angioedema**

Aycan Aşık<sup>1</sup>  
Nihal Mete Gökmen<sup>2</sup>  
Sunde Yılmaz Süslüer<sup>1</sup>  
Okan Gülbahar<sup>2</sup>  
Çığır Biray Avcı<sup>1</sup>  
Zekeriya Düzgün<sup>3</sup>  
Cumhur Gündüz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege University Medical Faculty Department of Medical Biology.

<sup>2</sup>Ege University Medical Faculty Internal Medicine Allergic and Clinic Immunology.

<sup>3</sup>Giresun University Medical Faculty Department of Medical Biology.

### ABSTRACT

Hereditary Angioedema (HAE) is a rare disease with autosomal dominant inheritance characterized by recurrent and potentially fatal angioedema attacks. HAE is widely caused by mutations in the *SERPING1* gene, encoding C1INH.

Five-10% of HAE-C1INH cases, a mutation couldn't be detected in the *SERPING1* despite detailed molecular investigations. It is unknown why to have low C1INH function and C1INH and C4 levels.

We aimed to determine possible variations in *SERPING1* and other genes in five patients, reported having no mutation in the result of previously performed a *SERPING1*-targeted sequencing, by performing whole-exome sequencing.

We performed WES on the Illumina-NextSeq550 and performed the analysis of raw data with CLC-Genomics 20.0.4. The variations detected were examined by scanning in VarSome and FranklinGenoox databases. We performed HRM analysis and Sanger sequencing to evaluate whether the variant is inherited.

We determined a SNV (c.-22-2A>G) as heterozygosis the promoter of the *SERPING1* in one of five patients. We also determined a deletion (c.826\_832del, p.Arg276Ter), causing the formation of termination codon by leading frame-shift, as heterozygosis in another. These variations have been indicated pathogenic in VarSome and likely pathogenic in FranklinGenoox.

We have shown that the SNV exists in the Turkish population, too. Although this variation is not in the protein-coding region, be considered in clinical evaluation for C1INH deficiency in HAE-C1INH. The frame-shift variation does not exist in available indicated *SERPING1* variations. We revealed the presence of it with this study. Note that its clinical importance is crystal-clear due to causing the production of defective protein.

Keywords: Hereditary Angioedema, Whole-exome sequencing, *SERPING1*, C1INH

## Ailevi Hemofagositik Lenfhistiositozlu Olgularda Sınıf II HLA Allel Sıklığının Hastalık Üzerine Etkisi

Gözde Öztan<sup>1</sup>  
Yeliz Öğret<sup>1</sup>  
Hayriye Şentürk Çiftçi<sup>1</sup>  
Bülent Antmen<sup>4</sup>  
Gülyüz Öztürk<sup>2</sup>  
Serap Aksoylar<sup>3</sup>  
Savaş Kansoy<sup>3</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>

### ÖZET

Hemofagositik lenfhistiositoz (HLH) primer (ailesel) veya sekonder olarak ikiye ayrılır. Sitotoksik T hücreleri (CTL'ler), Doğal öldürücü (NK) hücrelerin sitotoksik işlevini etkileyen homozigot mutasyonlar ve enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, maligniteler gibi altta yatan pek çok durumda ortaya çıkabilen, hayatı tehdit eden bir hiperinflamatuvar sendromdur. Abartılı veya kalıcı bir bağışıklık uyarımı ve/veya bir bağışıklık tepkisini azaltılamaması veya sona erdirilmesindeki başarısızlıktan kaynaklanır, İnsan Lökosit Antijeni (HLA) insan genomunun en yoğun gen bölgesidir ve en polimorfik insan proteinlerini kodlar. Varyantları, çoğunlukla otoimmün, bulaşıcı veya inflamatuvar hastalıklar olmak üzere 100'den fazla farklı hastalıkla ilişkilidir. Çalışmanın amacı, çeşitli otoimmün hastalıklarda ilişkili olabilen Sınıf II allelerinin özellikle HLA-DQB1 allelerinin HLH'lı hastalarda sıklığını ortaya koyabilmektir.

Bu çalışmaya ailesel HLH tanısı alan 30 hasta ve 80 sağlıklı akraba dışı birey, kontrol grubu olarak dahil edildi. Hasta ve kontrollerin HLA tiplendirmesi, DNA dizi analizi tiplene yöntemi (PCR-SBT) kullanılarak çalışıldı.

30 ailesel HLH'lı olgularda (15 K/ 15 E) HLA Sınıf II allel sıklığı araştırıldı. PCR-SBT HLA tiplendirmesi neticesinde HLA-DQB1\*03:01 allel sıklığı, % 40 olarak belirlendi. Kontrol grubunda yer alan 80 sağlıklı bireyde ise % 17,5 olarak tespit edildi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hastalarda DQB1\*03:01 anlamlı olarak yüksek bulundu (p:0.0004). DQ\*05:01 hasta grubunda (%5) kontrol grubuna (%18,1) göre anlamlı olarak düşük bulundu (P:0.013). DQ\*02:02 hasta grubunda (%1,7) kontrol grubuna (%9,4) göre anlamlı olarak düşük bulundu (P:0.049). DR allelleri hasta ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

HLA-DQB1\*03:01 allel sıklığının ailevi hemofagositik lenfhistiositozda hastalığa yatkınlıkla ilişkili olabileceği görüşündeyiz. Hasta sayısının artırılarak HLH gelişiminde HLA allel sıklığının ortaya konulmasıyla hastalığın patogenezinin aydınlatılması mümkün hale gelebilir.

Anahtar Kelimeler: HLH, biyobelirteç, HLA, Dizi analizi

<sup>1</sup>Istanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul.

<sup>2</sup>Acıbadem Altunizade Hastanesi Pediatrik Kemik İliği Nakli Merkezi.

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı.

<sup>4</sup>Acıbadem Adana Hastanesi Pediatrik Kemik İliği Nakli Merkezi.

## The effect of Class II HLA allele frequency on the disease in patients with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis

Gözde Öztan<sup>1</sup>  
Yeliz Öğret<sup>1</sup>  
Hayriye Şentürk Çiftçi<sup>1</sup>  
Bülent Antmen<sup>4</sup>  
Gülyüz Öztürk<sup>2</sup>  
Serap Aksoylar<sup>3</sup>  
Savaş Kansoy<sup>3</sup>  
Fatma Savran Oğuz<sup>1</sup>

### ABSTRACT

HLH is divided into primary or secondary. CTLs is a life-threatening hyperinflammatory syndrome that can occur in many underlying conditions such as infections, autoimmune diseases, malignancies and homozygous mutations that affect the cytotoxic function of NK cells. Caused by an exaggerated or persistent immune stimulation and/or failure to reduce or terminate an immune response, HLA is the densest gene region of the human genome and encodes the most polymorphic human proteins. Its variants are associated with more than 100 different diseases, mostly autoimmune, infectious or inflammatory diseases. To reveal the frequency of Class II alleles, especially HLA-DQB1 alleles, which may be associated with various autoimmune diseases, in HLH patients.

Thirty patients diagnosed with familial HLH and 80 controls were included in study. HLA typing of patients and controls was studied using PCR-SBT.

The frequency of HLA Class II allele in 30 patients with familial HLH (15F/15M) was investigated. HLA-DQB1\*03:01 allele was determined as 40% in HLH patients. It was determined as 17,5% in control group. Compared to the control group, DQB1\*03:01 was found to be significantly higher in patients ( $p:0.0004$ ). DQ\*05:01 was found to be significantly lower in the patient group (5%) compared to the control group (18.1%) ( $P:0.013$ ). DQ\*02:02 was found to be significantly lower in the patient group (1.7%) compared to the control group (9.4%). DR alleles were not statistically significant in the patient and control groups.

We think that the frequency of the HLA-DQB1\*03:01 allele may be related to the susceptibility to the disease in familial HLH. By increasing the number of patients and revealing the frequency of HLA alleles in the development of HLH, it may be possible to elucidate the pathogenesis of the disease.

Keywords: HLH, biomarker, HLA, Sequence analysis

<sup>1</sup>Istanbul University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul.

<sup>2</sup>Acıbadem Altunizade Hospital Pediatric Bone Marrow Transplantation Center.

<sup>3</sup>Ege University Faculty of Medicine Department of Child Health and Diseases.

<sup>4</sup>Acıbadem Adana Hospital Pediatric Bone Marrow Transplant Center.

## Yüksek performanslı hücre germe cihazı geliştirilmesi

Niloufar Boustanabadimaralan Düz<sup>1</sup>  
Sinan Vargeloğlu<sup>2</sup>  
Mustafa Ensar Yay<sup>2</sup>  
Ömer Çolak<sup>2</sup>  
Waleed Odeibat<sup>3</sup>  
Selman Şahin<sup>2</sup>  
İsmail Uyanık<sup>2</sup>  
Samet Akar<sup>3</sup>  
Pervin Dinçer<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

<sup>3</sup>Çankaya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Makina Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye; Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanlar Araştırma ve Uygulama Merkezi, Zebra Balık Ünitesi, Ankara, Türkiye.

### ÖZET

Mekanik sinyal iletimi, birçok doku hücrelerinin büyümesi, gelişimi, farklılaşması, diğer hücrelerle etkileşimi ve işlevi için çok önemlidir.

Çalışma kapsamında mekanik kuvveti kontrollü ve homojen bir şekilde uygulayabilecek membran gerilimi temelli bir hücre germe cihazı geliştirilmiştir. Membranın optimum geometrisini elde etmek için sonlu elemanlar yöntemi kullanılmıştır. Membranın toplam alanının %90'ında üniform bir gerinim dağılımı elde edilmiştir. Membran prototipi, pirinç kalıplara polidimetilsiloksan (PDMS) dökülerek üretilmiştir. 600 µm kalınlığa sahip olan membranlara uygulanan %30 gerilime kadar membranların yırtılmadığı test edilmiştir.

Sonuç olarak, üretilen cihaz ile mekanik stresin hücreler üzerindeki etkilerinin incelenebilmesi mümkün hale gelmiştir. Bu cihaz, birçok hücre tipinde ve dokuda kullanılabilme potansiyeli ile hastalıkların patofizyolojisinin anlaşılmasında, dokulardaki hasar ile ilişkili rejenerasyon yollarının açıklanmasında ve etkili ilaçlar bulunmasında araştırmacılara önemli avantajlar sağlayacaktır.

Bu çalışma TÜBİTAK (proje no: 120E472) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mekanik yükleme, Hücre germe, PDMS membran

## Developing a high-performance mechanical loading cell stretching device

Niloufar Boustanabadimaralan Düz<sup>1</sup>  
Sinan Vargeloğlu<sup>2</sup>  
Mustafa Ensar Yay<sup>2</sup>  
Ömer Çolak<sup>2</sup>  
Waleed Odeibat<sup>3</sup>  
Selman Şahin<sup>2</sup>  
İsmail Uyanık<sup>2</sup>  
Samet Akar<sup>3</sup>  
Pervin Dinçer<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Hacettepe University Faculty of Engineering, Department of Electrical and Electronics Engineering, Ankara, Turkey.

<sup>3</sup>Çankaya University Faculty of Engineering, Department of Mechanical Engineering, Ankara, Turkey.

<sup>4</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Turkey; Laboratory Animals Research and Application Centre, Zebrafish Unit, Hacettepe University, Ankara, Turkey.

### ABSTRACT

Mechanical signaling is crucial for the growth, development, differentiation, interaction, and function of cells of many tissues.

Within the scope of the study, a membrane-based cell stretching device that can apply mechanical loading in a controlled and homogeneous manner has been developed. The finite element method is used to obtain the optimum geometry of the membrane. A uniform strain distribution is achieved over 90 % of the total area of the membrane. A membrane prototype has been manufactured by casting a Polydimethylsiloxane (PDMS) using a brass mold manufactured by a precise CNC machine tool. Membranes with a thickness of 600 µm are produced and successfully tested for strains up to 30% without tearing.

As a result, this device has rendered examination of the effects of mechanical stress on cells possible. It, with its potential to be used in many cell types and tissues, will provide researchers opportunities for understanding the pathophysiology of the diseases, explaining the regeneration pathways associated with tissue damage and finding effective drugs.

This study was supported by TÜBİTAK (Project number: 120E472).

Keywords: Mechanical loading, Cell Stretching, PDMS membrane

## Yaşlı Alzheimer Hastaları'nda beyin renin-anjiyotensin sistemi farklılıkları

Çağlar Coşardereioğlu<sup>1</sup>  
 Claudene J George<sup>3</sup>  
 Ruth Marx Rattner<sup>2</sup>  
 Qian Li Xue<sup>2</sup>  
 Esther S Oh<sup>2</sup>  
 Luigi Ferrucci<sup>4</sup>  
 Pervin Dinçer<sup>1</sup>  
 David A Bennett<sup>5</sup>  
 Jeremy Walston<sup>2</sup>  
 Peter Abadir<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye.

<sup>2</sup>Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA.

<sup>3</sup>Albert Einstein College of Medicine/ Montefiore Medical Center, Bronx, NY, USA.

<sup>4</sup>National Institute on Aging, Baltimore, MD, USA.

<sup>5</sup>Rush Alzheimer's Disease Center, Rush University, Chicago, IL, USA.

### ÖZET

Alzheimer Hastalığı (AH) kognitif bozulma ile seyreden nörodejeneratif bir hastalıktır. Çok sayıda potansiyel etiyolojik faktör öne sürülmüş olmasına rağmen, net bir mekanizma henüz tanımlanmamıştır. Renin-anjiyotensin Sistemi (RAS), başlıca kan basıncı düzenlenmesindeki rolü ile tanınmakla birlikte, AH gelişimine katkısı son yıllarda öne sürülmüştür. Bu çalışmada, postmortem frontal korteks örnekleri kullanılarak, AH ile beyine özgü RAS (b-RAS) farklılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 30 kognitif olarak normal bireyin, 30 Alzheimer Hastası'nın postmortem elde edilen beyin dokuları araştırılmıştır. Anjiyotensinojen, renin ve anjiyotensin dönüştürücü enzim gen ekspresyonu qPCR ile, Angiotensin II reseptör tip 1, 2 ve 4'ün gen ekspresyonu ve protein seviyeleri qPCR ve Western blot ile değerlendirilmiştir. Beyin oksidatif stress belirteci olarak protein karbonil seviyeleri, nöroinflamasyon belirteci olarak IL6, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , ve IL1 $\beta$  seviyeleri ölçülmüştür. İstatistiksel analizde tangle ve amiloid-beta skorları kullanılmıştır.

Alzheimer Hastalığı'nda anjiyotensin II tip 1 reseptörünün (AT1R) protein seviyesi (median [IQR] 0.59 [0.76–0.45] vs. 0.47 [0.63–0.19],  $p = 0.03$ ) ve pERK düzeyi yüksek bulunmuştur (0.35[1.4–0.06] vs. 0.04 [0.3–0.01],  $p = 0.004$ ). Ayrıca, AT1R protein seviyeleri ve oksidatif stress arasında pozitif korelasyon saptanırken ( $r = 0.301$   $p = 0.01$ ), inflamasyon belirteçleri ile herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Yüksek AT1R protein seviyelerinin, yüksek amiloid-beta skoru ile ilişkili olduğu gösterilirken ( $r = 0.245$ ,  $p = 0.04$ ), artmış pERK seviyelerinin yüksek tangle ( $r = 0.492$   $p = 0.01$ ) ve amyloid-beta ( $r = 0.416$   $p = 0.02$ ) skorlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışma, Alzheimer Hastalığı'nda beyin RAS farklılıklarını göstererek, bu farklılıkların beyin patolojileri ile ilişkisini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Renin-anjiyotensin, merkezi sinir sistemi, Alzheimer Hastalığı

## Dysregulated brain renin-angiotensin system in the postmortem brains of older persons with Alzheimer's disease

Çağlar Coşardereioğlu<sup>1</sup>  
Claudene J George<sup>3</sup>  
Ruth Marx Rattner<sup>2</sup>  
Qian Li Xue<sup>2</sup>  
Esther S Oh<sup>2</sup>  
Luigi Ferrucci<sup>4</sup>  
Pervin Dinçer<sup>1</sup>  
David A Bennett<sup>5</sup>  
Jeremy Walston<sup>2</sup>  
Peter Abadir<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe University School of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Turkey.

<sup>2</sup>Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA.

<sup>3</sup>Albert Einstein College of Medicine/ Montefiore Medical Center, Bronx, NY, USA.

<sup>4</sup>National Institute on Aging, Baltimore, MD, USA.

<sup>5</sup>Rush Alzheimer's Disease Center, Rush University, Chicago, IL, USA.

### ABSTRACT

Renin Angiotensin system (RAS) is a hormonal system that is implicated in blood pressure control and has been suggested as a potential contributor to the development of Alzheimer's disease (AD). Here, using postmortem frontal cortex brain samples of age- and sex-matched not cognitively impaired individuals (NCI) (n=30) and AD patients (n=30), we sought to examine the brain specific RAS (b-RAS) differences in AD.

Samples were obtained from the Rush Memory Project. We measured angiotensinogen, renin, and ACE gene expression by qPCR and both gene expression and protein levels of Angiotensin II receptor type 1, 2, and 4 and their downstream signaling pathway (pERK, eNOS, and nNOS) by qPCR and Western blot. Cytokines (IL6, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , and IL1 $\beta$ ) and protein carbonyl (PC) as well as tangle and  $\beta$ -amyloid load were used as specific markers of AD.

Our results demonstrate an increase in protein expression (median [IQR] 0.59 [0.76–0.45] vs. 0.47 [0.63–0.19],  $p = 0.03$ ) and signaling activity (0.35[1.4–0.06] vs. 0.04 [0.3–0.01],  $p = 0.004$ ) of AT1R in AD. Our data show that AT1R levels positively correlate with PC ( $r = 0.301$   $p = 0.01$ ) and  $\beta$ -amyloid load ( $r = 0.245$   $p = 0.04$ ) in all study participants, while higher pERK levels positively correlate with tangle ( $r = 0.492$   $p = 0.01$ ) and  $\beta$ -amyloid ( $r = 0.416$   $p = 0.02$ ) scores in AD group.

This study highlights molecular changes in b-RAS and offers insight into the association of these changes with brain pathology in AD.

**Keywords:** Renin-angiotensin system, central nervous system, Alzheimer's disease

## Bor ve Bor türevi bileşiklerin *in vivo* ve *in vitro* araştırmaları

Fatih Kar

### ÖZET

**Amaç:** BOR ve BOR bileşiklerinin insan sağlığı üzerinde etkilerini incelemek amacıyla akut toksisite araştırmaları yapılmıştır. Önceki araştırmamızda; BOR türevi olan borik asit'in (BA) hem *in vitro* kanser araştırmalarında etkin dozu belirlenerek tedavi edici özellikleri incelenmiş hem de *in vivo* araştırmalarda protektif ve profilaktik etkinlikleri gösterilmiştir.

**Gereç-Yöntem:** Çeşitli kanser hücre hatları ve deney hayvanı modelleri kullanılmıştır.

**Bulgular:** Araştırmalardan elde edilen bulgularda doz seçiminin önemi açığa çıkmasından dolayı, nano boyutta BOR kullanılarak hazırlanan hegzagonal BOR nitrür nanopartikül (hBN NPs) bileşiğinin akut toksik deneyleri yapılarak biyokimyasal, histopatolojik ve oksidatif stres üzerine etkinlikleri araştırılmıştır. Nanopartikül boyutunda hem doz miktarının azalması hem de etkin dozun belirlenerek tedavi edici özellikleri ön plana çıkarılmıştır. Sentezlediğimiz yeni ortalama tanecik çapı 121 nm olan yuvarlak plaka şeklinde hBN NP'lerin düşük dozlarda antioksidan özelliği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, BOR ve Borik Asit ile yaptığımız *in vitro* kanser türleri ve *in vivo* deneysel hayvan araştırmalarında ise antiinflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik özellikleri ortaya çıkarılmıştır.

**Sonuç:** Bu bilgiler ışığında, BOR ve BOR türevi ürünlerin biyolojik etkinliğini bulmamızdan dolayı özellikle sağlık alanında yeni araştırmalara öncülük edecektir. BOR minerali içeren nanopartiküller (hBN NPs) ve BOR türevli bileşiklerin *in vitro* ve *in vivo* araştırmalar ile belirlenen etkin dozları kanser, nörodejeneratif ve inflamatuvar hastalıklar gibi çeşitli patogenezlere antiinflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik özellik gösterebilir.



**Anahtar Kelimeler:** Bor, kanser, nörodejeneratif hastalıklar, toksisite, biyokimya

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Temel Bilimler Anabilim Dalı, Kütahya.



## in vitro and in vivo studies of boron and boron derivative compounds

Fatih Kar

 ABSTRACT 

**Objective:** Acute toxicity studies were conducted to examine the effects of BOR and BOR compounds on human health. In our previous works; The therapeutic properties of boric acid (BA), a derivative of BOR, were investigated by finding the effective dose in in vitro cancer studies, and its protective and prophylactic activities were demonstrated in in vivo studies.

**Materials-Methods:** Various cancer cell lines and experimental animal models have been used.

**Results:** Since the importance of dose selection was revealed in the findings obtained from the studies, the effects of the hexagonal BOR nitride nanoparticle (hBN NPs) compound prepared using nano-sized BOR on biochemical, histopathological and oxidative stress were investigated by performing acute toxic experiments. In the nanoparticle size, both the reduction of the dose amount and the determination of the effective dose were brought to the forefront. Antioxidant properties of hBN NPs in the form of a round plate with a mean particle diameter of 121 nm were detected at low doses. However, in vitro cancer types and in vivo experimental animal studies with BOR and Boric Acid revealed their anti-inflammatory, antioxidant and antiapoptotic properties.

**Conclusion:** In the light of this information, we will lead new studies especially in the field of health, since we have found the biological effectiveness of BOR and BOR derivative products. The effective doses of BOR-containing nanoparticles (hBN NPs) and BOR-derived compounds determined by in vitro and in vivo studies may show anti-inflammatory, antioxidant and anti-apoptotic properties in various pathogenesis such as cancer, neurodegenerative and inflammatory diseases.

**Keywords:** Boron, cancer, neurodegenerative diseases, toxicity, biochemistry

Kutahya Health Science University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Basin Science, Kutahya.