

ISSN: 1309 2375

Official Publication of the Turkish Society of Histology and Embryology

# Cell & Tissue Biology Research

Turkish Histology and Embryology Association

[www.ctbiol.com](http://www.ctbiol.com)

**Volume 6 / 2018 Supplement**

**Special Issue**

**includes abstracts of the 14th**

**National Histology and**

**Embryology Congress**

**10-13 May 2018**

**Hotel Su**

**Antalya / Türkiye**



# Cell & Tissue Biology Research

Turkish Histology and Embryology Association

## Official Publication of the Turkish Histology and Embryology Association

### **About the Journal**

Cell and Tissue Biology Research is an official journal of the Turkish Histology and Embryology Association. It is an online journal publishing research articles after full peer review. All articles are published, without barriers to access, immediately upon acceptance. One volume is published every year. Each volume consists of 4 numbers published quarterly online.

### **Aims and Scope**

Cell and Tissue Biology Research is a peer-reviewed journal that publishes original research on all aspects of anatomy, histology, cell biology and fine structure of tissues and organs on light and electron microscopical level, neuroanatomy, and morphological techniques, as well as developmental biology, focusing on morphogenesis—the study of the emergence of form during embryogenesis, mechanisms of development, differentiation, and growth in animals and plants at the molecular, cellular, and genetic levels. Published manuscript styles include original research articles, review articles, technical notes, case reports, short communications, and letters to the editor. Novel features include: full peer review, high quality of reproduction, rapid publication, no page charges, wide readership, and fast track submission.

### **Indexing and archiving**

Cell and Tissue Biology Research aims to be indexed in all major national and international databases in the near future.

### **Copyright**

All rights reserved. Apart from any relaxations permitted under national copyright laws, no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means without the prior written permission of the copyright owners. Permission is not required to copy summaries of papers or of articles on the condition that a full reference to the source is given. Multiple copying of the contents without permission is always illegal.

### **Contact Information**

Queries about content, submissions, or the review process should be directed to the Turkish Histology and Embryology Association.

If you have proposals or feedback related to this journal or this field of science, please do not hesitate to contact the Managing Editor Dr.A. Cevik Tufan, E-mail: [actufan@pau.edu.tr](mailto:actufan@pau.edu.tr).

### **Readership**

Mainly consists of (but not limited to) histologists, microscopists, developmental biologists, embryologists, molecular and cellular biologists, biochemists, geneticists, neurobiologists, anatomists, pathologists, physiologists.

### **Instructions to Authors**

Cell and Tissue Biology Research publishes original research articles, review articles, technical notes, case reports, short communications, and letters to the editor within the scope of the journal. The content of the Cell and Tissue Biology Research is determined by the Editors.

The manuscript which is submitted to the journal must not contain previously published material or material under consideration for publication elsewhere, except for a preliminary report in abstract format. Accepted manuscripts become the property of Cell and Tissue Biology and may not be republished.

The decision on acceptance of manuscripts for publication in Cell and Tissue Biology Research will be made on the basis of a peer review system.

### **Responsibilities of the Authors**

By submitting a manuscript for publication, each author acknowledges having made a substantial contribution in the conception and design of the study, the analysis and interpretation of the results, and the writing of the paper, and has approved the final submitted version of the paper. Each author thus also acknowledges responsibility for the integrity of the manuscript, assures the originality of the manuscript, and guarantees that duplicate or redundant publications or submissions have not occurred. The Editors reserve the right to request the original data obtained in the investigation. Authors are responsible for all statements made in the text.

### **Manuscript Submission**

Manuscripts and illustrations should be submitted in English, online to the editorial office. Authors should retain their own copy, as the Editor cannot accept responsibility for damage or loss of manuscripts.

The text document must be saved as Word or RTF format. Tables must be included in the text document. Figures must be saved in the formats and at the resolution indicated below (illustrations section).

The manuscript should be typed double-spaced throughout on one side of A4 paper with at least a 2.5 cm margin on all sides. Do not divide words at the end of lines. Pages should be numbered consecutively in Arabic numerals, beginning with the title page.

Prepare a cover letter and a copyright transfer form signed by all authors.

Organize the manuscript as follows: title page, abstract (including key words at the end), introduction, material and methods, results, discussion (including the conclusions), acknowledgments, references, figure legends, and tables.

Keep acronyms and abbreviations to a minimum. When an abbreviation is used, define it at first mention and follow with the abbreviation in parentheses.

### **Categories of Submission**

#### **Review Articles**

Cell and Tissue Biology Research publishes review articles on the basis of invitation by the editor(s). However, author(s) is free to suggest topics and manuscripts for publication in the journal as a review article as well. The author(s) is absolutely free to design the paper. There is no limitation in the page count in this category. References, figures, and legends follow the guidelines described below under 'Original Articles.' The Abstract section is needed.

#### **Original Articles**

**Title Page.** The following information should appear: title of article; authors' name, and last name; affiliations with complete addresses. Identify the corresponding author and provide full mailing address, phone and fax numbers, and e-mail address. Also provide a short running title (no more than 40 spaces).

**Abstract.** The abstract is limited to 400 words, and should describe the essential aspects of the investigation. In the first sentence state the background; in the second sentence state your specific purpose or hypothesis; in the third, fourth and fifth sentences summarize methods, results and conclusion. No references should be cited. For indexing purposes, a small number of "key words" (no more than 5) must be supplied.

**Introduction.** Include brief background information on what has been done in the past in this area and the importance of your investigation. End with a statement of the purpose or hypothesis of the study.

**Material and Methods.** This section may be divided into subsections if it facilitates reading the paper. The research design, subjects, material used, and statistical methods should be included. Do not mix results and discussion into this section. Do not include manufacturer's names unless the specific product is important to the procedures performed, in which case the city and state or country of the manufacturer should also be given. Indicate that informed consent has been obtained from patients who participated in clinical investigations. In animal experimentation, acknowledge that ethical guidelines were followed. When appropriate, indicate that approval was obtained from the institution's review board.

**Results.** This section may be divided into subsections if it facilitates reading the paper. All results based on methods must be included. If tables and graphic material will ease the understanding of the results, include them. Cite figures to illustrate the findings of the study.

**Discussion.** Start with limited background information and then discuss the results of the investigation in light of what has been published in the past, the limitations of your study, and potential directions for future research. In appropriate place, cite figures and graphs. Following this information, summarize the major findings of the study and their clinical usefulness. This paragraph should address the hypothesis or purpose stated earlier in the paper.

**Acknowledgments.** Acknowledgments should appear on a separate page. This section also has to include the grant information (if any) of the investigators.

**References.** Section must be double spaced and begin on a separate page. References to the literature should be cited in the text by the name of the author(s) followed by the year of publication. In cases in which there are

more than two authors, only the first is named, followed by "et al.". Examples: Smith (1980) reported that...; (Smith, 1980, 1982); (Smith and Tanaka, 1980); (Smith et al., 1980). Suffixes a, b, etc., should be used following the year to distinguish two or more papers by the same author(s) published in the same year; example (Smith, 1981a). When two or more references are included in the same bracket, they must be quoted in the chronological order; example (Smith, 1980; Bell et al., 1984). All references must be cited in the text, and all authors should be listed in references. The reference list should be in alphabetical order.

References to articles in periodical publications must include: Names and initials of all authors, year of publication, complete title of paper, name of journal (abbreviated in accordance with Index Medicus), number of volume, and first and last page numbers. Example: Morita T., Suzuki Y. and Churg J. (1973). Structure and development of the glomerular crescent. *Am. J. Pathol.* 72, 349-368.

References to books must include: Name and initials of authors, year of publication, full title, edition, editor, publisher, place of publication and page numbers. Example: Powell D. and Skrabanek P. (1981). Substance P. In: *Gut Hormones*. 2nd ed. Bloom S.R. and Polak J.M. (eds). Churchill Livingstone. Edinburgh. pp 396-401.

References to URL (Web Page) must include: Name and initials of URL owners, full title of the URL, address, and accession date in parentheses. Example: Stern M. Radial nerve entrapment. <http://www.emedicine.com/orthoped/topic549.htm> (accessed Dec 2005).

Tables. Each table should be given on a separate page. Each table has a short, descriptive title. Tables are numbered in the order cited in the text. Abbreviations are defined as footnotes at the bottom of each table. Tables should not duplicate data given in the text or figures.

Figures and Legends. The complete sets of original figures must be submitted. Subjects' names must not appear on the figures. Labels should contrast well with the background. Images should be uniform in size and magnification. Illustrations should be free of all identifying information relative to the subject and institution. Line drawings should be professional in quality. Written permission for use of all previously published illustrations must be included with submission, and the source should be referenced in the legends. Written permission from any person recognizable in a photo is required. Legends must be double spaced, and figures are numbered in the order cited in the text. Submit color prints only if color is essential in understanding the material presented. Label all pertinent findings.

Illustrations should be labelled with the figure number and author's name in soft pencil on the back identifying the top edge. Photographs should be glossy bromide prints of good contrast and well matched, preferably not mounted on card. Photographs should not exceed 17.8 x 22.2 cm. The Editor reserves the right to reduce or enlarge the illustrations. Colour photographs will be allowable only in special circumstances. Line diagrams should be drawn with black ink on tracing paper or white card or supplied as glossy prints. Illustrations should be submitted protected by resistant cardboard. Apply figure numbers to the lower left-hand corner of each photograph; dry transfer lettering (such as leterset) may be used. Digital images are welcome. They must be submitted on CDROM (CD-r or CD-RW) only. We cannot use other types of disk. Images should be TIFF file format, preferentially, although other formats could be useful. Black and white figures must be at gray scale. Color figures should be preferentially in CMYK, but RGB is also allowed. Line art files must have a 500dpi resolution, while other images must have a 300dpi resolution. Supplying digital images is not a substitute for the press set of figures.

### **Technical Notes**

While the journal encourages the submission of full-length original articles, it will consider the publication of technical notes describing the characteristics of new instruments of methodological improvements. In addition to a title page (formatted as described above), include a summary (250 word) describing the essence of the report, an introduction (two or three sentences of background information), a description of the technique, and a discussion highlighting the educational value of the technique. References should be limited (no more than 10 preferred) to only those that give essential background material. References, figures, and legends follow the guidelines described above in 'Original Articles.'

### **Short Communications**

While the journal encourages the submission of full-length original articles, it will consider the publication of short communications ensuring rapid publication of new/preliminary results of unusually educational and medically important. Whole manuscript should be maximum of 3 pages, containing maximum of 1 figure, and 1 table. In addition to a title page (formatted as described above), include a summary (250 word) describing the essence of the report, an introduction (two or three sentences of background information); materials and methods, results and a discussion highlighting the educational value of the case. References should be limited (no more than 10 preferred) to only those that give essential background material. References, figures, and legends follow the guidelines described above in 'Original Articles.'

**Case Reports**

While the journal encourages the submission of full-length original articles, it will consider the publication of concise case reports. These should be unusually educational and medically important. In addition to a title page (formatted as described above), include a summary (250 word) describing the essence of the report, an introduction (two or three sentences of background information); the case report (written in the past tense), and a discussion highlighting the educational value of the case. References should be limited (no more than 10 preferred) to only those that give essential background material. References, figures, and legends follow the guidelines described above in 'Original Articles.'

**Letters to the Editor**

Letters to the Editor may be used to describe in an extremely brief manner either an observation of interest to our readers, an opinion relative to the Cell and Tissue Biology Research, or constructive observations or criticisms of published material. Letters should be no more than two pages and should be submitted with a brief title. A maximum of four references may be included. Letters are published at the discretion of the journal and are subject to editing.

**Cell and Tissue Biology Research Editorial Board****Co-Editors-in-Chief:**

Attila DAĞDEVİREN  
Şahin A. SIRMALI

**Managing Editor:**

A. Çevik TUFAN

**Language Editor:**

Selma YÖRÜKAN

**Statistical Advisor:**

Ergun KARAAĞAOĞLU

**Section Editors:****Biomaterial Sciences & Biotechnology :**

Petek KORKUSUZ

**Cardiovascular and Endothelial Research:**

Candan ÖZOĞUL, Sevda F. MÜFTÜOĞLU

**Cell structure and function - biophysics:**

Selma YILMAZER, Nuhan PURALI

**Embryology and teratotoxicology:**

Deniz ERDOĞAN, Nur ÇAKAR

**Image Processing and Stereology:**

E. Oğuzhan OĞUZ

**Immune System and Hematology:**

Esin AŞAN, Esra ATABENLİ

**Metabolism: Digestive, Urinary and Respiratory Systems:**

Belgin CAN, Ufuk METE

**Microscopy- techniques:**

Zeynep KAHVECİ, Tangül ŞAN

**Musculoskeletal and Integumentary Systems:**

Serap ARBAK

**Neuroscience:**

Hakkı DALÇIK, Özhan EYİGÖR

**Proteomics- Genomics:**

Feride ŞAHİN, N.Lale ŞATIROĞLU-TUFAN

**Research and Academic Ethics:**

Şahin SIRMALI, Pergin ATİLLA

**Reproductive System & Assisted Reproduction:**

Ramazan DEMİR, Firdevs GÜRER

**Stem Cell Research- Culture:**

Alp CAN, Ayhan BİLİR

**Scientific Advisory Board (THEA members)**

Alpaslan GÖKÇİMEN

Aysel KÜKNER

Aydın KETANİ

Aytekin ÖZER

Belma ALABAY

Bizden SABUNCUOĞLU

Cengiz BAYÇU

Emin Türkay KORGUN

Erdoğan GÜRSOY

Erinç ARAL

Feral ÖZTÜRK

Feriha ERCAN

Figen KAYMAZ

Gülten KARABAY

H.Seda VATANSEVER

Hikmet ALTUNAY

İlkin ÇAVUSOĞLU

Kazım TUĞYAN

Leyla CANPOLAT

M.Kemal ÖZBİLGİN

Melda YARDIMOĞLU YILMAZ

Meral BAKA

Meral ÖNCÜ

Mine YAKIŞIK

Mukaddes EŞREFOĞLU

Murat YAĞMURCA

Nevin KURTDEDE

Nigar VARDI

Özgül TAP

Sait POLAT

Selçuk DUMAN

Serap Sergül İNANÖZ

Sevinç İNAN

Şule ÇETİNEL

Süreyya CEYLAN

Suzan DAĞLIOĞLU

Varol ŞAHİNTÜRK

Yavuz TEKELİOĞLU

Yusuf NERGİZ

**COPYRIGHT RELEASE FORM**  
**Turkish Histology and Embryology Association (THEA)**  
Tezel sok 4/4 Yukarıyancı, 06550 Ankara  
Turkey

Journal title: Cell and Tissue Biology Research.

Manuscript title: .....

.....

.....

Full names of all authors (in order to appear on manuscript): .....

.....

Name, address etc. of corresponding author: .....

.....

.....

ID Number: ..... Telephone: .....

E-mail: ..... Mobile phone: .....

The author(s) warrant(s) that:

- a) the manuscript submitted is his/her/their own original work;
- b) all authors participated in the work in a substantive way and are prepared to take public responsibility for the work;
- c) all authors have seen and approved the manuscript as submitted;
- d) the manuscript has not been published and is not being submitted or considered for publication elsewhere;
- e) the text, illustrations, and any other materials included in the manuscript do not infringe upon any existing copyright or other rights of anyone.

Notwithstanding the above, the Contributor(s) or, if applicable the Contributor(s) Employer, retain(s) all proprietary rights other than copyright, such as

- a) patent rights;
- b) to use, free of charge, all parts of this article for the author(s) future works in books, lectures, classroom teaching or oral presentations;
- c) the right to reproduce the article for their own purposes provided the copies are not offered for sale.

However, reproduction, posting, transmission or other distribution or use of the article or any material contained therein, in any medium as permitted hereunder, requires a citation to the Journal and appropriate credit to THEA as publisher, suitable in form and content as follows: Title of article, author(s), journal title and volume/issue, Copyright© year.

All materials related to manuscripts, accepted or rejected, including photographs, original figures etc., will be kept by THEA for one year following the editor's decision. These materials will then be destroyed.

I/We indemnify THEA and the Editors of the Journals, and hold them harmless from any loss, expense or damage occasioned by a claim or suit by a third party for copyright infringement, or any suit arising out of any breach of the foregoing warranties as a result of publication of my/our article. I/We also warrant that the article contains no libelous or unlawful statements and does not contain material or instructions that might cause harm or injury.

This copyright form must be signed by all authors. Separate copies of the form (completed in full) may be submitted by authors located at different institutions; however, all signatures must be original.

ID number: .....

Full name (block letters) .....

Signature ..... Date .....

ID number: .....

Full name (block letters) .....

Signature ..... Date .....

ID number: .....

Full name (block letters) .....

Signature ..... Date .....

ID number: .....

Full name (block letters) .....

Signature ..... Date .....

ID number: .....

Full name (block letters) .....

Signature ..... Date .....

ID number: .....

Full name (block letters) .....

Signature ..... Date .....

Turkish authors must supply their ID card number; foreign authors must supply their passport number.



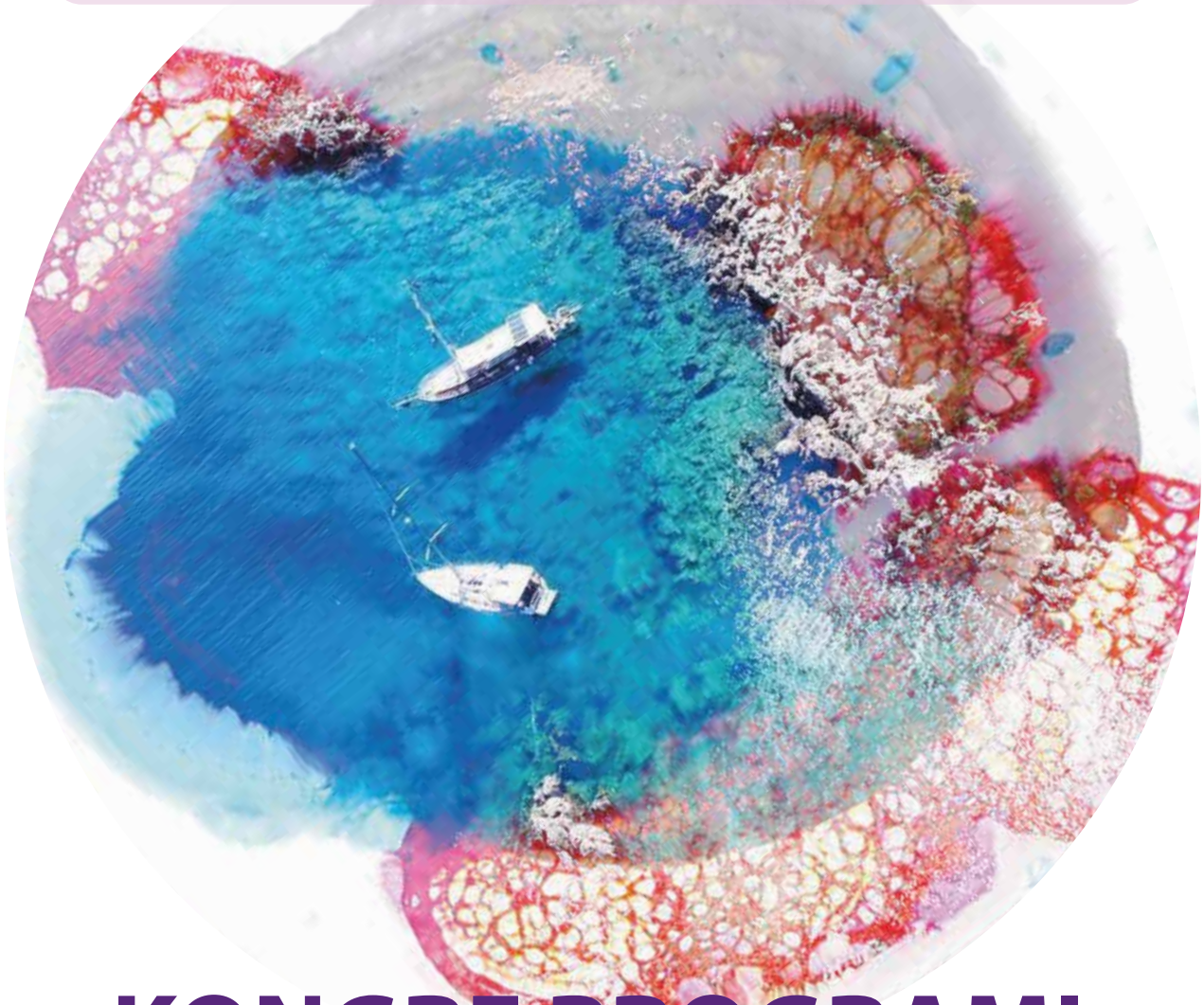
**14. ULUSAL  
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ  
KONGRESİ**

“hücre hayattır”

10-13 Mayıs 2018

Hotel Su-Antalya

[www.thed2018.org](http://www.thed2018.org)



**KONGRE PROGRAMI  
& ÖZET KİTABI**

\*Kongremiz TÜBİTAK-BİDEB 2223-B Yurtiçi Bilimsel Etkinlik Düzenleme Desteği almıştır.



## ÖNSÖZ

### **Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği'nin Saygıdeğer Üyeleri,**

Göz açıp kapayınca kadar hızlı geçen bir dönemin daha ardından sizlerle derneğimizin 14. Ulusal Kongresinde bir araya gelebilmenin heyecanını ve mutluluğunu yaşıyoruz. Bildiğiniz gibi, 14. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği (THED) tarafından düzenlenmekte olup, 10-13 Mayıs 2018 tarihlerinde, Hotel Su, Antalya'da gerçekleştirilecektir. Bu yıllık kongre sloganımızı "Hücre Hayattır" olarak seçtik. Kongremizin, geçmiş toplantılarımızda olduğu gibi tüm katılımcılarımıza hem bilimsel hem de sosyal anlamda güzel ve unutulmaz anılar yaşatması en büyük arzumuzdur.

THED, kurulduğu 1990 yılından bugüne, üye sayısını her geçen gün arttırarak güçlenmiş; alanını temsil eden tek meslek derneği olarak; üyelerinin eğitim, hizmet ve araştırma alanlarındaki etkinliklerini ulusal ve uluslararası platformlarda desteklemeyi amaç edinmiştir. İki yılda bir gerçekleştirilen ulusal kongrelerimiz bu etkinliklerin en önemli bölümünü oluşturmaktadır. Derneğimizin kuruluşunun 28. yıl dönümünü de kutladığımız bu yıl ki kongremizde, 88 sözlü, 118 poster bildirisi olmak üzere toplam 206 bilimsel bildiri sunulacak ve tartışılacaktır. Kongremizde sunulacak bildirilerin konulara göre dağılımı incelendiğinde ÜYTE, implantasyon, plasenta, üreme sistemi, embriyoloji ve teratoloji, tümör biyolojisi, Histoloji ve Embriyoloji'de sistemler, kök hücreler ve tedavide kullanımı, Histoloji ve Embriyoloji'de yeni teknolojik yaklaşımlar, DNA-hücre-doku hasarı ve onarımı, stereolojik yaklaşımlar ve sinir bilimleri gibi çok geniş bir yelpazeyi kapsadığı görülmektedir. Kongremizde ayrıca, 4 bireysel konferans, 4 ayrı panelde 10 panel sunumu, 1 bireysel fotoğraf gösterisi ve 2 farklı firma tarafından gerçekleştirilecek 2 uydu sempozyumu yer alacaktır. Davetli konuşmaların başlıkları arasında ise CRISPR-Cas devrimi, deneysel modellerde mezenşimal kök hücre uygulamaları, lab-on-a-chip teknolojisi ve akademik girişimcilik, şirketleşme ve gelir modelleri gibi güncel ve önemli konular yer almaktadır.

Her ulusal kongremizde olduğu gibi, bu yıl da davetli konuşmalar, sözlü ve poster sunularının Türkçe özetlerini elektronik olarak Cell and Tissue Biology Research dergimizde yayımlıyoruz. Dergimizde paylaştığınız bilgi ve deneyimlerinizin histoloji ve embriyoloji alanına çok önemli katkılar sağlayacağına inanıyoruz.

Bilimsel etkinliklerimizin yanı sıra THED 15. Olağan Genel Kurulunun ve hemen ardından gerçekleştirilecek olan Kongre Gala Yemeğinin, birlik ve beraberliğimizi pekiştirecek güzel anılara vesile olmasını yürekten arzulamaktayız. Geçmiş yıllarda olduğu gibi bu yıl da meslekte 30. yılını dolduran değerli meslektaşlarımıza ve bir önceki kongremizden bugüne geçen süreçte emekli olan değerli büyüklerimize plaketleri gala yemeğinde düzenlenecek tören ile takdim edilecektir.

Kongremizin gerçekleştirilmesinde desteklerini esirgemeyen sponsorlarımıza, verdiği maddi destekten dolayı TÜBİTAK-BİDEB-2223-B Yurtiçi Bilimsel Etkinlik Düzenleme Desteği Programına, bilimsel kurulda görev alan değerli öğretim üyelerimize, THED 14. Dönem Yeterlik Yürütme Kurulu ve Alt Komisyonlarında ve diğer Kurullarda görev alan tüm değerli meslektaşlarımıza ve değerli Ea Organizasyon ve çalışanlarına sonsuz teşekkürü bir borç biliriz.

Son olarak, THED 14. Dönem Yönetim Kurulu Üyelerinin, 14. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresinin de Düzenleme Kurulunu oluşturduklarını hatırlatarak, kongremizin düzenlenmesinde verdikleri emekten ve gösterdikleri üstün gayretten dolayı hepsine ayrı ayrı teşekkür ederiz.

Siz değerli üyelerimizin verimli, güzel ve başarılı bir kongre geçirmenizi ve THED ailesi olarak kuruluşumuzun 28. yılında bu özel anları paylaşabilmek ve ölümsüzleştirebilmek için Antalya'da buluşabilmeyi dileriz.

Saygılarımızla,

Prof. Dr. A. Çevik TUFAN  
Kongre Başkanı

Prof. Dr. Çiler ÇELİK ÖZENCİ  
Kongre Genel Sekreteri

## KURULLAR

### Kongre Düzenleme Kurulu

#### Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği

Prof. Dr. A. Çevik Tufan  
Prof. Dr. Özhan Eyigör  
Doç. Dr. Ayten Türkkani  
Doç. Dr. Alev Gürol Bayraktaroğlu  
Prof. Dr. Petek Korkusuz  
Prof. Dr. Çiğdem Elmas  
Prof. Dr. Gülperi Öktem  
Prof. Dr. Çiler Çelik Özenci  
Prof. Dr. Özgür Çınar

### Bilimsel Kurul

Prof. Dr. Gülçin Abban Mete  
Prof. Dr. Serap Arbak  
Prof. Dr. Pergin Atilla  
Prof. Dr. Sevil Çaylı  
Prof. Dr. Feriha Ercan  
Prof. Dr. Esra Erdemli  
Prof. Dr. Hatice Erdost  
Prof. Dr. Ülker Eren  
Prof. Dr. Semiha Ersoy  
Prof. Dr. Alpaslan Gökçimen  
Prof. Dr. Aysel Güven Bağla  
Prof. Dr. Sevinç İnan  
Prof. Dr. Zeynep Kahveci  
Prof. Dr. Narin Liman  
Prof. Dr. Sevda Müftüoğlu  
Prof. Dr. Yusuf Nergiz  
Prof. Dr. Nesrin Özfiliz  
Prof. Dr. Meltem Özgüner  
Prof. Dr. Sait Polat  
Prof. Dr. Yavuz Tekelioğlu  
Prof. Dr. Murat Tosun  
Prof. Dr. Yiğit Uyanıkgil  
Prof. Dr. Ayşegül Uysal  
Prof. Dr. H. Seda Vatansever

Prof. Dr. Birkan Yakan  
Prof. Dr. Melda Yardımoğlu Yılmaz  
Doç. Dr. Serap Cilaker Mıcılı  
Doç. Dr. Leyla Satı  
Doç. Dr. Gamze Tanrıöver  
Doç. Dr. Şehime Gülsün Temel  
Doç. Dr. Elgin Türköz Uluer  
Doç. Dr. Serap Uslu  
Doç. Dr. Yusufhan Yazır  
Yrd. Doç. Dr. Neşe Çölçimen  
Yrd. Doç. Dr. Hakan Darıcı  
Yrd. Doç. Dr. Züleyha Erişgin  
Yrd. Doç. Dr. Elif Gelenli Dolanbay  
Yrd. Doç. Dr. Nazlı Ece Ordueri  
Yrd. Doç. Dr. Aslı Taşlıdere  
Yrd. Doç. Dr. Işıl Aydemir  
Yrd. Doç. Dr. Başak Büyük  
Yrd. Doç. Dr. Alev Cumbul  
Yrd. Doç. Dr. Seda Karabulut  
Yrd. Doç. Dr. İlknur Keskin  
Yrd. Doç. Dr. Hilal Nakkaş  
Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emin Önger  
Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar Sunay

## PROGRAM

10 Mayıs 2018 Perşembe			
	ANA SALON	SALON B	SALON C
11:00-13:30	KAYIT İŞLEMLERİ		
13:30-14:00	AÇILIŞ TÖRENİ (AK)		
14:00-14:30	<b>AÇILIŞ KONFERANSI</b> <i>OTURUM BAŞKANI: Prof. Dr. Serap ARBAK</i> <b>Genom mühendisliği ve CRISPR-Cas devrimi</b> Yrd. Doç. Dr. Şerif ŞENTÜRK		
14:30-15:00	<b>OTURUM-1</b> <i>OTURUM BAŞKANI: Prof. Dr. Alp CAN</i> <b>CRISPR-Cas9 taramaları ile uyarılmış pluripotent kök hücre üretimini etkileyen yeni epigenetik faktörlerin belirlenmesi</b> Yrd. Doç. Dr. Tamer ÖNDER (K1)		
15:00-15:30	ÇAY-KAHVE ARASI		
15:30-16:30	<b>OTURUM-2</b> <b>PANEL: KÖK HÜCRELER</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Gülperi ÖKTEM, Prof. Dr. Zeynep KAHVECİ</i> <b>Deneyisel modellerde mezenkimal kök hücre uygulamaları</b> Prof. Dr. Tunç AKKOÇ (K2) <b>Genetically modified adult progenitors as tools for drug delivery</b> Filippo Rossignoli, Ph.D. (K3)		
16:30-17:30	<b>OTURUM-3a</b> <b>ÜYTE-1</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Ayşegül UYSAL, Doç. Dr. Berrin AVCI</i> BİLDİRİLER: S06, S16, S43, S55	<b>OTURUM-3b</b> <b>İMLANTASYON-PLASENTA</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Petek KORKUSUZ, Prof. Dr. Sevinç İNAN</i> BİLDİRİLER: S69, S76, S84, S87	<b>OTURUM-3c</b> <b>EMBRİYOLOJİ VE TERATOLOJİ</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Meltem KURUŞ, Prof. Dr. Sevda MÜFTÜOĞLU</i> BİLDİRİLER: S03, S30, S44, S47
17:30-18:30	<b>POSTER SUNUMLARI-1 (Poster Alanı)</b> <b>P001-P030, P080-P086 arasında yer alan posterler</b>		
20:00	AÇILIŞ KOKTEYLİ		

11 Mayıs 2018 Cuma			
	ANA SALON	SALON B	SALON C
09:00-10:00	<b>OTURUM-4</b> <b>PANEL: LAB-ON-A-CHIP TEKNOLOJİSİ</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Çiğdem ELMAS, Prof. Dr. Necdet DEMİR</i> <b>Kanser Biyolojisinde Lab-on-a-chip Teknolojisi</b> Doç. Dr. Devrim PESEN OKVUR (K4) <b>Histoloji ve Embriyolojide Mikroakışkan Lab-on-a-Chip Potansiyel Uygulamaları</b> Serhat SEVLİ (K5)		
10:00-10:30	<b>OTURUM-5</b> <i>OTURUM BAŞKANI: Prof. Dr. Ahmet Çevik TUFAN</i> <b>Aquagraphs. Suya ışıkla yazılanlar. (Su altı fotoğrafları gösterisi)</b> Prof. Dr. Alp CAN (K6)		
10:30-11:00	<b>ÇAY-KAHVE ARASI</b>		
11:00-12:15	<b>OTURUM-6a</b> <b>ERKEK ÜREME SİSTEMİ-1</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Ülker EREN, Prof. Dr. Murat Tosun</i> BİLDİRİLER: S85, S40, S38, S59, S13	<b>OTURUM-6b</b> <b>TÜMÖR BİYOLOJİSİ-1</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Selma YILMAZER, Prof. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU</i> BİLDİRİLER: S32, S74, S77, S80	<b>OTURUM-6c</b> <b>HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİDE SİSTEMLER-1</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. İlkin ÇAVUŞOĞLU, Prof. Dr. İsmail SEÇKİN</i> BİLDİRİLER: S52, S41, S83, S70, S58
12:15-13:30	<b>ÖĞLE YEMEĞİ</b>		
13:30-14:00	<b>UYDU SEMPOZYUM - BD</b> <b>Kısırlık tanısında flow sitometrik çözümler</b> <b>Begüm YILDIZ</b>		
14:00-15:15	<b>OTURUM-7</b> <b>PANEL: GİRİŞİMCİLİK</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Şahin SIRMALI, Prof. Dr. Çiler ÇELİK ÖZENCİ</i> <b>Akademik girişimcilik, şirketleşme, gelir modelleri ve yeni bir kariyer patikası</b> Doç. Dr. Olgun KİTAPCI (K7) <b>Kariyer de yaparım, girişimcilik de</b> Prof. Dr. Zeynep KAHVECİ (K8) <b>Bir kuluçka hikayesi: 30. yılda yeni bir başlangıç</b> Prof. Dr. Necdet DEMİR (K9)		
15:15-15:45	<b>ÇAY-KAHVE ARASI</b>		
15:45-17:30	<b>OTURUM-8a KÖK HÜCRELER VE TEDAVİDE KULLANIMLARI</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Meltem ÖZGÜNER, Doç. Dr. Yusufhan YAZIR</i> BİLDİRİLER: S75, S66, S57, S86, S28, S01, S53, S34, S46	<b>OTURUM-8b ERKEK ÜREME SİSTEMİ-2</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Engin YENİLMEZ, Doç. Dr. Cem KORKMAZ</i> BİLDİRİLER: S61, S35, S60, S20, S54, S42, S08	<b>OTURUM-8c</b> <b>HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİDE YENİ YAKLAŞIMLAR</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Semiha ERSOY, Prof. Dr. Hüseyin AKTUĞ</i> BİLDİRİLER: S19, S78, S79, S81, S82
17:30-18:30	<b>POSTER SUNUMLARI-2 (Poster Alanı)</b> <b>P038-P073 arasında yer alan posterler, P079 ve P112 numaralı posterler</b>		

12 Mayıs 2018 Cumartesi			
	ANA SALON	SALON B	SALON C
09:00-09:30	<b>OTURUM-9</b> <i>OTURUM BAŞKANI: Prof. Dr. Özhan EYİĞÖR</i> <b>Visualizing the unique morphology of the GnRH neuron controlling fertility</b> Prof. Allan E. Herbison (K10)		
09:30-10:30	<b>OTURUM-10a</b> <b>DİŞİ ÜREME SİSTEMİ-1</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL, Prof. Dr. Oya EVİRGEN</i> BİLDİRİLER: S05, S48, S62, S64	<b>OTURUM-10b</b> <b>TÜMÖR BİYOLOJİSİ-2</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Meral BAKA, Prof. Dr. Figen KAYMAZ</i> BİLDİRİLER: S45, S72, S21, S11	<b>OTURUM-10c</b> <b>SİNİRBİLİM</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Yusuf Nergiz, Prof. Dr. Gamze TANRIÖVER</i> BİLDİRİLER: S15, S23, S25, S56
10:30-11:00	<b>ÇAY-KAHVE ARASI</b>		
11:00-12:15	<b>OTURUM-11a</b> <b>ÜYTE-2</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Gülçin METE, Doç. Dr. Ayten TÜRKKANI</i> BİLDİRİLER: S14, S73, S65, S18, S17	<b>OTURUM-11b</b> <b>DNA-HÜCRE-DOKU HASARI VE ONARIMI</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Emel KOPTAGEL, Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK SEZGİN</i> BİLDİRİLER: S50, S68, S67, S04, S02	<b>OTURUM-11c</b> <b>STEREOLOJİK YAKLAŞIMLAR</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Murat AKKUŞ, Doç. Dr. Deniz BİLLUR</i> BİLDİRİLER: S09, S24, S26, S29, S71
12:15-13:30	<b>ÖĞLE YEMEĞİ</b>		
13:30-14:00	<b>UYDU SEMPOZYUM</b> <b>Beckman Coulter Akım sitometri Çözümleri</b> <b>Araştırma Kapasitesitesini Arttıran Yenilikler</b> <b>Gülhis AKAR</b> <b>Beckman Coulter Life Sciences Ürün Uzmanı</b>		
14:00-15:15	<b>OTURUM-12a</b> <b>ÜYTE-3</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPTANOĞLU, Doç. Dr. Sinan ÖZKAVUKCU</i> BİLDİRİLER: S39, S27, S12, S10, S36	<b>OTURUM-12b</b> <b>DİŞİ ÜREME SİSTEMİ-2</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Esra ERDEMLİ, Prof. Dr. Sevil ÇAYLI</i> BİLDİRİLER: S63, S49, S33, S31, S07	<b>OTURUM-12c</b> <b>HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİDE SİSTEMLER-2</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Meral KOYUTÜRK, Doç. Dr. Meryem AKPOLAT</i> BİLDİRİLER: S51, S88, S22, S37
15:15-15:45	<b>ÇAY-KAHVE ARASI</b>		
15:45-17:30	<b>THED GENEL KURULU</b>		
17:30-18:30	<b>POSTER SUNUMLARI-3 (Poster Alanı)</b> <b>P074-P079, P087-P118 arasında yer alan posterler</b>		
19:30-00:00	<b>GALA YEMEĞİ</b>		

**13 Mayıs 2018 Pazar**

**ANA SALON**

<b>09:00-10:30</b>	<b>OTURUM-13</b> <b>PANEL: HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİDE ÖNE ÇIKAN ÇALIŞMALAR</b> <i>OTURUM BAŞKANLARI: Prof. Dr. Bekir Uğur ERGÜR, Doç. Dr. Leyla SATI, Doç. Dr. Dilara ZEYBEK</i> <b>Meme kanseri ve yarattığı metastazların karanlık yüzü melatonin ile aydınlatılabilir mi?</b> Prof.Dr. Gamze TANRIÖVER (K11) <b>Hücrelerimize neler oluyor? Farklı fiksatiflerin kullanımı immünflüoresan yöntemle boyama sonuçlarını etkiler mi?</b> Uz. Dr. Ferda TOPAL ÇELİKKAN (K12) <b>Petri kabında yapay embriyogenez: Kök hücre kaynaklı embriyo modeli ile bilimde ne kadar ileri gitmek mümkün?</b> Berna SÖZEN KAYA (K13)
<b>10:30-11:00</b>	<b>ÇAY-KAHVE ARASI</b>
<b>11:00-11:30</b>	<b>OTURUM-14</b> <i>OTURUM BAŞKANI: Prof. Dr. Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU</i> <b>İn vitro embriyo kültürü ve embriyo transferinin yetişkin dönemde uzun vadeli sağlık sorunları üzerine etkileri</b> Prof. Dr. Levent KARAGENÇ (K14)
<b>11:30-12:00</b>	<b>KAPANIŞ</b>

**Sözlü sunumlarda numaralar sunum sırasına göre sıralanmıştır.**

**Davetli Konuşma ve Konferanslar**  
**(AK-K14)**

**AK**

**Genom Mühendisliği ve CRISPR-Cas Devrimi**

Doç. Dr. Şerif Şentürk

Dokuz Eylül Üniversitesi

İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü

Genom, epigenom ve transkriptomun organizasyonu ve kompozisyonu hakkında giderek artan bilgi birikimi ve DNA manipülasyonu için geliştirilen yeni nesil moleküler araçlar, genom mühendisliği araştırmalarına olan ilgiyi artırmıştır. Genel olarak genom mühendisliği; genoma ve onun bağlamlarına (örneğin, epigenetik belirteçler) veya çıktılarına (örneğin, transkriptler) hedeflenmiş modifikasyonlar yapma işlemi ifade eder. Düünden bugüne geliştirilen moleküler araçlar arasında CRISPR-Cas sistemi her geçen gün yükselen potansiyeli ile araştırmacıların ilgisini çekmiş ve hiç şüphesiz ki keşfinden bugüne yaşam bilimlerindeki araştırmalara büyük bir ivme kazandırmıştır.

Esasen, CRISPR-Cas sistemi prokaryotik hücrelerde (bakteriler ve arkea) bulunan ve istilacı yabancı genetik elementlere (örneğin, plazmid ve faj) karşı direnç sağlayan bir savunma mekanizmasıdır. CRISPR-Cas tanımlanan bu özelliği sebebiyle bile heyecan verici bir sistemken, böylesi bir sistemin hemen her türlü organizmanın genomunu ve onun fonksiyonel çıktıları kolaylıkla düzenleyebilecek bir yöntem dönüşmesi bir devrim niteliğindedir. Öyle ki, daha önceleri Meganükleaz-, ZFN- ve TALEN-bazlı genom mühendisliği yöntemleri mevcutken, bu sistemin seleflerine kıyasla uygulaması çok daha kolay ve ekonomiktir. Hücrenin içsel mekanizmalarını kullanan bu yöntem aynı zamanda daha verimli ve çok yönlüdür. Çığır açan yetenekleri düşünüldüğünde, CRISPR-Cas sistemi ve çeşitli moleküler çalışmalara uyarlanmış farklı varyasyonları sadece bilim dünyasında değil aynı zamanda sağlık ve biyoteknoloji sektörü aracılığıyla insanlığa sunabileceği faydalar bağlamında da her kesim tarafından önemli ilgi görmektedir. Dahası, CRISPR-Cas sisteminin uygulama alanlarını çevreleyen etik tartışmalar dünya çapında dikkatle izlenmektedir.

Sonuç olarak, bu yöntemin doğuşu, uygulanması ve evrilmesi nispetinde tarihe tanıklık ediyoruz dersek abartmış olmayız. Bu konuşma ile genom mühendisliği alanındaki yeni gelişmeler ve uygulamalar hakkında bilgi verilirken, aynı zamanda CRISPR-Cas sisteminin güncel literatürünün özetlenerek sunulması hedeflenmektedir.



**K1**

**CRISPR/Cas9 taramaları ile uyarılmış pluripotent kök hücre üretimini etkileyen yeni epigenetik faktörlerin belirlenmesi**

Tamer Önder

Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Somatik hücrelerin yeniden programlaması sayesinde herhangi bir bireyden o kişiye özgü uyarılmış pluripotent kök hücreler (UPKH) elde edilebilmektedir. UPKH'lerin hücrel tedaviler ve hastalık modellemesi konularında çok büyük potansiyel kullanım alanları vardır. Ancak bu tip hücrelerin klinikte yaygın bir şekilde kullanımları önünde halen aşılması gereken bazı sorunlar bulunmaktadır. Bu sorunlardan bir tanesi yeniden programlamanın veriminin düşük olmasıdır. Verimi yükseltmek için yeniden programlamanın moleküler mekanizması ve bu süreçte rol alan genlerin ortaya çıkarılması gerekir. Bu hedef doğrultusunda genomda bulunan yaklaşık 250 epigenetik faktörü hedefleyen bir lentiviral CRISPR kütüphanesi oluşturduk. Bu kütüphaneyi kullanarak insan fibroblastlarında bir tarama yapıldı ve CRISPR/CAS kullanılarak iptal edildiklerinde UPKH oluşumunu artıran genler belirlendi. Böylelikle yeniden programlamayı engelleyen epigenetik faktörlerin önemli bir bölümü açığa çıkarılmış oldu.

**K2****Mesenchymal stem cell and experimental models**

Prof. Dr. Tunç AKKOÇ

Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent cells and can be isolated from several sources mainly from bone marrow, adipose and dental tissues and further they have ability to differentiate into various lineages of cell types. Recently, several types of MSCs reserved in dental and oral tissues have been identified. MSCs originated from orafacial tissues are easy to obtain and can be easily isolated. In addition to their differentiation potential and tissue regeneration, dental MSCs have been reported to regulate immune responses in autoimmune and inflammatory diseases. MSCs are able to regulate both innate and adaptive immunity by secreting large variety of soluble factors, including transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), and prostaglandin E2 (PGE2), which induce development of regulatory T cells from naive CD4+ T lymphocytes. Our previous studies showed that dental follicle is one of the sources of MSCs, which can be isolated in high amounts and has potential immunosuppressive effects on proliferating CD4+ T lymphocytes by increasing regulatory T cell amounts. Additionally, Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) is the signature cytokine of Th1 effector cells, which is known to be effective for down-regulating Th2- mediated responses in allergic diseases. Moreover, IFN- $\gamma$  pretreated MSCs have an enhanced ability to modulate T cell over-activities with direct or indirect contact by inducing MSC inhibitory factors.

Currently, the role of MSCs in allergic asthma has also been reported. However, the regulatory potential of DFSCs in asthma remains to be elucidated. In our group evaluate the immunomodulatory effect of DFSCs on house dust mite sensitive asthma patients PBMC in vitro. We investigated the proliferative response, T cell viability, frequency of CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells, CD4+T lymphocyte ratios in distinct compartments, costimulatory molecule activations of antigen-presenting cells (APCs), soluble cytokine levels and protein expressions of Th1, Th2 and Treg transcription factors isolated from peripheral blood samples of untreated asthma patients in the presence and absence of DFSCs and compared results with immunotherapy subjects (1). The immunoregulatory effect of DFSCs on CD4+ T lymphocytes was evaluated with anti-CD3/anti-CD28, Der p1 or with the simultaneous stimulation of IFN- $\gamma$ . In addition, we conducted neutralisation experiments to determine, which of the soluble mediators produced by DFSCs have an immunomodulatory effect on immune responses of asthmatic patients.

Results of our study revealed that Dental follicle mesenchymal stem cells suppressed proliferative responses of CD4+ T lymphocytes and increased the frequency of Treg cells. DFSCs decreased effector and effector memory CD4+ T cell phenotypes in favour of naive T cell markers. DFSCs decreased IL-4 and GATA3 expression and increased IFN- $\gamma$ , T-bet and IL-10 expression in asthmatics. Costimulatory molecules were suppressed in monocytes with DFSCs in the cocultures. DFSCs down-regulated inflammatory responses via IDO and TGF- $\beta$  pathways in asthmatic patients.

Diabetes, age-related macular degeneration and glaucoma are the most common causes of legal blindness in developed countries. The common pathways in these conditions consist of the progressive loss of photoreceptors, interneurons, glial cells and ganglion cells. (2)

Despite of the prominent progress in ophthalmology, the World Health Organization estimated that diabetic retinopathy (DR) is responsible for 4.8% of the 37 million cases of blindness throughout the world. Although some animals like amphibians have the capacity to regenerate complete retina throughout their lives, mature mammalian eyes are thought to lack any retinal regenerative capacity. Stem cell treatments, while promising, are still at early experimental stages in ophthalmology.

Stem cells have the capacity to generate different types of daughter cells with asymmetric mitotic division, and thus they are accepted as an easy tool for regeneration of damaged tissue. Many types of stem cells such as embryonic stem cells, hematopoietic stem cells, endothelial progenitor cells induced pluripotent stem cells umbilical cord blood derived myeloid progenitor cells, and mesenchymal stem cells are implicated in various types of retinopathies.

Mesenchymal stem cells (MSC) are ubiquitously found in almost all tissues in the body and migrate into the nervous system in response to injury. They can differentiate into fully functional neurons, but their benefits may also arise from the production of neurotrophic factors and the repair of the vasculature, which is equally observed in MSC isolated from various tissues. They can be isolated from cord blood, Wharton's jelly, the placenta, bone marrow, teeth, and adipose tissue, which makes them favorable for autologous transplantation. As a promising therapeutic tool to suppress inflammation and immunomodulation, bone marrow derived mesenchymal stem cells (BMSC) have also been widely used in preclinical treatment studies of several autoimmune disorders.

Among these cells, intravitreal injection of adipose derived MSC have been demonstrated to be possibly effective in pericyte replacement, improving blood retina barrier integrity and differentiating into photoreceptor cells or astrocytes in streptozotocin (STZ) induced diabetic retinopathy models.

An improvement in functional vision has been shown with retinal progenitor cells which migrate into retina and differentiate to mature retinal cells. The fundamental question whether stem cells that integrate into the retina can create a functional vision in totally blind subjects by forming new synapses, was answered in a study, where functional vision was evidenced after rod precursor transplantation in adult *Gnat1*<sup>-/-</sup> mice, totally lacking rod function.

On the other hand bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BMSC) are relatively easily isolated than the retinal progenitor cells or induced pluripotent stem cells. They have been shown to inhibit photoreceptor apoptosis and slow down retinal damage in vivo and in vitro by expressing bFGF and BDNF. Intraocular transplantation of BMSC can prevent retinal ganglion cell apoptosis in optic nerve injury or glaucoma models, and are shown to differentiate into photoreceptors in vivo and in vitro.

To assess their possible functional effect in restoring vision, in this study, we evaluated the change in electroretinography (ERG) after intravitreal injection of rat BMSC in a streptozotocin (STZ) induced diabetes model; examined the migration of green fluorescein protein (GFP) labeled BMSC into the retina by immunofluorescence, assessed the degree of reactive gliosis in STZ induced diabetic retinopathy by immunohistochemistry with vimentin and glial fibrillary acidic protein (GFAP) antibodies, which was shown to be increased in diabetic retinopathy in previous studies, and assessed any change in gliosis after intravitreal BMSC injection. Stem cells have been highlighted as a promising regenerative therapy in retinal diseases. The most commonly used method is the intravitreal injection of BMSC. In this study, we observed integration of BMSC into the retina and to exert possible beneficial effects of the intravitreal injection of BMSC in DR by means of ERG. We have seen a gradual improvement in the most pathognomonic ERG sign of DR: the OP. The BMSC apparently decreased the occurrence of retinal gliosis, and they had also differentiated into retinal glial cells in the inner retina.

- 1- Clin Exp Allergy. 2018 Mar 2. Deniz Genc & Tunç Akkoç et al
- 2- PLoS One. 2016 Oct 18;11(10) Eren Çerman & Tunç Akkoç et al

### **K3**

#### **Genetically Modified Adult Progenitors as Tools for Drug Delivery**

Filippo Rossignoli, Ph.D.

Laboratory of Cellular Therapy, Department of Medical and Surgical Sciences for Children & Adults, University-Hospital of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy

Mesenchymal stromal cells (MSC) are a population of multipotent progenitor cells that retain a proliferative potential and can differentiate into a variety of cell types. Their possible applications have been extensively investigated, focusing primarily on their immunomodulatory and regenerative or tissue repair potential. In addition, they can be easily genetically manipulated and are able to migrate to tumors and metastatic sites when systemically administered. These characteristics make MSC an ideal vector to deliver anti-cancer drugs in tumor sites. In particular, we observed that adipose-derived MSC can be armed to constantly release variants of the known anti-cancer agent TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), demonstrating a significant anti-tumor effect in several cancer models including pancreatic cancer, both in vitro and in vivo. Moreover, to improve the potential of the treatment, also accounting for a possible resistance onset, we combined this MSC-based approach with administration of Paclitaxel (PTX)-based chemotherapy assessing its effect on tumor accounting stromal and parenchymal organization. These studies underline the versatility of MSC for a broad spectrum of conditions beside the known regenerative medicine approaches. Moreover, they uncover the potential of a combinatory approach between MSC-delivered TRAIL and PTX, supporting the combination of cell-based products and conventional chemotherapeutics as a tool to improve the efficacy of the treatments also addressing possible mechanisms of resistance.

#### K4

##### **Kanser Hücre Biyolojisi için Yonga-üzeri-Laboratuvar**

Devrim Pesen Okvur

Kanser hücre biyolojisi hem zamanda hem de uzamda karmaşıktır. Mikroakışkan temelli lab-on-a-chip (LOC – yonga üzeri laboratuvar) aygıtları nano/mikrometre ve saniyeler ölçeklerinde kontrol sağlamaktadırlar. Biz LOC aygıtları tasarladık, ürettik ve bunları kanserin yayılmasında kontrolsüz gerçekleşen hücreyel olaylar olan hücre yapışması, işgali ve göçünü incelemek için kullandık.

Hücre yapışması ile ilgili olarak, temel LOC aygıtları ve karmaşık nanodesenli yüzeyler kullanarak meme kanseri hücrelerinin, doku içi akış ve nano-desenli değişken yüzeyler gibi kutupsallaşmayı tetikleyen durumlarda, normal meme epitel hücrelerine göre daha iyi uyum sağlayarak, plastik özelliklerini gösterdiklerini ortaya koyduk.

İşgale istinaden, kanser hücrelerince oluşturulan proteolitik yapılar olan işgalci-ayakların hücreyel dağılımının hücre dışı matrisin yapılanması ile düzenlenebileceği bilinmemekteydi. Nanometre ölçeğinde yüzey protein desenleri kullanarak elde ettiğimiz sonuçlar gösterdi ki işgalci-ayakların dağılımları yapışkan olmayan alanlara doğru kutupsallaştılar.

Ayrıca, meme kanseri hücreleri ve makrofajların, tümör mikroçevresindeki önemli bir ikili, birbirleriyle etkileşimlerini araştırdık. Sonuçlarımız gösterdi ki EGF (epidermal büyüme etkeni) – CSF-1 (koloni tetikleme etkeni 1) döngüsü genel olarak kabul edilen çifte paracrine döngünün aksine bir paracrine – juxtacrine döngüsüdür.

Son olarak, kanserin yayılmasının erken teşhisi için yeni bir LOC temelli yöntem geliştiriyoruz. Burada sürecin extravasation (kanseri hücrelerinin kan damarından çıkması) aşamasına odaklanıyoruz ve bu aşamayı bir LOC aygıtında taklit ediyoruz.

##### **Lab-on-a-chip for Cancer Cell Biology**

Cancer cell biology is complex in both space and time. Microfluidics based lab-on-a-chip (LOC) devices provide control at the nano/micrometer and seconds scales. We designed, fabricated and used LOC devices to investigate cell adhesion, invasion and migration, which are the cellular phenomena that are uncontrolled in cancer metastasis.

With respect to cell adhesion, using basic LOC devices and complex nanopatterned surfaces, we showed that breast cancer cells better adapted to polarization inducing conditions such as interstitial flow and nano-patterned gradient surfaces, demonstrating their plasticity in comparison to normal mammary epithelial cells.

In regard to invasion, it was not known whether the cellular distribution invadopodia, which are proteolytic structures formed by cancer cells, can be regulated by the organization of the extracellular matrix. Using nanometer scale surface protein patterns, our results showed that distribution of invadopodia were polarized towards non-adhesive areas.

Furthermore, we investigated interactions of breast cancer cells with macrophages, a prominent duet of the tumor microenvironment. Our results showed that the EGF (epidermal growth factor) – CSF-1 (colony stimulating factor 1) loop is a paracrine – juxtacrine loop contrary to the generally accepted double paracrine loop.

Finally, we are developing a new LOC based method for early detection of cancer metastasis. Here, we focus on the extravasation stage of the process, which we mimic in a LOC device.

## K5

### **Histoloji ve Embryolojide Mikroakışkan Lab-on-a-Chip Potansiyel Uygulamaları**

Serhat Sevli

Bir-Çip-Lab (Lab-on-a-Chip) teknolojisi, uygun malzemeler içerisinde mikrokanallar açılarak yeni nesil mikroakışkan çip aygıtları oluşturulmasını sağlar. Mikroakışkan çiplerin yakın gelecekte yaşam bilimleri alanının aşağıdaki konularında baskın teknoloji olması beklenmektedir.

- Deneysel çalışmalarda standart laboratuvar yöntemlerinin yeterli gelmediği araştırmaların yapılabilmesi; örneğin hücrelerin küçük haznelerde tek hücre seviyesinde incelemeler
- Taşınabilir/giyilebilir tanı/tedavi uygulamalarının kullanılması; örneğin terden veya mikroığneler ile kandan taşınabilir analiz cihazları
- İlaç taşıyıcı mikropartiküller veya mikro-kapsüllerin yüksek verimle üretimi
- 3 boyutlu doku/organ modellerinin ilaç geliştirimi ve toksikoloji çalışmalarında hayvan deneylerinin yerine geçmesi

Hayvanların bilimsel araştırmalarda kullanımı gerekli olsa da bu kullanım sırasında gözönünde bulundurulması gereken 3R kuralı vardır; Replacement, Reduction ve Refinement. Bu kural gereği, hayvansal organizmaların doğrudan benzetim yapamadığı insan hücre ve dokularının in vitro ortamda modellenmesi ihtiyacı karşımıza çıkar. Yeni bir ilaç veya molekülün Embryonik gelişime teratojenik etkisi olup olmadığının incelenmesi için günümüzde öncelikle Zebrafish veya Xenopus embryosu kullanılmaktadır. Fakat bunlar hem zahmetli testlerdir hem de çeşitli limitleri bulunmaktadır.

Bu sunumda, mikroakışkan bir-çip-lab teknolojisinin histoloji ve embriyoloji konularında mevcut ilaç geliştirme ve toksikoloji testlerine yönelik yenilikçi avantajları anlatılacaktır ve muhtemelen henüz çalışılmamış fikirler tartışmaya açılacaktır.

## K6

### **Aquagraphs. Suya ışıkla yazılanlar. (Su altı fotoğrafları gösterisi)**

Alp Can

AQUAgraphs® düşlerin ve umutların barındığı bir tür aşk öyküsü. Bu öykü, yedi yaşından bu yana denizlere hayranlık duyan bir gencin bir gün su altı fotoğrafçılarıyla birlikte bir su altı gezisine katılmasıyla ve o günden sonra yaşamını değiştiren bu tutkunun arkasından koşmasıyla başlar. "Denizleri hep araştırmak isterdim, sanırım nasıl yapacağımı buldum; bunu bir fotoğraf makinesiyle yapabilirim!.."

Denizdeki yaban hayatını anlamaya yönelik tutkum su altını fotoğraflamada beni motive eden en önemli unsur. Deniz canlılarının davranışlarını öğrenirken ekosistemle kurdukları ilişkileri de anlamaya çalışıyorum.

Bir doğa fotoğrafçısına yüklenen en anlamlı görevin gezegenimizdeki bozulmamış olan bölgelerin "dürüstçe" fotoğraflanması ve belgelenmesi olduğunu düşünüyorum.

Fotoğraf makinemde biriken AQUAgraph'lar, not defterimde biriken anılar gibidir. Yazmazsam unuturum örneğindeki gibi "çekmezsem unuturum" kaygısıyla "su altı anıları" biriktiriyorum.

Yaşadığımız gezegen yerküreden çok bir "suküre" aslında. Yaşam burada başlamış. Suküreyi fotoğraflamak insanoğlunun geçmişini ve biyolojik atalarını belgelemek gibi.

En beğendiğim AQUAgraph'lar fotoğraf makinesiyle adeta suda resim yaptıklarım olmuştur.

AQUAgraph çekerken konuyla aranızdan su sızmamalı! Ne kadar yakından çekim, o kadar başarılı AQUAgraph.

Su altında ilk kez gördüğünüz bir canlı türü veya davranış biçimi, size o an için ışık, kompozisyon, zaman, mekan gibi fotoğrafın tüm öğelerini unutturabilir. Su altında bir AQUAgraph elde etmek, son derece kaotik bir ortamı basitleştirmek anlamına geliyor benim için.

Konu seçimi ve kompozisyon fotoğrafçının objeyi anlama biçimini ortaya koyar; çünkü ne anladığımız kim olduğumuzdur.

Bence su altı fotoğrafçılığında kural yoktur, sadece iyi fotoğraf vardır. Onu ilk anda sevdiyseniz o iyi fotoğraftır.

Estetiğin yanı sıra her su altı fotoğrafı aynı zamanda mekana ve zamana not düşülen bir belge niteliği taşır.

Bu gösteri yaşamlarını denizlerin korunması için çaba gösterenlere adanmıştır...

**K7**

**Akademik Girişimcilik, Şirketleşme, Gelir Modelleri ve Yeni Bir Kariyer Patikası**

Olgun Kitapçı

Üniversitelerde topluma fayda sağlayacak birçok bilgi ve teknoloji üretilmektedir. Üretilen bu bilgi ve teknoloji çoğu zaman öğretim elemanının akademik yükselme kaygısından dolayı makale veya tebliğ boyutunda kalmaktadır. Akademik çıktılar toplumda bir karşılığı olduğunu ve bu karşılığın değere dönüşmesinin gereğini vurgulayan devlet, dokuzuncu ve onuncu kalkınma planlarında Ar-Ge ve inovasyona dayalı büyüme hedeflerine, üniversite-sanayi işbirliği süreçlerine geniş yer vermiştir. Bu durum bir anlamda devlet politikası haline gelmiştir. Teknoloji Geliştirme Bölgeleri'nin yanı sıra TÜBİTAK-TEYDEB, KOSGEB, Ar-Ge ve Tasarım Merkezi destekleri gibi çeşitli enstrümanlar devreye alınarak bu politikanın uygulamaları zenginleştirilmiştir. Hem üniversite hem de sanayi tarafına yönelik yapılan yasal düzenlemeler, destek ve teşvikler eksikliğini uzun yıllardır hissettiğimiz üniversite-sanayi işbirliği ekosistemini güçlendirmektedir.

Üniversitede üretilen bilgi ve teknolojinin sanayiye dönmesi (ticari bir değer kazanması) farklı şekillerde olmaktadır. İtme yöntemi olarak adlandırdığım ilk yöntemde akademisyen bilimsel çalışmaların bir çıktısı olan bilgi veya teknoloji için sanayide karşılık aramaktadır. Bu çabanın başarılı olma ihtimali çok düşüktür. Başarı oranının düşük olmasının arkasında yatan temel sebep, sadece akademik kaygıyla yapılan bilimsel çalışmanın çıktıları ile sanayicinin fayda-maliyet analiz sonuçlarının örtüşmemesidir. İkinci bir yöntem ise, sanayicinin ihtiyaçları doğrultusunda akademisyenin geliştirdiği bilgi ve teknolojinin sanayiye transferidir. Bu yöntem ilk yöntemle göre bir ihtiyaca cevap verdiğinden dolayı daha anlamlı ve başarılıdır. Son yöntem ise, hedef pazar için bir değer yarattığını düşünen girişimci akademisyenlerin Teknoloji Geliştirme Bölgeleri'nde Teknokent ve yasaların sağladığı imkânlar çerçevesinde ürettikleri bilgi ve teknolojiyi geliştirmek ve pazarlamak için kurdukları şirketlerdir. Akademisyen girişimciler için önemli bir gelir modeli olabilecek şirketler belki de yeni bir kariyer patikası olacaktır.



## K8

### **Kariyer De Yaparım Girişimcilik Te**

Prof. Dr. Zeynep Kahveci

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Abd Öğretim Üyesi,  
"Evkal Yazılım Eğitim Danışmanlık Tasarım Sağlık Hizmetleri Ticaret ve Sanayi Limited Şirketi" nin kurucu ortağı, Ulutek/Bursa

Kariyerimin en güzel aşamasında risk alarak bir iş kurdum. O dönemde üniversitemizde teknoloji geliştirme bölgesi olanaklarından sadece mühendisler yararlanıyordu. Yasayı inceledim benim de bir şeyler yapabileceğime karar verdim. Ben profesörüm diye çok kibir göstermedim, gurur yapmadım. Hedefimi, nereye gitmek istediğimi belirledim ve işe koyuldum. Elimde bir kariyerim olduğu için yedek plana ihtiyacım olmadı. Bu da elimdeki diğer işimin tek olmasını böylece onu sahiplenmemi sağladı. Çevremdeki "Doktor olan birinin teknoloji geliştirme bölgesinde ne işi olur ki" yaklaşımında bulunan insanlara kulak asmadım. Deneyimim vardı, şimdi bu deneyimimi işime aktarmanın yolu da vardı. Baktım istediği kazanca ulaşamadım. Pazar hazır değil, ekonomi kötü bahanesinin ardına saklanmadım, birikimimi yeni bir alana yönlendirdim. Zamanımı iyi yönetmem gerekti. Çünkü en çok dış etkenlerin zamanımı kontrol etmesinden korktum, boş vakit yaratmayı öğrendim. Etrafımdaki insanları iyi seçtim böylece kariyerimde olduğu gibi işimde de mutlu ve huzurlu çalıştım.

**K9**

**Bir Kuluçka Hikayesi; 30. yılda yeni bir başlangıç.**

Necdet DEMİR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ANTALYA

Bilgi ve deneyimin metalaşması teknolojinin en önemli girdilerinden birisini oluşturmaktadır. Bilgi çok kısa sürelerde elde edebilirken, deneyimin en önemli bileşeni olay tekrarı ve geniş zaman aralığıdır.

Akademik yaşamın önemli parçasını, araştırma ve bilgi oluşturma süreçleri doldurmaktadır. Bu süreçlerin getirdiği birikim, bizlere farklılığın fark edilmes ve ne anlama geldiğinin anlamlandırılması yetisini kazandırır. İşte "Meta" olan da bu sürecin sonundaki değerlendirme ürünü, sonuçlardır. "Grişimcilik" etkinliğine girme kararında sektör gereksinimleri, önemli bilgi birikimi, problem çözmek için sahip olduğumuz uzun sayılabilecek (30 yıl) deneyimin etkili olduğu söylenebilir.

Çoğunlukla son ürün olarak ortaya çıkan ve pazar talebi oluşturan ürün, birden çok bilgi ve girdinin sistemli bir şekilde bütünleştirilmesiyle oluşmaktadır. Dolayısıyla birçok kısmın geliştirdiği, ortaya çıkardığı çıktılar fonksiyonel birlikteliği pazarda meta olarak yer almaktadır. Biyolojik bilimlerde temel argüman hücre dinamiğinin esaslarının çözümü ve düzenleyici mekanizmaların ortaya konulması olduğundan sistemi anlamak veya sorunları çözmek için çok sayıda yapısal ve moleküler mekanizmanın araştırılmasına gereksinim vardır. Bu çalışmalar için ise esas bileşen, birikimli araştırmacı ve uygun araştırma altyapısıdır.

Her iki bileşenin optimal düzeyde bir arada bulunması çoğunlukla mümkün olmadığından, çok merkezli ARGE etkinlikleri zorunluluğu doğmaktadır. Ülkemizde sağlık alanında bu iki bileşenin işlevsel bütünlüğünde eksik kalan halkaları tamamlamak amacıyla bütünleştirici bir organizasyona ihtiyaç olduğu açıktır. NDRESEARCH bu açığı doldurmak amacıyla bir yıl önce Akdeniz Üniversitesi Antalya Teknokent A.Ş bünyesinde bir kuluçka firması olarak kurulmuştur. Kuluçka sürecinde; kuruluş prosedürünün tamamlanması gerçekleştirilerek tanıtım ve hizmet sunumu sürecine geçilmiştir.

Firmanın amacı; araştırmacılara sahip olmadıkları deneyim, altyapı hizmeti sunarak, araştırmalarını uluslararası standartlarda gerçekleştirme fırsatı sağlamaktır. Firma hücre, doku, hayvan ve insan materyallerinde yapılan mikroskobik ve moleküler araştırmaları ulusal ve uluslar arası standartların gerekli kıldığı şekilde gerçekleştirme, sonuçlarını uygun şekilde sunma hizmeti vermektedir.

Firmada hizmetin kalitesi ve güvenilirliği bakımından, araştırma hizmetleri, farklı bilim disiplinlerinden öğretim üyelerinden oluşturulmuş bir "danışma kurulu"nun denetimi ve yönlendirmesinde gerçekleştirilmektedir. Firma kendi altyapı ve donanımından yararlandığı gibi bedeli karşılığında üniversitenin veya özel kuruluşların altyapı ve donanımını da kullanmaktadır.

Bu süreçte girişimin doğru bir çıkış olduğunu gösteren çok yüksek büyüklükte ve çok sayıda proje başarılarıyla karşılaşmıştır.

**K10**

**Visualizing the unique morphology of the GnRH neuron controlling fertility**

Allan E. Herbison, Centre for Neuroendocrinology and Department of Physiology, University of Otago, Dunedin 9013, New Zealand

The gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons are the final output cells of the neuronal network controlling the secretion of pituitary hormones that regulate fertility in all mammals. Remarkably, the GnRH neurons are born in the nose and migrate into the brain during early embryogenesis. This strange pattern of development is likely to be responsible for many unusual features of the GnRH neuron. This includes their scattered distribution throughout the basal forebrain as well as several unique morphological features. The development of promoter transgenic mice enabled individual green fluorescent protein-tagged GnRH neurons to be identified in the acute brain slice preparation. Using this method, it was possible to fill individual GnRH neurons with low molecular weight dyes that enabled their full morphology to be visualised. This demonstrated that GnRH neurons exhibited many synaptic spines and extended very long dendritic structures, over 4 mm in length, to reach the median eminence of the hypothalamus. At this point they then divided up into many small axons that released GnRH into the pituitary portal circulation. This unusual projection appears to receive synaptic inputs like a dendrite but also conduct action potentials like an axon. As such it has been called a "dendron". Further studies with electron microscopy have identified the patterns of synaptic inputs to the dendron and shown that these unusual GnRH neuron projections often bundle around one another. Recent studies in the laboratory have demonstrated the functional relevance of the GnRH neuron dendron in generating pulsatile reproductive hormone secretion.

## K11

### **Meme kanseri ve yarattığı metastazların karanlık yüzü melatonin ile aydınlatılabilir mi?**

Gamze Tanrıöver

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Meme kanseri, kadınlarda kansere bağlı ölümlerin en yaygın sebeplerinden biridir. Elde edilen verilere göre; on kadından birinin bu hastalığa yakalanma riskinin olduğu ve yakalananların da en az üçte birinin yaşamlarını bu sebeple kaybettikleri bildirilmektedir. Meme kanserinden ölümlerin en yaygın sebebi uzak metastazlardır.

Melatoninin, meme kanseri üzerinde antioksidasyon, immünmodülasyon, enzim regülasyonu, çeşitli kinazların ve transkripsiyon faktörlerinin regülasyonu gibi etkileri olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda, melatoninin karsinojen ajanlara karşı serbest radikal temizleyicisi gibi çalışarak antioksidan etki gösterdiği de vurgulanmaktadır. Özellikle GSK3b, Akt, Erk1/2 gibi bazı kinazlar ile CREB, NFkB ve STAT3 gibi bazı transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu ve aktivasyonunu inhibe ederek meme kanseri gelişimini engellediği gösterilmiştir. Bu mekanizmalar sayesinde melatonin, epitelyal-mezenkimal dönüşüm faktörlerini etkileyerek metastazı inhibe edici yanıtları tetikleyebilmektedir.

Doksorubisin (Doxo), endokrin tedavilere dirençli metastatik meme kanserlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir kemoterapötiktir. Farklı kanser türleriyle yapılan in-vivo ve in vitro çalışmalarda melatoninin, doksorubisinin yarattığı nefro-kardiyo ve miyelotoksik etkileri azaltıcı özelliği olduğu gösterilmiştir. Ancak doksorubisin-melatonin kombine kullanımının metastatik meme kanserlerinin metastaz kapasiteleri üzerindeki etkileri çalışılmamıştır.

Melatoninin bilinen anti-oksidan etkisine ek olarak; anti-proliferatif, anti-inflamatuvar etkilerinin de olduğu ve bu etkilerin doksorubisin tedavisiyle birlikte daha etkin görülebileceği hipotezinden yola çıkılarak planlanan çalışmada, in vitro deneylerde, melatonin ve doksorubisinin tek başlarına ve kombine etkileri tümör hücrelerinin canlılık testiyle değerlendirilmiş ve sonuçlar in vivo modele uyarlanarak meme kanseri modeli üzerinde denenmiştir. Model oluşturulduktan sonra melatonin ve doksorubisinin birlikte ve tek başlarına kullanımlarının etkileri primer tümör gelişimi ve metastaz yanıtları açısından değerlendirilmiştir. Bu yanıtlara ilaveten primer tümör ve oluşan sistemik metastazlardan akciğer ve karaciğer dokuları inflamatuvar yolaklar (p65, fosfo-STAT3) ve anti-tümöral immünitenin baskılanmasında ve kronik inflamasyonun oluşumunda önemli olan myeloid kökenli supressor hücrelerin (MDSC) belirteci olan CD11b+ ve GR1+ proteinlerinin ekspresyonları açısından da immunohistokimya ve western blot analizleriyle değerlendirilmiş ve sonuçlar immün reaksiyonların şiddetine göre yorumlanmıştır.

Melatoninin tek başına ve doksorubisinle kombine şekilde primer tümör gelişimi ve özellikle metastaz oluşumu üzerine etkisini inceleyen bir çalışma literatürde yer almadığından sonuçların yorumlanması hem literatüre hem de kliniğe yansıma konusunda etkili olabilecek önemli verileri içermektedir. Ayrıca, yeni çalışmanın da temelini oluşturabilecek adımların atılmasına yardımcı olabileceği kanaatindeyiz.

Bu çalışma TÜBİTAK 3001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı tarafından 315S181 numaralı proje ile desteklenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Meme kanseri, melatonin, doksorubisin, metastaz

**K12**

**Hücrelerimize Neler Oluyor? Farklı Fiksatiflerin Kullanımı İmmünflüoresan Yöntemle Boyama Sonuçlarını Etkiler mi?**

Ferda Topal Çelikkan

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Sıhhiye, Ankara

Fiksasyon işlemi histolojik tekniklerin başlıca konularından biridir. Histolojik inceleme için uygun fiksatifi seçmek oldukça kritiktir. Bu işlem hassas ve uygun bir şekilde yapılmazsa modern histolojide yapılan ölçümlerle testler etkisiz, pratik olarak da sonuçsuz kalır. Hücrelerin fonksiyon ve yapılarını anlamak amacıyla yapılan çalışmalarda kullanılan fiksatifler geçtiğimiz yüzyılda oldukça araştırıldı ve zaman içinde geliştirildi. İmmünflüoresan yönteminde oldukça yaygın olarak kullanılan paraformaldehit (PFA) gibi standart fiksatifler gluteraldehit, metanol gibi fiksatiflerle karşılaştırıldı ve fiksasyon problemleri giderilmeye çalışıldı. PFA ile fiksasyonun hücrede morfolojik değişikliklere, zar yapılarının ve proteinlerin kaybına, aynı zamanda proteinlerin yer değiştirmesine neden olduğu bir çok kez raporlandı. Aldehit yapısındaki glikoksal (Gly), son yıllarda yapılan çalışmalarla etkisi ortaya konulan PFA'ya alternatif olarak kullanılabilir bir fiksatif olarak önümüzde durmaktadır. Mikroskop tekniklerindeki gelişmeler bu fiksatiflerin hücreler üzerindeki etkilerini daha fazla çözünürlükle ortaya koyabilmemiz açısından çok önemlidir.

Çalışmalarımızda PFA ve Gly fiksatifleriyle insan göbek kordonu stroması mezenkimal kök hücrelerinin (iGKS-MKH) fikse edilmesi sırasında ne gibi değişiklikler ortaya çıktığı süper çözünürlüklü (SR) mikroskop tekniğiyle zaman aralıklı (timelapse) çekimler yapılarak izlendi. Ayrıca bu değişikliklerin immünflüoresan yöntemiyle boyamalarımıza etkisi görüntülenerek kaydedildi. Görüntülerden elde edilen sinyal şiddeti ölçümleri analiz edilerek karşılaştırıldı. Protein işaretlemelerinde fiksatif seçiminin öncelikle değerlendirilmesi gereken ve sonuçları fazlasıyla etkileyen bir süreç olması dikkat çekicidir.

Bu sunumda fiksatiflerin hücre morfolojisinde ve içeriğinde ne gibi değişikliklere yol açtığı, bu değişikliklerin immünflüoresan yöntemle boyama sonuçları üzerine etkisi tartışılacaktır. (Proje no: 0741-STZ-2014)

**Anahtar Kelimeler:** Fiksatif, Glikoksal, PFA, süper çözünürlük konfokal mikroskopu

**K13****Petri kabında yapay embriyogenez: Kök hücre kaynaklı embriyo modeli ile bilimde ne kadar ileri gitmek mümkün?**

Berna SÖZEN KAYA

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD.  
Cambridge Üniversitesi Fizyoloji, Gelişim ve Sinir Bilimleri Departmanı

İn vitro ortamda doğru koşullar altında yetiştirilen kök hücreler, farklılaşarak ve kendi kendilerine bir araya gelerek karmaşık, üç boyutlu organoidleri (organ-benzeri yapılar) oluşturma konusunda göze çarpan bir kabiliyete sahiptirler. Bu organoidler, anatomik ve fonksiyonel organizasyonda olduğu gibi, gelişmekte olan beyin, böbrek, bağırsak ve diğer dokulara yüksek benzerlik gösterirler. Geçtiğimiz yıllarda organ nakillerine emek veren bilim insanlarının bu alanda yeni çözümler ve çareler araması ile hız kazanan yapay organ çalışmaları, kök hücre biyolojisi ve biyomühendislik ile birleşince tıpta yeni bir çağ başladı. Bu çağ, gelişim biyolojisi ve embriyoloji araştırmaları için de yepyeni bir bilimsel süreci başlattı.

Bir memeli yumurtası bir sperm tarafından döllendikten yaklaşık 5-6 gün sonra, ana rahmi içerisinde serbestçe yüzebilen ve hayatı başlatacak ilk kök hücre topluluğu oluşur. Bu evre blastosist evresi olarak bilinir. Bir blastosist, insan vücudunu oluşturacak olan ve 'embriyonik kök hücreler (EKH)' olarak tanımlanan kök hücreler ile iki farklı ekstra-embriyonik (embriyo dışı) kök hücre sınıfından oluşmaktadır. Bir grup ekstra-embriyonik kök hücre sınıfı 'trofoblastik kök hücreler (TKH)' olarak; diğer grup 'ekstra-embriyonik endoderm kök hücreler (XEN)' olarak adlandırılmaktadır. Bu iki grup ekstraembriyonik kök hücreler, plasenta oluşumu ile fetüsün organlarının doğru gelişimi için gerekli besin desteğini sağlamaktan sorumludur.

Memelilerin erken dönemdeki gelişimi, embriyonik ve ekstra-embriyonik hücre gruplarının ve dokuların oluşması ve bu dokuların aralarında uyumlu bir ortaklık kurulmasını gerektirir. Embriyo mimarisinin başarılı bir şekilde oluşturulmasında bu ortaklığın doğru yapılması ön koşuldur. Plasenta ve plasenta ile ilişkili ekstra-embriyonik yapılar, sadece embriyo için bir beslenme kaynağı olarak önem taşımaz, aynı zamanda pluripotent hücrelerin alansal ve zamansal olarak doğru düzenlenmiş şekilde farklılaşmasına imkan veren sinyalleri de sağlarlar. Embriyo benzeri yapılar oluşturabilmek için yalnızca EKH'yi kullanarak daha önceki yıllarda bazı çalışmalar gerçekleştirilmiş; fakat bu girişimlerin başarısı oldukça sınırlı olmuştur. Embriyonsuz cisimler veya mikro-desenli koloniler olarak adlandırılan bu yapılar, hücre dışı uyarıların etkisiyle embriyonik soy oluşumuyla ilişkili gen ifadelerini başlatabilmesine rağmen, devamındaki embriyogenez aşamalarını tamamlayamadıkları için blastosist aşaması sonrası post-implantasyon embriyosunun karakteristik morfolojisini oluşturamamaktadır.

Tüm bu bilgilerin ışığında, çalışmamızda, erken embriyo gelişimde farklı hücre tiplerinin birbirleriyle yakın bir iş birliği içerisinde olması gerektiği bilincinden yola çıkarak EKH'nin onlara adeta rehberlik edecek ve gerekli hücrel sinyalleri sağlayacak olan ekstra-embriyonik dokulara gereksinim duyduğu hipotezimizi kurduk (Harrison SE., Sozen B., Science, 2017). Hipotezimiz doğrultusunda, blastosist aşamasını takip eden peri- ve post-implantasyon dönemlerindeki embriyonik/ekstraembriyonik etkileşimlerin esas olduğu erken embriyogenez basamaklarını farklı kök hücre tipleri kullanarak *in vitro* ortamda taklit etmeyi amaçladık.

Bu amaçla öncelikle tek hücre halindeki fare EKH'leri ve küçük kümeler halindeki fare TKH'ler ile birlikte, Matrigel® olarak adlandırılan, üç boyutlu (3D) hücre dışı matriks iskeleti içerisinde birleştirdik. Bu teknik yaklaşım ile proamniyotik kavite oluşumundan gastrulasyon başlangıcına kadarki erken fare embriyosu gelişimini 3D-Matrigel® ortamı içerisinde başarı ile taklit ettik (Harrison SE., Sozen B., Science, 2017). İlerleyen aşamalarda teknik yaklaşımımızı geliştirerek, kısmi olarak hücre dışı matriks bileşenleri sağlayan ve endoderm dokusunu taklit eden Matrigel® yerine, XEN kök hücrelerini sistemimize dahil ettik. Üç farklı kök hücrenin ko-kültürü ile oluşan fare erken embriyosunun in vitro ortamdaki bu morfolojik kopyaları aynı zamanda erken/mid gastrulasyon evrelerini de doğru spatiotemporal düzlemde taklit ederek üç germ yaprağı oluşumunu yapay ortamda izlememize olanak sağladı (Sozen B. Yayınlanmamış Bulgu).

Bu bulgular, birden çok hücre tipinin birlikte kültüre edilmesi ve uygun mikro-mühendislikler gibi ileri hücre kültürü tekniklerinin kullanılması ile bir petri kabında insan embriyogenezinin modellenmesini de mümkün hale getirmektedir. Bilim insanları şu anda, IVF kliniklerinden bağışlanmış yumurtalara bağımlı olduğu için, araştırmalar için insan embriyolarının sayıca yetersizliği ve etik sınırlandırmalara takılmaktadır. Embriyonik ve ekstra-embriyonik kök hücreler, diğer taraftan sınırsız tarzda olup, doğal embriyoların yarattığı etik ikileminden de uzaktır. İnsan kök hücreleri ile aynı yaklaşımın başarıya ulaşması halinde, şimdiye kadar esas mekanizması saklı kalmış pek çok morfojenetik olaya ışık tutulabilecektir. Bu yaklaşım, pek çok dogmatik bilgiyi değiştirebilir ve insan gelişiminin temellerini anlamaya yönelik yeni bir bakış açısı kazandırabilir.

İlgili bilimsel makale: Assembly of embryonic and extraembryonic stem cells to mimic embryogenesis in vitro. *Science*.2017 Apr 14;356(6334). (PMID:28254784)

Finansal sponsorlar: Wellcome Trust (UK) ve Avrupa Araştırma Konseyi (European Research Council).

Perspektif yazıları:

"Embryogenesis in a dish" *Science*, 2017, Apr 14;356(6334)

"Reassembling embryos in vitro from component stem cells" *Cell Res.* 2017, Aug;27(8):961-962

"It takes two to make an embryo" *Nature Methods*, 2017, May, 14, 466-467

**K14**

**Üremeye Yardımcı Tedavi (ÜYTE) yöntemlerine bağlı olarak ortaya çıkan sağlık sorunları**

Levent Karageç<sup>1</sup>, Göksel Doğan<sup>1</sup>, Mustafa Sandıkçı<sup>1</sup>, Bengi Çınar Kul<sup>2</sup>, Nedim Karageç<sup>3</sup>, Mehmet Nurullah Orman<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji ABD; <sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik ABD; <sup>3</sup>Pamukkale Üniversitesi, Dahili Tıp Bilimleri, Tıbbi Genetik ABD; <sup>4</sup>Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim ABD.

Normal (in vivo) koşullarda, embriyo gelişimi zigot aşamasından blastosist aşamasına kadar ovidukt ve uterus boşluğu içerisinde farklı karbonhidratlar, amino asitler, anti-oksidatif ajanlar, büyüme faktörleri ve sitokinlerden oluşan ve henüz bütün detayları ile tanımlanmamış olan karmaşık bir mikro-çevre içerisinde gerçekleşmektedir. Ancak, in vitro fertilizasyon ve in vitro embriyo kültür yöntemleri gerek oosit ve spermatozoanın gerekse oluşacak olan embriyonun in vivo koşullarda maruz kaldığı mikro-çevrenin neredeyse tamamen ortadan kalkmasına neden olmakta ve buna bağlı olarak embriyolar implantasyon öncesi dönemde çeşitli stres faktörlerine maruz kalmaktadırlar. Blastosist gelişim oranının azalmasına, blastosist aşamasında iç hücre kitlesi ve trofektoderm hücre sayılarının değişmesine neden olan bu durum, implantasyonu takiben fötusun ve plasentanın gelişimini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Daha da önemlisi, optimum olmayan koşullarda gerçekleştirilen in vitro embriyo kültürüne bağlı olarak embriyonal ve fetal dönemde ortaya çıkan gelişim bozuklukları, erişkin bireylerde çeşitli sağlık sorunlarının oluşmasına neden olabilmektedir. İn vitro fare embriyo kültürü ve embriyo transferi, bu ve benzeri soruları yanıtlamaya yönelik olarak yapılabilecek olan deneysel çalışmalar için önemli bir model oluşturmaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmalardan elde etmiş olduğumuz veriler farelerde in vitro embriyo kültürü ve embriyo transfer işlemlerinin fötüs ağırlığının azalmasına, akciğer gelişiminin geri kalmasına, akciğer dokusunda oksidatif stres düzeyinin artmasına ve gen ekspresyon düzeylerinin değişmesine neden olduğunu göstermektedir. Benzer bir çalışmadan elde etmiş olduğumuz veriler, in vitro embriyo kültürü ve embriyo transfer işlemlerinin yetişkin farelerde karaciğerde lizin degradasyon, kanserde proteoglikan, fosfotidilinositol sinyal sistemi, endositoz, Hippo sinyal yolları ve glikoz metabolizmasında rol oynayan çeşitli miRNA moleküllerinin ekspresyon düzeyinin anlamlı olarak değiştiğini göstermektedir. Elde edilen veriler, optimum in vitro embriyo kültürü ve embriyo transfer işlemleri sonucu erişkin dönemde ortaya çıkan çeşitli sağlık sorunlarının altında yatan hücresel/moleküler mekanizmaların aydınlatılması açısından önem taşımaktadır.

Sunulan çalışma, TÜBİTAK 1120259, TÜBİTAK 1140743 ve ADÜ-BAP VTF15057 numaralı projeler tarafından desteklenmiştir.



**SÖZLÜ BİLDİRİLER**

**(S01-S88)**

- S01 - Fare Embriyonik Kök Hücrelerinin Hücreler Arası Madde Yoğunluğunun Değiştirilerek Farklaştırılma Süreçlerinin Araştırılması - Berrin Özdi
- S02 - Statin Kullanımı Sırasında Parasetamol Maruziyetinin Karaciğer ve Böbrek Dokularına Etkisi\* - Fadime Kahyaoğlu
- S03 - Hypericum perforatum' un Gebe Sıçanlarda Embriyotoksik ve Teratojenik Etkisinin Araştırılması - Fadime Kahyaoğlu
- S04 - Azaltılmış beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF), fare karaciğer ve böbrek dokusuna apoptotik etkileri - Berna Tezcan
- S05 - Maternal beslenmenin yavruların üreme fonksiyonları üzerindeki etkisi - Perihan Yalçinkaya
- S06 - İnfertilite Tedavisinde "Tümünü Dondur (Freeze all) Stratejisi" Uygulama Sonuçlarımız - Cem Korkmaz
- S07 - Kronik fizyolojik stres uygulamasının sıçan ovaryumlarında foliküler gelişim ve oosit rezervi üzerine etkileri: IGF1, AMH ve Bcl-2'nin rolü - Deniz Muratoğlu
- S08 - Obstrüktif ve non-obstrüktif azospermik hastalarda androjen reseptörü ve östrojen reseptörü-alfa ekspresyonunun immunohistokimyasal olarak karşılaştırılması - Yurdun Kuyucu
- S09 - Sıçanlarda Kombine Ultraviyole A ve B İle İndüklenmiş Deri Hasarı Modelinde Ellajik Asit Ve Silibininin Doku Koruyucu Etkilerinin Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması - Seda Keskin
- S10 - Farklı Sperm Hazırlama Yöntemlerinin DNA Hasarı Oluşturma Oranları ve Sigara İçmenin Bu Oran Üzerine Etkileri - Nursel Hasanoğlu Akbulut
- S11 - Glioblastoma multiforme hücrelerinde glikojen sentaz kinaz-3 inhibisyonunun apoptoz, hücre döngüsü ve biyomoleküler yapı üzerindeki etkisi - Eda Açıkgöz
- S12 - Sperm Konsantrasyonunun Belirlenmesinde Makler Kamarası ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi İle Yapılan Sayımların Tutarlılık Düzeyleri - Derya Tanrıöver
- S13 - Doksorubisin İle İndüklenen Sıçan Testis Hasarı Modelinde Fluvastatinin Olası Koruyucu Ve Tedavi Edici Etkilerinin Histokimyasal Ve İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi - Çevik Gürel
- S14 - İn vitro Embriyo Kültürü ve Embriyo Transferinin Farelerde Fötal ve Yetişkin Akciğer Dokusunda Silli, Clara, Nöroendokrin, TipI ve TipII Pönomosit Hücre Profilleri Üzerine Etkisi - Göksel Doğan
- S15 - Deneysel spinal kord yaralanmasında miR-20a ve miR-125b ekspresyonlarının apoptoz ve enflamasyon üzerine etkileri - Dilek Şaker
- S16 - Dondurulmuş Spermanın depolanmasında -152 °C'lik derin dondurucular bir alternatif olabilir mi? - Mehmet Borge Tirpan
- S17 - Folliküler Mikroçevrede KISS1 ve KISS1R ekspresyonu: Oosit matürasyonu ve fertilizasyon için gerekli mi? - Gökten Kuşpınar
- S18 - İmmatür Oosit ve Folliküler Mikroçevrede COX-2 Ekspresyonu Oosit Matürasyon Defektlerini Açıklayabilir mi? - Gökten Kuşpınar
- S19 - Kalın örneklerin üç boyutlu görüntülenmesinde konfokal, multifoton ve dijital düzlem ışık (DLS) mikroskopisinin karşılaştırılması: CLARITY mi, 3DISCO mu? - Serçin Karahüseyinoğlu
- S20 - Normal, fazla kilolu ve obez bireylerde Izumo-1 sperm yüzey reseptörünün ekspresyon düzeyinin karşılaştırılması - Vahide Cansu Seymenoğlu
- S21 - Dietilnitrozamin İle Hepatosellüler Karsinom Oluşturulmuş Ratlarda Resveratrolün Tedavi Edici Etkilerinin Araştırılması - Seda Çetinkaya
- S22 - Gadolinium bazlı kontrast ajanlarının sıçan akciğeri üzerine etkileri - Zehra Topal Suzan

- S23 - Sıçanlarda hiperozmolar mannitol infüzyonuyla bozulan kan-beyin bariyeri bütünlüğü üzerine polietilen glikol-katalazın etkisi - Nilüfer Ulaş Aytürk
- S24 - Periferik Sinir Yaralanması Sıçan Modelinde Ekstraselüler Matriks (ESM) ve Büyüme Faktörlerinin Sinir Rejenerasyonuna Etkisinin Stereolojik Olarak İncelenmesi - E. Nazlı Hayırlı
- S25 - Nesfatin-1 Nöronlarının Aktivasyonunda Kainik Asit ve CNQX Uygulamalarının Cinsiyetler Arası Etki Farklılıkları - Duygu Gök Yurtseven
- S26 - Gebelikte Uygulanan Diklofenak Sodyum ve Timokinonun Postnatal 4 ve 10 Haftalık Sıçan Ovaryum Preantral Follikül Sayısına Etkilerinin Stereolojik Yöntemle Araştırılması - Ayfer Körkoca
- S27 - Sibling Oositlerde HOST Pozitif İmmotil Sperm Enjeksiyonunun Fertilizasyon Başarısı ve Erken Embriyoner Gelişim Potansiyeline Etkisi - Cihan Çakır
- S28 - CD133+/ CD44+/low Prostat Kanseri Kök Hücrelerinde Versikan'ın 'Splicing' Varyantlarının Araştırılması - Şule Ayla
- S29 - Prenatal dönemde kablosuz internete maruz bırakılan sıçanların hippocampal dentat girus granüler hücre sayısına etkilerinin stereolojik yöntemlerle incelenmesi - Büşranur Özalper
- S30 - Koyun İleal Peyter Plaklarında Prenatal ve Postnatal Gelişimsel Çalışmalar - Alev Gürol Bayraktaroğlu
- S31 - Deneysel PKOS modelinde resveratrol ve metforminin ovaryum üzerindeki etkilerinin immünohistokimyasal, biyokimyasal ve ultrastrüktürel incelenmesi - Selenay Furat Rençber
- S32 - Yüksek Dereceli Over Seröz Karsinomlarında Lenf Nodu Tutulumu Olan ve Olmayan Olgularda Apelin ve APJ Reseptörü Doku Dağılımlarının Araştırılması - Işık Ünal
- S33 - Embriyonik poli(A)-bağlanma proteini (EPAB), fare oosit ve erken dönem embriyolarda farklı düzeylerde eksprese edilir ve belirli mRNA'lar ile ilişki kurar - Fatma Uysal
- S34 - Leptinin Spermatogonyal Kök Hücreler Üzerindeki Proliferatif Etkisi - Nilgün Yersal
- S35 - Metformin HCL'nin Sertoli hücre büyüme indeksine ve kan-testis bariyeri düzenleyici proteinleri üzerine etkileri - Barışcan Uzunkaya
- S36 - İnfertilitede Erkek Yaşının Apoptotik Sürece Moleküler Etkileri - Hilal Eren Gözel
- S37 - Kronik immobilizasyon stresinde vitamin E'nin koruyucu etkisinin fare adrenal bezinde araştırılması - Fırat Aşır
- S38 - Sıçanlarda Yüksek Yağlı Diyetle Oluşturulan Obezite ile İndüklenmiş Testis Hasarı Üzerine Egzersizin Etkilerinin Morfolojik ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi - Merve Açıklak Elmas
- S39 - Tüp Bebekte Deneme Sayısının Gebeliği Predikte Etme Etkisi - Bircan Kolbaşı
- S40 - Resveratrol ve Dialil Disülfid'in Sıçan Testisinde Kadmiyum ile Oluşturulmuş Akut Hasara Etkisi - Kıymet Zülal Halk
- S41 - Cisplatin ile İndüklenen Kardiyotoksisite Üzerine Curcumin ve Beta Karoten'in Koruyucu Etkileri: Deneysel Sıçan Modeli - Menekşe Ülger
- S42 - Normozoospermik ve non-normozoospermik hastalarda TNF- $\alpha$ , HSP-70 ve Kaspaz-3 proteinlerinin immünohistokimyasal analizleri - Duygu Gürsoy
- S43 - Normozoospermik ve Non-normozoospermik Hastalarda Apoptoz Evrelerinin Akım Sitometrik Olarak Karşılaştırılması - Muhammet Volkan Bülbül
- S44 - Kültür Ortamında Büyütülen ve Hipoksi Oluşturulan Embriyolar Üzerine B12 Vitamininin In Vitro Etkisi - Dilara Patat
- S45 - Kanseri hücre proliferasyonu üzerine Juglon ve resveratrol'ün kefir ile oluşturulan metabolitlerinin etkisinin PCNA, Siklin D1 ve AgNOR ile değerlendirilmesi - Esra Aslan

- S46 - Sisplatin İle Oluşturulan Böbrek Hasarına Karşı Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin Tedavi Edici Etkisi - Rümeyza Göç
- S47 - Yaşamlarının Başlangıcında Broyler Cıvıvıların Barsaklarında Çeşitli İnnate İmmun Sistem Elemanları - Ülker Eren
- S48 - Kadın Yaşı ve Östrojen Düzeyinin Folikül Sıvısındaki Oksidatif Stres ve Kümüls Hücrelerindeki HSP-70, TGF- $\beta$  NOTCH-1, Ekspresyonlarına Etkisi - Oya Korkmaz
- S49 - Endoplazmik retikulum stresi ile ilişkili katlanmamış protein cevabı hiperglisemik koşullar altında fare ovaryumlarında apoptozu tetikler - Aslı Okan
- S50 - İyonize radyasyon ile indüklenmiş akut akciğer hasarında L-karnitin etkisi: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve PARP-1'in rolü - Nurten Gülerüz
- S51 - Boraks alımına bağlı mide mukozasında görülen değişikliklerin histolojik değerlendirilmesi - Sibel Çetinbaş
- S52 - Deneysel Diabetli Ratlarda Alfa-Lipoik Asidin Kalp Ve Damar Sistemine Koruyucu Etkisinin Işık Mikroskopik Düzeyde Araştırılması - Leyla Bahar
- S53 - İnsan spermatogonyal kök hücrelerinin kollajen ile zenginleştirilmesi ve THY1+ testiküler hücreler ile kültüre edilmesi in vitro hayatta kalma kapasitelerini artırır - Pınar Sahin
- S54 - Testis torsiyonu ve detorsiyonunda Ginkgo biloba'nın apoptozis, LH-R ekspresyonu ve sperm morfoloji anomalisine iyileştirici etkisinin araştırılması - Fikret Gevrek
- S55 - Sperm kriyoprezervasyonunun apoptoz belirteçlerine etkisi - Seda Karabulut
- S56 - Travmatik sıçan beyin hasarında Ganoderma lucidum'in etkilerinin araştırılması (histokimyasal, immunohistokimyasal, biyokimyasal) - Fırat Aşır
- S57 - Miyokard Enfarktüsü Geçiren ve Kalp Kasına Kök Hücre Nakli Yapılan Bireylerin Yaşam Kalitesinin Değerlendirilmesi - Ceren Mungan
- S58 - Trombositten zengin plazma fibrinin ratlarda cisplatin ile oluşturulan deneysel işitme kaybı üzerine etkisi - Dr. Selim Zırh
- S59 - Unilateral Testis Torsiyon Hasarına Protocatechuic Asidin (PCA) Etkisinin Araştırılması - Sevilay Ermişah
- S60 - Ayna ayna söyle bana, var mı mükemmel sperm bu ejakulatta? - Süheyla Esra Özkoçer
- S61 - Küçük VCP ile etkileşen protein (SVIP)'nin gelişmekte olan fare testisinde ekspresyonunun ve fonksiyonunun belirlenmesi - Gülben Akcan
- S62 - Dişi Embriyonik Germ Hücre Gelişiminde Hücreler Arası Köprülerin Rolü - Bikem Soygür
- S63 - Postnatal fare ovaryum dokularında telomeraz, Trf1 ve Trf2 genlerinin mRNA ve protein ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi - Esra Gözde Köşebent
- S64 - Sıçan Ovaryum Dokusunda Doksorubisin ile İndüklenmiş Folliküler Apoptotik Aktivasyonda Visnagin Koruyucu Etkisi - Aysun Özbay
- S65 - Vücut Kitle İndekslerine Göre Normal, Fazla Kilolu, Obez IVF Kadın Hastaların Yumurta Toplama İşlemi(OPU) Sonrası Granüloza Hücrelerinde Leptin, Ghrelin İmmunfloresan Ekspresyonlarının İncelenmesi Ve Gebelik Durumu İle İlişkisinin Araştırılması - Elif Gelenli Dolanbay
- S66 - İn Vivo Kıkırdak Onarımı Üzerine Tgf- $\beta$ 1 Transfekte Edilmiş Dental Pulpa Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrenin Etkisi - Betül Tekin
- S67 - Tunikamisin ile indüklenen endoplazmik retikulum stresine bağlı ileum mukoza hasarında shilajitin koruyucu etkisi - Serkan Karaçetin
- S68 - Pulsu manyetik alanın sepsis modeli oluşturulan sıçanların karaciğer dokularındaki tedavi edici etkilerinin incelenmesi - Fikret Gevrek

- S69 - Preeklampitik insan plasentasında otofagozom maturasyonunun p97/Valosin içeren protein (VCP) tarafından engellenmesi - Cansu Şahin
- S70 - Miyojenik ve Aponevrotik Blefaropitozis Hastalarının Levator Palpebra Kas Örneklerinin Elektron Mikroskopik Olarak Karşılaştırılması - Zeynep Bengisu Kaya
- S71 - Prenatal Uygulanan Diklofenak Sodyum ve Timokinonun Postnatal Sıçan Testis Histolojisine Etkilerinin Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması - Fikret Altındağ
- S72 - p97/Valosin içeren protein (VCP) inhibitörü olan DBeQ'nun çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemili hastaların ve sağlıklı vericilerin kemik iliği hücrelerinde p97/VCP ekspresyonuna doz ve süre bağımlı etkisi - Şeyma Kipel
- S73 - Vücut Kitle İndekslerine Göre Gruplandırılan Kadın IVF Hasta Gruplarında Granüloza Hücrelerinde Adiponektin ve Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF $\alpha$ ) İmmünreaktivitesinin İncelenmesi ve Gebelik Durumu ile İlişkisinin Araştırılması - Elif Gelenli Dolanbay
- S74 - Metastazı Olan ve Olmayan Over Kanselerinde BMP-7 Ve BMP-2, ZEB2 ve İntegrinlerin İmmünreaktivitesinin İn vivo ve İn vitro Değerlendirilmesi - Elham Bahador Zırh
- S75 - Aristolochic Asit indüklü Nefropatide ER stresi ve Plasental Kökenli Mezenkimal Kök Hücrelerin Rolü - Büşra Çetinkaya
- S76 - Sirkadiyen ritim bozukluğu oluşturulan farelerde görülen uterus içi büyüme geriliği sirkadiyen saat proteinlerinin azalan ekspresyonları ve bozulan endotel disfonksiyonu ile ilişkili olabilir - Nayce İlayda Bektaş
- S77 - Düzenli Melatonin Kullanımı Meme Kanseri Gelişimi Ve Metastazlarını Etkiler Mi? - Asiye Kübra Göksu
- S78 - 3 Boyutlu Biyoyazıcılarda Basılan Dokuların Hücre Analizleri ve Gerçek Dokular ile Benzerliği - Hakan Darıcı
- S79 - cGMP Koşullarda Üretilen İnsan Göbek Kordonu Mezenkimal Kök Hücrelerinde (iGK-MKH) PFA ve Gliyoksal Fiksasyonunun Morfolojik Etkisi - Merve Sucu
- S80 - Sirt1 özel bir yolak ile FoxO proteinlerinin hedefini metastazı tetikleyecek şekilde etkileyebilir mi? - Sendegül Yıldırım
- S81 - HeLa Hücrelerinde Mikrotübülüs, F-aktin ve Çekirdek İmmün Boyamasının Farklı Fiksatiflerle Karşılaştırması: Süper Çözünürlük Mikroskobu Çalışması - Selda Kahveci
- S82 - Glikozamin bağı hialuronik asit nanopartiküllerin in vitro osteoartritli kıkırdak hücre modellerine etkileri - Elif Bilgiç
- S83 - Retinal Dejenerasyon Oluşturulmuş Fare Modelinde Neuregulin-1'in Endoplazmik Retikulum Stresi Üzerine Etkisi - Şeyma Sultan Gönüldaş
- S84 - Preeklampitik Plasentada Tam Reseptör Tirozin Kinazlarının (TAMRTK) ve Ligandlarının Ekspresyon Seviyelerinin Değerlendirilmesi - Eda Orhan
- S85 - 3G Cep Telefonlarından Yayılan Elektromanyetik Radyasyonun Testis Dokusunda Tam Reseptör Kinazların (TAMRTK) ve Ligandlarının Ekspresyonlarına Etkisinin Değerlendirilmesi - Ertan Katırcı
- S86 - Kene tükürük salgısının fare embriyonik kök hücreleri üzerine etkilerinin incelenmesi - Ahmet Kocabay
- S87 - Gebeliğin 5. ve 8. Günlerinde AXL Reseptörünün Desidualizasyon ve Gebeliğin Devamındaki Rolünün Araştırılması - Esmâ Konuk
- S88 - Gümüş nanopartikülünün boyut ve doz bağımlı olarak karaciğere etkisinin araştırılması - Mehmet Enes Sözen

## S01

**Fare Embriyonik Kök Hücrelerinin Hücreler Arası Madde Yoğunluğunun Değiştirilerek Farklılaştırılma Süreçlerinin Araştırılması**Berrin Özdi<sup>1</sup>, Günnur Güler<sup>2</sup>, Eda Açıkgöz<sup>3</sup>, Duygu Çalık Kocatürk<sup>4</sup>, Hüseyin Aktuğ<sup>4</sup><sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Isparta<sup>2</sup>Ege Üniversitesi ARGEFAR, İzmir<sup>3</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van<sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

**Giriş:** Doku formunu oluşturan hücresel bileşenlerin sürekliliği ve özelleşmesi hem yetişkin hem de gelişmekte olan organizmalarda önemli işlemlerdir. Pluripotent embriyonik kök hücreler, primitif organizmanın iç hücre kütesinden elde edilir. Bu hücrelerin farklılaşması kademeli olarak gerçekleşir ve hücrelerin pluripotent özellikleri giderek azalır. Hücreler, hem hücre içi hem de hücre dışı sinyalleri sürekli olarak alırlar, böylelikle iç metabolik aktivitelerini düzenlerler. Niş, kök hücrelerin farklılaşmanın en önemli belirleyicilerinden biri olarak bilinir. *İn vitro* koşullarda *in vivo* hücreler arası madde modelini taklit etmek için kullanılan birçok hidrojel vardır ve en yaygın olarak kullanılan hidrojellerden biri matrijeldir. Bununla birlikte, kök hücrenin farklılaşma kapasitesi için matrijelin katkısı ve bu hidrojin protein konsantrasyonu hakkında literatürde sınırlı bilgi vardır. Fare embriyonik kök hücreleri (fare EKH'leri), doğrudan hücre-hücre etkileşimlerinin yanı sıra hücre-hücreler arası madde etkileşimleriyle hücresel dinamikleri oluşturduklarından, *in vitro* olarak mikroçevre değişimleriyle farklılaşma için uyarılabilirler. Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda bazal membran ekstraktı (matrijel) kaplamalı yüzey, fare EKH farklılaşma kapasitesi üzerindeki etkisi için *in vitro* olarak hücreler arası maddeyi taklit etmiştir.

**Amaç:** Çalışmamız, hücresel mikroçevre ile fare EKH kapasitesini ve farklılaşma kabiliyetini manipüle etme yeteneğini geliştirmeyi amaçlamaktadır.

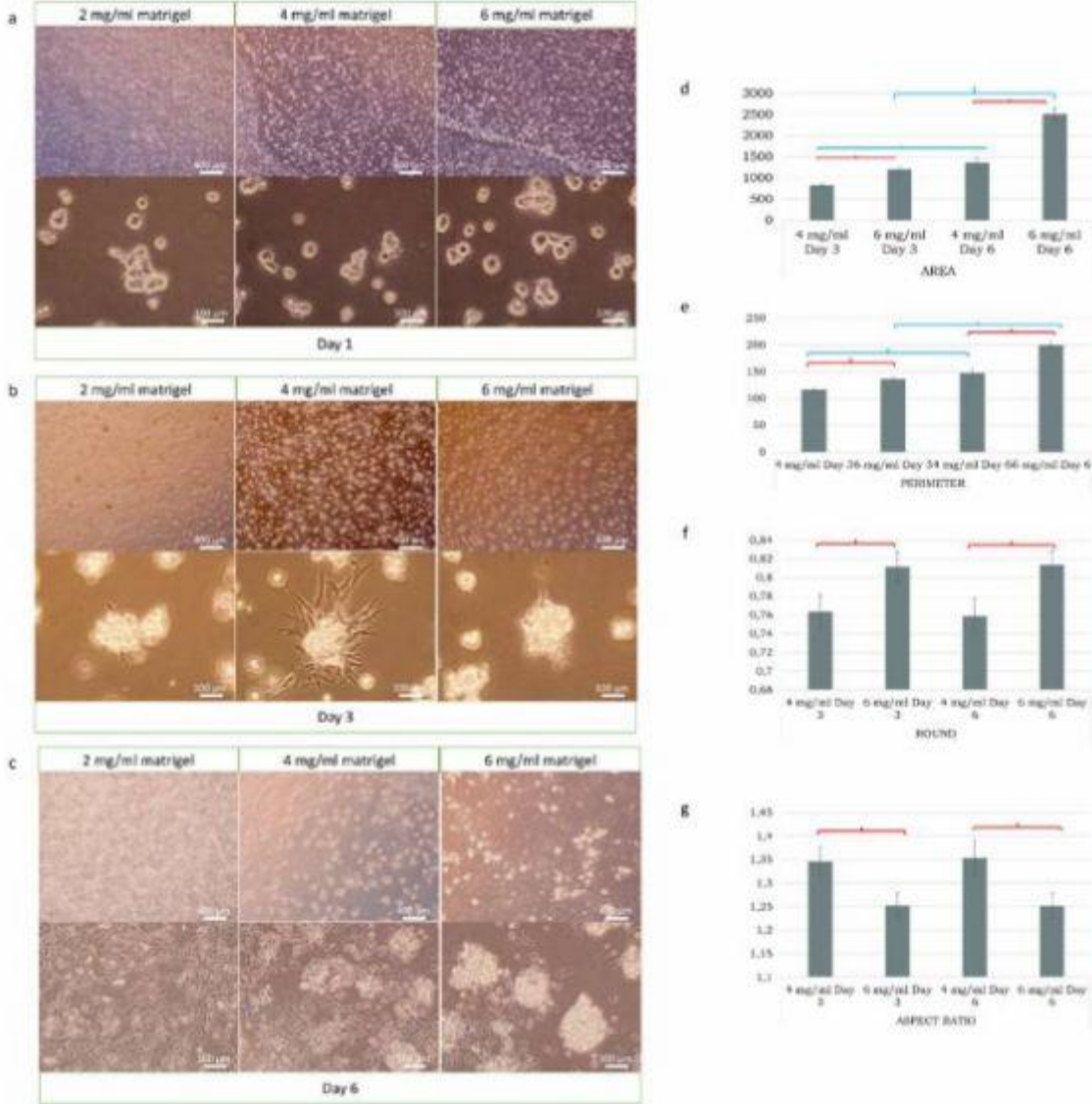
**Yöntem:** Üç farklı konsantrasyon ve üç zaman noktasına odaklanılmış; kök hücre kimliğini ile osteoblastik farklılaşmayı gözlemlemek için sırayla SSEA-1 ve OPN proteinlerine özel boyamalar yapılmıştır. ATR-FTIR ve hücre döngüsü analizi gerçekleştirilmiştir.

**Bulgular:** Fare EKH'lerin kök hücre özelliklerinin, hücre döngüsü ve immünfloresan boyama ile gösterilen hücreler arası madde protein konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği sonucuna varılmıştır. Konsantrasyon farkının fare EKH üzerine etkisi moleküler ve morfolojik düzeyde açıkça görülmektedir. Farklı deney gruplarındaki ATR-FTIR sonuçlarına göre proteomik ve lipidomik değişiklikler, asellüler matriksin farklılaşma potansiyeline işaret etmektedir.

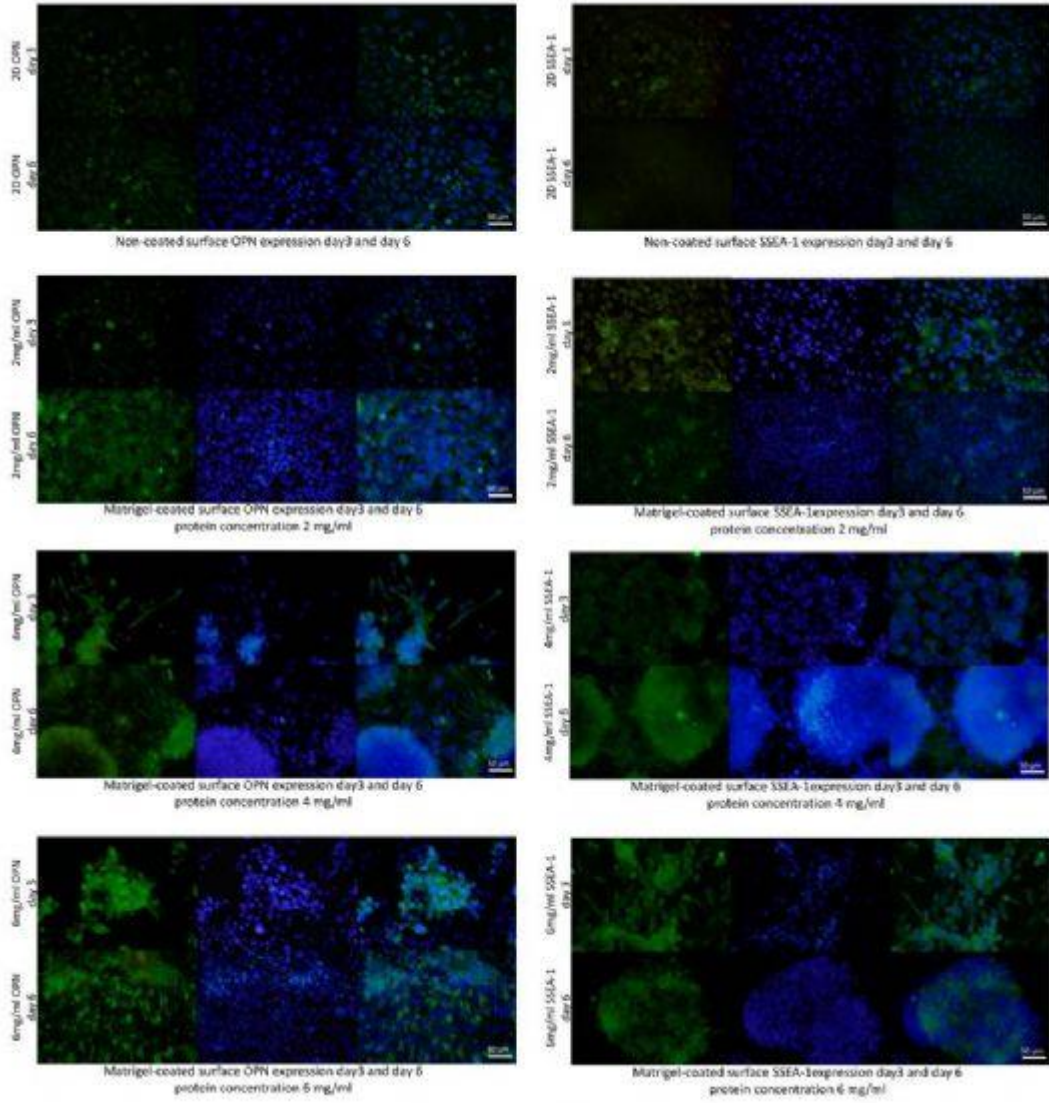
**Sonuç:** Konu ile ilgili çalışmanın devamı aydınlatılmasını bekleyen moleküler problemlerde yol gösterici olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Fare Embriyonik Kök Hücresi, Matrijel, ATR-FTIR spektroskopisi, Hücre Farklanması, Hücre Döngüsü

**Farklı konsantrasyonlardaki protein kaplamaları üzerindeki fare EKH'lerin morfolojik farklılıkları**

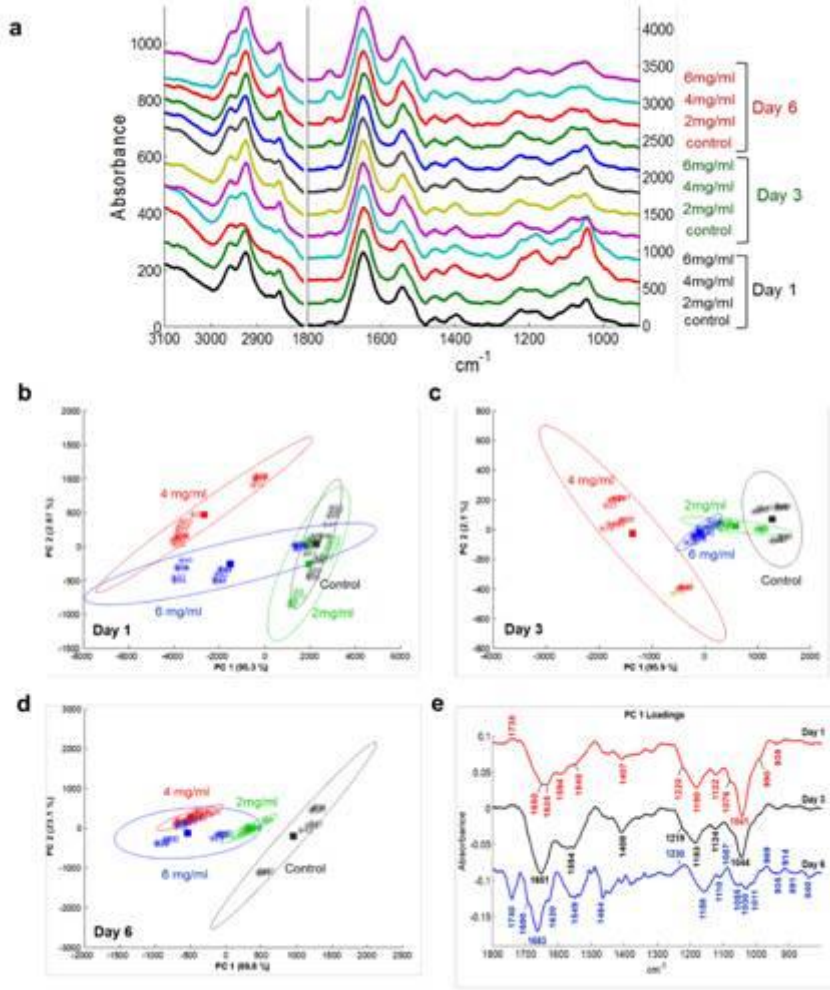


**Farklı matrigel konsantrasyonu üzerinde fare EKH'lerin SSEA-1 ve OPN ifadesi**





**ATR-FTIR sonuçlarının Temel Bileşen Analizi (PCA) yoluyla fare EKH'lerin ayrımı**



S02

### **Statin Kullanımı Sırasında Parasetamol Maruziyetinin Karaciğer ve Böbrek Dokularına Etkisi\***

Saliha Aksun<sup>1</sup>, Alpaslan Gökçimen<sup>2</sup>, Fadime Kahyaoğlu<sup>3</sup>, Buket Demirci<sup>4</sup>

<sup>1</sup>İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir

<sup>2</sup>Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Aydın

<sup>3</sup>Avrasya Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Patoloji Laboratuvar Teknikleri Programı, Trabzon

<sup>4</sup>Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Aydın

\*Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 114S567 nolu 1002 projesi olarak desteklenmiştir.

**Amaç:**

Araştırmamız, sıkça reçetelenen parasetamol(APAP) ve statinlerin(rosuvastatin) birlikte kullanımında güvenliliğini saptamak ve "akılcı ilaç uygulamaları"na katkı sağlamak amacıyla planlanmıştır.

**Yöntemler:**

32 adet 12-15 aylık yetişkin erkek sıçanlar 8'erli 4 gruba ayrılmıştır.

Kontrol: Sağlıklı kontrol grubu. RSV: 10 mg/kg günlük içme suyu ile 8 hafta boyunca rosuvastatin uygulanan grup. APAP: 50 mg/kg intraperitoneal enjeksiyon, haftada 5 gün, 8 hafta boyunca parasetamol uygulanan grup. RSV+APAP: 10 mg/kg günlük içme suyu ile RSV, 50 mg/kg intraperitoneal enjeksiyon, haftada 5 gün APAP birlikte aynı sıçana 8 hafta boyunca uygulanan grup.

8 haftanın sonunda, tüm gruplarda, karaciğer ve böbrek fonksiyonları, serum AST, ALT, albumin, üre, Sistatin C, N-GAL, nitrik oksit(NO) çalışılarak değerlendirilmiştir.

Karaciğer ve böbrek dokularına Hematoksilin&Eozin boyama (HE) yapılmış ve ayrıca immunohistokimyasal (IHC) olarak iNOS yoğunlukları değerlendirilmiştir.

**Bulgular:**

ALT, AST düzeylerinde gruplar arasında farklılık saptanmamış, albüminin RSV+APAP grubunda düşük olduğu, Ürenin, RSV grubunda daha yüksek olduğu bulunmuştur. Serum NO, RSV+APAP grubunda  $4.50 \pm 2.37$  mikromol/ml olarak, kontrol grubundan( $3,11 \pm 1.52$ ) yüksek bulunmuştur. H&E boyası uygulanmış karaciğer dokularında; ilaç tedavisi uygulanan KC dokularında sinüzoidal dilatasyonlara kanama odakları eşlik etmiştir ve nekroza giden bir yapı görülmüştür.

H&E uygulanmış böbrek dokularında, ilaç tedavisi alan gruplarda Proksimal kıvrıntılı tübül granüler dejenerasyon, distal tübüllerde lümen genişlemesi ve yer yer kanama odakları görülmüştür.

Oksidatif hasar karaciğerde en yüksek statin grubunda izlenmiştir. Böbrekte ise en yüksek oksidatif hasar kombine tedavi uygulanan(RSV+APAP) grupta izlenirken, en düşük hasar statin grubunda görülmüştür.

**Tartışma:**

Statinler, CYP enzimleriyle metabolize olmaktadır. Yüksek dozlarda ve uzun kullanımlarında karaciğer, böbrek toksisitesi yapabilmektedirler. APAP yaygın kullanılan, karaciğer ve böbrek üzerine toksik olabilen bir ilaçtır. Karaciğerde, konjugasyon, glukuronidasyon, oksidasyon ile metabolize olmaktadır. Sık kullanımında başlıca CYP2E1 tarafından toksik N-asetil-p-benzokinin(NAPQI) metabolitine dönüşmekte, NAPQI; antioksidan glutatyonla etkileşimle zararsız hale gelmektedir. İlacın sürekli yüksek dozda alınmasıyla oluşan metabolitlere mevcut glutatyon yetmemekte, serbest kalan NAPQI karaciğerdeki diğer moleküllere bağlanarak hasarlanmaya neden olmaktadır.

Çalışmamızda, karaciğerde görülen granüler, vakuoler dejenerasyon, kanama alanları, sinüzoidal dilatasyon ve nekroz, karaciğer yoluyla metabolize olduğu bilinen bu ilaçların birlikte kullanılması halinde biyokimyasal değişiklikler henüz olmamışken, histopatolojik hasarın başladığını, sürekli birlikte kullanımında harabiyetin laboratuvar sonuçlarına da yansıtacağını düşündürmektedir.

**Sonuç:**

Doku hasarı olmasına rağmen bu durum henüz kandaki parametrelere yansımamıştır. Özellikle statin grubu ilaçların periyodik biyokimyasal tetkikler normal olsa da APAP gibi bir ilaçla birlikte uzun süreli kullanımından kaçınmanın gerekliliği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Asetaminofen, Hepatotoksisite, Nefrotoksisite, Rasyonel ilaç kullanımı, Rosuvastatin

**S03**

**Hypericum perforatum' un Gebe Sıçanlarda Embriyotoksik ve Teratojenik Etkisinin Araştırılması**

Fadime Kahyaoğlu<sup>1</sup>, Alpaslan Gökçimen<sup>2</sup>, Buket Demirci<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Avrasya Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Patoloji Laboratuvar Teknikleri Programı, Trabzon

<sup>2</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Aydın

<sup>3</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Aydın

**Giriş:** Depresyon her yaşta toplumun tamamını etkileyen önemli bir hastalıktır ve gebelik döneminde görülme oranı %18-19 olarak bildirilmektedir. Hypericum perforatum (HP) son zamanlarda yara iyileşmesi, inflamatuvar barsak hastalığı veya depresyonda kullanılan anti-inflamatuvar ve antiviral özelliklere sahip olduğu kanıtlanmış bitkisel bir üründür.

Bildiğimiz kadarıyla, Hypericum Perforatum'un fetal gelişimi, fetal sağlığı ve doğum oranını etkilediği ilk çalışmadır.

**Amaçlar:** Hamilelikte "bitkisel ürünler daha zararsız" ön görüşüyle, HP depresyon ve fetal maruziyet kullanımının güvenilirliğini değerlendiren kontrollü klinik araştırmalar yoktur. Bu nedenle fetal klinik, morfolojik ve histolojik bulgulara göre Hypericum perforatumun teratojenik etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Çalışma dizaynı:** 4-5 aylık 54 Wistar sıçanla yapılan in vivo çalışmamızda, oral gavaj ile sıçanlara Hypericum perforatum uygulandı. Düşük ve yüksek dozlarda, 100 mg / kg ve 300 mg / kg uygulandı.

**Yöntemler:** Tedaviye gebelikten bir hafta önce başlanmış ve gebelik üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Ek olarak, morfolojik değerlendirme, karaciğer ve böbrek dokularının genel yapısını değerlendiren H&E boyama ve oksidatif hasarı değerlendirmek için iNOS IHC (immünohistokimyasal olarak) uygulandı.

**Bulgular:** Histolojik değerlendirmelerimiz sonucunda tedavi alan sıçanların kontrol grubuna ait sıçanların fetüslerine göre karaciğerde enflamatuvar reaksiyon geliştiği, konjesyonun, fetal dönemde hematopoezisin devam ettiği her bir grupta gözlenmiş olup yüksek doz (300 mg/kg) HP tedavisi alan sıçanlara ait fetüslerde fokal nekroz bulunduğu lobül içerisinde ortalama bir tane olacak şekilde gözlenmiştir. Hücre düzeninde bozulmaların olduğu burada saptanmıştır. Yine yüksek doz HP tedavisi almış sıçanlara ait fetüslerde yer yer hidropik ve vakuollü dejenerasyon gözlenmiş olup yağlanmaya rastlanılmamıştır. Böbrek dokularına baktığımızda ilaç tedavisi almış grubun yavrularında glomerül çapının küçüldüğü, bowman kapsül mesafesinin yok olduğu ve yoğun konjesyon izlenmiştir. Bununla birlikte böbrek tübüllerinde hidropik ve hiyalin dejenerasyon görülmüştür. Bu sonuçlar gebelikte alınan Hypericum perforatum' un sıçan embriyosu üzerine teratojenik olabileceğini göstermiştir. Gebelik öncesinden başlanarak tüm gebelik boyunca uygulandığı için çalışmamızda kullandığımız bu herbal ürünün embriyotoksik olduğunu da karaciğer ve böbrek dokularında karşılaştığımız yoğun hasar ile doğrulayabiliriz. Çalışmamızda karaciğer ve böbrek dokusunda antioksidan aktivite gösteren iNOS reseptörleri bu hipotezi desteklemektedir. **Sonuç:** Prenatal ve postnatal HP'ye maruziyet hem fetal gelişim hem de anne sağlığını olumsuz şekilde etkiler.

**Anahtar Kelimeler:** Hypericum perforatum, Teratojenite, Karaciğer, Böbrek, Gebelik

S04

**Azaltılmış beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF), fare karaciğer ve böbrek dokusuna apoptotik etkileri**Berna Tezcan<sup>1</sup>, Gülay Hacıoğlu<sup>2</sup>, Selcen Aydın Abidin<sup>3</sup>, İsmail Abidin<sup>3</sup><sup>1</sup>Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Giresun; İzmir Adli Tıp Kurumu, Biyoloji İhtisas Dairesi, İzmir<sup>2</sup>Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Giresun<sup>3</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Trabzon

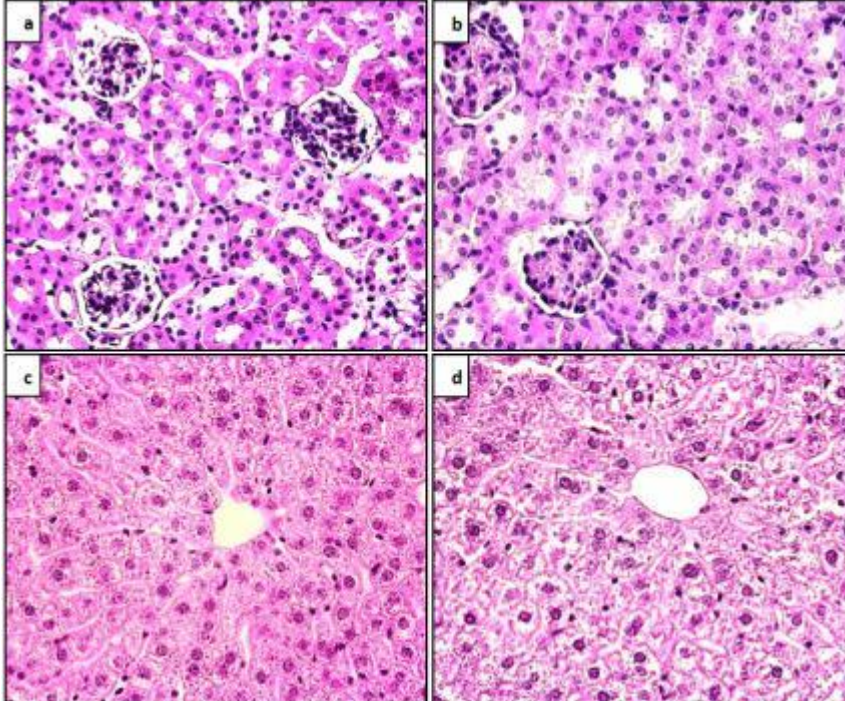
**Amaç:** Beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF), merkezi ve periferik sinir sisteminde belirli nöron grupları üzerine etki ederek, nöron ve sinapsların gelişimini ve farklılaşmasını, bunun yanında nöronal sağkalımı desteklemektedir. Periferik dokularda ise BDNF'nin apoptoz ile direkt ilişkisi bilinmemektedir. Bu çalışmada, karaciğer ve böbrek dokularında BDNF'nin apoptoz ile ilişkisi ve bu dokulardaki BDNF reseptörlerinin yoğunluk ve dağılımının histolojik ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem-Gereçler:** Araştırmada 7 adet yabani tip ve 7 adet BDNF heterozigot (BDNF düzeyleri yarı yarıya azaltılmış) erkek fare kullanılmıştır. Karaciğer ve böbrek dokusunda apoptozun varlığını araştırmak amacıyla Kaspaz-3 ve TUNEL immünohistokimyasal boyamaları gerçekleştirilmiş ve apoptoza giren hücreler sayılarak gruplar arası karşılaştırma yapılmıştır. BDNF reseptörleri olan tropomiyozin-ilişkili kinaz B (TrkB) ve nerve growth factor receptor p75 (NGFR p75)'in karaciğer ve böbrek dokularındaki yoğunluk ve dağılımı da immünohistokimyasal analizler ile incelenmiştir.

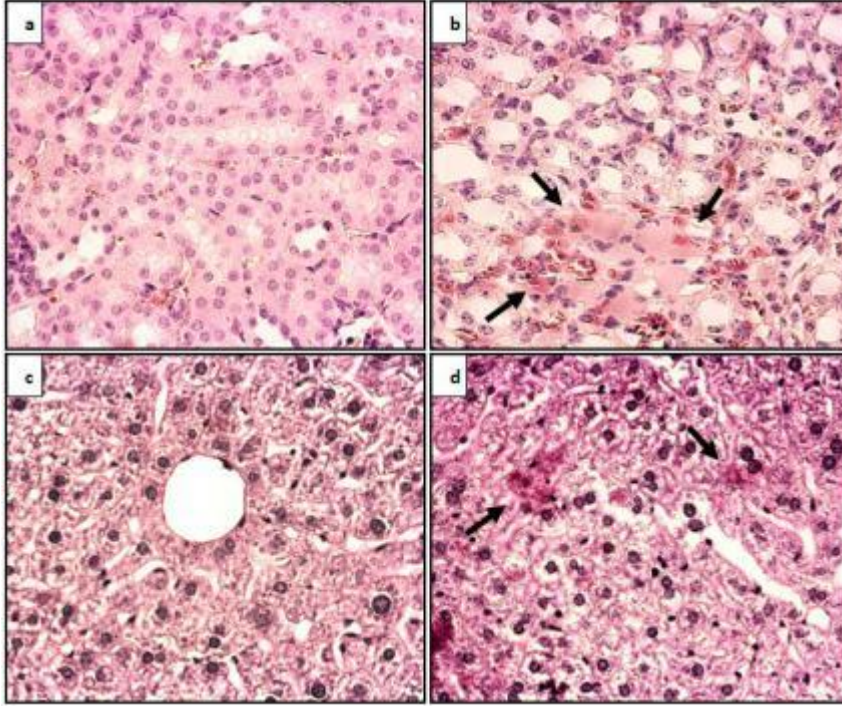
**Bulgular:** Kaspaz-3 ve TUNEL immünohistokimyasal boyamaları sonucunda kontrol grubuna göre, BDNF heterozigot gruba ait kesitlerde daha fazla sayıda apoptoza girmiş hücre sayılmıştır ( $p < 0.0001$ ). İmmünohistokimyasal boyamalar sonucunda karaciğer ve böbrek dokusunda TrkB ve NGFR p75 reseptörlerinin eser miktarda bulunduğu saptanmış, ancak çalışma grupları arasında yoğunluk ve dağılımları açısından farklılık gözlenmemiştir.

**Sonuçlar:** Yapılan histolojik ve immünohistokimyasal boyamalar ve gruplar arası hücre sayımına ait istatistiksel analizler sonucunda BDNF'nin karaciğer ve böbrekte apoptoza karşı koruyucu etkisinin olduğu saptanmıştır. BDNF reseptörlerinin yoğunluğu ve dağılımı açısından çalışma grupları arasında fark bulunmaması, karaciğer ve böbrek dokusunda BDNF reseptör dağılımının sinir sisteminden farklı olabileceğini veya BDNF'nin bu reseptörlere afinitesinde farklılıklar olabileceğini düşündürmüştür.

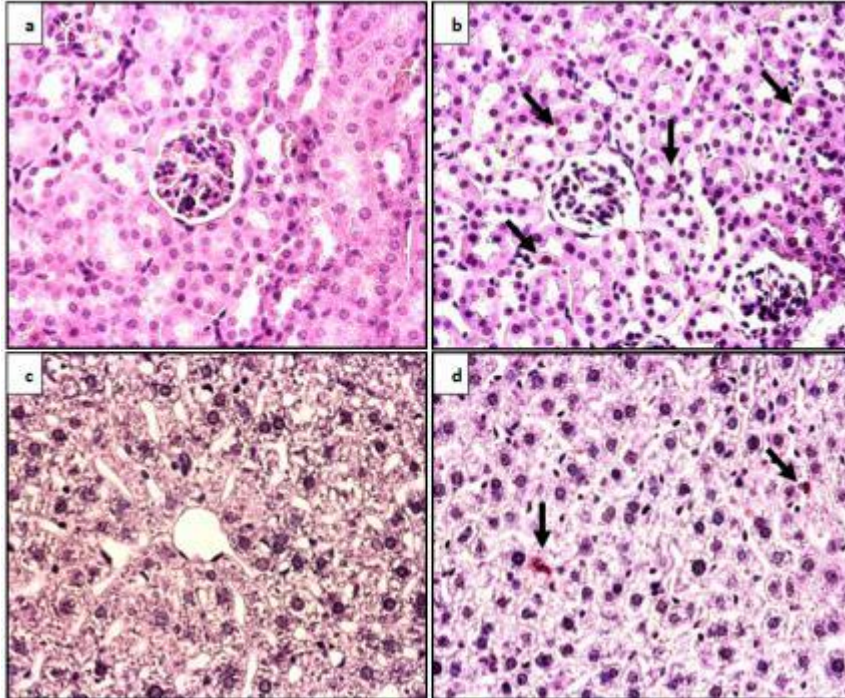
**Anahtar Kelimeler:** Apoptoz, BDNF, Böbrek, İmmunohistokimya, Karaciğer

**Şekil 1: H-E boyaması, 40X büyütme a) Kontrol böbrek dokusu b) BDNF heterozigot böbrek dokusu c) Kontrol karaciğer dokusu d) BDNF heterozigot karaciğer dokusu.**

**Şekil 2: Kaspaz-3 immünohistokimyasal boyaması, 40X büyütme a) Kontrol böbrek dokusu b) BDNF heterozigot böbrek dokusu c) Kontrol karaciğer dokusu d) BDNF heterozigot karaciğer dokusu. Oklar, immün-pozitif boyanmış hücreleri göstermektedir.**



**Şekil 3: TUNEL immünohistokimyasal boyaması, 40X büyütme a) Kontrol böbrek dokusu b) BDNF heterozigot böbrek dokusu c) Kontrol karaciğer dokusu d) BDNF heterozigot karaciğer dokusu. Oklar, immün-pozitif boyanmış hücreleri göstermektedir.**



S05

**Maternal beslenmenin yavruların üreme fonksiyonları üzerindeki etkisi**

Müberra Namlı Kalem<sup>1</sup>, Ziya Kalem<sup>2</sup>, Elvan Anadol<sup>3</sup>, Canan Yılmaz<sup>4</sup>, Çiğdem Elmas<sup>5</sup>, Perihan Yalçınkaya<sup>6</sup>, Halil Ruso<sup>2</sup>, Batuhan Bakırarar<sup>7</sup>, Timur Gürkan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Liv Hospital, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Gürkan Klinik IVF ve Kadın Sağlığı Merkezi, Ankara

<sup>3</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi, Ankara

<sup>4</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

<sup>5</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>6</sup>Okan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>7</sup>Ankara Üniversitesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Ankara

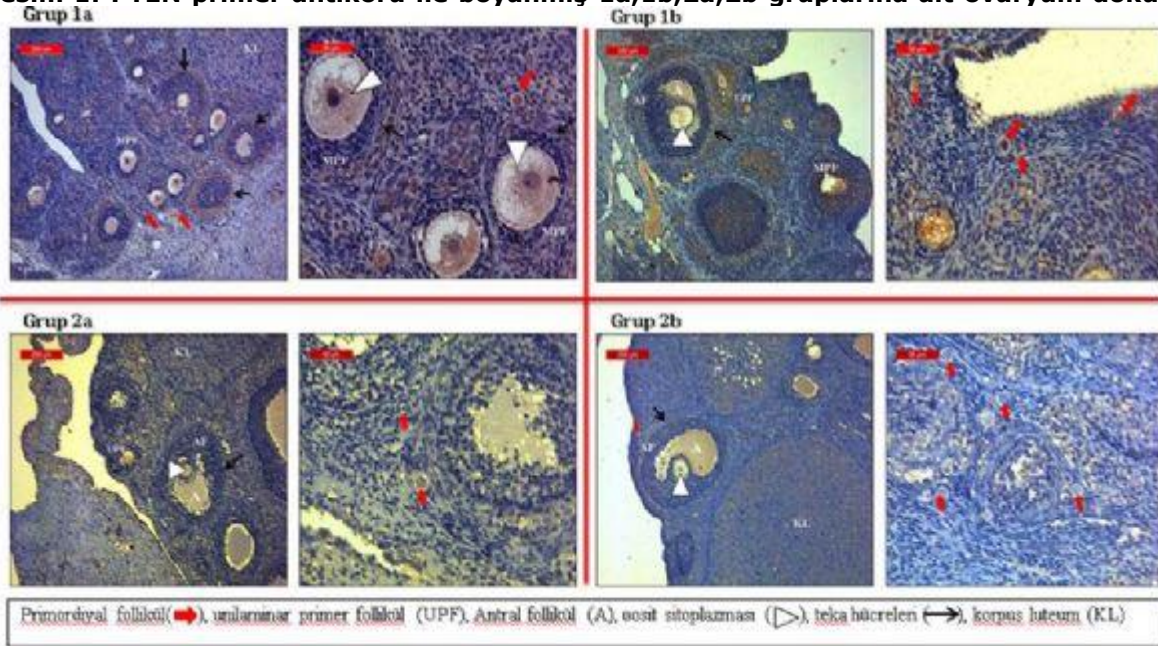
**Giriş-Amaç:** Üretken dönemde ve öncesinde oldukça yaygın alan "obesogenic beslenme" çağımızın en önemli problemlerindedir. Maternal obezite ise hem gebelik komplikasyonları ile sonuçlanan hem de plasental ve fetal büyümeyi doğrudan etkileyen bir olgudur. Yapılan bazı çalışmalarda üreme sisteminin maternal beslenme düzeninden etkilendiği gösterilse de etki mekanizması henüz açıklığa kavuşmamıştır. Çalışmamızda, pregestasyonel, gestasyonel ve laktasyonda obesogenic beslenen annelerden doğan dişi yavruların, erişkin dönem üreme fonksiyonlarının araştırması ve belirtilen dönemlerdeki beslenme düzenini etkilerinin birbiriyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem-Gereç:** Çalışmada 24 adet Wistar albino (2-2,5 aylık) cinsi dişi sıçan kullanıldı. Denekler, gestasyon öncesinde standart yemle (18% protein, 7% yağ, metabolik enerji 15,9 mJ/kg) beslenen "Grup1" ve kafeterya diyeti (32,8% protein, 5,9% yağ, metabolik enerji 224 mJ/kg) ile beslenen "Grup2" olmak üzere iki gruba ayrıldı. Çiftleştirildikten sonra Grup1, gebelik ve laktasyon boyunca sağlıklı beslenmeye devam eden "Grup 1a" ve gebelik ve laktasyon boyunca kafeterya diyeti ile beslenen "Grup 1b" olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. Benzer şekilde, Grup2 de gebelik ve laktasyon boyunca sağlıklı beslenmeye devam eden "Grup 2a" ve gebelik ve laktasyon boyunca kafeterya diyeti ile beslenen "Grup 2b" olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. Daha sonra, doğan tüm dişi yavrular laktasyon bitiminden itibaren 2 ay süresince normal diyetle beslendi. Tüm gruplara ait beslenme şekilleri tablo 1'de özetlenmiştir.

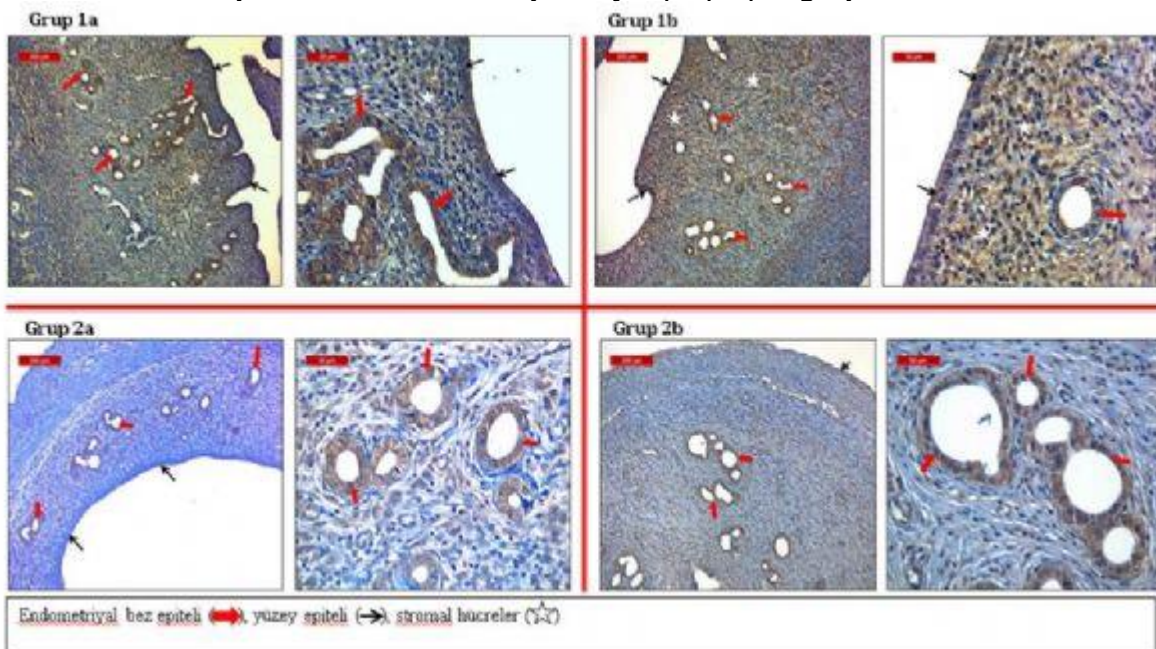
Çalışmamızda dişi yavruların erişkin dönemdeki vücut ağırlıkları, gonadal ağırlıkları, gonadal ve retroperitoneal adipoz doku ağırlıkları ölçüldü. Serum FSH, LH, AMH, ve estradiol değerlerini ELISA yöntemi ile belirlendi. İntrauterin dönemde şekillenen ve dişi üremesinde yaşam boyu rol oynayan over rezervinin ölçümü, primordiyal folikül sayımı ve primordiyal folikül havuzunun korunmasında kritik öneme sahip olduğu bilinen PTEN (phosphatase and tensin homolog) ekspresyonunun IHC olarak belirlenmesi ile sağlandı. Endometrial receptivite değerlendirilmesi için ise endometrial dokularda e-cadherin ve integrin beta-1 düzeyi IHC olarak incelendi.

**Bulgular-Sonuç:** Pregestasyonel, gestasyonel ve laktasyon dönemlerinde standart diyet ile beslenen annelerle karşılaştırıldığında kafeterya diyeti ile beslenen annelerin dişi yavrularında erişkin dönemde over rezervini belirleyen primordiyal folikül sayısının ve PTEN ekspresyonunun azaldığı, ayrıca reseptivite belirteci olan e-cadherin ve integrin-β1 endometriumdaki ekspresyonlarının azaldığı görülmüştür. Pregestasyonel dönemde kafeterya diyeti ile beslenmede bu negatif etkiler daha belirgindir. Pregestasyonel dönemde kafeterya diyeti ile beslenen anneler gebelikte standart beslenmeler dahi bu defekti tolere edememişlerdir. Sonuç olarak, tüm bu veriler doğrultusunda maternal beslenmenin dişi yavruların erişkin hayatındaki fertilitate potansiyelini etkilediği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Maternal beslenme, kafeterya diyeti, over rezervi, PTEN, endometrial reseptivite

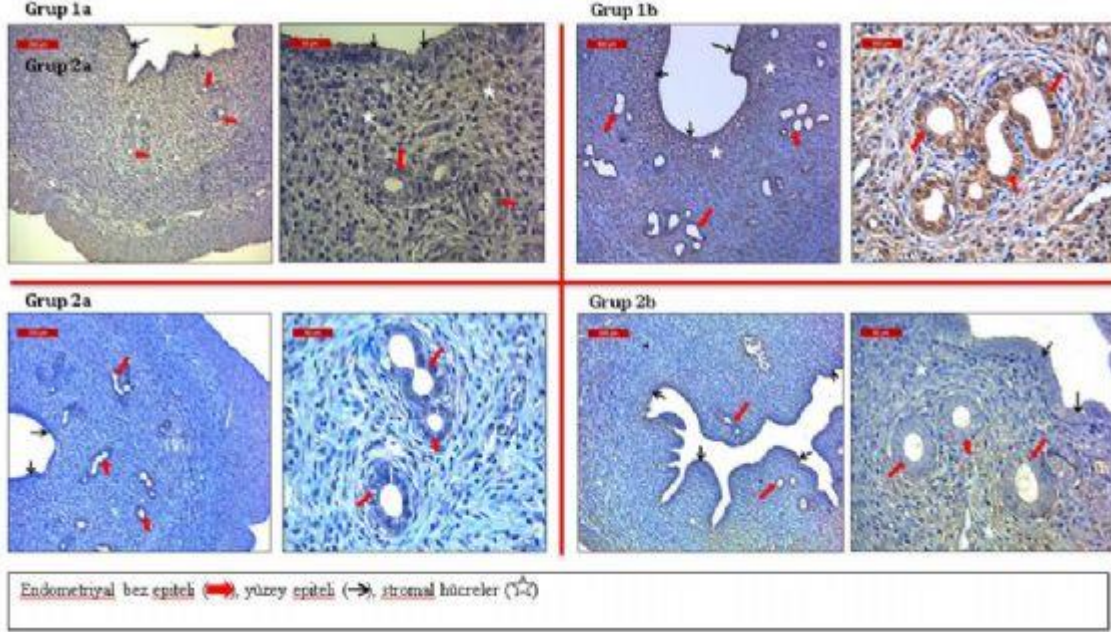
**Resim 1: PTEN primer antikoruna ile boyanmış 1a,1b,2a,2b gruplarına ait ovaryum dokusu**

Grup-1a ovaryum dokusunda; Primordiyal folikülün oosit sitoplazmasında kuvvetli PTEN tutulumu gözlenirken, folikül çevreleyen granuloza hücre sitoplazmasında zayıf PTEN tutulumu gözlemlenmiştir. Primer folikülün granuloza hücre sitoplazmasında ise orta derecede tutulum gözlemlendi. Grup-1b ovaryum dokusunda, Primordiyal folikülün oosit sitoplazmasında güçlü PTEN tutulumu gözlemlendi, primordiyal folikülün granuloza hücre sitoplazmasında zayıf PTEN tutulumu gözlemlendi. Sekonder ve antral foliküllerin granuloza hücrelerinde güçlü PTEN tutulumu gözlemlendi. Unilaminar primer folikül granuloza hücrelerinde ise PTEN immünreaktivitesi orta derecedeydi. Grup-2a ovaryum dokusunda, Primordiyal folikül çevresindeki yassı granuloza hücre sitoplazmasında zayıf PTEN immünreaktivitesi gözlenirken, kübik granuloza hücre sitoplazmasında zayıf-orta derecede PTEN immünreaktivitesi gözlemlendi. Çevredeki sekonder ve antral foliküllerin granuloza hücrelerinde orta-güçlü PTEN tutulumu gözlemlendi. Grup-2b ovaryum dokusunda, Primordiyal folikül ve antral folikülün oosit sitoplazmasında, zayıf PTEN tutulumu gözlenirken, antral folikül çevreleyen granuloza hücrelerinde orta-güçlü PTEN tutulumu gözlemlendi.

**Resim 2: E-kaderin primer antikoruna ile boyanmış 1a,1b,2a,2b gruplarına ait uterus dokusu**

Endometrial glandüler epitel kırmızı oklarla, yüzey epiteli siyah oklarla, stromal hücreler ise beyaz yıldızlarla gösterilmiştir. Grup 1a; Yüzey epitelinde ve endometriyal glandüler epitelde güçlü E-cadherin immünreaktivitesi gözlemlendi. Stromal hücrelerde orta-kuvvetli immünreaktivite görüldü. Grup 1b; E-cadherin immünreaktivitesi yüzey epiteli ve endometriyal glandüler epitelde güçlü idi. Stromal hücrelerde de tutulumun güçlü olduğu gözlemlendi. Grup 2a; E-cadherin immünreaktivitesi yüzey epitelinde ve endometrial glandüler epitelde zayıftı. Stromal hücrelerde tutulum zayıf olarak görüldü. Grup 2b; E-cadherin immünreaktivitesi yüzey epitelinde ve endometrial glandüler epitelde 1A ve 1B gruplarına kıyasla zayıftı. 2a grubuna benzer şekilde stromal hücrelerde tutulum zayıftı.

**Resim 3: İntegrin-β1 primer antikorunu ile boyanmış 1a,1b,2a,2b gruplarına ait uterus dokusu**



Endometrial glandüler epitel kırmızı oklarla, yüzey epiteli siyah oklarla, stromal hücreler ise beyaz yıldızlarla gösterdi. Grup 1a; İntegrin-β1 immünreaktivitesi endometrial glandüler epitelde çok kuvvetli idi. Grup 1b; Yüzey epitelinde ve endometriyal glandüler epitelde integrin-β1 immünreaktivitesi güçlü idi. Stromal hücrelerde tutulumun yine güçlü olduğu gözlemlendi. Grup 2a; Yüzey epitelinde ve endometriyal glandular epitelde integrin-β1 immünreaktivitesi zayıftı. Stromal hücrelerde tutulum yine zayıf olarak görüldü. Grup 2b; Yüzey epiteli ve endometrial glandüler epiteldeki tutulum 1A grubundan daha kuvvetli idi. Stromal hücrelerde ise tutulum zayıftı.

**Tablo 1: Tüm gruplara ait beslenme protokolleri**

		Pre- gestasyonel (10 hafta)	Gestasyonel (3 hafta)	Laktasyon (3 hafta)	Dişi yavrular (8 hafta)
	1a (n=6)	SD	SD	SD	SD
Grup 1	1b (n=6)	SD	KD	KD	SD
Grup 2	2a (n=6)	KD	SD	SD	SD
	2b (n=6)	KD	KD	KD	SD

SD:

Standart

Diyet

KD:

Kafeterya

Diyeti



S06

**İnfertilite Tedavisinde "Tümünü Dondur (Freeze all) Stratejisi" Uygulama Sonuçlarımız**Cem Korkmaz<sup>1</sup>, Barış Baykal<sup>1</sup>, Seyit Temel Ceyhan<sup>2</sup>, Ulaş Fidan<sup>2</sup>, Senem Seferbay<sup>2</sup>, Sibel Başpınar<sup>2</sup><sup>1</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi T.Histoloji ve Embriyoloji AD. Ankara<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD. Ankara**Giriş:**

Yardımlı üreme tedavisi gören hastalarda, kontrollü ovaryan stimülasyon (KOS) sonrası elde edilen kaliteli embriyoların transfer yapılmaksızın tümünü dondurup bir sonraki naturel siklusta gecikmeli olarak transfer edilmesi günümüzde "freeze all stratejisi" olarak bilinmekte ve pek çok IVF merkezinde uygulanmaktadır. Bu strateji ile KOS sürecinde östrojen yüksekliğine bağlı olarak gelişen ve implantasyon sürecini olumsuz etkileyen bir takım fizyolojik değişikliklerden kaçınmak ve IVF tedavi sonuçlarını optimize edebilmek amaçlanmaktadır.

Çalışmamızda Sağlık Bakanlığı Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezinde 2016 ve 2017 yıllarında tedavi görmüş hastalardan "tümünü dondur (freeze all) stratejisi" uygulanmış hastaların gebelik sonuçlarının KOS sonrası transfer uygulanmış hastalarla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem-Gereçler:**

Retrospektif çalışmamızda Sağlık Bakanlığı Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezinde 2016 ve 2017 yıllarında tedavi görmüş ve kanser dışı nedenlerle freeze all stratejisi uygulandıktan sonra embriyo transferi yapılmış 46 hastanın transfer sonuçlarının aynı dönemlerdeki yıllık transfer sonuçlarıyla karşılaştırılması yapılmıştır. 2016 yılında tüm embriyoları dondurulup sonradan çözümlenerek transfer uygulanmış 20 hasta ile 2017 yılı içinde aynı şekilde dondurma-çözme ve transfer yapılan 26 hasta çalışmamıza dahil edilmiştir.

**Sonuçlar:**

2016 ve 2017 yılı içinde freeze all stratejisi gereğince tüm embriyoları kapalı sistemle vitrifiye edilmiş ve sonraki naturel siklularda çözümlenerek transfer uygulanan hastalarla aynı yıllara ait taze siklus gebelik sonuçları tabloda izlenmektedir.

**Tartışma:**

Çalışmamızda 2016 ve 2017 yıllarında taze siklus transferi uygulanmış ve "freeze all stratejisi" gereği tüm embriyoları dondurulup sonraki siklularda transfer yapılmış hasta sonuçları karşılaştırılmıştır. Günümüzde pek çok merkezde uygulanan "freeze all stratejisi" aşağıdaki durumlarda uygulanmaktadır;

- OHSS (Ovarian Hiperstimülasyon sendromu) riski olması durumunda,
- Endometrial asenkroniye neden olabilecek polip, myom, kötü endometrial gelişim, kırılma kanaması veya hastalık gibi embriyonun implantasyonunu bozabilecek problemlerle karşılaşıldığında,
- Servikal darlık gibi taze embriyonun transferi sırasında bir zorlukla karşılaşıldığında,
- Kanser kemoterapisi veya radyoterapisi öncesi,
- Birkaç denemede başarısız olmuş hasta gruplarının sonraki denemesinde

Merkezimizde 2016 ve 2017 yıllarında kanser dışı nedenlerle tüm embriyoları dondurulup sonraki naturel siklularda transfer yapılmış olan hasta sonuçlarının taze siklus transferleri ile karşılaştırılması yapılmış ve her iki uygulama sonuçlarının istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak freeze all ile taze transfer karşılaştırmasında implantasyon oranları göz önünde bulundurulduğunda, freeze-all stratejisi IVF tedavisi için uygun bir yöntem olarak görülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** IVF, Embriyo, Freeze all, Vitrifikasyon, Gebelik

**Taze ve Dondurulmuş siklularda Transfer/Gebelik karşılaştırması**

YILLAR	Taze Siklus Transfer Sayısı	Taze Siklus Gebelik Sayısı	Taze Siklus Gebelik %	Freeze Siklus Transfer Sayısı	Freeze Siklus Gebelik Sayısı	Freeze Siklus Gebelik %
2016	170	70	41	20	8	40
2017	109	44	40	26	11	42,3
TOPLAM	279	114	40,8	46	19	41,3

S07

**Kronik fizyolojik stres uygulamasının sıçan ovaryumlarında foliküler gelişim ve oosit rezervi üzerine etkileri: IGF1, AMH ve Bcl-2'nin rolü**Deniz Muratoğlu<sup>1</sup>, Melike Sapmaz Metin<sup>1</sup>, Ruhan Deniz Topuz<sup>2</sup><sup>1</sup>Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne<sup>2</sup>Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Edirne

**Amaç:** Stres, toplumları fizyolojik ve psikolojik olarak etkileyen en önemli dış faktör haline gelmiştir. Günümüzde toplum yapısı, kültürü, ekonomisi ve yaşam alanlarının farklılaşması, hatta çalışma ritminin değişmesi gibi nedenlerle kadınlar üzerindeki baskı giderek artmaktadır. Bugüne kadar dişilerde stres bulguları üzerine çok sayıda çalışma olmasına rağmen, ovaryum dinamiğindeki değişimleri ortaya koymak için, foliküler farklılaşma ve oosit büyümesinde rol alan IGF1, AMH ve Bcl-2 seviyeleri üzerine sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmada, kronik fizyolojik stresin, dişi sıçanlarda davranış parametreleri, östrus siklusu ve ovaryumlarda foliküler gelişim ile ilişkili IGF1, AMH ve Bcl-2 proteinlerinin ifadeleri üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

**Yöntem-Gereçler:** Çalışmamızda yirmi dört adet Sprague dawley türü dişi sıçan kullanılarak; 1. grup: kontrol grubu (n=12) ve 2. grup: stres grubu (n=12; immobilizan kısıtlama stresi, 5 gün/hafta, 1 saat/gün, 8 hafta) olmak üzere iki grup oluşturuldu. Her iki gruptan da sekiz hafta boyunca vajinal smear örnekleri alındı. Deney sonunda tüm denekler, metöstrus fazında davranış testlerine tabi tutulup, sonraki gün, diöstrus fazında, sakrifiye edildi. Deneklerden alınan ovaryumlar tartılıp işlemlendirildikten sonra H+E ve Masson Trikrom boyaları yapılarak, ovaryumun histolojik özellikleri ortaya kondu. IGF1, AMH, Bcl-2 proteinlerinin ifadesi ise immünohistokimyasal olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** İki gruba ait, (son - ilk ağırlık) farkları ile toplam ovaryum ağırlıkları kıyaslandığında, stres grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı azalma olduğu tespit edildi (sırasıyla  $p<0,0001$ ,  $p=0,013$ ). Metöstrus fazında uygulanan Rota Rod, Açık Alan ve Yükseltilmiş Artı Labirent davranış testleri sonucunda, stres grubu deneklerde anksiyete olduğu gözlemlendi. Strese bağlı olarak dişi genital kanaldaki değişikliklerin tespit edilebilmesi için, düzenli olarak alınan vajinal smear örnekleri incelendiğinde, stres grubunda kontrol grubuna kıyasla, siklus sayılarındaki uzama ile ilişkili olarak, toplam siklus/toplam gün sayısında anlamlı derecede azalma saptandı ( $p<0,0001$ ). Bir siklus uzunluğu ise stres grubunda anlamlı derecede arttı ( $p<0,001$ ). Ayrıca stres, diöstrus indeksininin yükselmesine de neden olarak, östrus siklusunda düzensizlik oluşturdu ( $p=0,011$ ). Bununla birlikte, deneklerin serum-kortizol düzeyleri arasında anlamlı fark gözlenmedi ( $p=0,384$ ). Stres grubu ovaryum histolojisinde gözlenen değişiklikler, gelişmekte olan folikül sayısında azalma, atretik folikül sayısında ve interstisyel bezlerde artışla karakterize idi. İmmünohistokimyasal değerlendirme sonucunda ise ovaryumlarda IGF1, AMH ve Bcl-2 HSCORE değerlerinin, stres grubunda anlamlı derecede azaldığı saptandı ( $p<0,0001$ ,  $p<0,0001$ ,  $p<0,0001$ ).

**Sonuç:** Bulgularımız, kronik fizyolojik stresin dişi ratlarda ovaryum içi dinamiği etkilediğini, genital siklusa düzensizliğe neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca stres ovaryumda, anti apoptotik özellikli IGF1, AMH ve Bcl-2 ifadelerinde azalmaya neden olarak atreziyi artırmıştır. Bu nedenle çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların, stres kaynaklı infertilitenin moleküler mekanizmasının anlaşılmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP 2016/79) tarafından desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** AMH, Bcl-2, IGF1, kronik stres, ovaryum

S08

**Obstrüktif ve non-obstrüktif azospermik hastalarda androjen reseptörü ve östrojen reseptörü-alfa ekspresyonunun immunohistokimyasal olarak karşılaştırılması**

Yurdun Kuyucu<sup>1</sup>, Gülfidan Coşkun<sup>1</sup>, Hülya Özgür<sup>1</sup>, Özge Kendirinan<sup>1</sup>, Hazal Demir Yazar<sup>1</sup>, Özdem Karaoğlan<sup>2</sup>, İbrahim Ferhat Ürünsak<sup>2</sup>, Volkan İzol<sup>3</sup>, Atilla Arıdoğan<sup>3</sup>, Şeyda Erdoğan<sup>4</sup>, Sait Polat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Adana

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Adana

<sup>3</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD, Adana

<sup>4</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji AD, Adana

**Giriş:** İnfertilite, çiftlerde bir yıl boyunca düzenli korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebeliğin gerçekleşmemesi durumudur. Toplumda çiftlerin yaklaşık %15'inde gözlenen infertilite olgularının %50'si sadece erkek faktörüne bağlıdır. İnfertilite kliniklerine başvuran erkek hastaların %10'ununda azospermi bulunmaktadır. Azospermi obstrüktif ve non-obstrüktif karakterde olabilir. Bu çalışmada obstrüktif ve non-obstrüktif azospermi tanısıyla infertilite kliniklerine başvuran erkek hastaların testis sperm ekstraksitonu (TESE) dokuları immunohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulguların infertilite histopatogenezinin anlaşılması ve tedavisine ışık tutulması amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** İnfertilite problemi ile ÇÜTF'ne başvurup azospermi tanısı konmuş erkek hastalardan alınan TESE biyopsi örnekleri çalışma kapsamına alındı. Hastaların fizik muayene bulguları, semen analizi ve transrektal USG sonuçlarına göre nonobstrüktif azospermi (NOA) (n=23) ve obstrüktif azospermi (OA) (n=6) grupları oluşturuldu. %10'luk formalin ile tespit edildikten sonra hazırlanan parafin bloklardan alınan kesitler H&E ile boyanarak Johnsen tübüler biyopsi skor yöntemi (JTBS) kullanılarak değerlendirildi. ERα ve AR için spesifik immunohistokimyasal boyama yöntemleri uygulanarak sonuçlar semikantitatif olarak değerlendirildi. Serum testosteron, FSH ve LH parametreleri istatistiksel yöntemler uygulanarak incelendi.

**Bulgular:** FSH ve LH serum değerlerinin, nonobstrüktif ve obstrüktif azospermi gruplarının ikisinde de normal biyokimyasal parametrelerden istatistiksel anlamlı olarak yüksek olduğu, testosteron değerlerinin ise iki grupta da anlamlı olarak normal değerlerden daha düşük olduğu tespit edildi. Obstrüktif ve nonobstrüktif azospermi hasta grupları karşılaştırıldığında ise FSH, LH ve testosteron serum değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği izlendi. Testis doku kesitlerinin histopatolojik incelemelerinde NOA grubunda Johnsen tübüler değerlendirme skorunun daha düşük olduğu izlenmekle birlikte iki grup arasında anlamlı fark görülmedi. Her iki grupta da AR ekspresyonunun Sertoli hücresi, Leydig hücresi ve peritübüler myoid hücrelerdeki varlığı görüldü. AR ekspresyonunun nonobstrüktif azospermide Sertoli hücreleri ve peritübüler myoid hücrelerinde daha az olması dikkati çekti. ER-α Sertoli hücresi, Leydig hücresi ve peritübüler myoid hücrelerin tümünde eksprese olmakla birlikte, nonobstrüktif azospermide ekspresyonunun obstrüktif azospermi ile kıyaslandığında daha fazla olduğu görüldü.

**Sonuç:** Serum FSH, LH ve testosteron değerlerinin obstrüktif ve nonobstrüktif azospermi tanısında ayırt edici bir parametre olarak kullanılamayacağı, ERα ve AR'nün testis dokusunda Sertoli hücresi, Leydig hücresi ve myoid hücrelerde eksprese olduğu ve testis normal fonksiyonunda görev aldığı, AR'nün ekspresyonunda azalmanın ve ERα ekspresyonunda artmanın testiste spermatogenezis sürecini olumsuz yönde etkileyeceği, obstrüktif azospermide spermatogenezis sürecinin daha kaliteli olduğu, ancak hem obstrüktif hem de nonobstrüktif azospermide spermatogenezis sürecinde ERα ve AR yanında ileriki araştırmalarda çalışılması gereken farklı etkenler ve moleküllerin de olabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Androjen reseptörü, azospermi, östrojen reseptörü-alfa

S09

**Siçanlarda Kombine Ultraviyole A ve B İle İndüklenmiş Deri Hasarı Modelinde Ellajik Asit Ve Silibininin Doku Koruyucu Etkilerinin Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması**Seda Keskin<sup>1</sup>, Murat Çetin Rağbetli<sup>1</sup>, Halil Özkol<sup>2</sup>, Neşe Çölçimen<sup>1</sup><sup>1</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, VAN<sup>2</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, VAN

**Amaç:** Son yıllarda ozon tabakasının incilmesi sonucu güneşin yeryüzüne daha fazla ulaşan zararlı ışınları ve solaryumun aşırı kullanılması sebebiyle başta cilt kanseri olmak üzere çeşitli deri hastalıkları önemli ölçüde artış göstermektedir. Bu yüzden ultraviyole ışınlarına karşı koruyucu özellik gösteren maddelerin araştırılması son derece önemlidir. Bu çalışma antioksidan özellikleri bilinen ellajik asit ve silibinin'in ultraviyole A ve B radyasyonuna karşı fotoprotektif etkisini araştırmak amacıyla planlandı.

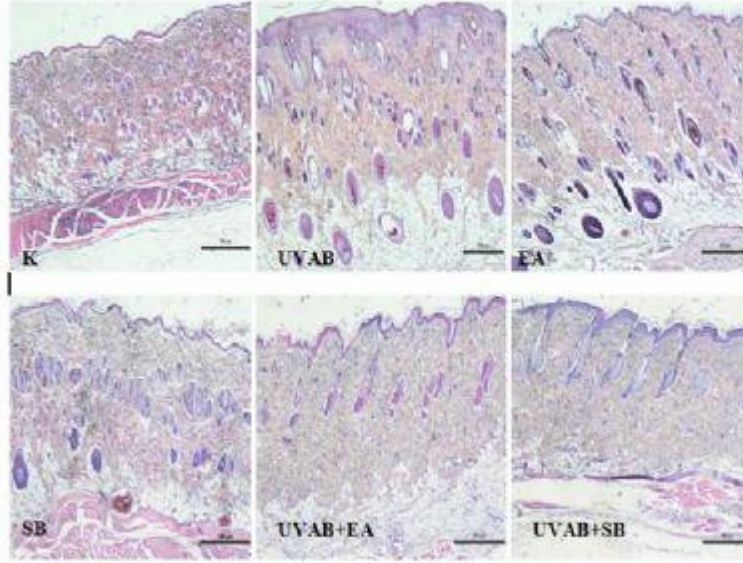
**Yöntem ve Gereçler:** Çalışmada Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 42 adet Wistar albino cinsi siçan kullanıldı. Bu siçanlar randomize olarak altı gruba ayrıldı (n=7). 12 saat gece -gündüz ışık periyodunda ve +22-24 °C'lik sıcaklık ortamında barındırıldı. Standart yem ve musluk suyu *ad libitum* olarak verildi. Gruplar Kontrol (K), Ultraviyole A ve B grubu (UVAB), Ellajik asit (EA) grubu, Silibinin (SB) grubu, UVAB+EA grubu ve UVAB+SB grubu olarak adlandırıldı. UVAB, UVAB+EA ve UVAB+SB gruplarındaki hayvanlar sırt bölgelerinden yaklaşık 15 cm<sup>2</sup> 'lik alanı kapsayacak şekilde tıraş edilerek bir ay boyunca günde 2 saat süre ile özel olarak tasarlanmış olan kabinde UVAB ışınlarına maruz bırakıldı. UVAB+EA ve UVAB+SB grubundaki hayvanlara her uygulamadan 30 dk önce 50 mg/kg (gün) ellajik asit ve silibinin gavaj yoluyla verildi. UVAB uygulanmayan EA ve SB gruplarına da bu maddeler 50 mg/kg (gün) olacak şekilde gavaj yoluyla verildi. Bütün hayvanlar otuzuncu günün sonunda sakrifiye edildi. Siçanların sırt bölgelerinden 5x5 mm boyutunda alınan deri örnekleri %10'luk nötral tamponlu formaldehitte tespit işleminden sonra rutin histolojik takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5µm kalınlığında 300µm aralıklarla alınan kesitler Hematoksilin &Eozin ile boyandı. Stereolojik analizler için epidermis, dermis ve hipodermisin hacim oranları "disector *Cavalieri*" yöntemine göre Shtereom 1.5 paket program kullanılarak hesaplandı. İstatistiksel analizler için SPSS (ver:21) paket programı kullanıldı. Grupları karşılaştırmak amacıyla non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis testi ve gruplardaki farklılıkları tespit etmek için Dunn's çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. İstatistiki olarak anlamlılık derecesi bütün parametreler için  $p<0.05$  olarak kabul edildi.

**Bulgular:** Elde edilen sonuçlara göre UVAB uygulaması epidermis, dermis hipodermis katmanlarında kalınlaşmaya neden olurken, UVAB+EA grubunda epidermis, dermis hipodermis katmanlarında incelmeye, UVAB+SB grubunda ise epidermis ve dermiste incelmeye, hipodermiste ise kalınlaşmaya neden olmuştur.

**Sonuçlar:** EA ve SB'nin UV'nin sebep olduğu bu değişiklikleri büyük ölçüde önlediği literatüre göre ilk kez çalışmamızda ortaya konmuştur. Çalışmamızda oral olarak verilen bu maddelerin ileri çalışmalarda topikal olarak da denenerek koruyucu etkinliğinin netleştirilmesi ve sonrasında uygulamada kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Deri, Ellajik asit, Silibinin, Stereoloji, Ultraviyole

## Grupların genel mikroskopik görünümü



K: Kontrol, UVAB: Ultraviyole AB, EA: Ellajik Asit, SB: Silibinin, UVAB+EA: Ultraviyole AB + Ellajik Asit, UVAB+SB: Ultraviyole AB + Silibinin, (H&E, bar: 500 $\mu$ m).

**Tablo 1. Deri katmanlarının stereolojik olarak toplam hacimlerinin gruplara göre dağılımı ve istatistiksel veriler**

	Grup	HK	DK	Medyan	Ort.	St. Sap.	Min.	Max.	p
Epidermis Toplam Hacmi (mm <sup>3</sup> )	K	0,05	0,1	0,3312	0,3594 a	0,08698	0,25	0,52	0.005
	UVAB	0,04	0,2	0,696	0,6847 b	0,22987	0,35	1,06	
	EA	0,05	0,2	0,3584	0,3785 a	0,09404	0,27	0,53	
	SB	0,04	0,2	0,4596	0,4276 a	0,08913	0,31	0,52	
	UVAB+EA	0,04	0,2	0,438	0,4536 a	0,07996	0,36	0,59	
	UVAB+SB	0,04	0,1	0,4696	0,4811 a	0,07159	0,38	0,57	
Dermis Toplam Hacmi (mm <sup>3</sup> )	K	0,05	0,1	3,4692	3,6862	0,46494	3,33	4,52	0.135
	UVAB	0,05	0,1	4,459	4,6480	0,73113	3,73	5,72	
	EA	0,05	0,2	4,2336	4,3260	1,29674	2,86	6,59	
	SB	0,05	0,1	4,7432	4,7514	0,75699	3,68	5,64	
	UVAB+EA	0,05	0,2	4,1503	4,3545	0,93998	3,32	6,09	
	UVAB+SB	0,05	0,2	4,165	4,3120	0,73735	3,50	5,65	
Hipodermis Toplam Hacmi (mm <sup>3</sup> )	K	0,05	0,2	1,575	1,6721	0,33440	1,27	2,11	0.267
	UVAB	0,05	0,1	1,76	1,7193	0,19420	1,49	2,06	
	EA	0,05	0,4	1,595	2,0821	1,03378	1,06	3,54	
	SB	0,05	0,2	1,925	1,9908	0,41262	1,54	2,68	
	UVAB+EA	0,06	0,3	1,4525	1,4567	0,57334	0,79	2,41	
	UVAB+SB	0,05	0,2	2,1	2,2957	0,83793	1,19	3,89	

Kontrol (K), UVAB (Ultraviyole A ve B), EA (Ellajik Asit), SB (Silibinin), UVAB+EA (Ultraviyole AB + EA), UVAB+SB (Ultraviyole AB + SB), HK (Hata katsayısı), DK (Değişim katsayısı). a,b; Gruplar arası farkı göstermektedir. Farklı harfi alan gruplar arasındaki fark anlamlıdır ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 2. Deri katmanlarının hacimlerinin stereolojik olarak toplam hacimlerine %**

## oranlarının gruplara göre dağılımı ve istatistiksel veriler

	Grup	Medyan	Ort.	St. Sap.	Min.	Max.	p
Epidermis /Toplam Hacim (%)	K	6,1724	6,2439 a	0,93412	5,21	7,65	0,012
	UVAB	8,8400	9,5914 b	2,61490	5,94	13,97	
	EA	5,6864	5,8576 a	1,51047	3,78	7,91	
	SB	5,7967	5,9541 a	1,03421	4,60	7,58	
	UVAB-EA	7,0272	7,3580 a	1,07838	6,51	9,51	
	UVAB+SB	7,2350	6,9095 a	1,19931	5,18	8,09	
Dermis /Toplam Hacim (%)	K	65,2159	64,6057	3,29782	58,54	68,80	0,191
	UVAB	66,0038	65,7677	2,34895	61,40	68,68	
	EA	66,2530	64,6136	6,76167	55,22	74,09	
	SB	67,7785	66,1312	5,40684	55,23	69,66	
	UVAB-EA	71,9926	69,8577	5,11003	61,10	71,06	
	UVAB+SB	61,1834	61,2888	7,24902	51,90	70,07	
Hipodermis /Toplam Hacim (%)	K	27,7545	29,1504	3,65587	25,99	36,24	0,094
	UVAB	25,4107	24,6409	3,36407	19,73	29,76	
	EA	27,3198	29,5288	7,18590	22,13	40,11	
	SB	25,8726	27,9147	6,09054	24,23	40,13	
	UVAB-EA	20,7662	22,7843	5,66558	17,38	32,38	
	UVAB+SB	42,9189	31,8013	7,41294	22,79	42,92	

Kontrol (K), UVAB (Ultraviyole A ve B), EA (Ellajik Asit), SB (Silibinin), UVAB+EA (Ultraviyole AB + EA), UVAB+SB (Ultraviyole AB + SB). a,b; Gruplar arası farkı göstermektedir. Farklı harfi alan gruplar arasındaki fark anlamlıdır ( $p<0.05$ ).

S10

### Farklı Sperm Hazırlama Yöntemlerinin DNA Hasarı Oluşturma Oranları ve Sigara İçmenin Bu Oran Üzerine Etkileri

Nursel Hasanoğlu Akbulut<sup>1</sup>, Fatma Bahar Sunay<sup>2</sup>, Mesut Saçkes<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa

<sup>2</sup>Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir

<sup>3</sup>Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi, Okul Öncesi Eğitimi Anabilim Dalı, Balıkesir

**Amaç:** Gebelik elde etmek amacıyla laboratuvarında çeşitli işlemler görmüş spermelerin uterus içerisine yerleştirilmesine intra uterin inseminasyon (IUI) adı verilir. IUI, özellikle erkek faktörlü infertilite ve sebebi bilinmeyen infertilitede başvuru olan bir yöntemdir. Semenden spermelerin elde edilmesinde sık uygulanan laboratuvar yöntemleri dansite gradiyent santrifüj (DGS) ve swim-up (SU)'dur. Literatürde bu iki yöntemin karşılaştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Ancak, sigara içenlerde iki yöntemden elde edilen spermelerin karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızın amacı sigara içen erkeklerde DGS veya SU yöntemleri ile elde edilen spermelerde DNA hasarı oranlarını karşılaştırmaktır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya üniversitemiz hastanesinin Androloji Laboratuvarına spermiyogram testi için başvuran 20 sigara içen, 20 sigara içmeyen gönüllü katıldı. Hastaların yaşı, semen hacmi ve cinsel perhiz süresi kaydedildi. Rutin spermiyogram işlemleri tamamlandıktan sonra artan numuneleri ikiye ayırdı; birisinden DGS yöntemi ile diğerinden SU yöntemi ile sperm elde edildi. Hem yıkama işlemi öncesinde hem de DGS ve SU sonrasında elde edilen spermelerin konsantrasyonu, motilitesi, morfolojisi ve DNA hasarı belirlendi. Değişkenler, normallik varsayımını karşılayıp karşılamama durumuna göre, t testi, Wilcoxon testi ve varyans analizi testleri ile analiz edildi.

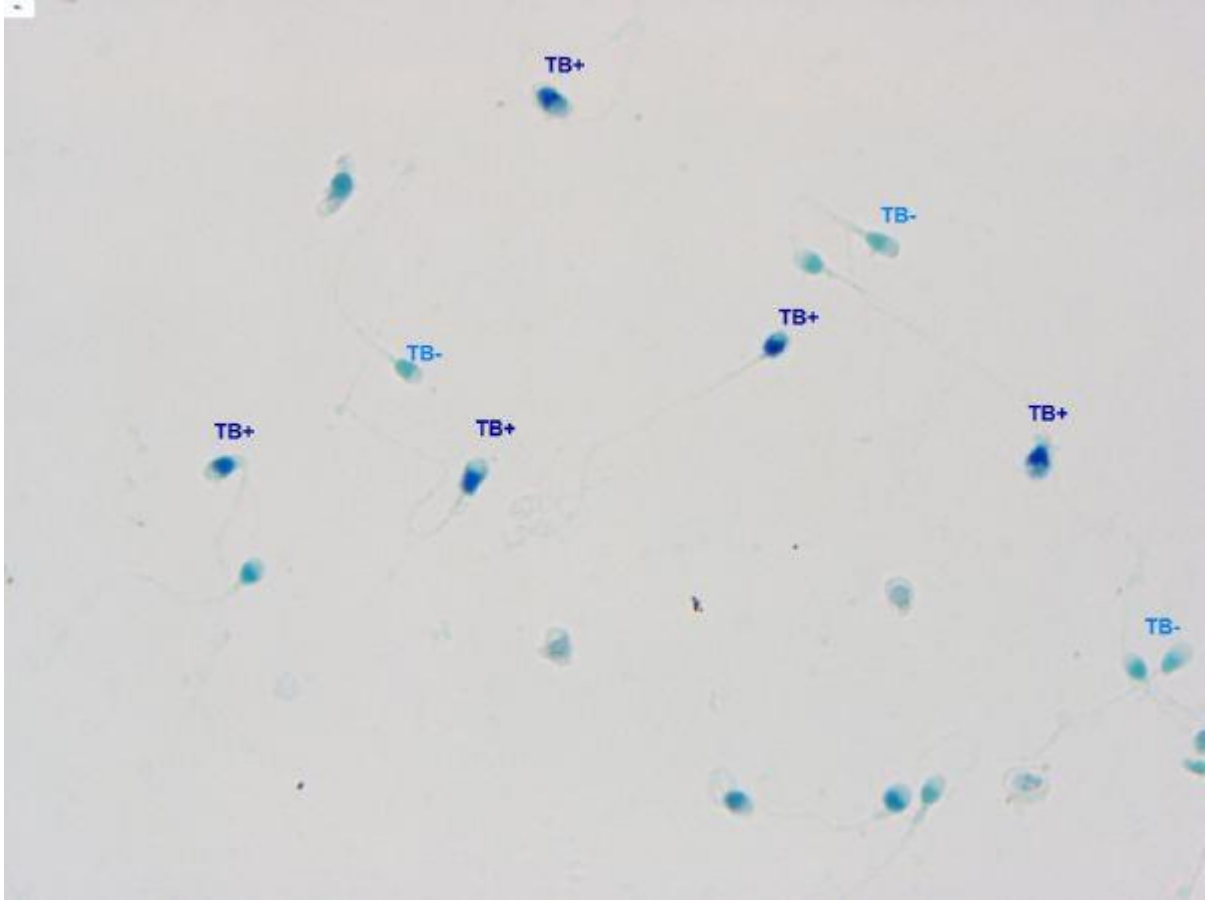
**Bulgular:** Yıkama öncesinde sigara içen ve içmeyen hastaların yaşları, semen hacimleri, cinsel perhiz süreleri, sperm konsantrasyonları ve sperm hareketliliği ile DNA hasarı oranları arasında anlamlı fark yoktu. Sperm morfolojisi değerlendirildiğinde ise, sigara içmeyen grupta normal morfolojiye sahip sperm oranının ( $p=0,016$ ), sigara içen grupta ise baş ( $p=0,017$ ) ve kuyruk ( $p=0,05$ ) anomalilerinin anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü. Bu iki grupta DGS ve SU sonrası elde edilen spermelerin konsantrasyonu, hareketliliği, morfolojisi ve DNA hasarı karşılaştırıldığında ise görülen tek anlamlı farklılık sigara içmeyenlerde SU sonrası elde edilen spermelerin hareketlilik oranının sigara içenlerde SU sonrası elde edilen sperm hareketliliğinden yüksek ( $p=0,019$ ) olmasıydı.

Sadece sigara içen hastalara ait veriler kullanılarak DGS ve SU sonuçları karşılaştırıldığında, SU sonrası sperm konsantrasyonunun ve DNA hasarı oranının anlamlı olarak azalmış olduğu, sperm hareketliliğinin ise artmış olduğu belirlendi (sırasıyla  $p=0,000$ ,  $p=0,003$ ,  $p=0,031$ ). Sadece sigara içmeyen hastalara ait veriler kullanılarak DGS ve SU karşılaştırıldığında ise, sperm konsantrasyonu ve hareketliliği verileri sigara içenlere benzer biçimde anlamlı bulunurken (sırasıyla  $p=0,000$  ve  $p=0,001$ ) DNA hasarı oranında anlamlı fark izlenmedi ( $p=0,086$ ). Yani; sigara içen bireylerde SU yönteminin kullanılması spermelerde DNA hasarı oranını azaltırken sigara içmeyen bireylerde benzer bir etki izlenmemekteydi.

**Sonuç:** Sigara kullanımının sperm morfolojisini olumsuz etkilediği, sigara içenlerde SU yönteminin DNA hasarlı sperm oranını azalttığı ve bu nedenle de sigara içen hasta grubunda tercih edilmesinin uygun olabileceği sonucuna varıldı.

Bu çalışma 'Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' tarafından desteklenmiştir (Proje no:2017/066).

**Anahtar Kelimeler:** DNA hasarı, semen analizi, sigara içme, sperm morfolojisi, toluidin mavisi

**Toluidin Mavisi Boyama Yönemi**

*Hasarlı DNA yapısı gösteren spermeler (TB+) koyu mavi veya mor renkte boyanırken, normal DNA'ya sahip spermeler (TB-) yeşil veya açık mavi renkte boyanmaktadır.*

**Tablo 1**

Değişkenler	Sigara içen grup Ort±SS	Sigara içmeyen grup Ort±SS	P değeri
Yaş (yıl)	31,65 (±6,67)	30,70 (±3,58)	0,578
Hacim (ml)	3,5 (±0,98)	3,74 (±1,65)	0,574
Konsantrasyon (milyon/ml)	90,60 (±63,35)	86,90 (±57,87)	0,848
Progressif hareketli sperm (%)	34,95 (±23,07)	45,15 (±20,27)	0,150
Normal sperm (%)	6,75 (±6,40)	12 (±6,81)	0,016
Baş anomalisi (%)	87,35 (±9,39)	79,70 (±18,85)	0,017
Orta parça anomalisi (%)	25 (±7,73)	25,45 (±8,98)	0,866
Kuyruk anomalisi (%)	27,60 (±11,33)	22,70 (±10,81)	0,05
Sitoplazmik droplet (%)	3,95 (±2,92)	1,75 (±1,48)	0,111
TZI (adet)	1,54 (±0,15)	1,47 (±0,13)	0,188
DNA hasarı (%)	19,03 (±9,19)	18,47 (±7,88)	0,836

*Hasta gruplarının yıkama öncesi değerlerin karşılaştırılması*



**Tablo 2**

Değerler	Sigara içen grup Ort±SS	Sigara içmeyen grup Ort±SS	P değeri
DGS sonrası konsantrasyon (milyon/ml)	71,00 (±88,44)	80,70 (±70,60)	0,714
SU sonrası konsantrasyon (milyon/ml)	15,75 (±19,78)	23,40 (±28,53)	0,344
DGS sonrası progressif hareketli sperm (%)	47,53 (±28,53)	60,65 (±21,96)	0,112
SU sonrası progressif hareketli sperm (%)	59,60 (±33,14)	80,40 (±18,85)	0,019
DGS sonrası normal sperm (%)	14,15 (±10,11)	17,90 (±8,59)	0,214
SU sonrası normal sperm (%)	16,95 (±9,36)	20,50 (±9,45)	0,214
DGS sonrası TZI (adet)	1,29 (±0,15)	1,30 (±0,12)	0,283
SU sonrası TZI (adet)	1,29 (±0,15)	1,25 (±0,10)	0,399
DGS sonrası DNA hasarı (%)	6,40 (±5,46)	5,00 (±5,88)	0,440
SU sonrası DNA hasarı (%)	3,60 (±3,96)	3,15 (±3,60)	0,709

*Hasta gruplarında yıkama sonrası değerlerin karşılaştırılması*

**Tablo 3**

Yöntem	Sigara içen konsantrasyon (milyon/ml)	Sigara içmeyen konsantrasyon (milyon/ml)	Sigara içen hareketlilik (%)	Sigara içmeyen hareketlilik (%)	Sigara içen normal morfoloji (%)	Sigara içmeyen normal morfoloji (%)	Sigara içen TZI (adet)	Sigara içmeyen TZI (adet)	Sigara içen DNA hasarı (%)	Sigara içmeyen DNA hasarı (%)
DGS	71,00 (±88,45)	80,70 (±77,60)	58,75 (±23,55)	66,95 (±20,30)	14,15 (±10,11)	17,90 (±8,60)	1,36 (±0,18)	1,30 (±0,13)	6,40 (±5,46)	5,00 (±5,89)
SU	15,75 (±19,79)	23,40 (±29,70)	69,05 (±29,39)	85,70 (±17,21)	16,95 (±9,37)	20,50 (±9,46)	1,29 (±0,15)	1,26 (0,11)	3,60 (±3,97)	3,15 (±3,60)
P değeri	0,000	0,000	0,031	0,001	0,081	0,06	0,151	0,108	0,003	0,086

*Sigara içenlerde ve içmeyenlerde DGS ve SU değerlerinin karşılaştırılması*

## S11

**Glioblastoma multiforme hücrelerinde glikojen sentaz kinaz-3 inhibisyonunun apoptoz, hücre döngüsü ve biyomoleküler yapı üzerindeki etkisi**

Eda Açıkgöz<sup>1</sup>, Günnur Güler<sup>2</sup>, Mahmut Çamlar<sup>3</sup>, Gülperi Öktem<sup>4</sup>, Hüseyin Aktuğ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, 35100, İzmir, Türkiye; Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, 65000, Van, Türkiye

<sup>2</sup>İlaç Araştırma Geliştirme ve Farmakokinetik Uygulamalar Merkezi (ARGEFAR), Ege Üniversitesi, 35100, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroşirürji Kliniği, İzmir, 35100, Türkiye

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, 35100, İzmir, Türkiye

**Amaç:** Glioblastoma multiforme (GBM), insanlarda en sık görülen ve en agresif olan kötü huylu primer insan beyin tümörüdür. Apoptozun düzenleyici yolları GBM'lerde modifikasyona uğrayarak tümör hücrelerinin hayatta kalma yönünde avantajına yol açmaktadır. Bu nedenle, GBM'deki hücre ölüm mekanizmalarının tetiklenmesinde etkili olan hedef moleküllerin tanımlanması, terapötik amaçlar için oldukça önemlidir. Glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3), proliferasyon, apoptoz ve hücre döngüsünde önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada, GBM hücrelerinde GSK-3 inhibitör IX'un etkisi üzerine odaklanılmıştır. GSK-3 inhibitörlerinin etkisine ilişkin mevcut çalışmalara rağmen, ilacın etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Moleküler seviyede ilacın etki mekanizmasının ortaya koyulması yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Çalışmada, apoptoz, hücre döngüsü ve biyomoleküler değişiklikler de dahil olmak üzere GSK-3 inhibitörünün etki mekanizmasını çeşitli şekillerde değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

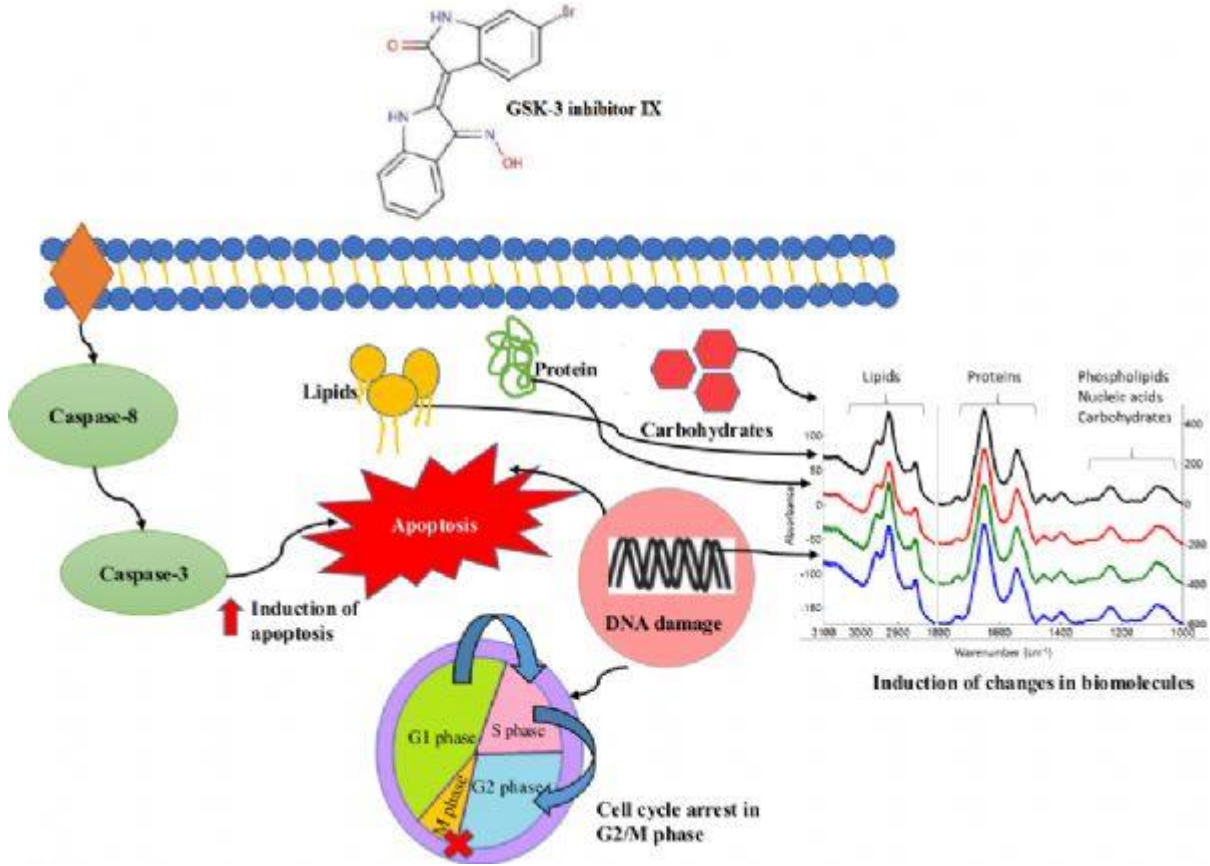
**Gereç ve Yöntemler:** Apoptoz indüksiyonu Annexin-V assay, multikaspaaz aktivitesi ve immunofloresan boyamalar yapılarak incelenmiştir. GSK-3 inhibitör IX'in hücre döngüsü üzerindeki konsantrasyona bağlı etkileri de değerlendirilmiştir. Dahası, GSK inhibitörünün hücre içindeki biyomoleküller üzerindeki etkisi, son zamanlarda çeşitli alanlarda oldukça etkin bir şekilde kullanılan ATR-FTIR spektroskopisi kullanılarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Deney sonuçlarımız, GSK-3 inhibitör IX'un apoptozu indüklediğini göstermiştir. İmmunofloresan boyama sonuçları ilacın kaspaz-3 ve kaspaz-8'in ekspresyonunda belirgin bir artışa neden olduğunu göstermiştir. Hücre döngüsü analizleri, GSK3 inhibitör IX'un doza bağımlı G2 / M arestine yol açtığını ortaya koymuştur. ATR-FTIR verileri, ilaç uygulamasının glikojen seviyelerinde azalmaya, nükleik asit yapısında değişime, lipid miktarında artışa ve hücre proteinlerinin konformasyonel değişimleri ile karakterize edilen apoptotik hücre ölümüne neden olduğunu göstermektedir.

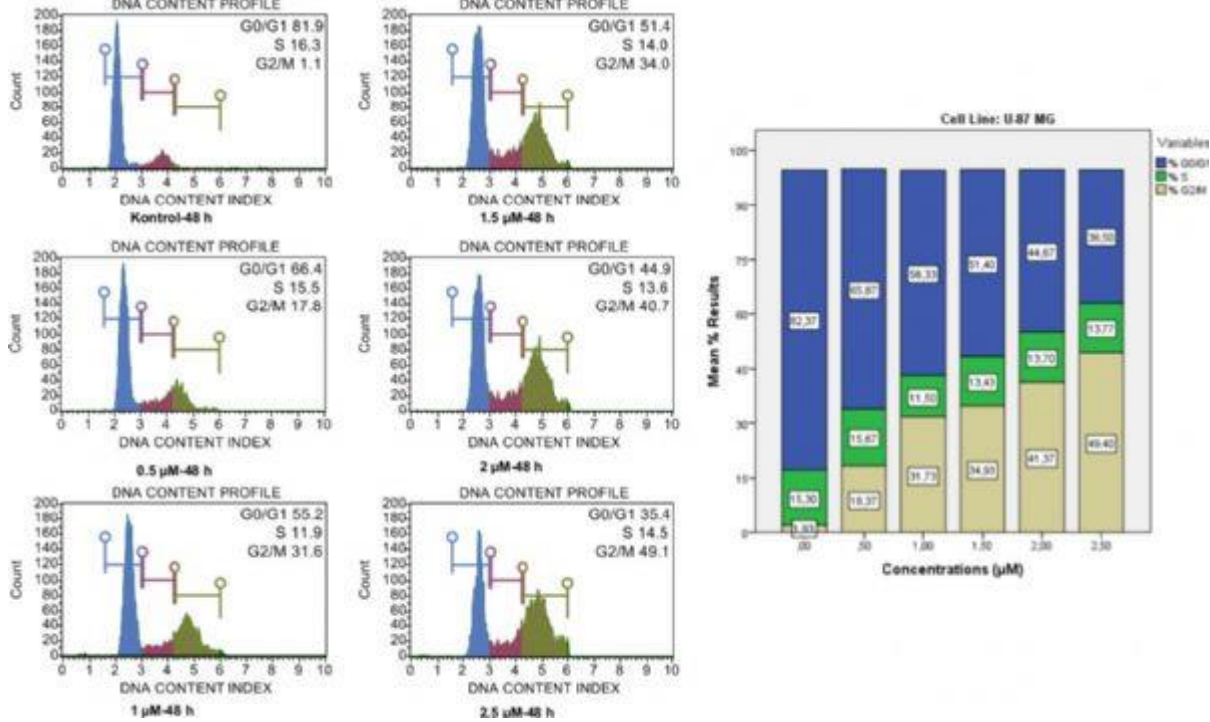
**Sonuç:** Elde edilen bulgular, GSK-3 inhibitör IX'un membran lipidleri, karbonhidratlar, nükleik asitler ve proteinlerin biyomoleküler yapısını değiştirdiğini ve apoptozu indükleyerek anti-kanser etkiler sergilediğini göstermektedir. Bu veriler, in vivo ve faz çalışmaları tamamlandıktan sonra GSK-3 inhibitör IX'un GBM tedavisi için etkili bir terapötik molekül olabileceğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptoz, ATR-FTIR spektroskopisi, Glikojen sentaz kinaz-3, Glioblastoma multiforme, Hücre döngüsü

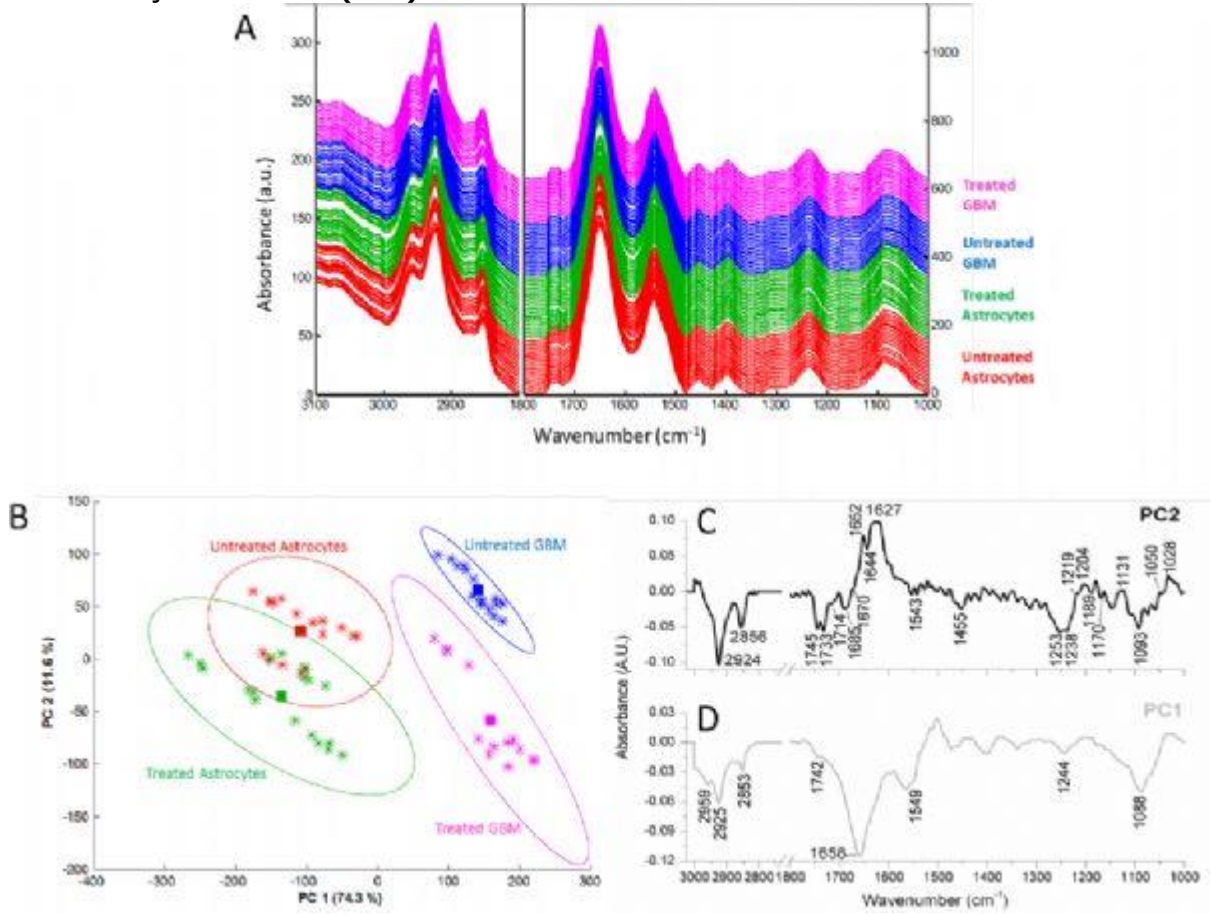
**GSK-3 inhibitör IX'un glioblastoma hücreleri üzerindeki etki mekanizmalarının şematik modeli**



**Hücre Döngüsü**



**Temel bileşenler Analizi (PCA)**



S12

### **Sperm Konsantrasyonunun Belirlenmesinde Makler Kamarası ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi İle Yapılan Sayımların Tutarlılık Düzeyleri**

Derya Tanrıöver<sup>1</sup>, Fatma Bahar Sunay<sup>1</sup>, Mesut Saçkes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir

<sup>2</sup>Balıkesir Üniversitesi Necatibey Eğitim Fakültesi, Okul Öncesi Eğitimi Anabilim Dalı, Balıkesir

**Amaç:** Erkek fertilité potansiyelinin değerlendirilmesinde en sık kullanılan tanı yöntemi semen analizidir. Semen analizinin ana parametrelerinden birisi olan sperm konsantrasyonunun belirlenmesinde farklı sayım kamaraları kullanılabilir. Bunlardan Makler sayım kamarası hızlı sonuç vermesi ve pratik olması nedeniyle sık tercih edilirken, Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün 2010 senesinde yayınladığı Laboratuvar El Kitabı'nda önerdiği konsantrasyon belirleme yönteminin geliştirilmiş Neubauer hemositometre olduğu görülmektedir.

Bu çalışmanın amacı yukarıda sözü edilen iki yöntemden elde edilen sperm konsantrasyonları arasındaki uyumu ve kullanılan sayım yönteminin hastanın alacağı klinik tanıya (normal, sınırda, düşük) etkisini belirlemektir. Literatür incelendiğinde daha önce bu iki yöntemin karşılaştırıldığı çalışmalara rastlanmaktadır, ancak bu çalışmaların çok azında istatistiksel değerlendirme, Bland-Altman yöntemi ile yapılmıştır ve büyük kısmında sayım yönteminin hastanın klinik tanısına etkisi incelenmemiştir.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya, Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Androloji Laboratuvarı'na semen analizi için başvuran 100 gönüllü katıldı. Hastaların semen analizleri tamamlandıktan sonra, artan örnekleri kullanılarak ve tek bir araştırmacı tarafından, Makler sayım kamarası ile ve geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile sperm konsantrasyonları belirlendi. Hastalara ve semen örneklerine ait hastanın yaşı, cinsel perhiz süresi, semen hacmi, sperm hareketliliği, canlılığı ve morfolojisi gibi veriler ise hasta dosyasından elde edildi.

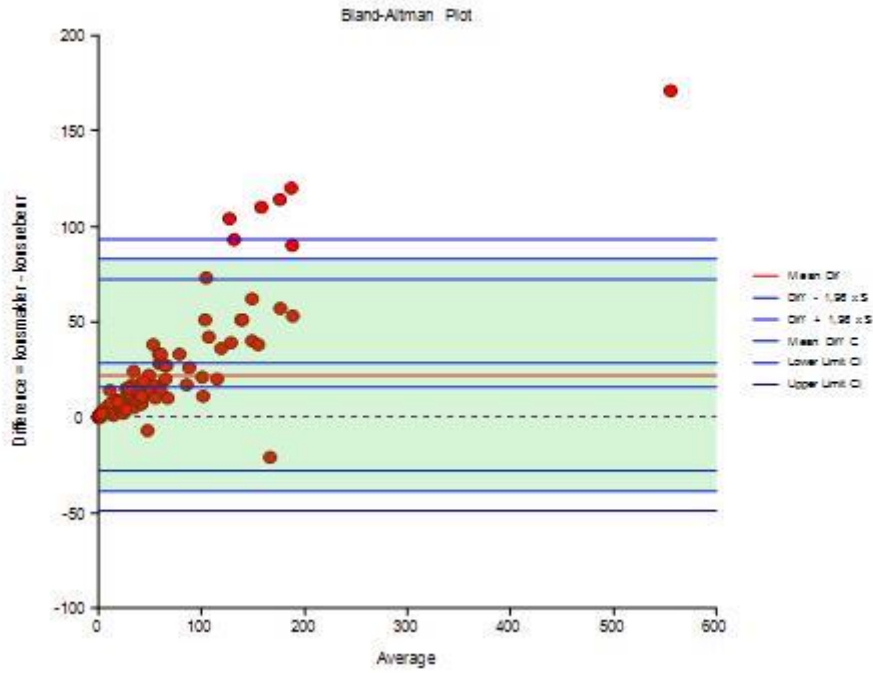
**Bulgular:** Çalışmaya katılan hastaların yaş, cinsel perhiz süresi ve semen hacmi ortalamaları sırasıyla 30,95 ( $\pm 5,5$ ), 3,98 ( $\pm 1$ ) gün ve 3,58 ( $\pm 1,62$ ) ml olarak bulundu. Spermilerin ortalama %53,5 ( $\pm 19,76$ )'i motildi, %9,32 ( $\pm 6,55$ )'si normal morfolojiye sahipti ve ortalama TZI değeri 1,51 ( $\pm 0,15$ ) idi.

Ortalama sperm konsantrasyonu Makler sayım kamarası sonuçlarına göre 69,61 ( $\pm 86,62$ ) milyon/ml, geliştirilmiş Neubauer hemositometre sonuçlarına göre 47,58 ( $\pm 60,75$ ) milyon/ml olarak bulundu. İki farklı yöntemden elde edilen konsantrasyonlar karşılaştırıldığında aralarında güçlü pozitif korelasyon olduğu ( $r=0,97$ ) görüldü. Ancak, sonuçlar arasındaki tutarlılık Bland-Altman yöntemi ile analiz edildiğinde, Makler sayım kamarasının Neubauer hemositometreye oranla, sperm konsantrasyonunu yaklaşık 22,03 milyon/ml (%32) daha yüksek okuduğu belirlendi. Hastalar; sperm konsantrasyonu normal, sınırda ve düşük olanlar, semeni visköz olanlar ve olmayanlar, agglütinasyon görülenler ve görülmeyenler gibi alt gruplara ayrıldıktan sonra yapılan Bland-Altman analizlerinde de Makler sayım kamarasının sperm konsantrasyonunu fazla okuma eğiliminin devam ettiği izlendi. Hatta bu uyumsuzluk sperm konsantrasyonu 10 milyon/ml'nin altında olan hastalarda %46'ya yükseldi. Yine, kullanılan sayım yönteminin, hastaların %11'inde, sperm konsantrasyonuna göre alacakları tanıyı değiştirdiği tespit edildi.

**Sonuç:** Sperm konsantrasyonu Makler sayım kamarası ile belirlendiğinde, geliştirilmiş Neubauer hemositometreye oranla, daha yüksek değerler elde edildiği, bu farkın konsantrasyonun düşük olduğu vakalarda daha da belirgin olduğu ve hastanın tanısını değiştirdiği, dolayısıyla da hastanın tedavisinde de değişikliğe neden olabileceği sonucuna varıldı.

Bu araştırma; BAÜ-BAP Birimi tarafından 2017/064 nolu proje ile desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Geliştirilmiş Neubauer hemositometre, infertilite, Makler kamara, semen analizi, sperm konsantrasyonu

**Şekil 1**

Makler kamara ve Geliştirilmiş Neubauer hemositometre yöntemlerine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği

**Tablo 2**

Metot	N	Ortalama	S. Sapma	Uyum Sınırları ( $\bar{d} \pm 1,96 * ss$ )
Makler Kamara	100	69,61	86,62	52,42-86,80
Geliştirilmiş Neubauer Hemositometre	100	47,58	60,75	35,52-59,63
Ortama Fark	100	22,03	30,99	15,89-28,18

İki ölçüme ait  $\bar{d}$  ve uyum sınırları.

**Tablo-1**

Parametreler	N	Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Yaş (yıl)	100	30,95	5,50	20	48
Cinsel Perhiz Süresi (gün)	100	3,98	1,00	3	7
Hacim (ml)	100	3,58	1,62	0,3	9,6
Makler kamara ile yapılan sayıma göre sperm konsantrasyonu (milyon/ml)	100	69,61	86,62	0	641
Geliştirilmiş Neubauer hemositometre ile yapılan sayıma göre sperm konsantrasyonu (milyon/ml)	100	47,58	60,75	0,06	470
A tipi motilite (%)	100	13,36	9,53	0	53
B tipi motilite (%)	100	31,73	15,11	0	61
C tipi motilite (%)	100	8,41	4,23	0	28
D tipi motilite (%)	100	46,50	19,76	18	100
Normal morfolojili sperm (%)	96	9,32	6,55	0	27
TZI (%)	96	1,51	0,15	1,21	1,94

Araştırma Popülasyonu İçin Yaş ve Semen Parametrelerinin Dağılımı

S13

***Doksorubisin İle İndüklenen Sıçan Testis Hasarı Modelinde Fluvastatinin Olası Koruyucu Ve Tedavi Edici Etkilerinin Histokimyasal Ve İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi***

Çevik Gürel<sup>1</sup>, Gökçe Ceren Kuşçu<sup>1</sup>, Aylin Buhur<sup>1</sup>, Fatih Oltulu<sup>1</sup>, Nefise Ülkü Karabay Yavaşoğlu<sup>2</sup>, Gürkan Yiğittürk<sup>3</sup>, Altuğ Yavaşoğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

<sup>3</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Muğla

**Amaç**

Klinikte ilk kez 1967 yılında kullanılmaya başlanan doksorubisin, günümüzde hala solid tümörlerin ve hematolojik malignitelerin tedavisinde sıklıkla kullanılan antrasiklin bir antibiyotiktir. Anti-neoplastik özelliğinin yanı sıra mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere de sahip olan doksorubisinin kullanımı, kalp, böbrek, karaciğer, beyin ve testis gibi organlarda ortaya çıkan akut ve kronik yan etkiler nedeniyle kısıtlanmaktadır.

Bu çalışmada amaç, doksorubisin uygulaması ile indüklenen testiküler hasar modelinde fluvastatinin, olası koruyucu ve tedavi edici etkilerinin histokimyasal, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve Real-Time PCR analizleri ile değerlendirilerek ortaya konulmasıydı.

**Gereç ve Yöntemler**

Bu çalışma için ağırlığı 200 ila 250 gr. arasında değişen 35 erkek Sprague Dawley türü sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde rastgele; Kontrol, Fluvastatin, Doksorubisin, Profilaksi ve Tedavi gruplarına ayrılmıştır. Bu gruplardan Kontrol grubuna deneyin 1., 4. ve 7. günlerinde serum fizyolojik uygulaması yapılmış başka herhangi bir uygulama ve ya girişim yapılmamıştır. Fluvastatin grubundaki hayvanlara 7 gün boyunca, 6 mg/kg olacak şekilde gavaj yoluyla fluvastatin uygulaması yapılmış başka herhangi bir uygulama ve ya girişim yapılmamıştır. Doksorubisin grubundaki hayvanlara ise deneyin 1., 4. ve 7. günlerinde, 7,5 mg/kg intraperitoneal doksorubisin uygulaması yapılmış başka herhangi bir uygulama ve ya girişim yapılmamıştır. Profilaksi grubundaki hayvanlara deneyin 1., 4. ve 7. günlerinde, 7,5 mg/kg intraperitoneal doksorubisin uygulaması bunun yanı sıra, deneyin 1. gününden başlayarak 7 gün boyunca, 6 mg/kg olacak şekilde gavaj yoluyla fluvastatin uygulaması yapılmıştır. Tedavi grubundaki hayvanlara ise deneyin 1., 4. ve 7. günlerinde, 7,5 mg/kg intraperitoneal doksorubisin uygulaması yapılan hayvanlara 8. günden itibaren 7 gün boyunca 6 mg/kg olacak şekilde gavaj yoluyla fluvastatin uygulaması yapılmıştır. Gerekli uygulamaların sonunda sakrifiye edilen hayvanlardan alınan örnekler histokimyasal, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve Real-Time PCR analizleri ile değerlendirilmiştir.

**Bulgular**

Yapılan analizlerden elde edilen bulgular, doksorubisinin kan testis bariyerinin düzenlenmesinde önemli roller üstlenen mTOR, Cx43 ve MMP-9 protein ve mRNA ekspresyonlarında bozulmalara neden olduğunu bununla birlikte fluvastatinin, doksorubisin uygulanan hayvanlarda, mTOR, Cx43 ve MMP-9 protein ve mRNA ekspresyonlarını olumlu yönde etkilediğini ortaya koymuştur. Öte yandan fluvastatinin, doksorubisin uygulanan gruplarda kan serum süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini arttırmak, malondialdehit (MDA) seviyesini ise azalmak suretiyle antioksidan bir etki oluşturabileceği ortaya konmuştur.

**Sonuç**

Histokimyasal, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve real-time PCR analizlerinden elde edilen sonuçlar fluvastatinin, doksorubisin ile indüklenen testis hasarında hem koruyucu hem de tedavi edici etkisinin olabileceğini ortaya koymuştur. Öte yandan bu ilacın profilaktik olarak kullanılmasının, tedavi amaçlı kullanılmasına oranla daha olumlu sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Doksorubisin, Fluvastatin, İmmünohistokimya, RT-PCR, Testis

S14

### **İn vitro Embriyo Kültürü ve Embriyo Transferinin Farelerde Fötal ve Yetişkin Akciğer Dokusunda Silli, Clara, Nöroendokrin, TipI ve TipII Pönomosit Hücre Profilleri Üzerine Etkisi**

Göksel Doğan, Murat Öztürk, Tuğçe Didar Balgir, Levent Karagöç  
Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Aydın

**Amaç:** Sunulan çalışma, farelerde atmosferik oksijen konsantrasyonunda gerçekleştirilen in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi ile elde edilen fetüslerde ve yetişkin farelerde akciğer dokusunda silli, Clara, nöroendokrin, TipI ve TipII pönomosit hücre profilleri üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığını test etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

**Materyal-Yöntem:** Sunulan çalışmada Kontrol ve Deneme grubu olmak üzere iki grup yer almıştır. Deneme grupları in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi aracılığı ile elde edilen fetüsler ve yetişkin farelerden oluşturulmuştur. Fötal akciğer dokuları, gebeliğin 18. gününde (18.5 d.p.c.) ve yetişkin akciğer dokuları ise 8. haftada izole edilmiştir. Akciğer dokusunda silli, Clara, nöroendokrin, TipI ve TipII pönomosit hücrelerini immunofloresan/ immünohistokimya boyama yöntemleri ile belirlemek amacıyla sırasıyla acetylated  $\alpha$  Tubulin, Claudin10, UCH-L1, AQP5 ve SP-C belirteçleri kullanılmıştır. İlgili belirteçlerin transkripsiyonel ve translasyonel düzeylerde ekspresyonunu belirlemek amacıyla kantitatif real-time PCR ve western blot tekniklerinden yararlanılmıştır.

**Sonuçlar:** Elde edilen veriler, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Deneme grubuna ait fötal akciğer doku örneklerinde UCH-L1 (nöroendokrin hücre,  $p=0,000$ ) belirteçine ait ekspresyon düzeyinin arttığı, Foxj1 (silli hücre,  $p=0,000$ ), Claudin10 (Clara hücresi,  $p=0,000$ ), AQP5 (TipI pönomosit,  $p=0,000$ ) ve SP-C (TipII pönomosit,  $p=0,000$ ) belirteçlerine ait ekspresyon düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Deneme grubuna ait yetişkin akciğer doku örneklerinde ise, SP-C (TipII pönomosit,  $p=0,000$ ) belirteçine ait ekspresyon düzeyinin arttığı ve Claudin10 (Clara hücresi,  $p=0,003$ ) belirteçine ait ekspresyon düzeyinin azaldığı saptanmıştır.

**Tartışma:** Sunulan çalışmada, Kontrol ve Deneme grupları arasında fötal dönemde akciğer dokusunda hücre profillerine ilişkin olarak saptanan farklılıkların Notch sinyal yolağı aktivitesinden ve/veya hücre proliferasyonu/apoptozis süreçlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yetişkin dönemde, distal akciğer dokusunda Clara hücrelerinin silli hücrelere; tipII hücrelerin ise tipI hücrelere dönüşebilme potansiyelleri bulunmaktadır. Benzer şekilde, akciğer doku hasarının onarılması sürecinde Clara hücrelerinin tip II ve tip I alveolar hücrelere farklılaşabildikleri bilinmektedir. İn vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi ile elde edilen yetişkin bireylerde akciğer doku onarım mekanizmalarının aktive edilip edilmediğinin, Clara ve Tip II pönomosit hücrelerin bu süreçte benzer bir işleve sahip olup olmadıklarının incelenmesi gerekmektedir. *"Sunulan çalışma ADÜ-BAP, VTF-15057 numaralı proje tarafından desteklenmiştir."*

**Anahtar Kelimeler:** fötal ve yetişkin akciğer, invitro embriyo kültürü ve embriyo transferi, silli-Clara-nöroendokrin- Tip I pönomosit-Tip II pönomosit hücreleri, ÜYTE



S15

**Deneyel spinal kord yaralanmasında miR-20a ve miR-125b ekspresyonlarının apopitoz ve enflamasyon üzerine etkileri**Dilek Şaker<sup>1</sup>, Leman Sencar<sup>1</sup>, Derviş Mansuri Yılmaz<sup>2</sup>, Sait Polat<sup>1</sup><sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AnaBilim Dalı, Adana<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi AnaBilim Dalı, Adana

**Amaç:** Spinal kord hasarı (SKH) motor ve duysal fonksiyonların tam veya kısmen kaybına neden olan ciddi bir merkezi sinir sistemi hastalığıdır. Bugüne kadar geliştirilen çeşitli tedavi stratejilerine rağmen, SKH sonrası fonksiyonel iyileşme için etkili bir tedavi henüz tam olarak bulunamamıştır. Yapılan çalışmalarda, SKH patogenezinde, post-transkripsiyonel gen regülasyonunda önemli roller üstlenen kısa, kodlanmayan RNA'lar olan mikroRNA (miRNA)'ların ifadelerinde meydana gelen değişimlerin, sekonder doku hasarında etken olabileceği ve miRNA'ların SKH patogenezinde çeşitli koruyucu veya zararlı etkilerinin olabileceği ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, günümüzde hala SKH patogenezinin altında yatan mekanizmalar tam olarak açık değildir. Bu nedenle çalışmamızda, deneyel olarak yetişkin erkek sıçanlarda oluşturulan SKH'nda miR-20a ve miR-125b ekspresyonları ile apopitoz ve enflamasyon arasındaki ilişkilerin mikroskobik, immünohistokimyasal ve moleküler biyolojik yöntemlerle araştırılması amaçlandı.

**Yöntem-Gereçler:** Bu amaçla 42 adet Wistar cinsi erkek sıçan, herhangi bir cerrahi işlem yapılmayan kontrol grubu, spinal kord T2-T7 segmentleri arasında yalnızca laminektomi oluşturulan sham grubu ve T2-T7 arasında klip kompresyon yöntemi ile SKH oluşturulan deney grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. SKH'nı takiben deney grubunda yer alan hayvanlar da kendi aralarında; SKH oluşturulduktan sonra yalnızca serum fizyolojik verilen deney kontrol grubu; SKH'nı takiben metilprednizolon(MP) tedavisi uygulanan grup olarak 2 alt gruba ayrıldı. Tüm sham ve deney gruplarından spinal kord doku örnekleri yaralanmayı takiben 1, 3, 7 ve 14.günlerde elde edilerek, ışık ve elektron mikroskobik, immunohistokimyasal ve moleküler biyolojik yöntemlerle değerlendirildi.

**Bulgular:** TNF- $\alpha$  ve IL-6 ekspresyonunun, deney kontrol grubunda 1. ve 3.günlerde yükseldiği, 7. ve 14.günlerde azaldığı, MP tedavisi alan grupta ise özellikle 7. ve 14.günlerde her iki sitokinin anlamlı olarak azaldığı belirlendi. Kaspaz-3 ekspresyonunun, deney kontrol grubu 1.günde yükseldiği, 3,7 ve 14.günlerde anlamlı olarak azaldığı izlendi. Tedavi gruplarında kaspaz-3 ekspresyonunun azalmış olduğu dikkati çekti. Işık ve elektron mikroskobik incelemelerde, SKH oluşturulan gruplarda, nöronlarda, gliya hücrelerinde ve miyelinli sinir liflerinde yapısal dejenerasyonların meydana geldiği ve bu değişikliklerin, 1. ve 3.günlerde daha belirgin olduğu, 7. ve 14.günlerde azaldığı gözlemlendi. Tedavi gruplarında hücresel yapının, deney kontrol gruplarına oranla daha iyi korunduğu belirlendi. SKH'ndan sonra deney kontrol grubu 1. ve 3.günlerde ve tedavi grubu 1.günde miR-20a ekspresyonunun upregüle olduğu görüldü. miR-125b ekspresyonunun ise deney kontrol grubu 3. ve 7.günlerde downregüle olduğu görüldü.

**Sonuçlar:** Bütün bulgular birlikte değerlendirildiğinde, deneyel SKH'ndan sonra miR-20a upregülasyonunun proenflamatuvar molekülleri indükleyerek enflamasyonu artırabileceği düşünüldü. Diğer taraftan, miR-125b'nin kaspaz-3 ile ilişkili olabileceği ve hasardan sonra miR-125b downregülasyonunun apopitozu inhibe edebileceği şeklinde yorumlandı. Bu nedenle, miR-20a ve miR-125b'nin SKH'nda biyomarkır ve tedavi ajanı olarak dikkate alınabileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** apopitoz, enflamasyon, miR-20a, miR-125b, spinal kord yaralanması

**S16**

**Dondurulmuş Spermanın depolanmasında -152 °C'lik derin dondurucular bir alternatif olabilir mi?**

Mehmet Borga Tirpan

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Bu çalışma, dondurulmuş sperma depolanmasında -152 °C'de ultra-düşük sıcaklık dondurucuları kullanılmasının uygulanabilir bir alternatif olabileceği düşünülerek tasarlanmıştır. -152 °C sıcaklıkta depolanan dondurulmuş boğa sperması, geleneksel sıvı nitrojen içinde depolama yöntemi ile karşılaştırılmıştır.

**GEREÇ-Yöntemler:** Çalışmada, her grupta 40 adet olmak üzere toplam 80 adet ticari boğa sperması kullanılmıştır. Kullanılan spermaların her gruptaki örnekleri için üretim tarihleri aynıdır. Çalışmanın deney grubu 1 hafta süreyle -152 °C'de depolanan spermalarından, Kontrol grubu geleneksel yöntemle -196 °C'de depolanan spermalarından oluşmaktadır. Deney süresi sonunda her iki grupta bulunan spermalar çözülürken CASA yardımıyla temel spermatolojik parametreler açısından muayene edilmiş ve dondurulmuş boğa sperması depolama yönteminin çözüm sonu spermatolojik değerler üzerine etkisi açısından karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** Yapılan çalışma sonucunda -196 °C'de saklanan dondurulmuş boğa spermalarının motilite ve progresif motilite değerleri (%69.66, %37.61) -152 °C'de saklanan spermalara göre (%54.54, 28.72) istatistiksel olarak farklı ve daha yüksek bulundu ( $p<0.001$ ). Çözüm sonu hiperaktif harekete sahip spermatozoa yüzdesi -196 °C ve -152 °C'de saklanan gruplar arasında sırasıyla %30.79 ve %25.61 olarak belirlendi ( $p<0.05$ ). Spermaların çözüm sonu kinetik özellikleri arasında istatistiksel açıdan bir fark olmamakla birlikte sayısal değerler birbirine yakın bulundu ( $p>0.05$ ). Çözüm sonu normal spermatozoa oranı -196 °C'de saklanan spermalarda %67.75 olarak belirlenirken, -152 °C'de saklanan spermalarda %55.42 olarak tespit edildi ( $p<0.001$ ). Spermatozoonlarda gözlemlenen, akrozoma ait anomaliler arasında saklama sıcaklıkları arasında istatistiksel bir fark bulunmazken ( $p>0.05$ ); sitoplazmik damlacık, baş, orta kısım ve kuyruğa bağlı anomaliler -196 °C'de saklanan spermalarda daha düşük ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.001$ ).

**Sonuç:** -152 °C'de muhafaza edilen dondurulmuş boğa spermalarına ait çözüm sonu spermatolojik parametrelerinin, geleneksel yöntemle (-196 °C) depolanan spermalara göre daha düşük değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Öte yandan deney grubunda elde edilen veriler rutin uygulamalarda kullanılabilir değerler arasında olduğu saptanmıştır. Ayrıca benzer çalışmaların tekrarlanarak fertilitate verileriyle desteklenmesi elde edilen sonuçların doğruluğunu arttıracaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Boğa, Dondurulmuş sperma, Spermatolojik parametreler, Ultra derin dondurucu

**S17****Foliküler Mikroçevrede KISS1 ve KISS1R ekspresyonu: Oosit matürasyonu ve fertilizasyon için gerekli mi ?**

Göktañ Kuşpınar<sup>1</sup>, Işıl Kasapoğlu<sup>2</sup>, Seda Sarıbal<sup>2</sup>, Gürkan Uncu<sup>2</sup>, Berrin Avcı<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa

<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi, Bursa

**Amac:**

Yardımla Üreme Teknikleri (YÜT) uygulanan sikluslarda kontrollü ovaryan hiperstimülasyon sonrası yaklaşık % 8.6-15.2 oranında en az bir adet immatür oosit eldesi gözlemlenir. Mayotik gelişim kilit düzenleyici proteinlerin kontrolü altındadır ve Kisspeptin'in (KISS1) de bu proteinler arasında olduğu düşünölmektedir. Kisspeptin'in merkezi sinir sistemi düzeyinde ovaryan fonksiyonların düzenlemesindeki rolleri tanımlanmış olsa da, lokal rolü tam olarak bilinmemektedir. Invitro matürasyon uygulanan domuz oosit ve kumulus hücrelerinde *KISS1* ve reseptörünün (*KISS1R*) ekspresyonunun varlığı, oosit ve kumulus hücreleri (CCs) arasındaki otokrin-parakrin etkileşimlerle matürasyon sürecinde etkin olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Bu çalışmada farklı nükleer matürasyon aşamalarındaki insan oositlerinde ve kumulus hücrelerinde *KISS1* ve *KISS1R* gen ekspresyon düzeyinin ve folliküler sıvıda seviyesinin değerlendirilmesi hedeflendi.

**Gereç ve Yöntemler:**

Çalışma kapsamında, Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi'nde gerçekleştirilen ve çalışma kriterlerine uyan 32 hastadan elde edilen örnekler çalışmaya dahil edildi. Örnekler oosit matürasyon aşaması esas alınarak gruplara ayrıldı.

Grup 1(n=10); immatür oosit (GV ve MI), CCs, FF ve hasta serumu

Grup 2(n=16); fertilize olmamış MII oosit, CCs, FF ve hasta serumu

Grup 3(n=26); fertilize MII oosite ait CCs, FF ve hasta serumu (kontrol)

Serum ve folliküler sıvı *KISS1* ve *KISS1R* seviyesi ELİSA yöntemiyle, oosit ve kumulus hücrelerinde *KISS1* ve *KISS1R* gen ekspresyon düzeyi RT-PCR ile değerlendirildi. Elde edilen sonuçların hasta klinik verileriyle korelasyonları değerlendirildi.

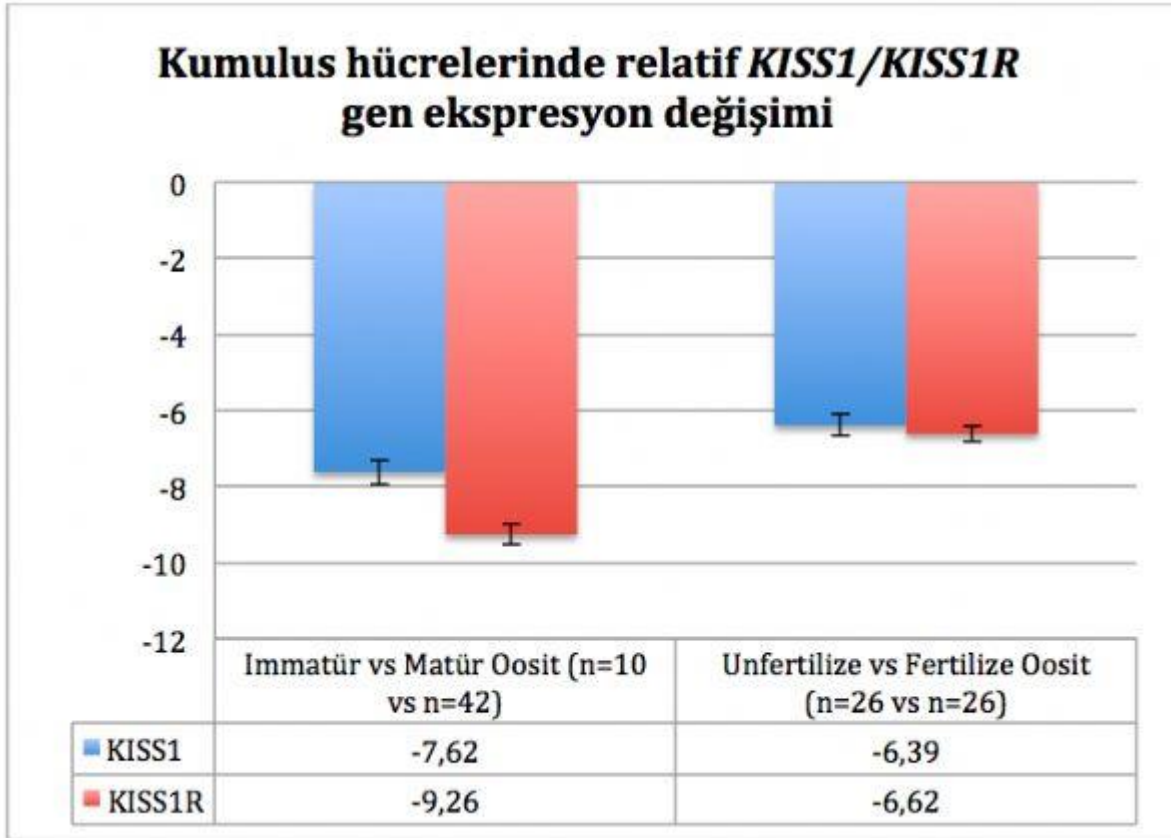
**Bulgular:**

Hasta karakteristik özellikleri bakımından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 1). Toplam oosit ve toplam matür oosit sayısı Grup 3'te en yüksek saptandı (p=0.01; p=0.009). Serum ve FF *KISS1* ve *KISS1R* seviyeleri gruplar arasında benzer göröldü (Tablo 2). Total serum ve FF *KISS1* ile *KISS1R* seviyeleri arasında pozitif korelasyon saptandı (r= 0,47; p=0.007 Serum ve r= 0,6; p<0,001 FF). Sadece Grup 3'te FF, *KISS1* ve *KISS1R* seviyesi ile ortalama follikül çapı pozitif korelasyon gösterdi (r= 0,56; p=0.003 and r= 0,44; p=0.03). Kumulus hücrelerinde *KISS1* ve *KISS1R* gen ekspresyon seviyeleri, elde edildikleri oositin fertilizasyon durumu (unfertilize/fertilize) dikkate alındığında, unfertilize oositlerin kumulus hücrelerinde sırasıyla 6,39 ve 6,62 kat azalma eğilimi gösterirken (p=0.07; p=0.08), oositin matürasyon basamağı (immatür/matür) dikkate alındığında benzer sonuçlar elde edildi (p=0.49; p=0.45) (Grafik 1). Oosit *KISS1* ve *KISS1R* gen ekspresyon seviyelerinin matürasyon basamağından (immatür/matür) bağımsız olduğu göröldü (p= 0.18; p=0.18) (Grafik 2).

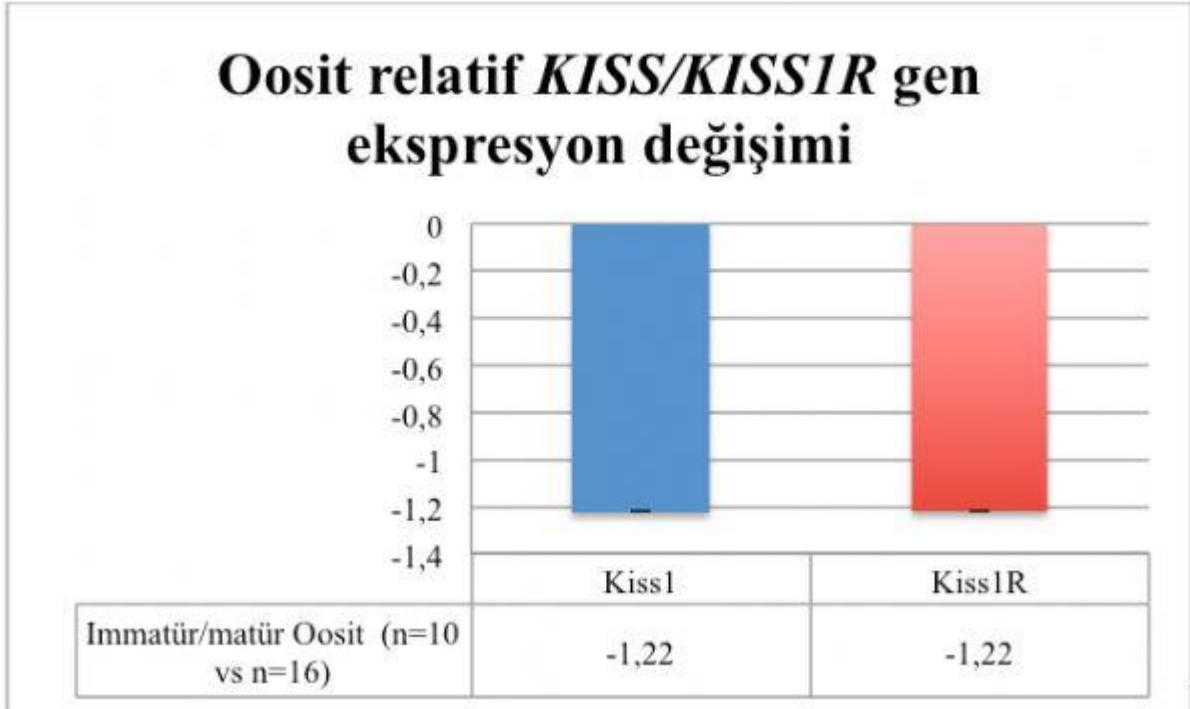
**Sonuç:**

Bu çalışmada; folikül çapı ile foliküler sıvı *KISS1* ve *KISS1R* arasında sadece matür ve fertilize oositlerin arasında korelasyonun varlığı ve *KISS1-KISS1R* gen ekspresyon seviyelerinin unfertilize oositlerden elde edilen kumulus hücrelerinde azalma eğilimi göstermesi, matürasyon ve fertilizasyon defektlerinin önlenmesinde yeni yaklaşımlara bazı ipuçları verebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Final Oosit Matürasyonu, Kisspeptin, Kisspeptin Reseptörü

**Grafik 1.**

Relatif *KISS1/KISS1R* gen ekspresyon seviyeleri (kumulus hücresi)

**Grafik 2**

Relatif *KISS1/KISS1R* gen ekspresyon seviyeleri (oosit)

**Tablo 1.**

Hasta Karakteristik Özellikleri	Total	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p
Yaş	31,87 (24-39)	31 (27-34)	33 (24-39)	34 (25-39)	0.8
BMI	25,87 (16,30-37,40)	31 (19,37,40)	25 (21,50-31,50)	26,4 (16,3-34)	0.4
AMH (ng/dl)	2,39 (0,01-8,4)	1,43 (0,1-8)	2,3 (0,01-7,40)	1,57 (0,1-8,40)	0.86
Antral follikül sayısı	8,73 (1-16)	6 (1-16)	8 (1-15)	9 (2-12)	0.67
FSH (mIU/ml)	5,63 (3,00-10,5)	6,5 (3-10,5)	4,9 (3-9,8)	6,5 (4,20-8,60)	0.82
LH (mIU/ml)	5,05 (1,60-11,30)	3,7 (1,5-10,1)	4,3 (2,5-6,1)	4,8 (1,6-11,3)	0.67
E2 (ng/mL)	52,1 (10-201)	49 (20,1 - 200)	33 (10 - 201)	56 (14-121)	0.12
Ovulasyon indüksiyon günü E2 (ng/mL)	1394,87 (86-5000)	230 (86-1591)	877 (86-5000)	1273 (314-4361)	0.12
Başlangıç gonadotropin dozu	240,32 (75-375)	300 (75-375)	225 (150-300)	300 (200-375)	0.34

*Hasta Karakteristik Özellikleri*

**Tablo 2.**

	Total	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p
Serum KISS1 (pg/ml)	178,89 (84,80-739,29)	201,53 (153,31-479,09)	187,12 (155,37-739,29)	172,86 (84,80-618,45)	0.3
FF KISS1 (pg/ml)	237,77 (136,26-690,78)	193,59 (153,31-387,94)	186,24 (164,48-690,78)	185,80 (136,26-580,82)	0.86
Serum KISS1R (ng/ml)	9,31 (1,42-28,23)	6,47 (1,42-13,66)	8,03 (3,09-28,23)	7,59 (2,35-21,35)	0.38
FF KISS1R (ng/ml)	8,91 (1,75-28,46)	8,19 (6,53-14,76)	7,24 (4,19-28,46)	7,95 (1,75-23,17)	0.26

*Serum ve Folliküler sıvı KISS1/KISS1R düzeyi*

S18

### İmmatür Oosit ve Folliküler Mikroçevrede COX-2 Ekspresyonu Oosit Matürasyon Defektlerini Açıklayabilir mi?

Gökten Kuşpınar<sup>1</sup>, Işıl Kasapoğlu<sup>2</sup>, İlknur Yavaş<sup>2</sup>, Gürkan Uncu<sup>2</sup>, Berrin Avcı<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa

<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi, Bursa

#### Amac:

Invitro fertilizasyon başarısı ve embriyo gelişimsel yeterliliğinde oosit önemli rol oynamaktadır. Oosit kalitesi, nükleer ve mitokondrial genom kontrolüne ek olarak, folliküler mikroçevre ve bununla ilişkili oosit sitoplazmik matürasyonuna da bağlıdır. Folliküler mikroçevre, oosit ile oositi çevreleyen kumulus hücreleri (CCs) ve follikül sıvısından (FF) oluşmakta olup, tüm hücrel reproduktif süreçte önemli roller üstlenmektedir.

Ovulasyon, preovulatuvar follikül rüptürü ve oosit salınımı ile sonuçlanan bir seri biyokimyasal ve fizyolojik süreci kapsar. Ovulasyonun mürin modelinde, follikül rüptüründe ve kumulus ekspansiyonunda siklooksijenaz-2 (COX-2) önemli rol oynamaktadır. Dişi maymunlarda ovaryan stimülasyonu takiben ovulasyon indüksiyonu ile siklooksijenaz inhibitörü uygulaması sonrasında immatür oosit oranının anlamlı oranda arttığı rapor edilmiştir.

Tüm bu veriler değerlendirildiğinde, COX-2 ekspresyonunun ovulasyon haricinde, oosit matürasyon sürecinde ve kumulus hücrelerinin ekspansiyonunda rol aldığı düşünülmektedir.

#### Gereç ve Yöntemler:

Bu çalışmada farklı nükleer matürasyon aşamalarındaki insan oositlerinde ve kumulus hücrelerinde COX-2 gen ekspresyon düzeyinin ve folliküler sıvıda seviyesinin değerlendirilmesi hedeflendi.

Çalışma kapsamında, Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi'nde gerçekleştirilen rutin sikluslar içinden 32 siklustan elde edilen örnekler çalışma kapsam ve kriterlerine uygun bulunup, oosit matürasyon aşaması esas alınarak gruplara ayrıldı.

Grup 1 (n=10); immatür oosit (GV ve MI), CCs ve FF

Grup 2 (n=16); fertilize olmamış MII oosit, CCs ve FF

Grup 3 (n=26); fertilize MII oosite ait CCs ve FF (kontrol)

Follikül sıvısında COX-2 seviyesi ELISA yöntemiyle, oosit ve kumulus hücrelerinde COX-2 gen ekspresyon düzeyi RT-PCR ile değerlendirildi. Elde edilen sonuçların hasta klinik verileriyle korelasyonları analiz edildi.

#### Bulgular:

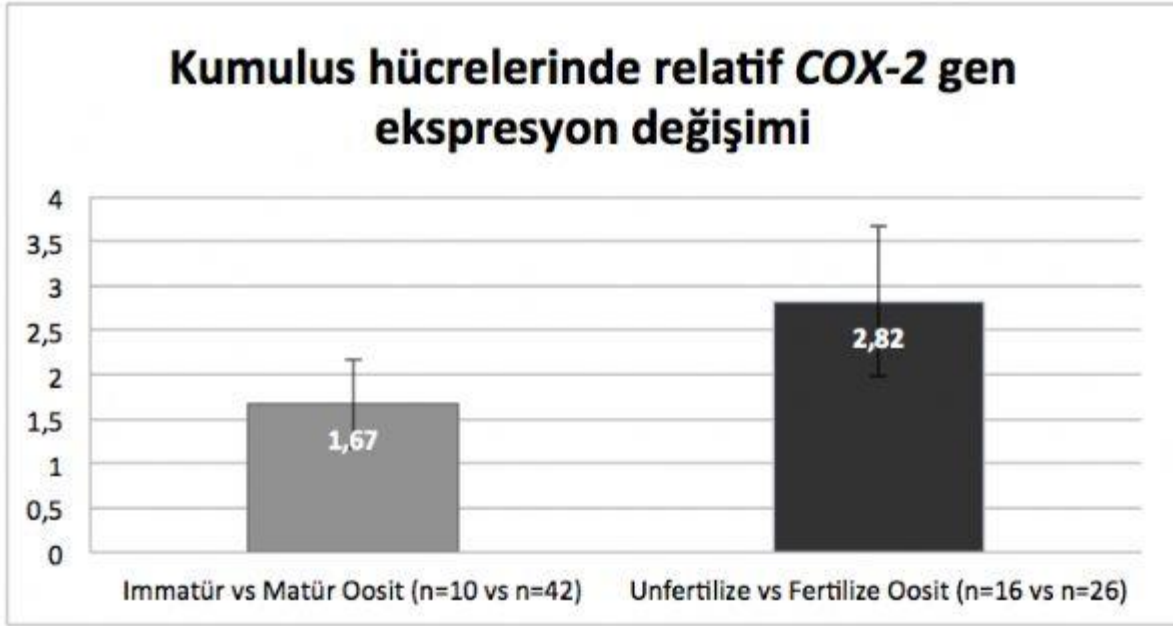
Hasta genel karakteristik özellikleri; yaş, BMI, AMH düzeyi, antral follikül sayısı (AFC), bazal endokrin profil, ortalama gonadotrophin dozu Tablo 1'de verilmiştir. Folliküler sıvı COX-2 seviyesinde gruplar arasında fark görülmedi ( $p=0.5$ ) (Tablo 2). Sadece Grup 3'te follikül sıvısının COX-2 seviyesi ve elde edildiği follikülün çapı (mm) arasında pozitif korelasyon saptandı ( $r=0.41$ ;  $p=0.04$ ). Kumulus hücrelerinde, COX-2 gen ekspresyon seviyeleri elde edildikleri oositin matürasyon basamağı (immatür/matür) ve fertilizasyon durumu (unfertilize/fertilize) bakımından fark göstermedi ( $p=0,44$ ;  $p=0,06$ , sırasıyla) (Grafik 1). Oosit COX-2 gen ekspresyon seviyesinin matürasyon basamağından (immatür/matür) bağımsız olduğu görüldü ( $p=0,17$ ) (Grafik 2). COX-2 gen ekspresyonunun ve folliküler sıvı COX-2 seviyesinin oosit matürasyon süreci ve fertilizasyon başarısında anlamlı bir etkisi saptanmadı.

#### Sonuc:

İmmatür oositlerde ve mikroçevrelerinden elde edilen kumulus hücrelerindeki COX-2 gen ekspresyonu eğilimindeki artış (Grafik 1), prematür folliküler rüptür veya oosit matürasyonu defektlerinde yeni klinik yaklaşımlara yön gösterici olabileceği düşünüldü.

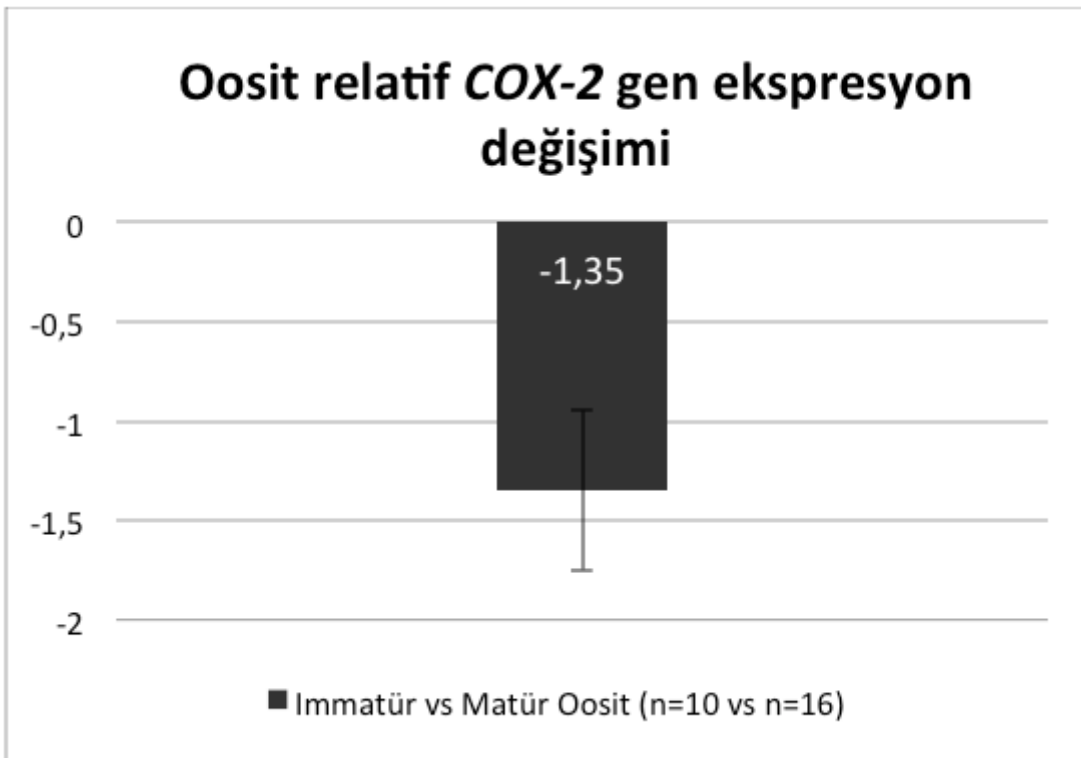
**Anahtar Kelimeler:** COX-2, Final Oosit Matürasyonu, Folliküler Mikroçevre

**Grafik 1**



*Relatif Cox-2 gen ekspresyon seviyeleri (kumulus hücresi)*

**Grafik 2**



*Relatif Cox-2 gen ekspresyon seviyeleri (oosit)*

**Tablo 1**

Hasta Karakteristik Özellikleri	Değer Median (min. – max.)
Yaş	31,87 (24-39)
BMI	25,87 (16,30-37,40)
AMH (ng/dl)	2,39 (0,01-8,4)
Antral follikül sayısı	8,73 (1-16)
FSH (mIU/ml)	5,63 (3,00-10,5)
LH (mIU/ml)	5,05 (1,60-11,30)
E2 (ng/mL)	52,1 (10-201)
Ovulasyon indüksiyon günü E2 (ng/mL)	1394,87 (86-5000)
Başlangıç gonadotropin dozu	240,32 (75-375)

*Hasta Karakteristik Özellikleri*

**Tablo 2.**

	Group 1 (n=10)	Group 2 (n=16)	Group 3 (n=26)	p
FF Cox-2 (u/L) (min-max)	162,18 (126,17-291,58)	156,51 (138,31-626,88)	163,63 (83,96-484,83)	0,504
Folikül Çapı	18 ±1.84x	20.6±1.96yz	19.65 ±1.46z	0.001
Korelasyon (r;p)	r=0.128;p=724	r=0.043;p=0.875	r=0.414;p=0.035	

*Foliküller sıvı Cox-2 seviyesi ile follikül çapı korelasyonu*



S19

**Kalın örneklerin üç boyutlu görüntülenmesinde konfokal, multifoton ve dijital düzlem ışık (DLS) mikroskopisinin karşılaştırılması: CLARITY mi, 3DISCO mu?**Serçin Karahüseyinoğlu<sup>1</sup>, Nida Karahan<sup>2</sup><sup>1</sup>Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, İstanbul; Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM), İstanbul<sup>2</sup>Koç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Üreme Biyolojisi Yüksek Lisans Programı, İstanbul**GİRİŞ**

Mikroskopik görüntüleme için en önemli sınırlamalardan biri örnek kalınlığıdır. Mikroskopi teknolojisinin gelişmesi ile kalın örnekler z-aks derinliğinde yüksek çözünürlükte üç boyutlu olarak görüntülenebilmekte ve dokuların işlevsel yapısı ortaya konabilmektedir.

**AMAÇ**

Bu çalışmanın amacı birbirinden farklı yapıdaki kalın örneklerde üç farklı mikroskop teknolojisinin- **konfokal mikroskop, multifoton (MP) mikroskopu, dijital düzlem ışık (digital light sheet-DLS) mikroskopu**- doku derinliğini görüntüleme performansının karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir.

**YÖNTEM**

Üç boyutlu örneklemeye için **fare beyni, fare testisi ve sıçan ovaryumu dokuları ile 3 boyutlu fare blastokist kültürü** her örnekten 5'er adet olacak şekilde kullanılmıştır. Şeffaf olmayan örnekler (beyin, testis ve ovaryum) için CLARITY ve 3DISCO olmak üzere iki farklı yöntemle şeffaflandırma yapılmıştır<sup>1</sup>. CLARITY yöntemi için fare/sıçana perfüzyon sırasında hidrojel monomer(HM) solüsyonu uygulanmış ve dokular çıkarıldıktan sonra HM ile 3 gün inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonrasında dokular şeffaflandırma çözeltisine alınmış ve şeffaflanana kadar her gün çözelti yenilenmiştir. Şeffaflanma sonrasında dokular primer antikor ile 2 gün 370C'de inkübe edilmiş, 2 gün 370C PBS-T (%0.1 tween) ile yıkanmış ve sekonder antikorlar aynı şartlarda uygulanmıştır. Görüntüleme öncesi tekrar 2 gün yıkama yapılmıştır. 3DISCO için dokular %4 PFA ve fluoresan konjuge antikor ile perfüze edilmiş, çıkarılan doku bir gece %4 PFA'da inkübe edilip PBS yıkamaları yapıldıktan sonra distile su içerisinde hazırlanan THF'de ve sonrasında DBE'de yatay şekilde inkübe edilmiştir. Primer ve primer konjuge antikor olarak FITC-albumin, tubulin ve kolajen 1 kullanılmış, tüm sekonderler için Alexa 488 kullanılmıştır. CLARITY yapılmış dokular agaroz içine gömülerek ve gliserolle kaplanarak Leica dmi8 SP8 konfokal mikroskop ve DLS'de incelenmiş, 3DISCO yapılan örnekler eter içinde Leica dm6MP mikroskopla incelenmiştir. Üç-boyutlu fare blastokist kültürü için blastokist, epitel hücreleri, stroma hücreleri ve hücre dışı matriks bazlı jel yapıda inkübe edilmiş, inkübasyonun 48.saatinde aynı primer ve sekonderlerle boyanarak agaroz gömülmüş, su ile kaplanmış ve konfokal ve DLS'de görüntülenmiş; agaroz gömülmeden su damlası içinde ise multifotonla görüntülenmiştir. Konfokal ve DLS görüntüleme için 488 nm lazer, MP görüntüleme için titanium-safir ayarlanabilir lazer 920 nm'de kullanılmıştır.

**BULGULAR VE SONUÇLAR**

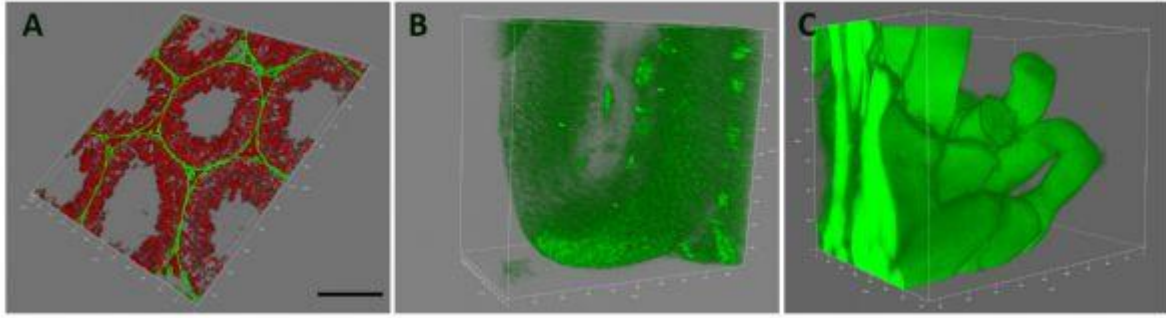
1. Örnek derinliklerinin 20-1000µm olduğu görülmüştür. 20 µm'de performansı x,y,z akslarında oldukça iyi olan **konfokal sistem**de artan derinliklerde çözünürlüğünün ciddi derecede azaldığı görülmüştür.
2. **DLS** sisteminin 1000-1500µm'de etkin olabildiği, görüntülemenin hızlı gerçekleştiği izlenmiştir ve dokunun genel yapısını (damarları, vb) göstermekte daha başarılı olduğu görülmüştür.
3. **MP** sistemi derinlik olarak DLS ile benzerlik göstermiştir. Daha yavaş görüntülemeye karşın özellikle küçük örneklerde yapıların detayını vermekte daha başarılı bulunmuştur.

Kaynak:

1. Clearing of fixed tissue: a review from a microscopist's perspective. Silvestri et al J Biomed Opt. 2016 Aug;21(8):081205

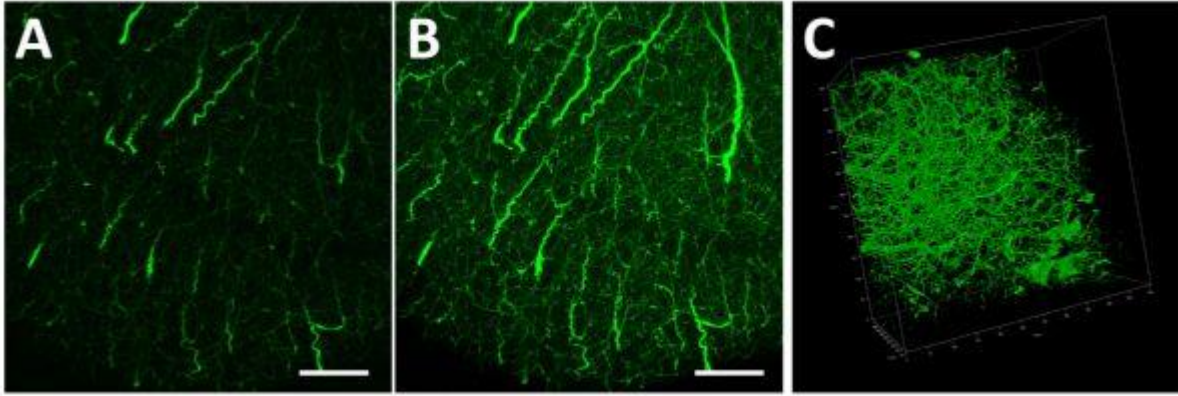
**Anahtar Kelimeler:** kalın örnek, multifoton, düzlem ışık mikroskopu

**Resim 3. Fare testisinin ince ve kalın örneklerde konfokal ve DLS ile görüntülenmesi.**



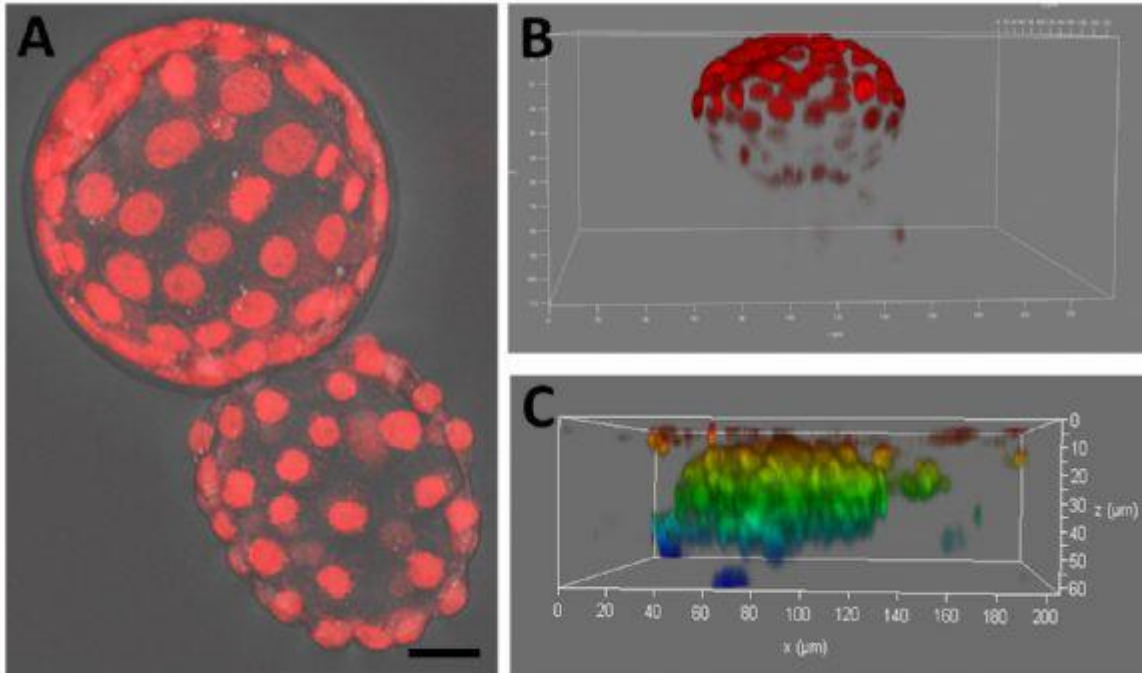
İnce kesit (12  $\mu\text{m}$ ) (A; yeşil: laminin, kırmızı: çekirdek) ve şeffaflandırılmış kalın kesit (250  $\mu\text{m}$ ) (B; yeşil: tubulin) örneklerin konfokal mikroskop altındaki görüntüleri. Çok kalın kesit (1000  $\mu\text{m}$ ) şeffaflandırılmış örnekte DLS ile seminifer tübüllerin yapısı izlenmektedir (C; yeşil: tubulin). Bar=100  $\mu\text{m}$

**Resim1. 3DISCO uygulanmış ve FITC-albumin ile işaretlenmiş beyin korteksi damarları.**



Multifoton görüntüleme (A) ile konfokal (B, C) görüntülemelerde derindeki küçük damarlar daha belirgin şekilde ortaya konmuş. Konfokal z-aksı optik kesitlerinin oluşturduğu 3-boyutlu damar yapılanması (C).

**Resim2. Blastokistin konfokal ve multifoton mikroskopta görüntülenmesi**



*Zona pellusidasında sıyrılmakta olan fare blastokistinin (A) multifoton mikroskopta (C) konfokal mikroskoba (B) göre daha derin derin incelenebildiği görülmektedir. Kırmızı: Çekirdek (7AAD), bar=10 µm. C'de renkli derinlik kodlaması yapılmıştır.*

S20

**Normal, fazla kilolu ve obez bireylerde Izumo-1 sperm yüzey reseptörünün ekspresyon düzeyinin karşılaştırılması**

Vahide Cansu Seymenoğlu<sup>1</sup>, Gözde Özge Önder<sup>1</sup>, Fazile Cantürk Tan<sup>2</sup>, Özge Göktepe<sup>1</sup>, Oğuz Ekmekçioğlu<sup>3</sup>, Güzide Şatır Başaran<sup>4</sup>, Arzu Yay<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji AD, Kayseri/Türkiye

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik AD, Kayseri/Türkiye

<sup>3</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD, Kayseri/Türkiye

<sup>4</sup>Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya AD, Kayseri/Türkiye

**Amaç:** Aşırı kilo ya da obezite tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya başlamıştır. Son zamanlarda bazı çalışmalarda artmış beden kitle indeksi (BKİ)'nin semen parametreleri ve sperm kalitesi üzerine olumsuz etki edebileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada normal, fazla kilolu ve obez bireylerde sperm kalite düzeyleri arasındaki farklılıkları, sperm-yumurta füzyonunda görev alan Izumo-1 sperm yüzey reseptörünün ekspresyon düzeylerini ve artmış BKİ'nin sperm DNA'sı üzerine olası etkilerini belirlemek amaçlanmıştır.

**Metod:** Çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Polikliniği'ne başvuran 18-35 yaş aralığında, BKİ normal (n=20), fazla kilolu (n=19) ve obez (n=18) erkek bireylerden alınan semen örnekleri kullanıldı. Sperm örnekleri Diff Quik boyama yöntemi ile boyanarak morfolojik kriterleri açısından değerlendirildi. Izumo-1 sperm yüzey reseptörünün ekspresyon düzeylerini belirlemek için western blot analizi kullanıldı. Gruplar arasında sperm DNA hasarlarını belirlemek amacıyla alkali comet assay yöntemi kullanıldı. Veriler R Studio 3.2.2 programı ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Gruplara ait olan sperm örneklerinde, ortalama sperm konsantrasyonu, sperm motilite oranı ve normal morfolojiye sahip sperm oranlarının özellikle de BKİ  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> olan obez bireylerde düştüğü gözlemlendi. Çalışmada, fazla kilolu ve normal kilolulara doğru morfolojik hasarların azaldığı belirlendi. Western blot yöntemi kullanılarak incelediğimiz Izumo-1 sperm yüzey reseptörü ekspresyon düzeylerine bakıldığında, BKİ değerlerinin Izumo-1 ekspresyonunu da etkilediği belirlendi.

**Sonuç:** Normal ve fazla kilolu grupları ile karşılaştırıldığında en yüksek Izumo-1 ekspresyonu obez grubunda bulunmaktaydı ( $p > 0,05$ ). Alkali comet assay metodu ile gruplarda DNA hasarı incelendiğinde comet parametreleri, sperm morfolojik değerlendirme sonuçları ile uyumlu olarak diğer gruplara göre obez grubunda DNA hasarının anlamlı derecede arttığını gösterdi ( $p < 0,001$ ). BKİ'nin erkek infertilitesi ve bununla ilişkili olan sperm sayısı ve morfolojisi ya da sperm DNA hasarı ile Izumo-1 protein ekspresyonu, ilişkili olduğu gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** comet assay, Izumo-1, Sperm yüzey reseptörü, western blot

S21

### **Dietilnitrozamin İle Hepatosellüler Karsinom Oluşturulmuş Ratlarda Resveratrolün Tedavi Edici Etkilerinin Araştırılması**

Seda Çetinkaya<sup>1</sup>, Aydan Özgörgülü<sup>2</sup>

<sup>1</sup>KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

<sup>2</sup>Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

**Amaç:** Kontrolsüz hücre büyümesi ve apoptoz direnci, kanser hücrelerini karakterize eder. Bu iki ana özellik kanser hücrelerinde, hücre proliferasyonunu ve apoptozu doğrudan kontrol eden yolları düzenleyen anahtar sinyal moleküllerinde mutasyonlar yoluyla başlatılır. Resveratrol (RSV), doğal olarak oluşan bir bitki polifenoldür, farklı hastalıklarla mücadele eden biyolojik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Kardiyoprotektif, nöroprotektif, immüno-düzenleyici ve anti-kanser özellikleri olduğu bildirilmiştir. RSV'nin kanser hücre çoğalmasını inhibe ettiği, hücre döngüsü tutuklanmasını ve apoptozu indüklediği ve bu anti kanser etkilerinin, bu süreçlerde yer alan sinyal moleküllerini modüle etme kabiliyetine bağlı olduğu keşfedilmiştir.

Bu çalışmada resveratrolün, dozlara göre dietilnitrosamin (DEN) ile indüklenen hepatosellüler karsinoma (HCC) karşı ratlarda kemopreventif etkisini araştırmayı amaçladık.

**Geraç ve Yöntem:** HCC oluşturmak için, haftada 1 kez olmak üzere 7 hafta boyunca 100 mg/kg dozunda DEN intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. 7 hafta sonra DEN ile indüklenmiş HCC karsinomlu ratlarda 50, 75 ve 100 mg/kg dozlarında resveratrol, yedi gün boyunca i.p. olarak verildi. 56. günün sonunda sakrifiye edilen ratların karaciğer histopatolojik incelenmesi ve HCC insidansına yönelik olarak serum ve karaciğer örnekleri alındı. Karaciğer dokularında histokimyasal olarak hematosilen-eosin ile immünohistokimyasal olarak da Bax/Bcl-2 ve p53 ile histopatolojik değerlendirmeler yapıldı. Ayrıca uygulamaya başlamadan önce ve uygulama boyunca haftada bir tartılarak ratların ağırlıkları kaydedildi. Antioksidan kapasiteyi araştırmak için süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü. Karaciğer hasarı göstergesi olarak da serumda gama glutamil transpeptidaz (GGT), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve alkalen fosfat (ALP) seviyeleri ölçüldü.

**Bulgular:** Çalışmamızda SOD, GSH ve MDA DEN+Res 100 grubunda her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubuna en yakın bulunan doz grubudur. Karaciğer enzim aktiviteleri (ALT, AST, ALP, GGT) ise kontrol grubuna göre DEN+Res 50, DEN+Res 75 ve DEN+Res 100 gruplarında artarken, DEN grubuna kıyasla azalmıştır.

Ratların karaciğer histopatolojisinde de, DEN verilen gruplarda karaciğer portal alanlarda lenfosit infiltrasyonu, karaciğeri nodüllere ayıran ya da nodüllere ayırma eğilimi gösteren fibrozis, parankimde displastik değişiklikler, hücresel atipi ve tümör odakları gözlemlendi. Bax/Bcl-2 ve p53 işaretlemelerinde resveratrolün 100 mg/kg dozunda apoptotik hücrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi.

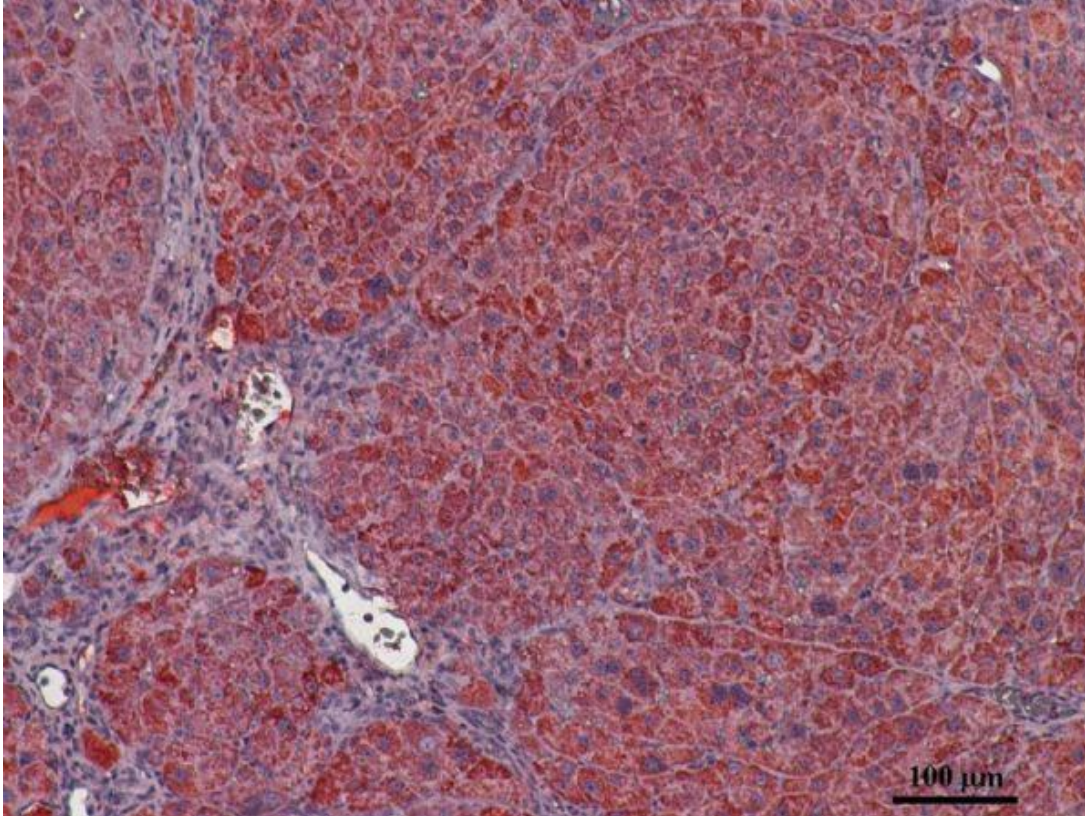
**Sonuç** 100 mg/kg resveratrol dozunun hepatik hasarın önlenmesi ve HCC'un tedavisinde potansiyel etkili bir terapötik ajan adayı olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptozis, Hepatosellüler karsinom, in vivo, resveratrol

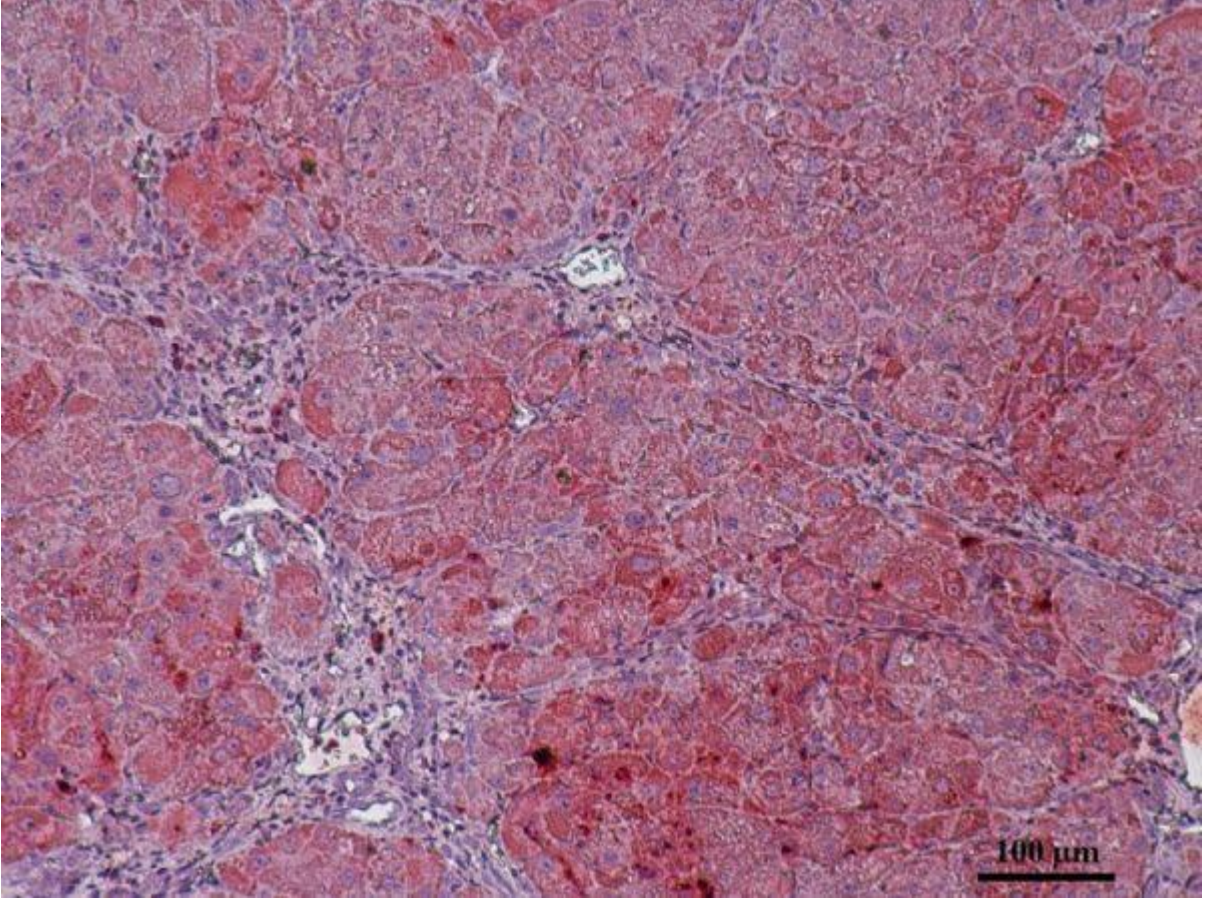
**DEN grubuna ait karaciğer kesiti H-E boyaması**



**DEN+Res 75 grubuna ait karaciğer dokusunun immünohistokimyasal Bax ekspresyonunun görüntüsü**



**DEN+Res 75 grubuna grubuna ait karaciğer dokusunun immünohistokimyasal p53 ekspresyonunun görüntüsü**



S22

### **Gadolinium bazlı kontrast ajanlarının sıçan akciğeri üzerine etkileri**

Levent Tümkaya<sup>1</sup>, Zehra Topal Suzan<sup>1</sup>, Tolga Mercantepe<sup>1</sup>, Seda Çınar<sup>2</sup>, Fatma Beyazal Çeliker<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Rize

<sup>2</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Rize

<sup>3</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Ana Bilim Dalı, Rize

**Amaç:** Radyolojide 1980'lerin sonundan itibaren manyetik rezorans (MR) görüntüleme sistemlerinde yaygın bir biçimde gadolinium bazlı kontrast verici ajanlar kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar organlarda doza bağlı olarak değişen miktarlarda başta böbrek olmak üzere karaciğer, akciğer ve dalak dokusunda birikime neden olduğu bildirilmiştir. Gadodiamid (lineer noniyonik) ve Gadoterik asidin (makrosiklik iyonik) organlarda birikime bağlı olarak geliştirdiği toksisiteyi ele alan histopatolojik çalışmalar çok az olmakla beraber akciğer dokusu üzerine çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla çalışmamızda MR görüntüleme tekniklerinde kullanılan gadodiamide ve gadoterik asitin akciğer dokusu üzerine etkilerini inceledik.

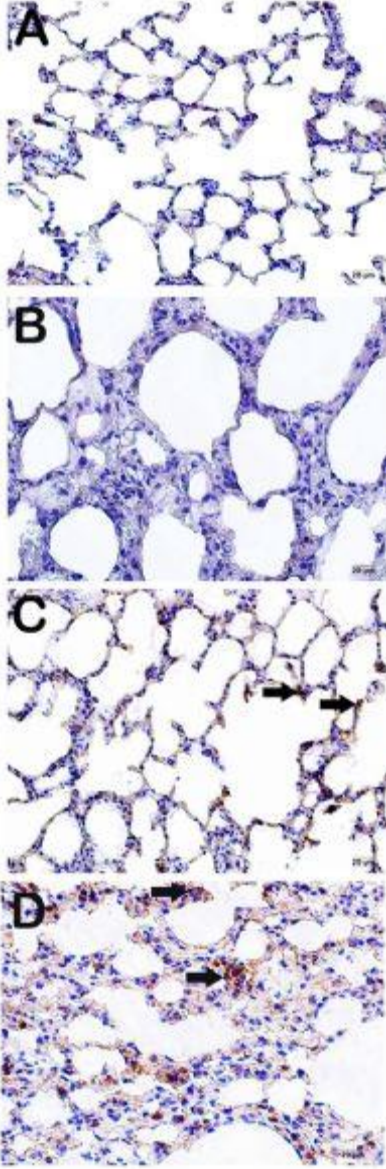
**Materyal-Metod:** Çalışmada 32 adet 275±35 gr ağırlığında Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar her bir grupta 8 erkek sıçan olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Birinci grup olan sağlıklı kontrol grubuna hiçbir işlem uygulanmamıştır. İkinci gruba (Sham grubu) 5 hafta boyunca haftanın 1-4. Günleri olmak üzere haftada dört kez kuyruk veninden 0.1 cc/kg serum fizyolojik uygulanmıştır. Üçüncü gruba ( Gadodiamid grubu) 5 hafta boyunca haftanın 1-4. Günleri olmak üzere haftada dört kez kuyruk veninden 0.1 ml/kg gadodiamid uygulanmıştır. Dördüncü gruba ( Gadoterik asit grubu) 5 hafta boyunca haftanın 1-4. Günleri olmak üzere haftada dört kez kuyruk veninden 0.1 ml/kg gadoterik asit uygulanmıştır. 5. Hafta sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Sıçanlardan elde edilen akciğer dokuları rutin histolojik doku takibine alınmıştır. Parafin bloklara gömülen dokulardan alınan kesitler hematoksilin ve eozin, Goldner Masson, kaspaz-3, kollajen-1 ve kollajen-3 boyanmıştır. Alveolar duvar kalınlığı ve immün pozitif hücrelerin skorlaması iki histolog tarafından körleme olarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular-Sonuç:** Gadodiamid ve gadoterik asidin akciğer dokularında kollajen-1 ve kollajen-3 ve kaspaz-3 boyanan pozitif hücrelerin sayısal yoğunluğunu artırdığını saptandı (p<0.05). Bunun yanında alveolar duvar kalınlığında artış gösterdiğini gözlemlendi (p<0.05). Bu bulguların sonucunda, hem lineer hem de makrosiklik kontrast ajanların akciğer dokusunda toksik etkilere sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer, apoptoz, gadodiamid, gadoterik asit



**Resim 1. Akciğer dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. Kaspaz-3 boyama.**



A (x400): Kontrol grubu kesitlerinde normal pnömositler izlenmekte. B (x600): Serum fizyolojik grubu kesitlerinde kaspaz-3 negatif pnömositler gözlenmekte. C (x400): Apoptotik pnömositler (ok) gadodiamid grup kesitlerinde gözlenmekte (pozitiflik puanı medyan değeri: 0.50). D (x400): Gadoterik grubu kesitlerinde apoptotik pnömositler (ok) izlenmekte (pozitiflik puanı medyan değeri: 1.00).

S23

### **Siçanlarda hiperozmolar mannitol infüzyonuyla bozulan kan-beyin bariyeri bütünlüğü üzerine polietilen glikol-katalazın etkisi**

Nilüfer Ulaş Aytürk<sup>1</sup>, Nurcan Orhan<sup>2</sup>, Canan Uğur Yılmaz<sup>3</sup>, Nadir Arıcan<sup>4</sup>, İmdat Elmas<sup>4</sup>, Mutlu Küçük<sup>3</sup>, Bülent Ahışalı<sup>5</sup>, Mehmet Kaya<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>4</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>5</sup>İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>6</sup>Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**Amaç:** Bu çalışmada, katalazın siçanlarda hiperozmolar mannitol (%25) ile oluşturulmuş kan-beyin bariyeri (KBB) hasarına karşı koruyucu bir etki sağlayıp sağlamadığı araştırıldı.

**Yöntem-Gereçler:** İntravenöz PEG-katalaz (2.500 IU/0,2 ml) enjeksiyonunun ardından sağ eksternal karotis arterine yerleştirilen kateter ile mannitol (0,25 ml/kg/sn) infüze edildi. KBB hasarını göstermek için Evans blue (EB) ve horseradish peroksidaz (HRP) izleyicileri kullanıldı.

**Bulgular:** İpsilateral korteks ve hipokampus bölgelerinde EB miktarı mannitol uygulaması ile artarken katalaz+mannitol grubunda mannitol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük düzeyde kaldı ( $p<0,01$ ). Klaudin-3 sıkı bağlantı proteininin immünoreaktivitesi mannitol grubunda ipsilateral ve kontralateral beyin bölgelerinde azalırken, hipokampustaki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,01$ ). Bu azalmalarda katalaz uygulamasıyla kortekste anlamlı düzeyde olmak üzere tüm beyin bölgelerinde düzelmeye gözlemlendi ( $p<0,05$ ). Mannitol grubunda beyin bölgelerinde izlenen klaudin-5 immünoreaktivite azalması ( $p<0,01$ ), katalaz uygulamasıyla ortadan kalktı ( $p<0,01$ ). Mannitol grubunun ipsilateral korteks ve hipokampus bölgelerindeki GFAP boyanma şiddeti azaldı ( $p<0,01$ ), katalaz+mannitol grubundaki bölgelerde artış görüldü, bu artış kontralateral hipokampusta anlamlı bulundu ( $p<0,01$ ). Elektron mikroskopik değerlendirmede, mannitol infüzyonu yapılan gruptaki hayvanların korteks ve hipokampus bölgelerindeki kapillerlerin endotel hücreleri ile bazal membranlarında ve parankimal alanlarda HRP reaksiyon oluşumlarının sham grubuna kıyasla ipsilateral tarafta daha şiddetli olmak üzere ( $p<0,01$ ) her iki tarafta anlamlı derecede arttığı görüldü. Bu bölgelerde ayrıca endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılarda açılma ve perivasküler alanda astrosit son-ayaklarında şişme ve ödem saptandı. Katalaz uygulamasıyla beyin bölgelerindeki kapillerlerin endotel hücrelerinde ve perivasküler alanda HRP reaksiyonu sham grubuna yakın düzeyde gözlemlendi.

**Sonuçlar:** Bu çalışmanın sonuçları, katalazın hiperozmolar KBB hasarına karşı, beyin mikrodamarlarının bariyer fonksiyonunun düzenlenmesinde geçerli paraselüler ve transselüler yollar üzerinde önemli bir rol oynayarak KBB bütünlüğünün korunmasında etkili olabileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Evans blue, Horseradish peroksidaz, Kan-beyin bariyeri, Mannitol, PEG-Katalaz

S24

**Periferik Sinir Yaralanması Sıçan Modelinde Ekstraselüler Matris (ESM) ve Büyüme Faktörlerinin Sinir Rejenerasyonuna Etkisinin Stereolojik Olarak İncelenmesi**E. Nazlı Hayırlı<sup>1</sup>, Oya Evirgen<sup>2</sup>, N. İlke Akçay<sup>3</sup>, Erdal Reşit Yılmaz<sup>4</sup><sup>1</sup>Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Çorum<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara<sup>3</sup>Doğu Akdeniz Üniversitesi Dr. Fazıl Küçük Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Kıbrıs<sup>4</sup>SB Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Araştırma Hastanesi, Beyin Cerrahisi Kliniği, Ankara**Amaç**

Hasarlı periferik sinirler(PS) rejenerasyon kapasitesine sahip olmakla birlikte ortamdaki Schwann hücrelerinin, büyüme faktörlerinin ve ESM elemanlarının etkileşimi iyileşmede önemli rol oynamaktadır. Tedavide altın standart olan kesik sinir uçlarının dikilmesine ek olarak uygulanabilecek ve iyileşmeyi artıracak yöntemlerle ilgili çalışmalar halen devam etmektedir. Biz de çalışmamızda ESM elemanlarının sinir iyileşmesini inhibe edici etkisini azaltan kondroitinaz ABC(ChABC) enzimiyle,rejenerasyonu uyaran büyüme faktörlerini içeren plateletten zengin plazma'nın(PRP) tek tek ve daha önce denenmemiş kombine uygulamalarının etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler**

Çalışmamızda 5 grup içinde toplam 40 adet 12 haftalık Wistar albino ratlar kullanıldı. PS hasarı bütün gruplarda sol tarafta transvers kesiyle oluşturulurken sağ taraflar sağlam(kontrol) olarak bırakıldı. Kesi grubu haricindeki gruplarda onarım primer epinöral anastomoz(PEA) yapılarak gerçekleştirildi. Gruplar ve uygulamalar şu şekildeydi;Kesi grubu:PEA ile sinir onarımı yok;Salin grubu:PEA bölgesine 0,125ml salin uygulaması;Ch grubu:PEA bölgesine 2U/0,125ml ChABC uygulaması; PRP grubu:PEA bölgesine 0,125ml PRP uygulaması;Ch+PRP grubu:PEA bölgesine kombine 2U/0,0625ml ChABC+0,0625ml PRP uygulaması. PRP uygulanan gruplara ait birer rattan cerrahi öncesi alınan kan santrifüj edilerek PRP elde edildi ve bu ratlar deney dışı bırakıldı. 12.haftanın sonunda siyatik sinir dokuları sütur hattının merkezini ve distalini içerecek şekilde çıkarıldı ve %2,5 gluteraldehit ile fikse edildikten sonra rutin takip işlemlerinden geçirilerek araldite gömüldü. Toluidin mavisi ile boyalı yarı ince kesitler ışık mikroskobunda incelendi ve fotoğraflandı(Leica DM500/ICC50HD).

Ayrıca hem distal hem de merkez bölge kesitlerinde toplam miyelinli lif ve dejenere lif sayısı fraksiyonlama probuyla; distal bölge kesitlerinde ise lif alanı,akson alanı,miyelin alanı,lif çapı,akson çapı ve miyelin kalınlığı nucleator probuyla stereoloji yazılımı(StereoInvestigator,MBF Bioscience) kullanılarak belirlendi. g-ratio değerleri hesaplandı. Fonksiyonel iyileşmeyi değerlendirmek için pre-op,post-op 6. ve 12.haftalarda yürüme testi yapıldı ve siyatik fonksiyon indeksi(SFI) belirlendi. Tüm verilerin istatistiksel değerlendirmesinde  $p < 0,05$  değeri anlamlı kabul edildi(IBM SPSS22).

**Bulgular**

Bütün deney gruplarında epinöryum ve perinöryum içinde yanlış yönlendirilmiş rejeneratif akson filizleri izlendi. Kontrole göre dejenere akson sayısı tüm gruplarda anlamlı düzeyde yüksekken( $p < 0,05$ ), deney grupları kendi aralarında kıyaslandığında fark bulunmadı. Kontrole göre toplam miyelinli lif sayısı CH+PRP grubu merkez bölgesinde anlamlı düzeyde yüksekti( $p < 0,05$ ). Deney gruplarında distaldeki miyelinli aksonların lif çapı,akson çapı, miyelin kalınlığı ve g-ratio değerleri kontrole göre anlamlı düzeyde düşüktü( $p < 0,05$ ). SFI sonuçları 6. ve 12.hafta sonunda pre-op döneme göre tüm gruplarda fonksiyon kaybını ifade edecek şekilde düşüktü( $p < 0,05$ ).

**Sonuç**

Sonuç olarak çalışmamızda, cerrahi tedaviyle birlikte ChABC ve ChABC+PRP'nin lokal uygulanmasının kesi bölgesi merkezinde akson filizlenmesini artırarak sinir rejenerasyonuna olumlu katkısı olduğu görüldü. Distaldeki ince miyelinli ve küçük çaplı aksonların varlığıyla SFI değerlerinin pre-op döneme göre düşük olması ise sinir rejenerasyonunun 12.hafta sonunda hala devam ettiğini düşündürdü.

**Anahtar Kelimeler:** Kondroitinaz ABC, PRP, Siyatik sinir, Stereoloji

S25

### Nesfatin-1 Nöronlarının Aktivasyonunda Kainik Asit ve CNQX Uygulamalarının Cinsiyetler Arası Etki Farklılıkları

Duygu Gök Yurtseven<sup>1</sup>, Zehra Minbay<sup>2</sup>, Özhan Eyigör<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sanko Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep.

<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

**Amaç:** Nesfatin-1, besin alımını engelleyerek enerji metabolizmasını düzenleyen bir peptittir. Nesfatin-1'i sentezleyen nöronların çoğunluğu hipotalamusun paraventriküler (PVN), supraoptik (SON), arkuat çekirdekleri (ARC) ile lateral hipotalamik alanda (LHA) yoğunlaşmıştır.

Çalışmamızda; iyonotropik glutamat reseptörleri aracılığıyla etki eden glutamat agonisti kainik asitin, SON, ARC ve PVN'deki nesfatin-1 nöronları üzerindeki aktive edici etkilerinde cinsiyete bağlı olası farklılıkların araştırılması ve bu etkide kainat-seçici glutamat reseptör antagonisti CNQX'in olası baskılayıcı rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Glutamat agonisti kainik asitin etkilerini belirlemek üzere, kainik asit (2.5 mg/kg), kontrol için salin ve antagonist olarak CNQX (2 mg/kg) enjeksiyonu yapılan dişi ve erkek sıçanları içeren deney grupları oluşturulmuştur. İntraperitoneal enjeksiyondan 90 dk. sonra perfüzyonla fikse edilen dokulardan alınan yüzen kesitlerde, nöronal aktivasyon belirteci c-Fos ve nesfatin-1 antikoru ile ikili immünohistokimyasal boyamalar gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ikili işaretlenen (aktive olan) nesfatin-1 nöronlarının tüm nesfatin-1 nöronlarına oranı açısından değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** SON'de, dişi deneklerde %1 civarında olan c-Fos-pozitif nöron sayısı kainik asit enjeksiyonu ile %79'a yükselirken, CNQX uygulaması bu sayıyı %30'a geriletmiştir. Erkek deneklerde ise %1 olan c-Fos'u ekspres eden nesfatin-1 nöronlarının oranı kainik asit enjeksiyonu ile %50'ye yükselmiş, CNQX etkisiyle bu oran %39'a düşmüştür. Kainik asit etkisinin erkek deneklerde dişi deneklere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az olduğu, ayrıca özgün antagonist uygulanmasının sadece dişilerin SON'de aktive olan nesfatin-1 nöron sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya yol açtığı belirlenmiştir. Dişi deneklerin ARC'de aktive olan nöron sayıları değerlendirildiğinde, c-Fos-pozitif nesfatin-1 nöronlarının oranı kainik asit enjeksiyonu ile %16'ya yükselirken, CNQX bu grupta istatistiki anlamlılık taşıyan aktivasyon baskılayıcı bir etki göstermemiştir. Erkek deneklerdeki c-Fos-immünreaktif nesfatin-1 nöronlarının sayısı kainik asit enjeksiyonu ile %31'e yükselirken, CNQX uygulamasıyla bu etki %16'ya gerilemiştir. Kainik asit enjeksiyonu sonrası erkek deneklere ait nesfatin-1 nöronlarının aktivasyon yüzdesinin dişilere göre anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu görülmüştür. PVN'de dişi denekler için c-Fos-pozitif nöron sayısı kainik asit enjeksiyonu ile %54'e yükselirken CNQX uygulaması ile bu sayı %25'e gerilemiştir. Erkek deneklerde ise CNQX enjeksiyonu istatistiki anlamlılığı olan bir etki göstermemiştir. PVN'de kainik asit enjeksiyonu ile aktive olan nöron sayısının, dişi deneklerde erkek deneklere göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir.

**Sonuç:** Sonuç olarak, hipotalamusta lokalize olan nesfatin-1 nöronlarının önemli bir bölümünün kainik asit etkisiyle aktive oldukları, bu etkinin non-NMDA reseptör antagonisti tarafından baskılandığı belirlenmiştir. Hem agonist etkilerinin erkek deneklerde farklılık göstermesi, hem de kainik asit etkisinin dişi deneklerde erkek deneklere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla olması, kainik asiti bağlayan fonksiyonel glutamat reseptörleri açısından cinsiyete bağlı farklı etkileşimlerin var olduğunu düşündürmüştür.

(TÜBİTAK 113S377 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.)

**Anahtar Kelimeler:** Nesfatin-1, Glutamat, Kainik asit, CNQX, c-Fos

S26

**Gebelikte Uygulanan Diklofenak Sodyum ve Timokinonun Postnatal 4 ve 10 Haftalık Sıçan Ovaryum Preantral Follikül Sayısına Etkilerinin Stereolojik Yöntemle Araştırılması**

Ayfer Korkoca, Murat Çetin Rağbetli

yüzüncü yıl üniversitesi tıp fakültesi, histoloji-embriyoloji ana bilim dalı, van

**Amaç:** Gebelikte uygulanan Diklofenak Sodyum (DS) ve Timokinon (TQ)'un postnatal 4 ve 10 haftalık sıçan ovaryum preantral follikül sayısına etkileri stereolojik yöntemlerle araştırılmasıdır.

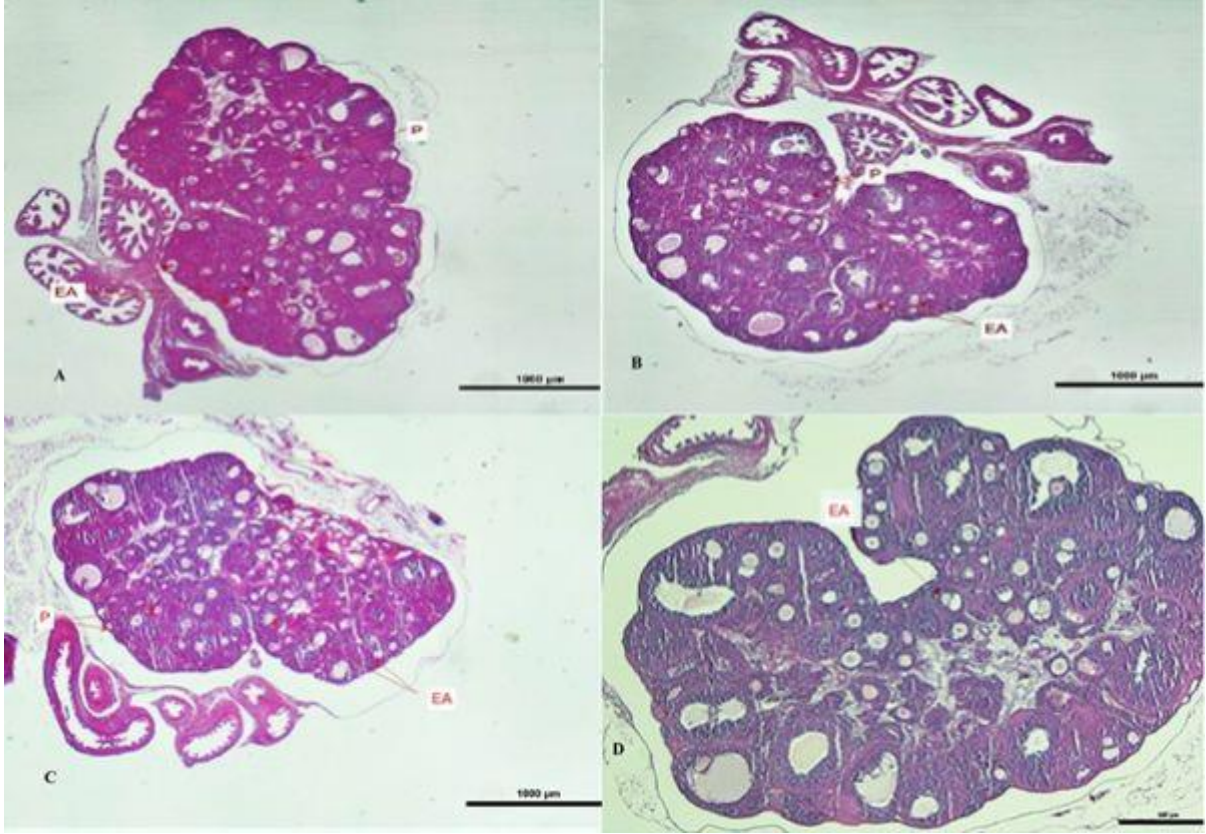
**Gereç-Yöntem:** Çalışma için 20 Albino Wistar dişi sıçanlar rastgele gruplara ayrıldı. Sıçanlara gebeliğin beşinci gününden itibaren 10 gün süreyle; 1. gruba 6.1 mg/kg DS IM uygulandı, 2. gruba hem 6.1 mg/kg DS IM enjekte edildi hem de 5mg/kg/gün TQ oral olarak verildi. Aynı sürede 3. gruba 5mg/kg/gün yalnızca TQ oral olarak verildi, 4. gruba ise 1ml/kg/gün Serum Fizyolojik IP enjekte edildi. 5. gruba herhangi bir işlem uygulanmadı. Postnatal dişi yavrular 4 ve 10 haftalık gruplara ayrıldı. Sıçanlar 4. ve 10. haftanın sonunda anestezi altında, sağ atriumdan kan 2 cc alındı ve perfüzyon yapılarak akabinde sağ overler çıkarıldı. Overlerin Bouin tesbitinden sonra, rutin histolojik takibi yapıldı. Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Follikül sayımında fiziksel disektör yöntemi, over hacmi belirlemede Cavalieri prensibi kullanıldı. ELISA yöntemi ile de anti-müllerian hormonu (AMH) değeri belirlendi. İstatistik için Kruskal-Wallis analiz testi kullanıldı.

**Bulgular:** DS grubu 4 ve 10 haftalık ovaryum preantral folliküllerinin sayısında anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p \geq 0.05$ ). Ancak erken antral follikül sayısında anlamlı olarak azalma gözlendi ( $p \leq 0.05$ ). TQ grubu 4 haftalık ovaryumların preantral ve erken antral follikül sayısı anlamlı arttı ( $p \leq 0.05$ ) ve 10 haftalık ovaryumlarında ise anlamlı azaldığı gözlendi ( $p \leq 0.05$ ). Deney gruplarının tümünde primordiyal follikül sayısında anlamlı bir fark gözlenmedi. DS ve TQ grubu 10 haftalık ovaryumların korpus luteum sayısında anlamlı azalma ve AMH değerinde anlamlı artış belirlendi ( $p \leq 0.05$ ). DS ve TQ 10 haftalık ovaryumlarının medulla/korteks hacim oranı anlamlı olarak arttığı gözlendi ( $p \leq 0.05$ ).

**Sonuç:** Gebelikte uygulanan DS'nin postnatal 4 ve 10 haftalık ovaryumların preantral follikül sayısına etkileri olmadığı fakat erken antral follikül sayısını anlamlı azalttığı tespit edildi. TQ ise 4 haftalık ovaryumlarda preantral ve erken antral follikül sayısını arttırdığı fakat 10 haftalıklarda azalttığı belirlendi. Hem DS hem de TQ 10 haftalık sıçanlarda serum AMH değerini anlamlı arttırması ve korpus luteum sayısını anlamlı azaltması ovulasyonu kısmen önleyebileceği fikrini verdi. Ayrıca DS ve TQ'nun 10 haftalık ovaryumların medulla hacmini arttırdığı belirlendi.

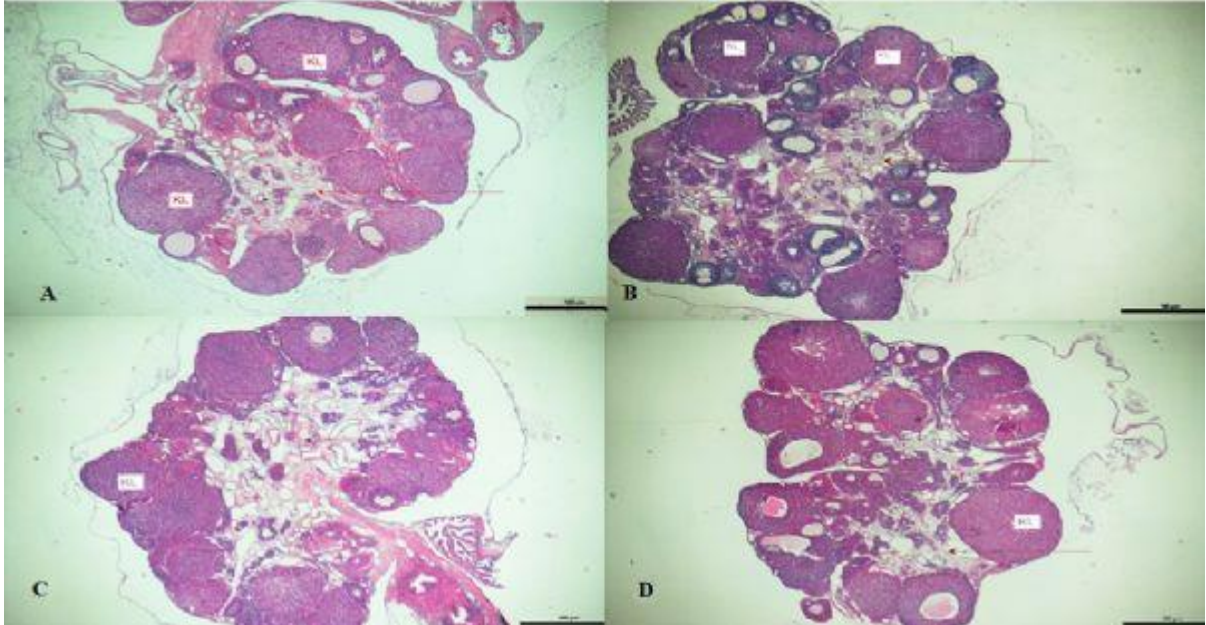
**Anahtar Kelimeler:** Timokinon, Diklofenak Sodyum, Preantral follikül sayısı, Sıçan, Stereoloji

**Şekil 1**



4 haftalık siçan ovaryumları. A Kontrol grubu ovaryumu, B DS grubu ovaryumu, C DS-TQ grubu ovaryumu, D TQ grubu ovaryumu. P preantral follikülü, EA erken antral follikülü göstermektedir. A, B, C x1. Bar 1000 µm, D x1. Bar 500 µm.

**Şekil 2**



10 haftalık siçan ovaryumları. A Kontrol grubu ovaryumu, B DS grubu ovaryumu, C DS-TQ grubu ovaryumu, D TQ grubu ovaryumu. KL korpus luteumu, Ok medullayı göstermektedir. x1. Bar:500 µm.

**Tablo 1**

		Median	Mean	St. Sap	Min	Maximum	p.
Preantral follikül (multilaminer)	Kontrol	419b	428	55	370	524	0.001
Preantral follikül (multilaminer)	SF	425b	441	81	302	549	0.001
Preantral follikül (multilaminer)	DS	354b	355	51	265	411	0.001
Preantral follikül (multilaminer)	DS-TQ	592a	615	72	536	728	0.001
Preantral follikül (multilaminer)	TQ	627a	657	143	489	867	0.001

4 haftalık sıçanlarda ovaryum preantral follikül sayısı, standart sapmaları ve p değerleri.

**Tablo 2**

		Median	Mean	St. Sap.	Min	Max	p.
Preantral follikül (multilaminer)	Kontrol	499a	478	64	402	567	0.001
Preantral follikül (multilaminer)	SF	401b	403	40	358	447	0.001
Preantral follikül (multilaminer)	DS	573a	538	82	426	636	0.001
Preantral follikül (multilaminer)	DS-TQ	293c	293	68	200	387	0.001
Preantral follikül (multilaminer)	TQ	310bc	356	76	283	460	0.001

10 haftalık sıçanlarda ovaryum preantral folikül sayısı, standart sapmaları ve p değerleri.

**Tablo 3**

		Median	Mean	St. Sapma	Min.	Max.	p.
Medulla /korteks hacimin % oranı	Kontrol	18.053b	19.67	5.001	14.03	26.264	0.01
Medulla /korteks hacimin % oranı	SF	18.896b	19.97	5.509	11.23	27.017	0.01
Medulla /korteks hacimin % oranı	DS	28.422a	27.94	8.008	18.63	42.633	0.01
Medulla /korteks hacimin % oranı	DS-TQ	28.764a	31.27	9.552	21.06	47.374	0.01
Medulla /korteks hacimin % oranı	TQ	23.803a	28.65	9.110	19.75	43.098	0.01

10 haftalık sıçanlarda medulla/korteks oranı, standart sapma ve p değerleri

S27

### Sibling Oositlerde HOS t Pozitif İmmotil Sperm Enjeksiyonunun Fertilizasyon Başarısı ve Erken Embriyoner Gelişim Potansiyeline Etkisi

Cihan Çakır<sup>1</sup>, Esra Şen<sup>1</sup>, Işıl Kasapoğlu<sup>2</sup>, Barış Ata<sup>3</sup>, Gürkan Uncu<sup>2</sup>, Berrin Avcı<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi, Bursa.

<sup>3</sup>Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi, İstanbul.

#### Amaç

ICSI sırasında kullanılacak olan sperm in orijini, motilitesi ve viabilitesi fertilizasyon, klinik gebelik ve canlı doğum için kritik rol oynamaktadır. İnfertil erkeklerde tek başına astenospermi prevalansının %19 olduğu, bu oran in oligospermi ve teratospermi ile birlikte %82'ye çıktığı tespit edilmiştir. İmmotil ancak canlı sperm seçimi için çeşitli yöntemler tanımlanmış olup WHO hipo-osmotik şişme testi (HOS t) önermektedir. Bu çalışmada ICSI sikluslarında immotil ancak canlı sperm seçiminde HOS t uygulanabilirliğinin ve güvenilirliğinin farklı subgrup sperm örneklerinde (fresh/cryo ve ejakulat/TESE) değerlendirilmesi ve karşılaştırılması hedeflenmiştir.

#### Gereç ve Yöntemler

Çalışma kapsamında retrospektif olarak, Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezinde 2011-2017 yılları arasında gerçekleştirilen 49 siklusdan elde edilen 491 oosit in ICSI sonuçları değerlendirilmiştir. Çalışmanın dahil edilme kriterleri izole erkek faktör etyolojisi, total motil sperm oranı <%10 ve kadın yaşı <39 olarak belirlendi. Aynı hastaya ait kardeş (sibling) oositlerde hem motil hem de immotil sperm ICSI sonuçlarını karşılaştırabilmek için, sadece total oosit sayısının total motil sperm sayısından fazla olduğu ICSI siklusları çalışmaya dahil edildi. ICSI sırasında kullanılan sperm in motil (Grup-1) veya immotil HOS t reaktif (Grup-2) olmasına göre 2 ana grup oluşturuldu. Her grup kullanılan sperm örneğine (fresh/cryo) ve orijinine (ejakulat/TESE) göre 4 alt gruba ayrıldı. Fertilizasyon, implantasyon, canlı doğum, klivaj ve blastosist kalite skorlaması değerlendirildi.

#### Bulgular

Total fertilizasyon oranı %43 (n=211) olarak saptandı. Grup-1 (%47.5, n=105) ve Grup-2 (%39.4, n=106) arasında fertilizasyon başarısında anlamlılık görülmedi. Ejakulat alt gruplarında fresh/HOS t reaktif sperm in fertilizasyon oranının, cryo/HOS t reaktif sperm in istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi (%46.2 vs %10.0, p=0.02). Ancak TESE alt gruplarında fresh ile cryo HOS t reaktif sperm arasında fertilizasyon başarısında anlamlılık saptanmadı (%50.4 vs %43.3, p=0.42). ICSI sırasında motil ve immotil HOS t reaktif sperm kullanımı ile elde edilen embriyoların klivaj ve blastosist kalite skorlamaları değerlendirildiğinde 2 grup arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı. Transfer edilen embriyo sayısına bakıldığında (n=74), Grup-1 (%51.4, n=38) ile Grup-2 (%48.6, n=36) arasında anlamlılık bulunmadı (p=0.26). Fresh/immotil HOS t reaktif/TESE sperm ile 4 canlı doğum gerçekleşirken ve fresh/motil/TESE sperm ile 1 klinik gebelik elde edildi.

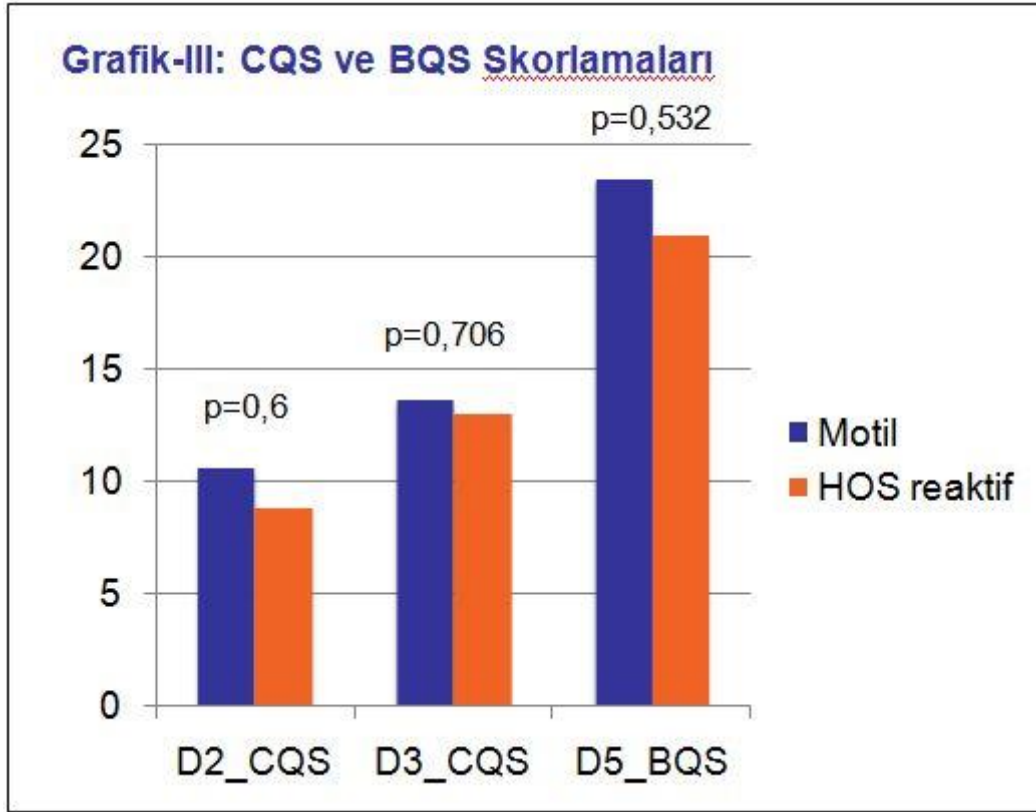
#### Sonuç

ICSI sikluslarında motil sperm ya da HOS t reaktif immotil sperm kullanımı arasında klinik sonuç açısından fark bulunmamaktadır. Cryo testiküler sperm örneğinin aksine, cryo ejakulat sperm örneğinde HOS t'nin sperm canlılığı için sensitivitesinin düşük olduğu tespit edildi. Ejakulat sperm in immotilite fertilizasyon başarısı ile direk ilişkili görülmüştür. Epididimal maturasyonu tamamlanmamış ve fertilizasyon kapasitesi düşük immotil ejakulat sperm inin ICSI'de kullanılması fertilizasyon başarısını olumsuz etkilemektedir. Testiküler sperm de motil sperm ve HOS t reaktif sperm in fertilizasyon ve klinik başarısı benzer sonuç vermektedir.

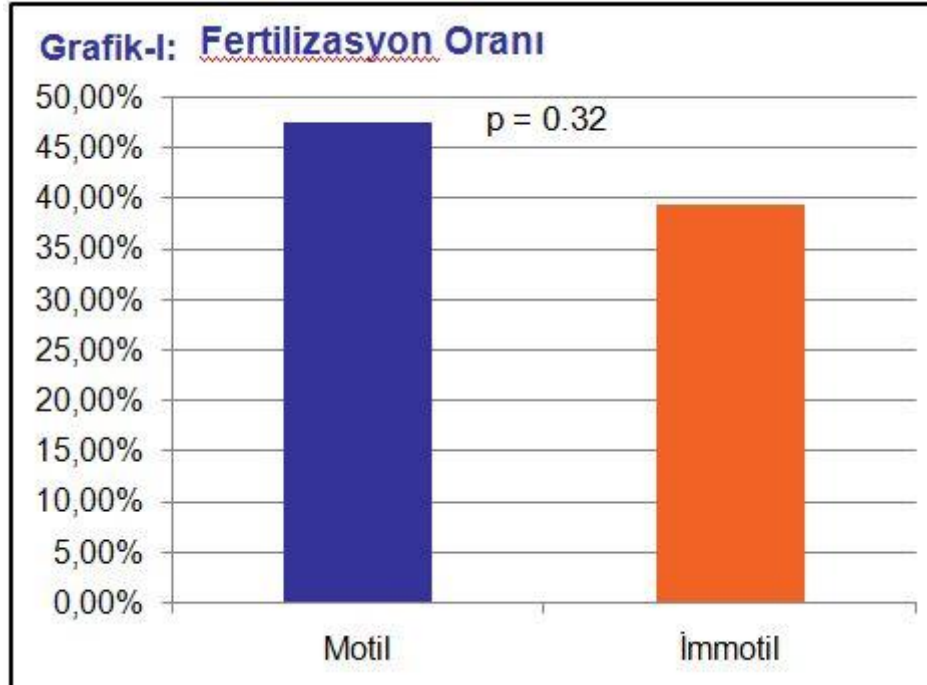
**Anahtar Kelimeler:** Hipo-osmotik şişme testi, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu, immotil sperm, sibling oosit



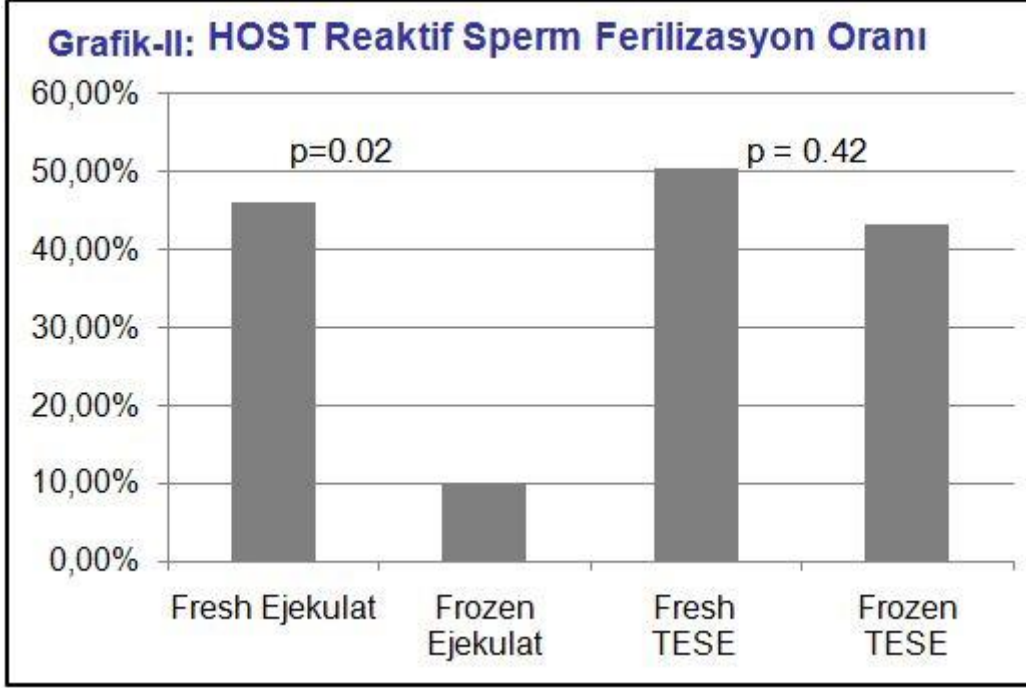
### CQS ve BQS Skorumaları



### Fertilizasyon Oranı



### HOST Reaktif Sperm Ferilizasyon Oranı



S28

**CD133+/ CD44+/low Prostat Kanseri Kök Hücrelerinde Versikan'ın 'Splicing' Varyantlarının Araştırılması**Şule Ayla<sup>1</sup>, İlknur Keskin<sup>1</sup>, Cüneyd Parlayan<sup>2</sup><sup>1</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul; Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul.<sup>2</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi Doğa Bilimleri ve Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendislik Anabilim Dalı, İstanbul; Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul**GİRİŞ**

Devam eden birçok araştırmaya ve geliştirilen ilaçlara rağmen günümüzde kanser hala milyonlarca insanın ölümüne sebep olan hastalıkların başında gelmektedir. Heterojen bir hücre topluluğundan meydana gelen kanser kitlesinde hücrelerin çok küçük bir kısmını, yüksek kanserleşme özelliğinde ve az farklılaşmış hücreler olan Kanseri Kök Hücre'leri (KKH) oluşturmaktadır. Normal kök hücrelere benzer şekilde kendini yenileme ve farklılaşma özellikleri gösteren bu hücreler kanserde habis progresyondan sorumlu olan ve tedaviye yanıtı değiştiren hücreler olarak bilinmektedirler. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, tedavide KKH ve bağlı bulunduğu moleküler sinyalizasyonların anlaşılması planlanmıştır. Versikan (VN) insanda birçok dokuda bulunan ekstrasellüler matriks proteindir. Kanseri tipine bağlı olarak versikan kanseri hücrelerinin kendisinden ya da stromal hücrelerden eksprese edilebilir. VN invazyon ve metastazın gösterilmesinde hücre adhezyonu, proliferasyonu, migrasyon ve angiogenezinde belirgin bir rol oynar. Bununla beraber VN'in hücre fenotipinin düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğu belirlenmiştir. VN ekspresyonu proliferatif hücre fenotipi ile ilişkilidir ve sıklıkla yüksek proliferasyon gösteren tümör çeşitlerinde ve gelişiminde meme, beyin, prostat ve melanoma dokusunda sıklıkla bulunur. VN seviyelerinin artışı ile kanserin ilerlemesi arasındaki ilişki kanseri hücrelerinin motilitesi ve invazyonunu desteklemesi açısından önemlidir ve bu hipotez VN üzerinde fonksiyonel çalışmaların artması gerekliliğini desteklemiştir. Reverse transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu, northern blot analizi ve cDNA Dizilendirme ile V0, V1, V2 ve V3 sekinde mRNA versikanın 4 adet "splicing paterni" gösterilmiştir (1).

**AMAÇ**

Bu çalışmada amaç Prostat Kanseri Kök Hücre (KKH)'lerinin patogenezinde VN molekülünün "splice" (isoform) varyantlarının olası rolünün ortaya konulmasıdır.

**BULGULAR VE SONUÇLAR**

Araştırmada RWPE1 normal prostat hücre hattı ve DU 145 insan prostat kanseri hücre hattı kullanılarak, flowcytometry (akım sitometri) cihazı ile CD133+/ CD44+/low yüzey antijenlerine göre, prostat KKH ve kalan hücre grubu yani non-KKH (bulk population) izole edilmiş ve tüm grupların RNA izolasyonları yapılarak ve splicing varyantları için İllumina NextSeq 500 dizileme sistemi ile sekans analizleri yapılmıştır. Biyoinformatik değerlendirme ile sonuç analizleri gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen sonuçlar tümör farklılaşmasında ve ilerlemesinde versikanın özellikle VN0 ve VN1 isoformları ile prostat kanseri kök hücresinde etkin olduğu gözlenmiştir.

**Kaynak:**

1.Nishida-Aoki, N., Ochiya, T., 2015. 'Interactions between cancer cells and normal cells via miRNAs in extracellular vesicles'. Cell Mol Life Sci 72(10), 1849-1861

**Anahtar Kelimeler:** Prostat kanseri, kanseri kök hücresi, versikan, adezyon molekülleri

S29

**Prenatal dönemde kablosuz internete maruz bırakılan sıçanların hipokampal dentat girus granüler hücre sayısına etkilerinin stereolojik yöntemlerle incelenmesi**

Büşranur Özalper, Murat Çetin Rağbetli

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Van

**Amaç:** Çalışmamızın amacı bazı üçüncü nesil cep telefonlarında mevcut olan ve internete bağlantı imkânı sağlayan Wi-Fi'nin prenatal dönemde sıçan beyin hipokampusundaki girus dentatus granüler hücre sayısına etkilerini stereolojik metotla araştırmaktır. Kaynak taramamıza göre dünyada bu metotla dentat granüler hücreleri üzerine Wi-Fi'nin etkisini araştırarak ilk çalışma olduğundan orijinallik arz etmektedir.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmamızda ortalama 220 g ağırlığında, üreme döneminde, sağlıklı 9 dişi ve 3 erkek Wistar-Albino cinsi sıçan rastgele kullanıldı. Çiftleştirilen albino sıçanlar gebelikleri boyunca Wi-Fi'ye maruz bırakıldı. Wi-Fi sisteminden gelen radyofrekans dalgalarının frekans verifikasyonu spectrum analizörü ile ölçüldü. Doğumdan bir ay sonra her gruptan 6, toplamda 12 adet sıçan perfüzyon ve anestezi altında sakrifiye edildi. Kafatasları açılarak beyinleri çıkarıldı ve granüler hücrelerin sayımı için rutin takibe alındı. Belirlenen stratejik kesitler 5 µm kalınlığında her 45. kesit çifti alınarak Hematoksilen-Eozin ve Cresyl Viole ile boyandı. Stereolojinin Disektör-Cavalieri kombinasyonu metodu ile granüler hücreler sayıldı. Sayım sonuçları için Man-Whitney-U istatistik metodu kullanıldı.

**Bulgular-Sonuç:** Çalışmada gebelik süresince Wi-Fi'ye maruz bırakılan ve kontrol grubu sıçanların bir aylık yavrularının dentat girus granüler hücrelerini sayıldı. Veriler non-parametrik olarak Man Whitney-U testi ile karşılaştırıldı. İki grup N değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu ( $p>0.05$ ).

**Tartışma:** Prenatal dönemde Wi-Fi'nin granüler hücre sayısını arttırdığını ancak bunun istatistiksel açıdan anlamlı olmadığını gözlemlendi. Wi-Fi'nin stereolojik ve istatistik açıdan hipokampus girus dentatus granüler hücrelerine sayısal bir etkisi olmamasının sebebi Wi-Fi'den gelen radyofrekans radyasyonun non iyonize olmasından kaynaklanmış olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Gebelik, Granüler Hücre Sayısı, Sıçan, Stereoloji, Wi-Fi

S30

### **Koyun İleal Peyer Plaklarında Prenatal ve Postnatal Gelişimsel Çalışmalar**

Mehmet Özbek<sup>1</sup>, Alev Gürol Bayraktaroğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji&Embriyoloji Anabilim Dalı, Burdur

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji&Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Bu çalışma prenatal ve postnatal dönemdeki koyun ileal Peyer plakları gelişimini histomorfolojik ve immunohistokimyasal tekniklerle (CD4+ ve CD8+ hücre dağılımı, proliferasyon ve apoptozis ve M hücrelerinin morfolojisini ve sitokeratin 18 (CK18) ekspresyon profili açısından) ortaya koymak amacıyla yapıldı.

**GEREÇ ve Yöntemler:** Materyal olarak mezbahalardan sağlanan, değişik gelişme dönemlerindeki Akkaraman ırkına ait 34 fötüs ve 6 adet yetişkin koyundan alınan ileum dokuları kullanıldı.

**Bulgular:** Peyer plakları, gebeliğin erken evrelerinde primordial dom ve folikül yapısı gösteren taslaklar şeklinde iken, gelişim sürecinde gebeliğin son döneminde ise dom, korona, interfoliküler alan ve sentrum germinativum yapısı gösteren olgun forma dönüştüğü gözlemlendi. Postnatal dönemin ilerleyen evresinde, foliküllerin submukozadaki kısmında hücrel populasyon azalarak submukozadan lamina propriyaya doğru bir çekildiği tespit edildi. CD4+ ve CD8+ gebeliğin erken döneminde bağ dokuda soliter tarzda, Peyer plakları taslaklarının şekillenmesi ile primordial foliküllerde gruplar halinde interfoliküler bölgede yoğunlaştığı belirlendi. Postnatal dönemde CD4+ ve CD8+ hücrelerin yoğun olarak interfoliküler bölge, dom bölgesi ve lamina propriyada yerleşim gösterdiği, CD4+ hücrelerin semikantitatif olarak CD8+ hücrelerden fazla olduğu gözlemlendi. Prenatal dönemde folikül bölgesi yoğun olarak hem proliferasyon hem de apoptozis gösteren bölgeydi. FAE (Follicle-Associated Epithelium)'deki hücrelerde prenatal dönemde CK18 ekspresyonu gözlenmiş, bu ekspresyonun gebeliğin sonuna doğru arttığı, postnatal dönemde ise kaybolduğu belirlendi.

Ultrastruktürel olarak M hücrelerinde, prenatal dönemin ilk evrelerinde mikrofollara rastlanmazken; prenatal dönemin sonuna doğru ve postnatal dönemde hücrelerin boylarının daha prizmatikleştiği ve apikalinde mikrofollların belirginleştiği dikkat çekti.

**Sonuç:** Koyunlarda ekzojen antijenik uyarıya bağımlı olmaksızın ileal Peyer plaklarının gelişiminin prenatal dönemde gerçekleştiği, foliküllerde yoğun lenfoproliferasyon ve apoptozis, postnatal dönemin ilerleyen safhalarında involusyonun şekillendiği tespit edildi. CD4+ ve CD8+ hücrelerin gebeliğin son trimesterinde peyer plaklarındaki dağılımı postnatal dönemdekine benzediği belirlendi. CK18'in prenatal dönemde FAE için spesifik bir intermedyer filaman olduğu ilk kez gösterildi

**Anahtar Kelimeler:** CK18, CD4, CD8, fetus, M cell

## S31

**DeneySEL PKOS modelinde resveratrol ve metforminin ovaryum üzerindeki etkilerinin immünohistokimyasal, biyokimyasal ve ultrastrüktürel incelenmesi**

Selenay Furat Rençber<sup>1</sup>, Sema Kurnaz Özbek<sup>1</sup>, Elif Güzel Meydanlı<sup>2</sup>, Zehra Sezer<sup>2</sup>, Ceyla Eraldemir<sup>3</sup>, Tuğba Kum<sup>3</sup>, Süreyya Ceylan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kocaeli

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı

<sup>3</sup>Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Kocaeli

**AMAÇ**

PKOS (Polikistik Over Sendromu), u rreme çağ ında kadınlar da en yaygın go ru len endokrin ve metabolik bozukluklardan biridir ve sıklıkla insülin direnci, hiperandrojenizm, kronik inflamasyon ve oksidatif stresle ilişkilendirilmiştir. Resveratrol, antioksidant ve antiinflamatuvar o zellikleri bulunan doğal bir polifenoldür. Metformin ise Tip II diyabet tedavisinin yanı sıra son dönemlerde PKOS tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Bu çalışmanın amacı PKOS tedavisinde resveratrolu n tek başına ve metforminle birlikte ovaryum u nderindeki etkisini biyokimyasal, ışık ve elektron mikroskopik açılardan incelemektir.

**GEREÇ ve YÖNTEMLER**

63 adet Wistar albino ırkı dişi sıçan(21 günlük, 35-40 gr) kontrol (n=9) ve deney grubu (n=54) olmak üzere ikiye ayrıldı. PKOS modeli oluşturulan deney grubu daha sonra randomize 6 gruba ayrıldı: Grup 1 (20 mg/kg/gün resveratrol i.p), Grup 2 (300 mg/kg/gün metformin o.g), Grup 3 (resveratrol+metformin), Grup 4 (resveratrol çözücüsü %5 etanol i.p), Grup 5 (metformin çözücüsü salin o.g). Deney süresinin sonunda ovaryum ve vücut ağırlıkları ölçüldü. Kalpten alınan kan örneklerinde FSH, LH, AMH, Testosteron, MDA ve TNF- $\alpha$  seviyeleri ölçüldü. Ovaryumlar ışık ve elektron mikroskopik olarak incelendi. Işık mikroskopik inceleme için alınan kesitlerde ovaryum histopatolojisi ve folikül sayımı değerlendirildi, SIRT1 ve AMPK immü nreaktivitesi skorlandı ve apoptotik indeks hesaplandı. Elde edilen veriler SPSS programı ile istatistiksel olarak analiz edildi.

**BULGULAR**

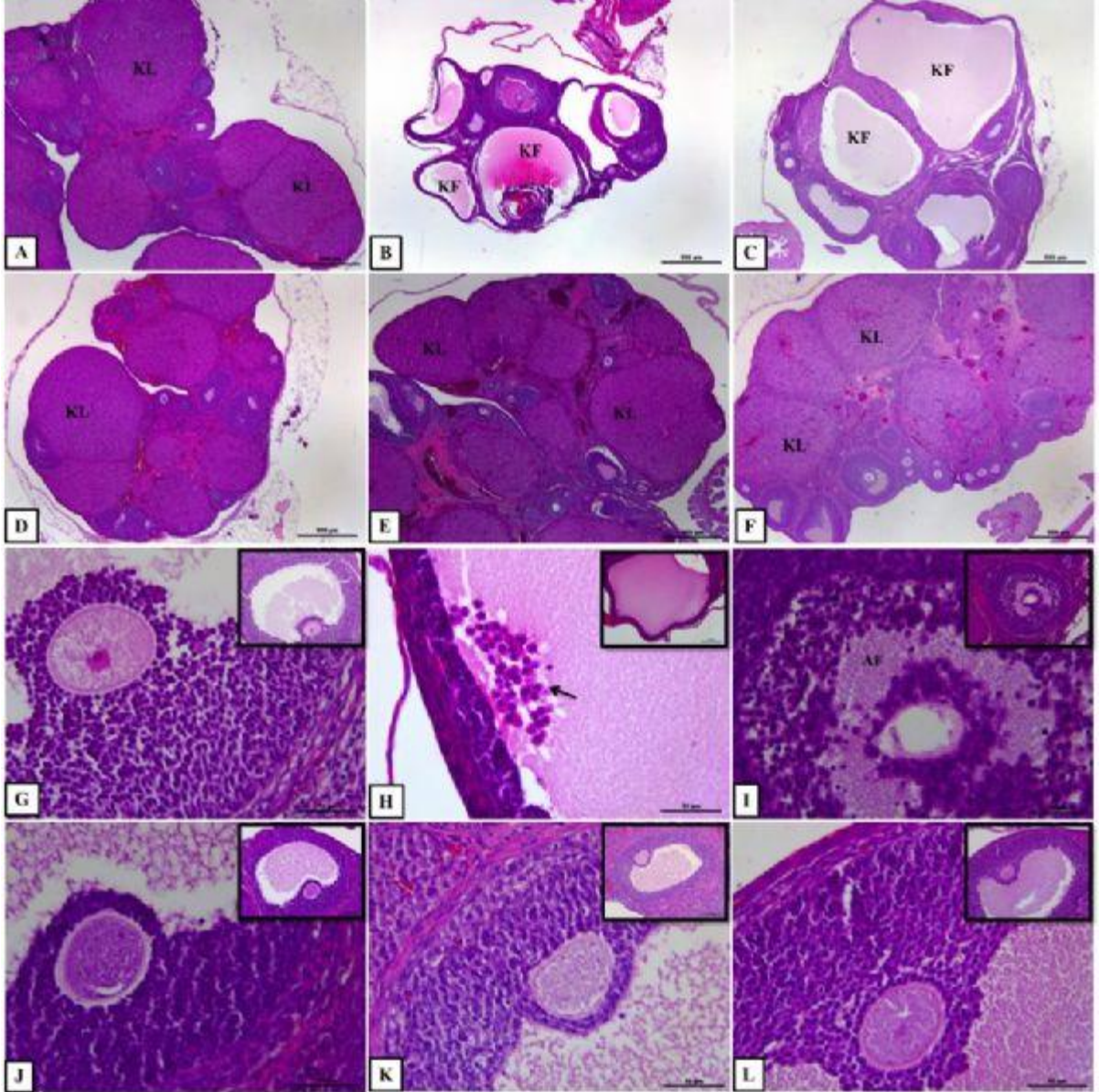
Vücut ve ovaryum ağırlığı metformin ve kombine tedavi grubunda PKOS grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır. Serum testosteron seviyesi PKOS grubunda kontrole göre anlamlı artış göstermiştir ancak bu artış tedavi gruplarında özellikle resveratrol grubunda azalmıştır. PKOS ile indüklenen artmış FSH, LH, LH/FSH, TNF- $\alpha$  ve doku AMH seviyesi tüm tedavi gruplarında düşürülmüştür. Ancak metformin PKOS grubunda artan MDA ve plazma AMH seviyesini düşürememiştir. Resveratrol ve/veya metformin PKOS grubunda artmış olan sekonder ve atretik folikül sayısını azaltmış, Graaf folikül sayısını ise arttırmıştır. Işık ve elektron mikroskopik bulgular da folikül sayımını desteklemiştir. PKOS grubunda artmış olan TUNEL (+) granüloza hücre sayısı tüm tedavi gruplarında azalmıştır. Resveratrol ve metformin PKOS grubuna kıyasla sırasıyla SIRT1 ve AMPK immü nreaktivitesini arttırmıştır.

**SONUÇ**

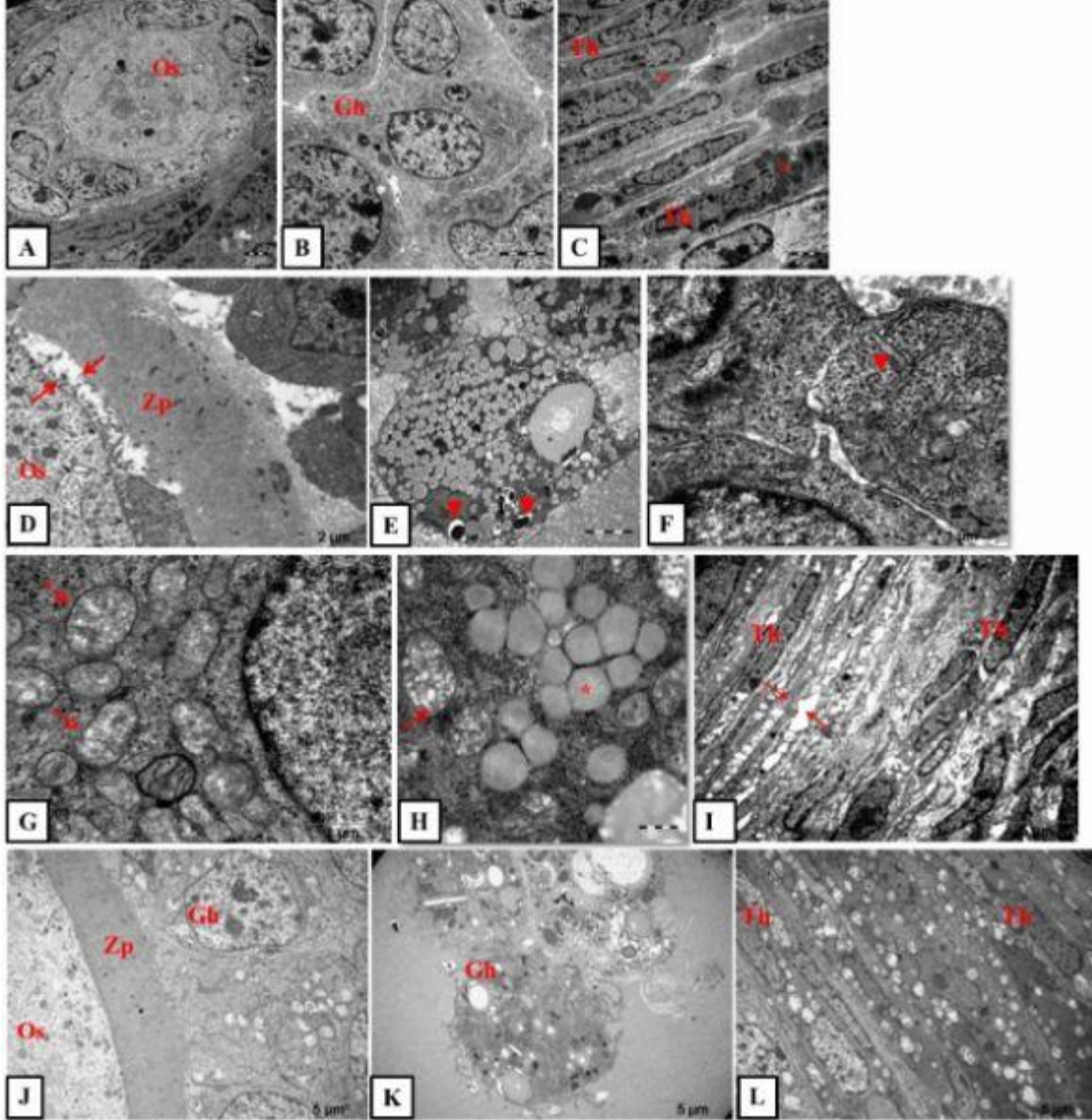
Bu çalışma PKOS tedavisinde resveratrol ve metforminin denendiği ilk çalışmadır. Elde edilen sonuçlar, resveratrol ve metforminin PKOS'ta görülen ağırlık artışı, anormal hormonal profil ve bozulan foliküler hücre yapısını SIRT1 ve AMPK aktivasyonu, antioksidan ve antiinflamatuvar sistemleri indükleyerek iyileştirmiş olabileceğini düşündürmüştür. Çoğu parametre açısından resveratrol ve metformin arasında anlamlı fark olmaması ve hatta bazı parametrelerde resveratrolün daha üstün olması, önemli infertilite nedenlerinden sayılan bu hastalığın tedavisinde resveratrolün metformine alternatif olabileceğine veya metformin dozunun düşürülerek birlikte kullanımın daha etkili olabileceğine işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** inflamasyon, metformin, oksidatif stres, PKOS, resveratrol

**Kontrol ve deney gruplarına ait histopatolojik değişimleri gösteren ovaryan kesitler**



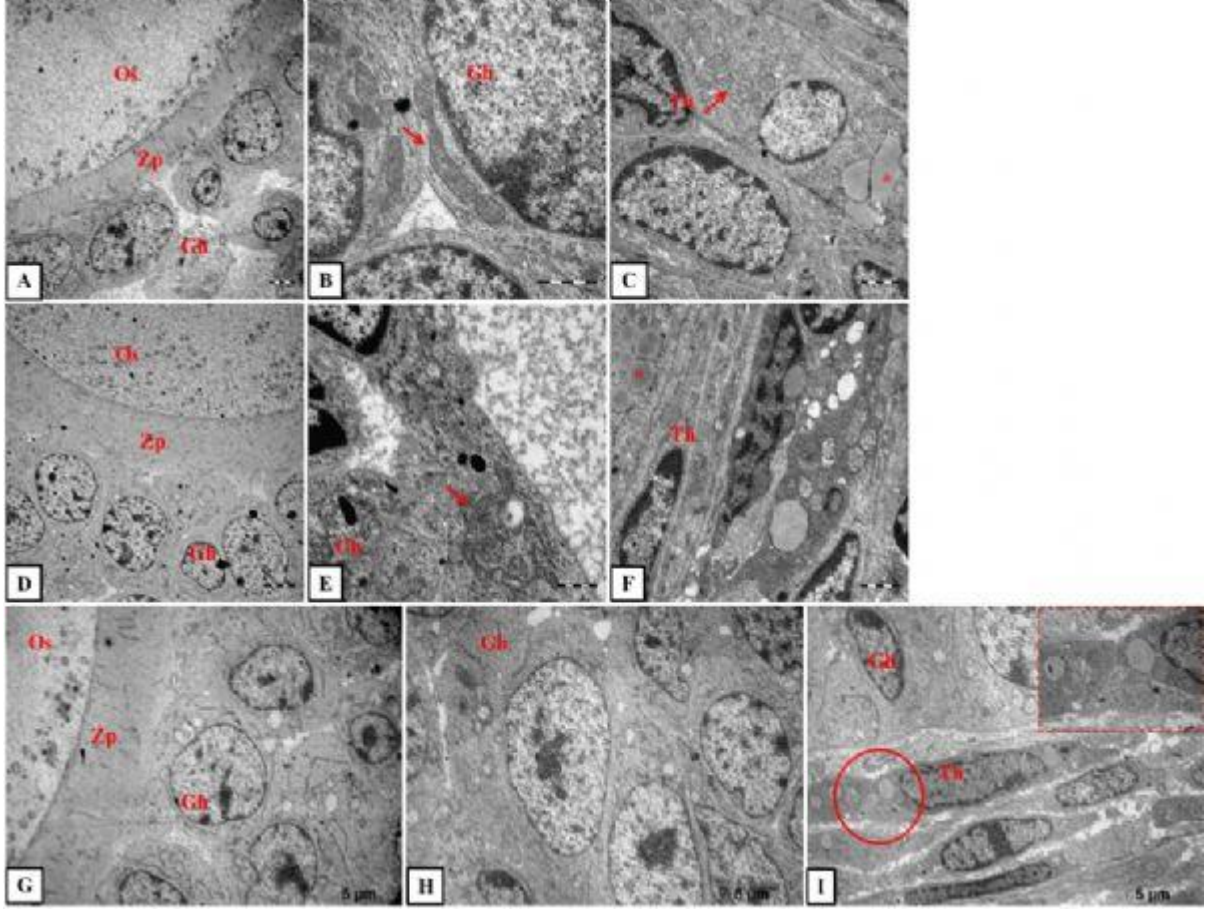
A. Kontrol, B. PKOS, C. Çözücü, D. Resveratrol, E. Metformin ve F. Resveratrol+Metformin. G-L, sırasıyla bu gruplardaki foliküllerin daha yüksek büyütmesini göstermektedir. AF: Atretik folikül, KF: Kistik folikül, KL: Korpus luteum. A-F, 4X; G-L, 40X. H&E.

**Kontrol ve deney gruplarına ait TEM fotomikrografları**

A-C, kontrol; D-I, PKOS ve J-L, çözücü gruplarına ait foliküllerde oosit, granuloza ve teka hücrelerini göstermektedir. Ok, perivitellin (D) ve interselüler alanda (D-I) artışı; okbaşı, genişlemiş sER (F) ve otofagozomları (F); kesintili ok, dejenere mitokondriyi; \*, lipid damlacıklarını işaret etmektedir. Os: oosit, Gh: granuloza hücresi, Th: Teka hücresi, Zp: zona pellusida. Uranil asetat ve kurşun sitrat.



**Tedavi gruplarına ait TEM fotomikrografları**



A-C, resveratrol; D-F, metformin; G-I, resveratrol+metformin gruplarına ait foliküllerde oosit, granüloza ve teka hücrelerine ait TEM fotomikrograflarını göstermektedir. Ok, normal kristaya sahip sağlıklı mitokondriyi;\*, lipid damlacıklarını işaret etmektedir. Os: oosit, Gh: granüloza hücresi, Th: teka hücresi, Zp: zona pellusida. Uranil asetat ve kurşun sitrat.

S32

### **Yüksek Dereceli Over Seröz Karsinomlarında Lenf Nodu Tutulumu Olan ve Olmayan Olgularda Apelin ve APJ Reseptörü Doku Dağılımlarının Araştırılması**

Işık Ünal<sup>1</sup>, İman Rezazadeh Khiavi<sup>2</sup>, Gözde Elif Taşar<sup>3</sup>, Dinçer Göksülük<sup>4</sup>, Gökhan Boyraz<sup>5</sup>, Nejat Özgül<sup>5</sup>, Alp Usubütün<sup>3</sup>, A. C. Sinan Yürüker<sup>6</sup>, N. Dilara Zeybek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Ankara

<sup>5</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara

<sup>6</sup>Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Uşak

**Giriş:** Over kanseri ileri evrede tanı alması ve yüksek mortalite oranları nedeniyle önemli bir sağlık sorunudur. En sık görülen alt tipi olan seröz karsinom, ileri evrede ve uzak metastaz/lenf nodu metastazı olduktan sonra saptanabilmektedir. Lenfatik invazyon ve anjiyogenez üzerinde etkili faktörler arasında sayılan ve son yıllarda obezite ve diyabetle de ilişkili bir adipokin olan apelin molekülü ile reseptörü APJ, seröz over karsinomlarındaki lenf nodu tutulumu üzerinde etkili olabilir.

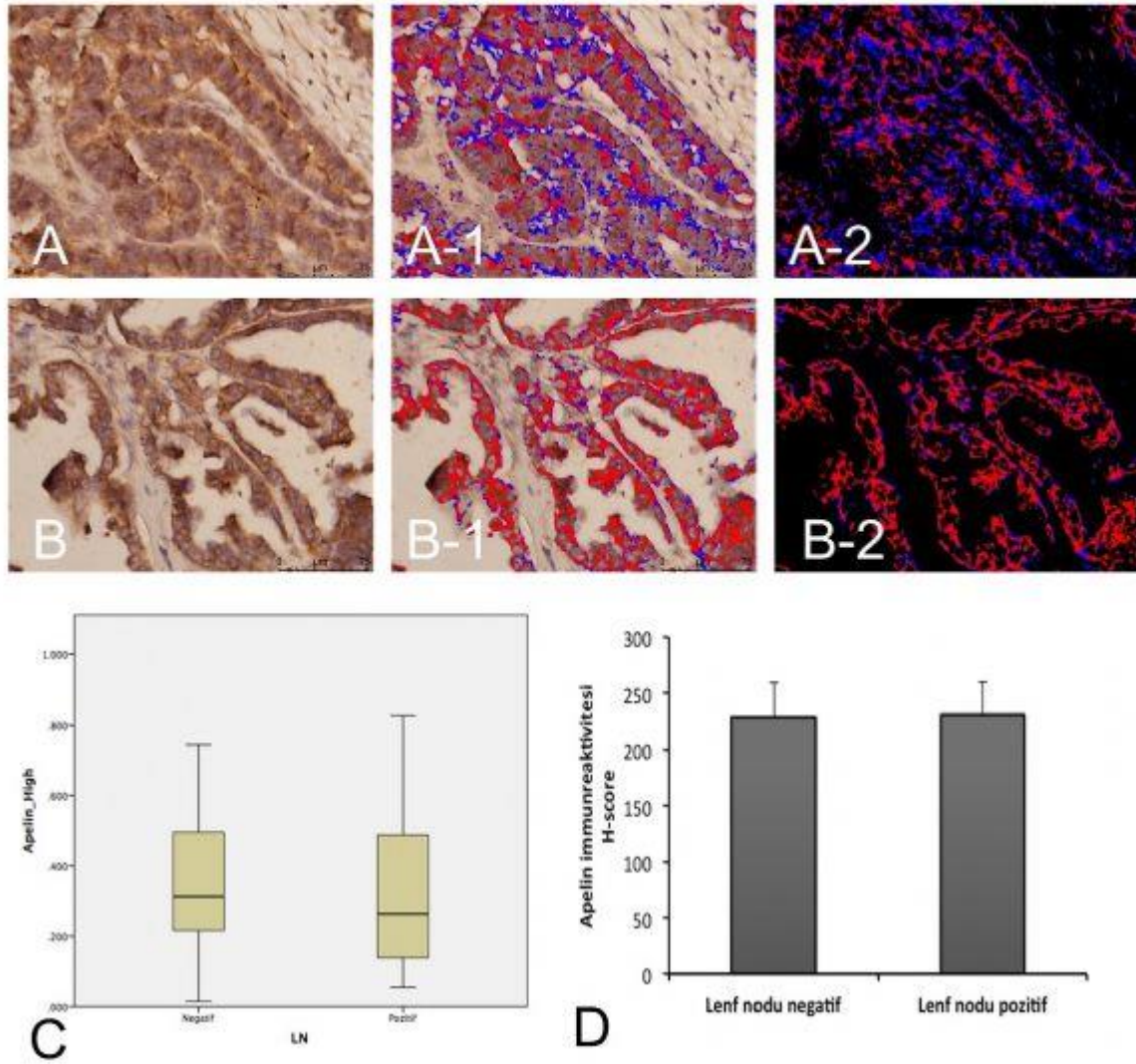
**Gereç-Yöntem:** Çalışmamızda yüksek dereceli seröz karsinom olgularında yaş, vücut kitle indeksi, sağ kalım oranları gibi demografik veriler yanısıra tümör/stroma oranı, apelin ve APJ immünreaktivitesinin lenf nodu tutulumu ile ilişkisi araştırıldı. Bu amaçla, indirekt immünperoksidaz yöntemi ile işaretlenen kesitler MATLAB analizi ile değerlendirildi. Demografik veriler ve MATLAB analizi sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Obez ve preobez olan hastalarda, tümör hücrelerinde apelin immünreaktivitesi vücut kitle indeksi normal olan hastalardan daha şiddetli olarak saptandı. Bu bulgu preobezlerde istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.05$ ). Tümör/stroma oranı değerlendirildiğinde stromadan zengin grupta lenf nodu tutulumu oranının daha yüksek olduğu ve sağ kalım oranının daha düşük olduğu saptandı. Lenf nodu tutulumu olan ve olmayan grupların her ikisinde de H-skoruna göre şiddetli apelin (Şekil 1) ve orta derecede APJ immünreaktivitesi saptandı. Gruplar arasında istatistiksel fark bulunmadı.

**Sonuç:** Bu çalışma sonucunda seröz karsinom olgularından obez ve preobez olanlarda, tümör hücrelerinde artmış apelin immünreaktivitesi ilk kez ortaya konmuştur. Çalışmamızda immünreaktivitenin değerlendirilmesinde kullanılan bilgisayar tabanlı görüntü analiz sistemi MATLAB daha ileri çalışmalarla geliştirildiğinde, kanser araştırmalarında ve doku düzeyinde değerlendirmeler için yararlı ve daha objektif veriler sağlama potansiyeli taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Seröz over kanseri, lenfatik invazyon, MATLAB, apelin, APJ reseptörü

Şekil 1



Tümör dokusunda apelin immünreaktivitesi A-A2) Lenf nodu tutulumu olan B-B2) Lenf nodu tutulumu olmayan gruplarda şiddetli ve orta şiddette apelin immünreaktivitesi (A-D:İndirekt immünperoksidaz x400), C) Şiddetli apelin immünreaktivitesi yüzdelerinin gruplar arası dağılım grafiği D) Apelin immünreaktivitesi için gruplarda H skoru grafiği

S33

**Embriyonik poli(A)-bağlanma proteini (EPAB), fare oosit ve erken dönem embriyolarda farklı düzeylerde eksprese edilir ve belirli mRNA'lar ile ilişki kurar**Fatma Uysal<sup>1</sup>, Saffet Öztürk<sup>2</sup><sup>1</sup>Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

**Amaç:** Embriyonik poli(A)-bağlanma proteini (EPAB), oosit olgunlaşması, fertilizasyon ve erken dönem embriyo dönemlerinde kullanılan maternal mRNA'ların translasyonel kontrol süreçlerinde görev yapmaktadır. Bu görevleri yapabilmek için EPAB, maternal mRNA'ların poli(A) kuyruğuna ve AU-zengin bölgeye bağlanmaktadır. Memeli EPAB proteinine özgü bir antikor olmaması nedeniyle, Epub geni ile ilgili gerçekleştirilmiş tüm çalışmalar mRNA düzeyindedir. Bu proje çalışmasında, EPAB proteinine özgü antikor üretilmesi ve bu proteinin fare dokularında ve oosit ile erken dönem embriyolardaki ekspresyonel dağılımı ve hücre içi yerleşiminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, EPAB proteininin oosit ve erken dönem embriyolarda ilişki kurduğu mRNA'ların tanımlanması da planlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** EPAB proteinine karşı poliklonal antikor üretimi TÜBİTAK-MAM ile ortak işbirliği çerçevesinde gerçekleştirildi. Fare gonadal (testis ve ovaryum) ve somatik (mide, karaciğer, kalp ve ince bağırsak gibi) dokuları, 6-haftalık dişi ve erkek farelerden elde edilip, rutin parafin takipleri ve hematoksilin-eozin boyamaları gerçekleştirildi. EPAB ve yüksek homoloji gösterdiği poli(A) bağlanma proteini sitoplazmik 1 (PABPC1) proteinlerin fare dokuları ile süperovulasyonla elde edilen oosit ve erken dönem embriyolarda immünohistokimya, immünfloresan ve Western blot teknikleri ile analiz edildi. Ayrıca, EPAB ilişkili mRNA'lar, RNA immünpresipitasyon ve gerçek zamanlı PCR uygulamaları ile belirlendi.

**Bulgular-Sonuç:** EPAB proteini, mRNA sonuçları ile uyumlu olarak sadece fare ovaryum ve testis dokularında eksprese edildiği; somatik dokularda (mide, karaciğer, kalp ve ince bağırsak vb.) eksprese edilmediği gözlenmiştir. EPAB protein ekspresyonu, GV oositinden 2-hücreye embriyoya doğru kademeli ve anlamlı olarak azalmış ve 4-hücreli embriyoda ise belirgin düzeyde artmıştır ( $P<0.05$ ). PABPC1 proteini ise GV oositinden 1-hücreli embriyoya doğru artmış ve 2-hücreli embriyoda belirgin azalmış, fakat 4-hücreli embriyoda tekrar yükselmiştir ( $P<0.05$ ). Çalışma kapsamında EPAB proteininin Epub, Pabpc1, Ccnb1, Gdf9 and Bmp15 mRNA'larına oosit ve erken dönem embriyolarda ilişki kurduğu ilk defa ortaya konulmuştur.

**Tartışma ve Sonuç:** Bu çalışmada, EPAB proteine özgü antikor üretimi ve oosit ile erken dönem embriyolardaki ekspresyonu ve ilişki kurduğu mRNA'ları ilk defa belirlenmiştir. EPAB'ın PABPC1 proteini ile birlikte oogeneze ve erken dönem embriyolardaki mRNA'ların translasyonel kontrollerinde önemli görevleri olduğu düşünülmektedir. EPAB proteininin, oosit ve erken dönem embriyolardaki moleküler biyolojik rollerinin belirlenmesine yönelik yeni çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** EPAB, oosit, embriyo, translasyon, antikor

S34

**Leptinin Spermatogonyal Kök Hücreler Üzerindeki Proliferatif Etkisi**Nilgün Yersal<sup>1</sup>, Sevil Köse<sup>2</sup>, Utku Horzum<sup>3</sup>, Güneş Esendağlı<sup>3</sup>, Sinan Özkavukcu<sup>4</sup>, Petek Korkusuz<sup>1</sup><sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, Ankara<sup>2</sup>Atılım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik ABD, Ankara<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji ABD, Ankara<sup>4</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Ankara

**GİRİŞ:** Çocukluk çağı kanserlerinde, prepubertal dönemde olmaları nedeniyle, bu hastalardan sperm eldesi mümkün değildir. Bu nedenle fertilizasyonunun devamını sağlamak amacıyla spermatogonyal kök hücrelerin (SKH) sayıca ve fonksiyonel olarak korunması, hastaların kanser tedavisi sonrası kendi biyolojik çocuklarına sahip olabilmeleri için tek yoldur. Spermatogonyal kök hücreleri destekleyen niş hücreleri çeşitli faktörler salgılayarak bu hücrelerin sayıca ve fonksiyonel olarak korunmasını sağlamaktadır. Epididimal yağ dokusu (EYD) da çeşitli bilinmeyen faktörler salgılayarak spermatogenezi desteklemektedir. Leptin, başlıca beyaz yağ dokusundan salgılanan, erkek genital sisteminde EYD hücreleri ve spermatogenik hücrelerde sentezlenebilen, endokrin, parakrin ya da otokrin yolla enerji metabolizması ve üreme işlevlerini düzenleyen bir hormondur. Leptinin çeşitli hücreler üzerindeki proliferatif etkisi ve reseptörlerinin SKH üzerindeki varlığı leptinin bu hücreler üzerindeki proliferatif etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmadaki amacımız, SKH'lerin 6 günlük C57BL/6 farelerden izole edilmesi, kültüre edilmesi ve leptin ile bu hücrelerin proliferasyonunun sağlanmasıdır.

**Materyal-Metod:** Spermatogonyal kök hücrelerin izolasyonunda, 5 adet 6 günlük C57BL/6 fare testisleri enzimatik sindirim ile sindirildikten sonra, hücre süspanyonu filtreden geçirildi. Percoll gradienti ile hücrelerin ayrılmasından sonra, MACS yöntemi ile Thy-1.2 (+) hücreler seçildi. Seçilen hücreler Mitomycin-C ile inaktive edilen embriyonik fare fibroblastlarının üzerinde kültüre edildi. Oluşan koloni sayısı ve bu kolonilerin çapları belirlenerek leptinin proliferatif etkisi değerlendirildi.

Kültüre edilen SKH'lerin kök hücre olma özelliklerini sürdürüp sürdürmediği indirekt immunofloresans yöntemi, akım sitometri ve alkalen fosfataz boyama ile değerlendirildi. **Sonuçlar:** Spermatogonyal kök hücreler 6 günlük C57BL/6 farelerden başarılı bir şekilde izole edildi. Leptin verilen grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında 7. günde koloni sayılarının ve oluşan koloni çaplarının leptin verilen grupta daha yüksek olduğu gözlemlendi. Başarılı bir şekilde kültüre edilen SKH'lerin 1 hafta sonunda kök hücre olma özelliklerini sürdürdüğü indirekt immunofloresans yöntemi ile Thy-1.2 (+) hücrelerin ve akım sitometri ile plzf(+), c-kit(-) hücrelerin gösterilmesi ile doğrulandı. Aynı zamanda 1 hafta kültür sonunda alkalen fosfataz boyama yapılarak bu hücrelerin kök hücre olma özelliklerini sürdürdükleri gösterildi.

**TARTIŞMA:** Bu çalışmada, başarılı bir şekilde 6 günlük yeni doğan farelerden SKH'ler izole edilerek hücrelerin proliferasyon kapasitelerinde artış, kültür medyumuna çeşitli büyüme faktörleri ile beraber leptin eklenmesi ile sağlanmıştır. Niş hücrelerinden salgılanan çeşitli faktörlere ek olarak EYD'ndan salgılanarak spermatogenez sürecinde etkin olan leptinin SKH'lerin proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Kendi biyolojik çocuklarına sahip olmak isteyen kanser tedavisi gören prepubertal erkeklerden elde edilen SKH'lerin proliferasyonunun in vitro koşullarda sağlanması, kriyoprezervasyon sonrası hücre kaybı düşünüldüğünde daha fazla sayıda SKH'nin bu bireylerin kendi çocuklarına sahip olma şansını arttırması açısından umut vericidir.

**Anahtar Kelimeler:** Spermatogonyal kök hücre, leptin, izolasyon, proliferasyon

S35

**Metformin HCL'nin Sertoli hücre büyüme indeksine ve kan-testis bariyeri düzenleyici proteinleri üzerine etkileri**Barışcan Uzunkaya<sup>1</sup>, Tuğba Elgün<sup>2</sup>, Sanem Ege Oturmaz<sup>1</sup>, Emir Mete Özgürses<sup>3</sup>, Erkan Erdem<sup>4</sup>, Nazlı Ece Güngör Ordueri<sup>2</sup><sup>1</sup>Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul<sup>2</sup>Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul<sup>3</sup>Biruni Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul<sup>4</sup>OTA & Jinemed Hastanesi, Üroloji Kliniği, İstanbul

**Giriş-Amaç:** Spermatogenez süreci oldukça karmaşıktır ve fertilizasyon için yeterli sayıda ve sağlıklı spermatozoa üretiminde gereklidir. Spermatogenez için önemli faktörlerden biri kan-testis bariyerinin (KTB) bütünlüğü ve devamlılığıdır. KTB bazal membranın yakınındaki seminifer epitelde yer alan komşu Sertoli hücreleri arasındaki bağlantılar ile oluşan bir yapıdır. Çalışmalarda anti diyabetik olarak kullanılan metformin HCL'nin pek çok organda iskemik doku hasarında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Metformin HCL'nin antioksidan, antineoplastik, pro-apoptotik etkileri olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada metformin HCL'nin Sertoli hücreleri üzerine etkilerinin gösterilmesi hedeflenmiştir. Çalışmamızda metformin HCL'nin Sertoli hücre-hücre etkileşimleri, hücre büyüme indeksi, Sertoli hücrelerinin zamana ve ilaç dozuna bağlı sağ kalımları üzerine etkileri araştırılmıştır. Metformin HCL'nin KTB'nin düzenlemesinde rol alan aktin, aktin bağlayıcı protein olan fascin ve sıkı bağlantı proteini olan n-kaderin üzerine etkisi de ilk defa bu çalışma ile gösterilmiştir.

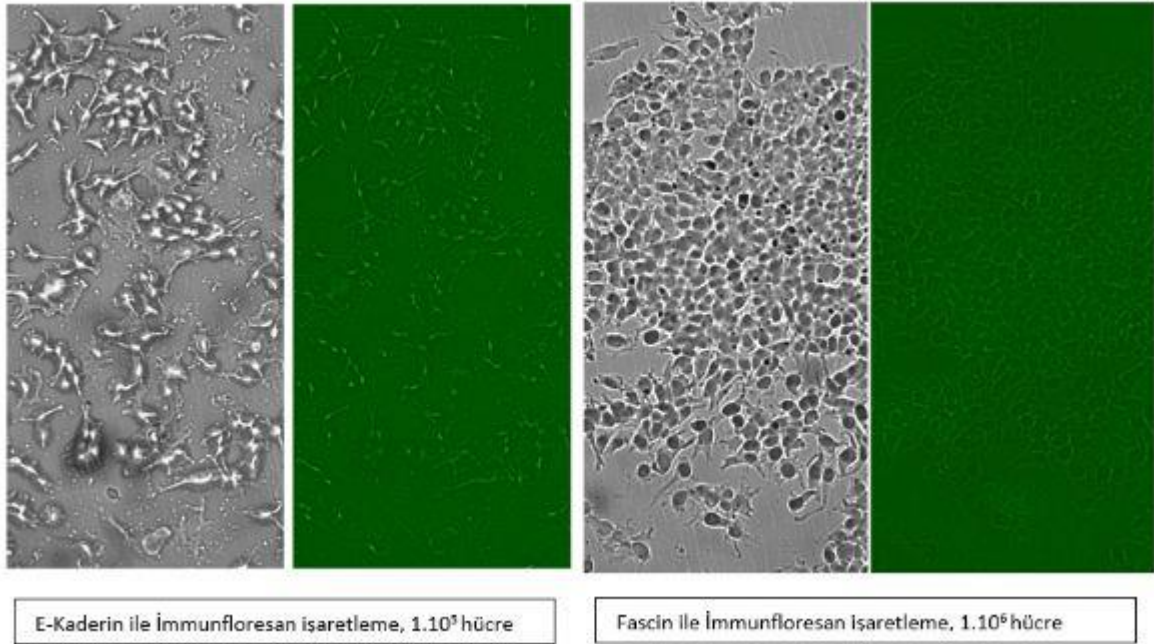
**Materyal-Metod:** Bu çalışmada, Sertoli TM4 hücre hattı kullanılmıştır. Uygulanacak metformin HCL dozları 1mM, 2mM ve literatürde farmakolojik doz olarak belirtilen 5µM olarak belirlenmiştir. *In vitro* ortamda Sertoli hücre büyüme indeksi, hücre-hücre etkileşimleri, Sertoli hücrelerinin zamana ve ilaç dozuna bağlı sağ kalımları üzerine etkilerinin takibi X-CELLigence RTCA-DP cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Belirtilen dozların etkisi altındaki gruplar ve kontrol grubu 0-72 saat JuLI™ Br&Fl cihazı ile görüntülenmiştir. Hücre-hücre etkileşimlerindeki filopodia oluşumu 6 saat ara ile ilk 24 saat için değerlendirilmiştir. Hücreler fikse edilerek immunfloresan işaretleme ile aktin, fascin ve n-kaderin (Şekil 1) ve uygulanan dozlardaki apoptozu gözlemlemek için cl-caspase-3 ekspresyonu değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Metformin HCL(5µM) uygulanan hücre büyüme indeksi, 1mM ve 2mM uygulanan hücrelere göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Metformin uygulamasının 68. saati itibari ile 5µM uygulanan hücrelerin büyüme indeksi düşerken 1mM ve 2mM etkisindeki gruplarda stabil olarak hücre indeksi devam etmiştir (Şekil 2). JuLI™ Br&Fl ile 6 saat ara ile yapılan görüntülemelerde 5µM ve 2mM etkisindeki gruplarda ve kontrol grubunda toplam hücre sayısına oranla filopodia oluşturan hücre sayısında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (P = 0,139). Metformin HCL'nin IC50 değeri 1,21M bulunmuş olup uygulanan dozların toksik olmadığı görülmüştür (R2 = 0,99) (Şekil 3). Metformin HCL, 2mM ve 5µM dozlarının uygulandığı Sertoli hücrelerinde cl-caspase-3 ekspresyon seviyeleri arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Aktin, fascin ve n-kaderin ekspresyon seviyelerinin metformin HCL etkisi altında hücre-özümlenmiş olarak değiştiği gözlenmiştir.

**Sonuç:** Sertoli hücre-hücre etkileşimlerinin, KTB'nin kurulumu adına önemli olduğunu bilmekteyiz. Bu çalışmayla elde edilen sonuçlar ışığında, metformin HCL'nin farmakolojik dozda uygulanmasının hücrelerin hayatta kalım süresini arttırarak hücre-hücre etkileşiminin yapılmasına katkı sağlıyor olabileceği düşünülmektedir. İleri çalışmalarımızdaki hedef; metforminin etki mekanizmasının, Sertoli-germ hücre etkileşimleri üzerindeki etkisinin araştırılması olarak belirlenmiştir.

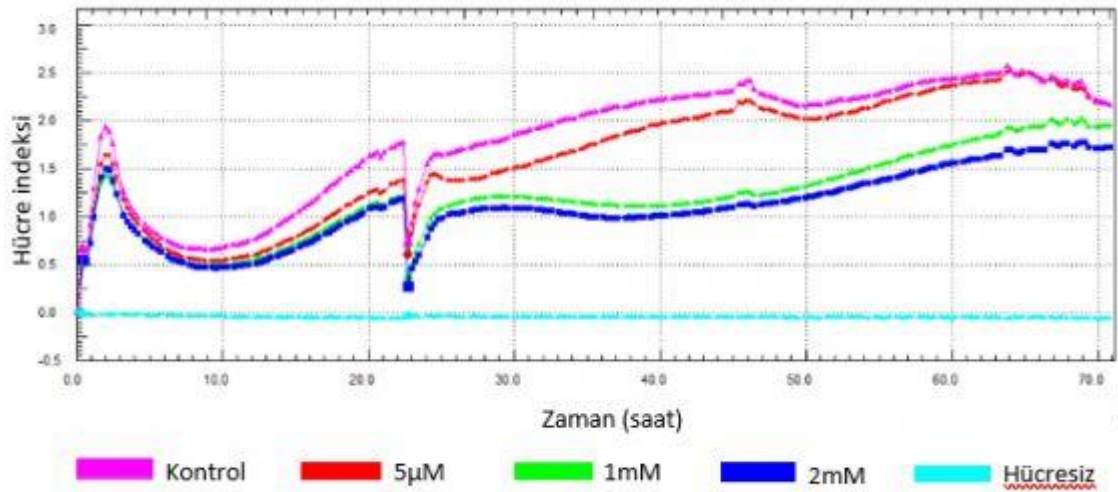
**Anahtar Kelimeler:** Sertoli Hücresi, In vitro Hücre Büyümesi, Metformin HCL, Kan-Testis Bariyeri

### Şekil 1: İmmüno Floresan İşaretleme



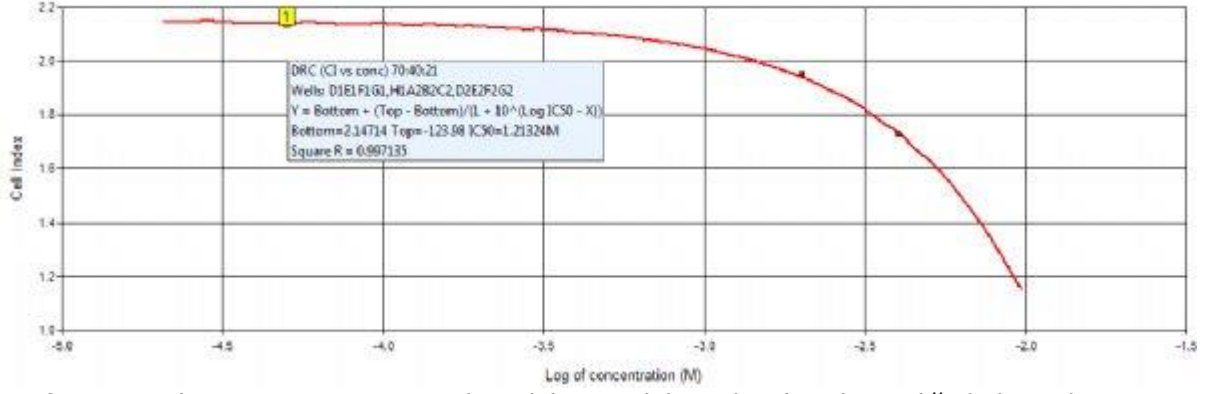
İmmüno Floresan işaretleme ile görüntülenen n-kaderin ve Fascin proteinleri. Işık mikroskop görüntüleri (Sol) ve FITC filtresi floresan görüntüleri (Sağ).

### Şekil 2: Metformin HCL Etkisindeki Sertoli Hücrelerine Ait Hücre Büyüme İndeksi



Sertoli hücrelerinin yaklaşık 24 saat beklemesinden sonra metformin HCL dozlarının uygulanması.

**Şekil 3: Sertoli hücreleri için metformin HCL'nin IC50 değeri**



Metformin HCL'nin 5µM, 1mM, 2mM etkisindeki Sertoli hücreleri (TM4) aracılığı ile hesaplanmış IC50 değeri.



S36

**İnfertilitede Erkek Yaşının Apoptotik Sürece Moleküler Etkileri**Hilal Eren Gözel<sup>1</sup>, Seda Karabulut<sup>1</sup>, Ceren Erdem Altun<sup>1</sup>, Pelin Kutlu<sup>2</sup>, İlknur Keskin<sup>1</sup><sup>1</sup>İ. Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul; İ. Medipol Üniversitesi, Regenerative And Restorative Medicine Research Center(REMER)<sup>2</sup>Medicana Çamlica Hastanesi, Tüp Bebek Merkezi, İstanbul

**Giriş:** İnfertilite, günümüzde dünya çapında yaklaşık 48,5 milyon çifti (çiftlerin %15'ini) etkilemektedir. Vakaların %20-30'unda sadece erkek infertilitesi olmak üzere, toplamda vakaların %50'sinden erkek infertilitesi sorumlu olmaktadır(1). Sosyoekonomik faktörler, insan ömrünün uzaması, yardımcı üreme tekniklerindeki ilerlemeler, geç evlilikler ve kariyer planlaması gibi faktörler bireylerin daha geç yaşta bebek sahibi olmalarına neden olmaktadır. Yaşlanma; fiziksel ve biyokimyasal mekanizmalar arasındaki karmaşık etkileşimlerin sonucunda, hücrelerde ve organlarda işlev bozukluğuna sebep olan bir süreçtir. Bu sebeple ilerleyen yaş, fertilitiyi doğrudan etkileyen sebeplerden birisidir. Mevcut literatürde, infertilite ve ileri annelik yaşı arasındaki korelasyonu ortaya koyan birçok çalışma bulunsa da baba yaşına dair çalışmalara fazla rastlanmamaktadır. İlerleyen yaş ile birlikte hücrelerde meydana gelen apoptotik aktivasyon sürecini tetikleyen etkenlerden birinin pro-inflamatuar sitokinler olabileceği düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında, apoptotik sürecin ve inflamasyonun erkek infertilitesi üzerinde yaşa bağlı etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

**Materyal – Metod:** 35 yaş üstü ve 35 yaş altı oluşturulan 2 grup hastanın sperm yayma örneklerinde apoptotik sinyal yollarının anlaşılması adına; DNA bütünlüğünü ortaya koyan Toluidine Blue (TB) boyaması ve TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) uygulamaları yapılmıştır (2). Yaşlanmanın çeşitli sinyal yolları üzerine etkilerinin incelenmesi için ise immünofloresan (kaspaz-3, sitokrom-c, interlökin-6) boyamaları yapılmıştır.

**Sonuçlar:** TB boyaması sonucunda 35 yaş altındaki bireylerden oluşan grupta, TB boyanması pozitif olan hücreler (TB+), toplam sayılan sperm hücrelerinin %36'sı iken, bu oranın 35 yaş üstü bireylerin oluşturduğu grupta %26 olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p= 0,027). TUNEL uygulaması sonucunda 35 yaş altındaki bireylerde, sayılan hücrelerin %17'si TUNEL+ iken; 35 yaş üstü bireylerde, sayılan hücrelerin %25'inin TUNEL+ hücrelerden oluştuğu gözlemlenmiştir. Sonuçlarda fark görülmesine rağmen istatistiksel anlam sınırına ulaşamamıştır. Kaspaz-3, sitokrom-c ve IL-6 boyamalarında gruplar arasında bir fark gözlenmiş ancak bu fark hasta sayısının az olması sebebiyle istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır (Tablo 1).

**Tartışma:** Çalışmamız, 35 yaş altı bireylere ait spermatozoid DNA bütünlüğünün, 35 yaş üstü bireylerinkine oranla azaldığını ortaya koymaktadır. Bununla beraber, TUNEL uygulamalarında 35 yaş üstü bireylerde daha yüksek bir DNA hasarının tespiti, DNA bütünlüğünün erken yaşlarda bozulduğunu fakat DNA hasarlarının daha ileri yaşlarda oluşabileceğini düşündürmektedir. Bu farklılığın temel nedenlerinin anlaşılması ve sonuçlardaki istatistiksel anlamlılığı iyileştirmek adına bir sonraki çalışmamızda hasta sayılarının artırılması ve apoptotik yolaktaki protein seviyelerinin farklı yöntemlerle ölçülmesi hedeflenmektedir.

**Kaynaklar:**

1. A unique view on male infertility around the globe. Agarwal et al. Reproductive Biology and Endocrinology. (2015) 13:37
2. TUNEL assay and SCSA determine different aspects of sperm DNA damage. Henkel et al. Andrologia. (2009) 42, 305–313.

**Anahtar Kelimeler:** Erkek Yaşı, İnfertilite, Kaspaz-3, Sitokrom-c, İnterlökin-6

**İmmünofloresan İntensite Değerleri**

	$\leq 35$	$> 35$
<b>Kaspaz-3</b>	48,9	47,1
<b>Sitokrom-c</b>	82,9	70,8
<b>İnterlökin-6</b>	42,7	45

*Tablo 1: 35 yaş ve altı ile 35 yaş üstü bireylerde immünofloresan metodu sonrası ölçülen intensite değerleri*

S37

### **Kronik immobilizasyon stresinde vitamin E'nin koruyucu etkisinin fare adrenal bezinde araştırılması**

Fırat Aşır, Yusuf Nergiz

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, Diyarbakır.

**Amaç:** Kronik immobilizasyon stresinde vitamin E'nin koruyucu etkilerinin adrenal bez üzerinde ışık mikroskopuyla araştırılması ve stres sonrası farelerin davranışsal değişimlerini incelenmesi tasarlanmıştır.

**Materyal-Metod:** Bu çalışmada 28 adet BALB/C cinsi erkek fare yedişerli 4 gruba bölündü.

1. Kontrol grubuna 7 gün boyunca orogastrik yoldan serum fizyolojik uygulaması yapıldı.
2. Vitamin E grubuna 7 gün boyunca 30 mg/kg/gün dozunda vitamin E orogastrik yoldan verildi.
3. Stres grubundaki fareler boyutu kadar dar bir alanda hareketsiz kalmaları sağlanacak şekilde özel bir kafese konuldu. Bu işlem 7 gün boyunca günde 6 saat süre ile uygulandı.
4. Stres+vitamin E grubuna her immobilizasyon stresi işleminden 1 saat önce 30 mg/kg/gün dozunda, 10 grama 0.1ml hacminde E vitamini orogastrik yoldan 7 gün boyunca verildi. Bu gruptaki fareler immobilizasyon stresi için boyutu kadar dar bir alanda hareketsiz kalmaları sağlanacak şekilde özel bir kafese konuldu. Bu işlem 7 gün boyunca günde 6 saat süre ile uygulandı.

Bu işlemlerden sonra bütün gruplardaki fareler 40 dakika boyunca dinlenme kafesinde kalıp tekrar normal kafeslerine alındı.

Deneyden hemen sonra fareler tartıldı ve farelere deney sonrası açık alan, yükseltilmiş artı-labirent ve zorunlu yüzme testleri uygulandıktan sonra fareler sakrifiye edildiler. Sol adrenal bezleri disseke edilerek Bouin fiksatifine alındı. Rutin histolojik takip yapılarak elde edilen 5 mikrometre kalınlığındaki kesitlere Hematoksilen-Eozin ve Mallory azan boyama protokolü uygulandı. Elde edilen preparatlar Zeiss imager A2 ışık mikroskopunda değerlendirilerek fotomikrografları çekildi.

**Bulgular:** Stres grubu farelerin adrenal bezleri incelendiğinde, ilk göze çarpan bulgu adrenal kortekste atrofi iken medullada ise hipertrofi saptandı. Atrofi korteksin her üç zonunda görülmekle birlikte özellikle zona fasikülata belirgin olarak izlendi. Stres grubuna ait bazı kesitlerde adrenal kortekste açık ve koyu bölgeler seçilmekteydi. Açık bölgelerdeki kortikal hücrelerin sitoplazmaları yağ damlacıkları içerirken, koyu bölgelerdeki kortikal hücreler yağ damlacıklarından yoksundu. Genel olarak hem kortekste hem medullada kapiller dilatasyon, damar duvarında incelme ve hemoraji izlendi. Mallory Azan ile boyanan adrenal bez kesitlerinde kapsülde incelme, korteks ve medullada minimal düzeyde interstisyel fibrozis izlenirken, kortikomedullar bölgede ise kollajen artışına bağlı yoğun fibrozis saptandı.

İmmobilizasyon stresi işleminden önce vitamin E verilen farelerin adrenal bez kesitlerinde; genel olarak stres grubuna göre histopatolojik bulguların büyük çapta düzeldiği, ancak interstisyel fibrozisin kısmen devam ettiği gözlemlendi. Adrenal korteksin zona glomeruloza, zona fasikülata ve zona retikularisi ile medulla görünümü kontrol grubuna yakın olarak izlendi.

**Sonuç:** İmmobilizasyon stresinin fare adrenal bezinde birtakım morfometrik ve histopatolojik değişikliklere neden olduğu ve bu olumsuz etkilerin vitamin E uygulamasıyla büyük çapta önlenilebileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Fare, adrenal bez, immobilizasyon stresi, vitamin E

S38

### **Sıçanlarda Yüksek Yağlı Diyetle Oluşturulan Obezite ile İndüklenmiş Testis Hasarı Üzerine Egzersizin Etkisinin Morfolojik ve Biyokimyasal Olarak Değerlendirilmesi**

Merve Açikel Elmas<sup>1</sup>, Özlem Bingöl Özakpınar<sup>2</sup>, Meltem Kolgazi<sup>3</sup>, Göksel Şener<sup>4</sup>, Serap Arbak<sup>5</sup>, Feriha Ercan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AbD, İstanbul, Türkiye; Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AbD, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya AbD, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AbD, İstanbul, Türkiye

<sup>4</sup>Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji AbD, İstanbul, Türkiye

<sup>5</sup>Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AbD, İstanbul, Türkiye

**Giriş:** Obezite sağlığı bozacak ölçüde yağ doku hiperplazisi ve hipertrofisi olarak tanımlanmaktadır. Özellikle yağ içeriği yüksek diyetlerin tüketiminin artması ile obez bireylerin sayısında her geçen yıl artış görülmektedir. Çalışmalar, obezitenin özellikle erkek fertilitesi üzerine etkisinin olduğunu, yalnızca sperm kalitesinin değil bunun yanında testis germ hücrelerinin fiziksel ve moleküler yapısının da bozulduğunu göstermektedir. Egzersizin ise erkek fertilitesi üzerine olumlu etkileri çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir.

**Amaç:** Yüzme egzersizinin yüksek yağlı diyet ile oluşturulmuş obez sıçanların testisinde spermatogenik hücre proliferasyonu, kan testis bariyeri, oksidatif belirteçler ve hormon seviyeleri üzerinde olumlu etkilerini göstermektir.

**Materyal-Method:** Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlar 18 hafta boyunca standart (STD grubu; %6 yağ içeren yem) veya yüksek yağlı diyet (YYD grubu; %45 yağ içeren yem) ile beslendiler. Bu hayvanların yarısına son 6 hafta boyunca yüzme egzersizi (EGZ grubu; günde 1 saat, haftada 5 gün) yaptırıldı. Deneyler sonunda anestezisi altında kalpten alınan kan örnekleri biyokimyasal incelemeler için, testis dokuları rutin ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için hazırlandı.

Dokuların histolojik değerlendirmeleri hematoksilin-eozin (H&E) ve periyodik asit Schiff (PAS) ile boyalı kesitlerde yapıldı. Spermatogenik hücre proliferasyonu PCNA imminohistokimyası ile, kan testis bariyeri ZO-1 ve okludin imminohistokimyası ile gösterildi. Testesteron, total kolesterol (TC), trigliserit, malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), myeloperoksidaz (MPO), superoksit dismutaz (SOD) seviyeleri biyokimyasal olarak incelendi. Tüm veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

**Bulgular:** STD ve STD+EGZ gruplarında normal morfoloji gözlemlendi. YYD grubunda hücreler arası alanlarda genişlemeler, hasarlı tübül sayısında artış ve seminifer tübülün lümeninde çok sayıda döküntü hücresi gözlemlendi. YYD+EGZ grubunda ise normale yakın morfolojide daha az hasarlı tübül, lümeninde ise daha çok sperm ve daha az döküntü hücresi gözlemlendi. Sertoli hücrelerinde ve bazalde yerleşmiş spermatogenik seriye ait hücrelerin periferinde ZO-1 ve okludin imünreaktivitesi STD ve STD+EGZ grubunda daha yüksek iken YYD grubunda daha az gözlemlendi. STD ve STD+EGZ grubunda, ince yapı incelendiğinde Sertoli hücreleri arasında düzenli morfolojide sıkı bağlantılar gözlemlendi. YYD grubunda ise; bazı alanlarda Sertoli hücrelerinde sıkı bağlantıların altındaki sitoplazmik alanlarda vakuol oluşumlarına rastlandı. YYD+EGZ grubunda, daha az vakuol gözlemlendi. Total kolesterol ve trigliserid seviyeleri YYD+EGZ grubunda STD grubuna yakın bulundu.

Testesteron, MDA, GSH, MPO, SOD seviyeleri histolojik bulgular ile paralel olarak bulundu.

**Sonuç:** Bu çalışma, obezitenin kan testis bariyerini bozduğunu, testesteron seviyesini düşürdüğünü, oksidatif stres parametrelerini arttırdığını göstermektedir. Egzersizin ise YYD kaynaklı oluşan hasarın, reaktif oksijen türevlerini inhibe ederek azaltılmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBITAK) tarafından, 216S280 proje numarası ile, Marmara Ü. BAP biriminden (SAG-C-DRP-131016-0443) ve Acıbadem Ü. BAP biriminden (karar no:2016/05/01) desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** egzersiz, okludin, yüksek yağlı diyet, ZO-1

S39

**Tüp Bebekte Deneme Sayısının Gebeliği Predikte Etme Etkisi**Seda Karabulut<sup>1</sup>, Bircan Kolbaşı<sup>2</sup>, Oya Korkmaz<sup>1</sup>, Yusuf Sağıroğlu<sup>3</sup>, İlknur Keskin<sup>1</sup><sup>1</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul<sup>2</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Rejeneratif and Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul, Türkiye<sup>3</sup>Florence Nightingale Kadıköy Hastanesi, Tüp Bebek Merkezi, İstanbul, Türkiye**Giriş:**

İnfertilite, 1 yıl boyunca korunmasız cinsel ilişki sonucunda gebe kalamama durumu olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda infertilitenin çiftlerin %15'ini etkilediği ve %50'sinin erkek kaynaklı olduğu ortaya konmuştur. Yardımlı üreme tekniklerinin (YÜT) geliştirilmesiyle çiftlerin yaklaşık %50'sine çocuk sahibi olabilme imkanı sağlanmıştır. YÜT'den en çok kullanılan metod intra-sitoplazmik sperm enjeksiyonu'dur (ICSI). Bu işlem temel olarak bir sperm bir yumurta içerisine enjekte edilmesidir.

Tüp bebek denemeleri sonucunda, başarısızlık görülmesinin ardından çiftlerin istekleri tekrar deneme yönündedir. Deneme sayısının uzmanlar tarafından bir kısıtlanması bulunmamaktadır. Ancak deneme sayısı arttıkça maliyet artmakta ve çiftlerin umutları azalmaktadır. Bir YÜT siklusunun başarılı olabilmesi için kaç YÜT denemesi yapılması ya da kaç YÜT denemesinden sonra gebe kalma oranı azaldığı hakkında tahmini bir değer bulunmamaktadır. Ayrıca anne yaşının YÜT deneme sayısı üzerindeki etkisi hakkında da bu zamana kadar yapılan bir çalışma yoktur.

**Materyal-Metod:**

Çalışmamızda ICSI denemesine tabi tutulan 1070 hastanın verileri kullanılmıştır. Hastalar, ICSI deneme sayılarına (1,2,3,4,5,6,7,8 ve daha fazlası) göre gruplara ayrılmıştır. Ayrıca bu gruplar annenin yaşının da karşılaştırılması için 3 alt gruba ayrılmıştır. Birinci grup 35 yaş altı, ikinci grup 35-37 yaş arası ve üçüncü grup ise 37 yaş üstü hastaları içermektedir. Her gruptaki gebelik oranları ilk önce kendi içerisinde analiz edilmiş ve daha sonra diğer gruplar ile karşılaştırılmıştır.

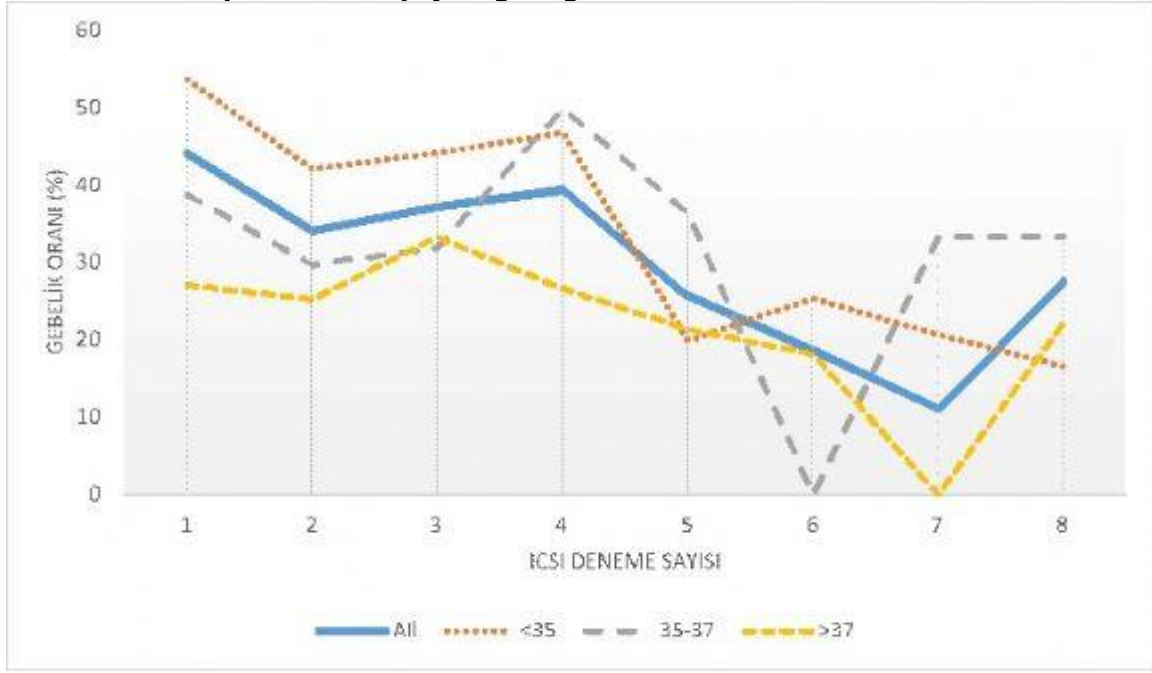
**Sonuçlar:**

Kadın yaşından bağımsız olarak tüm hastalar değerlendirildiğinde gebelik şansının ilk 4 denemede ortalama 38.8 olduğu, 5. denemeden itibaren hızla düşüşe geçtiği (%25.7) ve 7. denemeden itibaren ise dramatik olarak azaldığı (%11.1) belirlenmiştir. Hasta yaşını dikkate aldığımızda ise gebelik şansının 35 yaş altı hastalarda ilk 4 denemede 46,8 olduğu ve 5. denemeden sonra kritik şekilde düştüğü, 35-37 yaş arası hastalarda ilk 4 denemede oranın 37,6 ve 4. denemeden sonra aynı şekilde kritik olarak azaldığı, 37 yaş üstü hastalarda ise ilk 3 deneme için oranın 28,8 ve 3. denemeden sonra oranın ciddi derecede düştüğü gözlemlenmiştir. Denemelere ve yaşa ait gebe kalma oran grafiği Tablo 1'de özetlenmiştir.

Bu çalışmada, ICSI deneme sayısının artmasıyla gebe kalma şansının azaldığı görülmüştür. Bu verilere paralel olarak anne yaşının artmasıyla gebe kalma şansı azalmaktadır.

Bulgularımız doğrultusunda 37 yaşın altında ilk 4 deneme için çiftlerin şansının sonraki denemelere göre daha yüksek olduğu, 37 yaş üstü hastalarda ise ilk 3 denemeden sonra azaldığı söylenebilir. Kadın yaşından bağımsız olarak değerlendirildiğinde ise ilk 4 denemede şansın en yüksek olduğu, sonrasında hızla azalma görüldüğü söylenebilir. Elde edilen bulgular hastaların yönlendirilmesi ve bilgilendirilmesine ve gebelik oranının predikte edilmesine önemli katkı sağlamanın yanı sıra maliyet analizlerinin yapılmasına da olanak sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Anne Yaşı, Gebelik Şansı, İnfertilite

**ICSI deneme sayısı ve hasta yaşına göre gebelik oranları****Tablo 1.** ICSI deneme sayısı ve hasta yaşına göre gebelik oranları

S40

### **Resveratrol ve Dialil Disülfidin Sıçan Testisinde Kadmiyum ile Oluşturulmuş Akut Hasara Etkisi**

Kıymet Zülal Halk<sup>1</sup>, Şahin Abdullah Sırmalı<sup>3</sup>, İlkin Çavuşoğlu<sup>2</sup>, Zehra Minbay<sup>2</sup>, Zeynep Kahveci<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

<sup>3</sup>SANKO Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep.

**Amaç:** Önemli bir çevre kirletici ve dokular üzerine zararlı etkileri olan kadmiyumun erkek fertilitesi üzerine oluşturduğu hasara karşı resveratrolün ve dialil disülfidin koruyucu etkilerinin araştırılmasıdır.

**Gereç-Yöntem:** Yapılan deneyde kadmiyum toksisitesi oluşturmak amacıyla kadmiyumun suda çözülün formu CdCl<sub>2</sub> kullanıldı. CdCl<sub>2</sub> serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal enjeksiyon ile, resveratrol (RES) serum fizyolojik içerisinde çözülerek oral gavaj ile ve dialil disülfid (DDS) mısır yağı içerisinde çözülerek intraperitoneal enjeksiyon ile uygulandı. Çalışmada 35 adet Wistar albino rat kullanıldı ve 5 grup (A: kontrol, B1: CdCl<sub>2</sub>, B2: RES + CdCl<sub>2</sub>, B3: DDS + CdCl<sub>2</sub>, B4: RES + DDS + CdCl<sub>2</sub>) oluşturuldu. Histolojik değişiklikleri değerlendirmek için testis dokuları, Hematoksilen ve Eozin, Periyodik asit-Schiff (PAS) boyandı ve modifiye Johnson skorlaması yapıldı. Gruplarda gözlenen apoptoz, TUNEL yöntemi ve aktif kaspaz-3 immunohistokimyası ile değerlendirildi.

**Bulgular:** B1 grubunda, kadmiyumun seminifer tübüllerde hasara yol açtığı, spermatogenezi durdurduğu ve germ hücrelerinde apoptozu indüklediği gözlemlendi. B1 grubu ile A grubu karşılaştırıldı, modifiye Johnson skorlama sonuçlarında B1 grubunda anlamlı derecede azalma ve apoptotik indeks sonuçlarında ise anlamlı derecede artış görüldü. Ek olarak, B1 grubuyla B2, B3 ve B4 grupları karşılaştırdı. Modifiye Johnson skorlama sonuçlarında B2 grubunda anlamlı bir farklılık görülmezken, B3 ve B4 gruplarında anlamlı artış görüldü. Ayrıca apoptotik indeks sonuçlarında B2 grubunda anlamlı bir farklılık görülmezken, B3 ve B4 gruplarında anlamlı azalma görüldü.

**Sonuç:** Sıçan testisinde kadmiyum ile oluşturulan akut hasarın baskılanmasında resveratrol ve dialil disülfidin rolüne yönelik bilgiler ortaya konuldu. Belirlediğimiz dozda resveratrol bu akut hasarın baskılanmasında etkili olmazken dialil disülfid ve resveratrol ile birlikte kullanımı hasarı önlemede etkili bulundu. Literatür analizimize göre bu çalışma kadmiyumun indüklediği testis hasarına karşı dialil disülfidin koruyucu etkilerinin gösterildiği ilk çalışmadır.

Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından KUAP(T)-2015/45 no'lu araştırma projesi kapsamında desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** apoptoz, dialil disülfid, kadmiyum, resveratrol, sıçan testis hasarı

S41

**Cisplatin ile İndüklenen Kardiyotoksisite Üzerine Curcumin ve Beta Karoten'in Koruyucu Etkileri: Deneysel Sıçan Modeli**Anzel Bahadır<sup>1</sup>, Ayşe Ceyhan<sup>2</sup>, Özlem Öz Gergin<sup>3</sup>, Betül Yalçın<sup>2</sup>, Menekşe Ülger<sup>2</sup>, Tuğçe Merve Özyazgan<sup>2</sup>, Arzu Yay<sup>2</sup><sup>1</sup>Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Düzce<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri<sup>3</sup>Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kayseri

**Amaç:** Cisplatin (CDDP), etkili bir antineoplastik ilaç olarak kullanılmasına rağmen, kardiyotoksik etkiye sahiptir. Curcumin (CMN) ve beta-karoten (BC), biyolojik sistemleri CDDP'nin indüklediği hasara karşı koruyan antitümör aktiviteye sahiptir. Bu çalışma, sıçan kalp dokularında CDDP ile indüklenen kardiyotoksisite üzerine, CMN ve BC'nin olası koruyucu rollerini değerlendirmek için gerçekleştirildi.

**Gereç ve Yöntemler:** Toplam 49 yetişkin dişi Wistar albino sıçan, eşit olarak aşağıdaki gibi yedi gruba ayrıldı: kontrol (ilaçsız), susam yağı (1 mg / kg), CDDP (haftada bir kez, iki defa tek doz olarak CDDP enjeksiyon, günde 5 mg/kg), BC (100 mg/kg), CDDP+BC (CDDP enjeksiyonundan 30 dk. önce BC ile ön-muamele), CMN (200 mg/kg) ve CDDP+CMN (CDDP enjeksiyonundan 30 dk. önce CMN ile ön muamele). Bu muameleler, CDDP için intraperitoneal olarak ve CMN ve BC için gavaj ile uygulandı. Oksidatif/antioksidan belirteçler, inflamatuvar sitokinler ve histopatolojik değişiklikler incelendi.

**Bulgular:** Bu değişiklikler, CDDP grubunda diğer gruplar ile karşılaştırıldığında, malondialdehit (MDA) seviyesinde belirgin bir artış, katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinde anlamlı azalmalar ve ayrıca tümör nekroz faktör (TNF)- $\alpha$ , interlökin (IL) -1 $\beta$  ve interlökin (IL) -6'da anlamlı bir yükselmeyi içermekte idi. Histopatolojik olarak, CDDP ile indüklenen ciddi miyokardiyal dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Ancak, yukarıda belirtilen parametrelerdeki CDDP kaynaklı bozukluklar, BC ve özellikle CMN uygulamaları ile anlamlı ölçüde düzeldi. İstatistiksel analiz SPSS Versiyon 15.0 programı kullanılarak yapıldı. Normal olarak dağıtılmış veriler, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ve ardından Tukey post-hoc testi ile analiz edildi. Normal olmayan dağılımlı veriler nonparametrik Kruskal-Wallis H testi ve ardından gruplar arasında Dunn-Bonferroni testi ile karşılaştırıldı. Farklılıklar p <0,05 düzeyinde anlamlı kabul edildi.

**Sonuçlar:** Bu çalışma, sıçanlarda CDDP tedavisinin belirgin bir şekilde kardiyotoksisiteye neden olduğunu, ancak CMN veya BC ile yapılan tedavinin bu kardiyotoksisiteyi düzelttiğini gösterdi. Ayrıca, bu bulgular CDDP kaynaklı kardiyotoksisiteye karşı kalp dokularında CMN ile tedavinin, BC'den daha yüksek kardiyoprotektif etkiye sahip olduğu ortaya çıkardı. Kontrol grubundaki hayvanların kardiyak dokularının genel yapısı, çoğunlukla tek oval ve merkezi olarak yerleştirilmiş çekirdeklerden oluşan birkaç miyositi olan düzenli olarak düzenlenmiş kardiyak miyofiberler olarak ortaya çıkmıştır. Susam yağı grubunun kalp histolojisi kontrol grubuna benzerdi. CDDP uygulamasından sonra kalbin mikroskopik incelemesinde kalp dokusunda sitoplazmik vakuolizasyon, kanama ve interstisyel ödem görüldü. Sadece BC ve CMN ile tedavi edilen gruplarda sitoplazmik vakuolizasyon, hemoraji ve daha orta düzeyde ödem gibi benzer histolojik bulgular gözlemlendi. CDDP + CMN grubunda CDDP+BC ve CDDP grupları ile karşılaştırıldığında normal bir histolojik görünüm gösterdiği gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** beta-karoten, cisplatin, curcumin, kardiyotoksisite



**Tablo 1: Her deney grubunun kardiyak dokusunda oksidan/ antioksidan düzeylerinin karşılaştırılması**

Parametreler	Control mean $\pm$ SD	Sesame Oil mean $\pm$ SD	CDDP mean $\pm$ SD	BC mean $\pm$ SD	CDDP+ BC mean $\pm$ SD	CMN mean $\pm$ SD	CDDP + CMN mean $\pm$ SD	P value
MDA (nmol/g tissue)	29.239 $\pm$ 0.91a	28.562 $\pm$ 1.09a	33.274 $\pm$ 1.35b	30.383 $\pm$ 2.13ab	31.528 $\pm$ 1.24ab	27.701 $\pm$ 1.60a	28.748 $\pm$ 1.12ab	0.187
SOD (U/g tissue)	51.815 $\pm$ 1.39a	51.021 $\pm$ 3.02a	27.197 $\pm$ 2.56c	45.441 $\pm$ 3.05ab	30.335 $\pm$ 3.42cd	43.263 $\pm$ 3.46abd	36.460 $\pm$ 3.21bd	0.000
CAT (U/g tissue)	62.089 $\pm$ 3.46a	53.849 $\pm$ 1.65a	28.018 $\pm$ 4.82c	48.550 $\pm$ 2.17b	35.771 $\pm$ 3.50cdef	45.258 $\pm$ 3.45bd	42.575 $\pm$ 4.72bde	0.000

*Deney Grupları***Tablo 2: Her bir deney grubunun kardiyak dokusunda TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and ve IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması**

Parametreler	Control median (25%-75%)	Sesame Oil median (25%-75%)	CDDP median (25%-75%)	BC median (25%-75%)	CDDP+ BC median (25%-75%)	CMN median (25%-75%)	CDDP + CMN median (25%-75%)	P value
IL-1 $\beta$	79.31 (68.10-90.72)a	81.95 (72.43-88.51)a	89.26 (84.86-99.52)b	81.51 (68.17-89.61)ac	88.54 (76.94-98.71)b	80.50 (73.61-95.28)a	85.02 (69.60-93.67)c	0.000
IL-6	59.65 (47.60-68.60)a	64.40 (47.40-76.19)a	74.98 (52.35-99.63)b	59.74 (50.32-69.51)c	62.90 (56.57-67.00)d	62.57 (47.85-78.25)c	58.92 (50.77-69.80)d	0.000
TNF- $\alpha$	61.29 (48.59-73.68)a	61.00 (50.34-77.04)a	70.59 (55.00-79.99)b	68.49 (52.33-83.30)b	70.23 (61.02-78.82)b	66.70 (59.43-76.91)ab	59.55 (53.18-78.37)a	0.000

*Deney**Grupları*

S42

**Normozoospermik ve non-normozoospermik hastalarda TNF- $\alpha$ , HSP-70 ve Kaspaz-3 proteinlerinin immunohistokimyasal analizleri**Seda Karabulut<sup>1</sup>, Duygu Gürsoy<sup>1</sup>, Pelin Kutlu<sup>2</sup>, İlknur Keskin<sup>1</sup><sup>1</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul;  
Rejeneratif Ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul<sup>2</sup>Çamlıca Medica Hastanesi, Tüp Bebek Merkezi, İstanbul**Amaç**

Dünyada, çiftlerin %10-15'i infertiliteden etkilenmektedir. Bunun yaklaşık %40-50'sini erkek faktörü oluşturmaktadır. Spermatogenezi düzenleyen mekanizmalardaki anomali, erkek infertilitesiyle sonuçlanabilmektedir.

Apoptoz, programlı hücre ölümüdür. Hücre yüzeyindeki ölüm reseptörlerinden TNFR1(Tümör nekrozis faktör reseptör 1)'in TNF- $\alpha$  ile aktivasyonu apoptozu indükleyen mekanizmalardan biridir. Apoptozun hücrel etkilerinin görüldüğü kaspaz kaskadı ise Kaspaz-8'in aktivasyonu ile başlayıp Kaspaz-3 aktivasyonu ile devam eder(1). Kaspaz-3'ün aktivasyonu hücrede protein ve DNA gibi hedef moleküllerin degradasyonu başlayarak hücrenin iskelet yapısıyla DNA'sı yıkılır. HSP(heat shock protein) ailesi, proteinlerin katlanmasında fonksiyon gösteren ve stres yanıtında görev alan şaperon proteinlerdir. Ailenin önemli bir üyesi olan HSP-70, apoptoz yolağında Kaspaz-3'ü inhibe eden anti-apoptotik proteindir(2).

Çalışmamızda; apoptoz yolağında rol alan proteinlerden TNF- $\alpha$ , HSP-70 ve Kaspaz-3'ün normozoospermik ve non-normozoospermik değerlere sahip hastalardaki ekspresyon seviyeleri ve hücredeki lokalizasyon farklılıklarını immunohistokimyasal olarak araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler**

Çamlıca Medica Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'ne infertilite nedeniyle başvuran 37 hastadan alınan sperm örneklerinin, WHO(World Health Organization)2010 kriterlerine göre sperm parametreleri değerlendirildi. Hastalar tüm değerleri normal olan normozoospermik (N=15) ve en az bir parametresi normal olmayan non-normozoospermik (N=22) olarak iki gruba ayrıldı. HSP 70, Kaspaz-3 ve TNF- $\alpha$  proteinlerinin immunohistokimyasal ekspresyonları; tüm baş, ekvatoryal düzlem, posteriyor, anterior, boyun, kuyruk, membran bölgeleri ve sitoplazmik artık lokalizasyonlu olarak gruplandırılıp, sonuçlar analiz edildi. İstatistiksel anlamlılık sınırı,  $p \leq 0.05$  olarak kabul edildi.

**Bulgular**

Her iki grupta incelenen proteinlerin (TNF- $\alpha$ , HSP-70, Kaspaz-3) tüm sperm kompartmanlarında ekspresyon olduğu, ekspresyonların boyun ve kuyruk bölgelerinde daha yoğun olduğu ancak non-normozoospermik örneklerde, normozoospermik örneklerle göre proteinlerin ekspresyon seviyelerinin arttığı gözlemlendi ( $p \leq 0.05$ )(Tablo 1).

Ayrıca, TNF- $\alpha$  proteininin ekvatoryal bölge ekspresyonunun, non-normozoospermik örneklerde normozoospermik örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı (sırasıyla; % 2.4, % 5.5) belirlenmiştir( $p=0.05$ ). Bu proteinin posterior bölgedeki ekspresyonunun % 3.9 azalmış olmakla birlikte istatistiksel anlam sınırına ulaşmadığı gözlemlenmiştir( $p=0.06$ ). HSP-70 proteini ekspresyonları analiz edildiğinde ekspresyonun baş bölgesinde, non-normozoospermik örneklerde normozoospermik örneklerle göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir (sırasıyla; % 8.9; %2.6)( $p=0.05$ ). Kaspaz-3 ekspresyon lokalizasyonlarında ise normozoospermik ve non-normozoospermik örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir(Tablo 2).

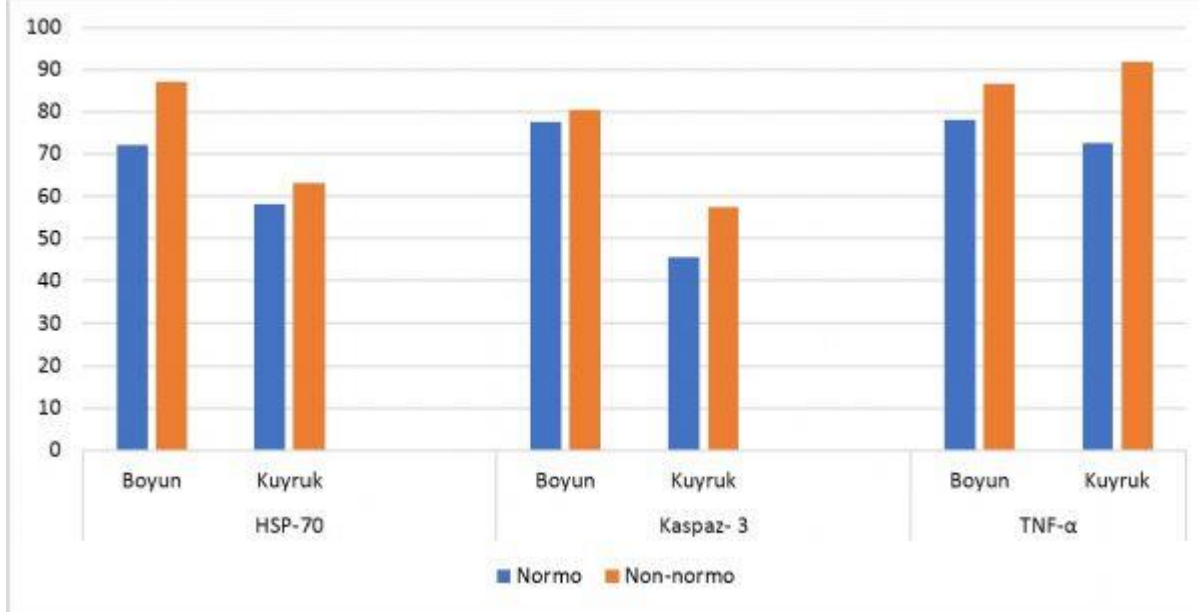
**Sonuç**

Sperm parametrelerindeki düşüşle birlikte apoptotik yolda görev alan önemli proteinlerin ekspresyon seviyelerinde artış ve lokalizasyon farklılıkları görülmüştür. Bu bulgular, olumsuz sperm parametreleri belirlenen hastalarda apoptozun daha fazla aktive olduğu; fertilizasyon, embriyo gelişimi ve embriyo kalitesini etkileyerek infertiliteye sebep olabileceğini düşündürmektedir.

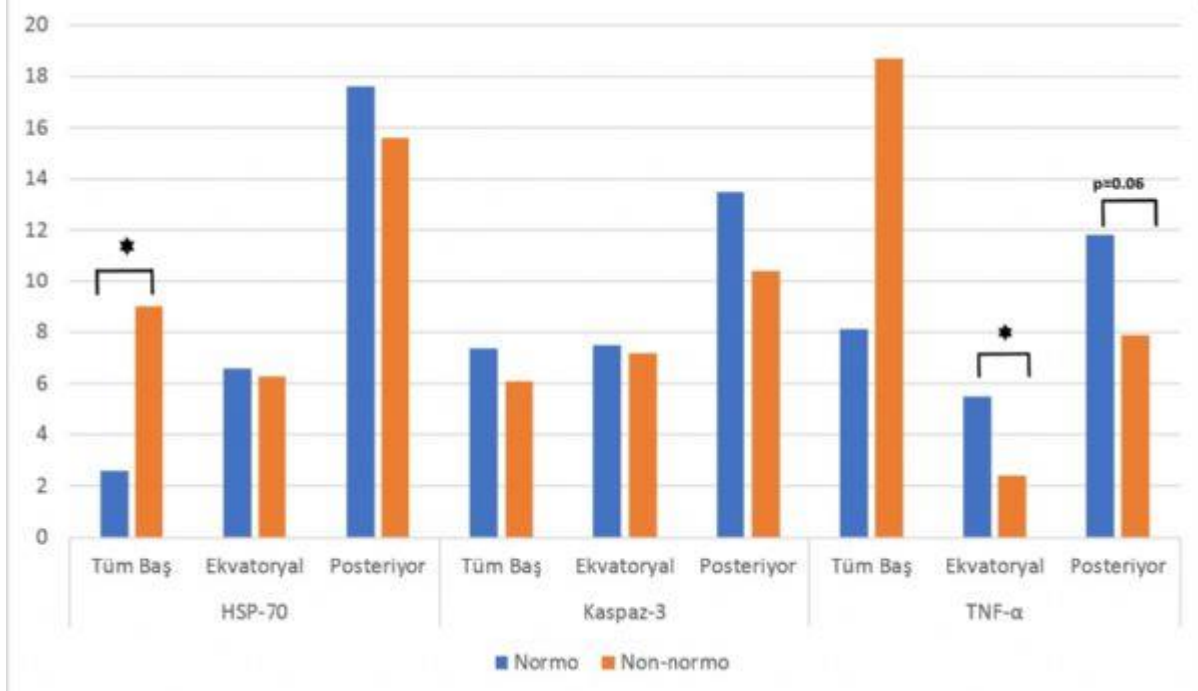
**Kaynaklar**

- 1.Sperm caspases become more activated in infertility patients than in healthy donors during cryopreservation. Grunewald S et al., Arch Androl. 2005.
- 2.Understanding the role of heat shock protein isoforms in male fertility, aging and apoptosis. Purandhar K et al., World J Mens Health, 2014.

**Anahtar Kelimeler:** Erkek infertilitesi, HSP-70, TNF- $\alpha$ , Kaspaz-3

**Tablo 1.**

Normozoospermik ve non-normozoospermik hastalarda boyun ve kuyruk bölgelerindeki HSP-70, Kaspaz-3 ve TNF-α proteinlerinin ekspresyon yüzdeleri

**Tablo 2.**

Normozoospermik ve non-normozoospermik hastalarda tüm baş, ekvatoryal ve posteriyor bölgede HSP-70, Kaspaz-3 ve TNF-α proteinlerinin ekspresyon yüzdeleri

S43

**Normozoospermik ve Non-normozoospermik Hastalarda Apoptoz Evrelerinin Akım Sitometrik Olarak Karşılaştırılması**İlknur Keskin<sup>1</sup>, Muhammet Volkan Bülbül<sup>1</sup>, Emre Vatandaşlar<sup>2</sup>, Elif Yılmaz<sup>3</sup>, Seda Karabulut<sup>1</sup><sup>1</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul<sup>2</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Rejeneratif and Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul, Türkiye<sup>3</sup>Medistate Kavacak Hastanesi, Tüp Bebek Merkezi, İstanbul, Türkiye**Giriş:**

Erkek infertilitesi, infertilite nedenlerinin yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır (1). Sperm hücrelerinde erken ve geç apoptozun farklı nedenlerle indüklenebileceği ve açıklanamayan infertilite nedenlerinden biri olabileceği bilinmektedir. Fosfolipidlerden olan fosfatidilserinin iç membrandan dış membrana translokasyonu erken apoptozun bir işareti olarak kabul edilir ve Annexin-V ile işaretlenebilir (2). Propidium iodide (PI) ise, DNA'ya bağlanma özelliği ile hücrelerin canlı olup olmadığını gösteren bir işaretleme molekülü olup membran bütünlüğünün korunduğu sağlıklı hücrelerde membranı geçemez. Hücrelerde apoptozun önemli belirteçlerinden biri de efektör kaspazlardan olan Kaspaz-3 proteindir (3). Çalışmamızda normozoospermik ve non-normozoospermik hastalarda erken apoptoz göstergelerinden biri olan fosfatidilserin translokasyonunu, geç apoptoz göstergelerinden olan membran geçirgenliğini ve Kaspaz-3 ekspresyon seviyelerini belirleyip, grupları bu parametreler açısından karşılaştırmayı amaçladık.

**Materyal-Metod:**

Tüp Bebek Merkezi'ne infertilite nedeniyle başvuran toplam 25 hastanın sperm örnekleri, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine göre analiz edilip normozoospermik (n: 13) ve non-normozoospermik (n: 12) olarak gruplandırıldı. Örnekler, akım sitometri yöntemi kullanılarak Annexin V-FITC-PI kiti ile apoptoz analizi yapıldı. Bu yöntemde boyanan hücreler; canlı, pre-apoptotik ve post-apoptotik/nekrotik olarak üçe ayrıldı. Grupların fluorometrik Kaspaz-3 ekspresyon seviyeleri belirlendi.

**Sonuçlar:**

Normozoospermik (%24,93) ve non-normozoospermik (%33,19) örneklerin canlı hücre oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi ( $p=0,3$ ). (Şekil 1, Şekil 2). Grupları pre-apoptotik hücre oranları açısından karşılaştırdığımızda ise normozoospermik (%1,09) örneklerin non-normozoospermik (%7,64) örnekler göre anlamlı derecede düşük pre-apoptotik hücre oranına sahip olduğu belirlendi ( $p=0,01$ ) (Şekil 1, Şekil 2). Normozoospermik (%13,76) ve non-normozoospermik (%21,58) örneklerin post-apoptotik hücre oranları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi ( $p=0,3$ ) (Şekil 2). Normozoospermik (OD: 3226109) ve non-normozoospermik (OD: 3059726) gruplar ortalama Kaspaz-3 ekspresyon değerleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadı.

**Tartışma:**

Bulgularımız doğrultusunda, normozoospermik hastalarda erken apoptotik bulgulara daha az rastlandığı, sperm değerlerinden en az birinin düşük olarak belirlendiği non-normozoospermik hastalarda ise apoptoza giren sperm sayısının arttığı ancak bunun vitaliteyi etkilemediği ortaya konmuştur.

Bu bulgular, yardımla üreme tekniklerinde sperm problemi olan kişilerde görülen fertilizasyon, embriyo gelişimi ve embriyo kalitesi sorunlarının nedenlerini kısmen açıklamaktadır. Bu süreci azaltacak ya da ortadan kaldıracak stratejilerin geliştirilmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Referanslar:**

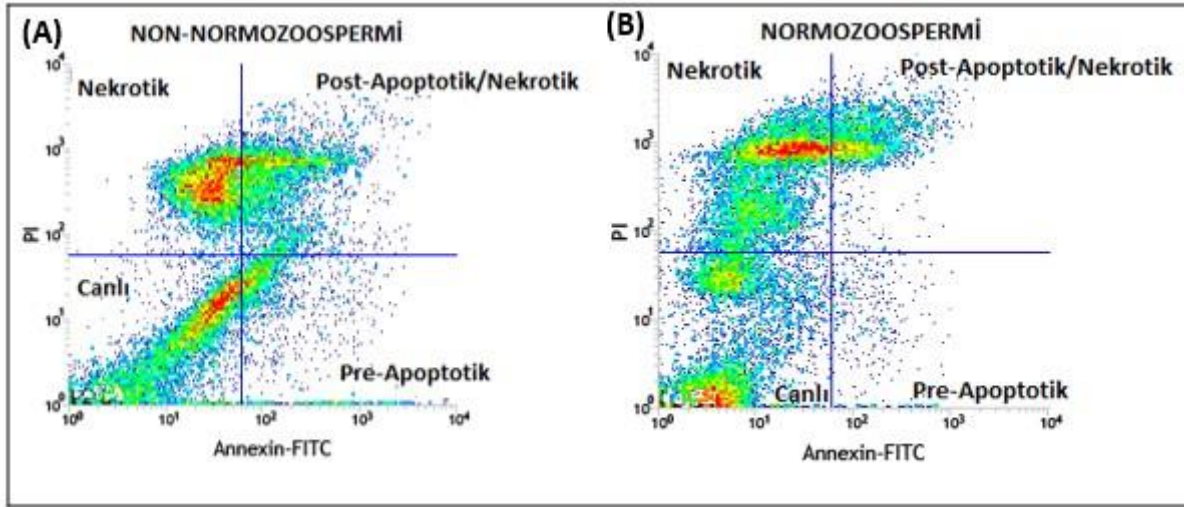
1-Poongothai et al. Genetics of human male infertility. Singapore Med J, 2009, 50.4: 336-347.

2-Hoogendijk et al. A novel approach for the selection of human sperm using annexin V-binding and flow cytometry. Fertility and sterility, 2009, 91.4: 1285-1292.

3-Abu-qare et al. Biomarkers of apoptosis: Release of cytochrome c, activation of caspase-3, induction of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, increased 3-nitrotyrosine, and alteration of p53 gene. Journal of toxicology and environmental health. Part B, Critical reviews, 2001, 4.3: 313-332.

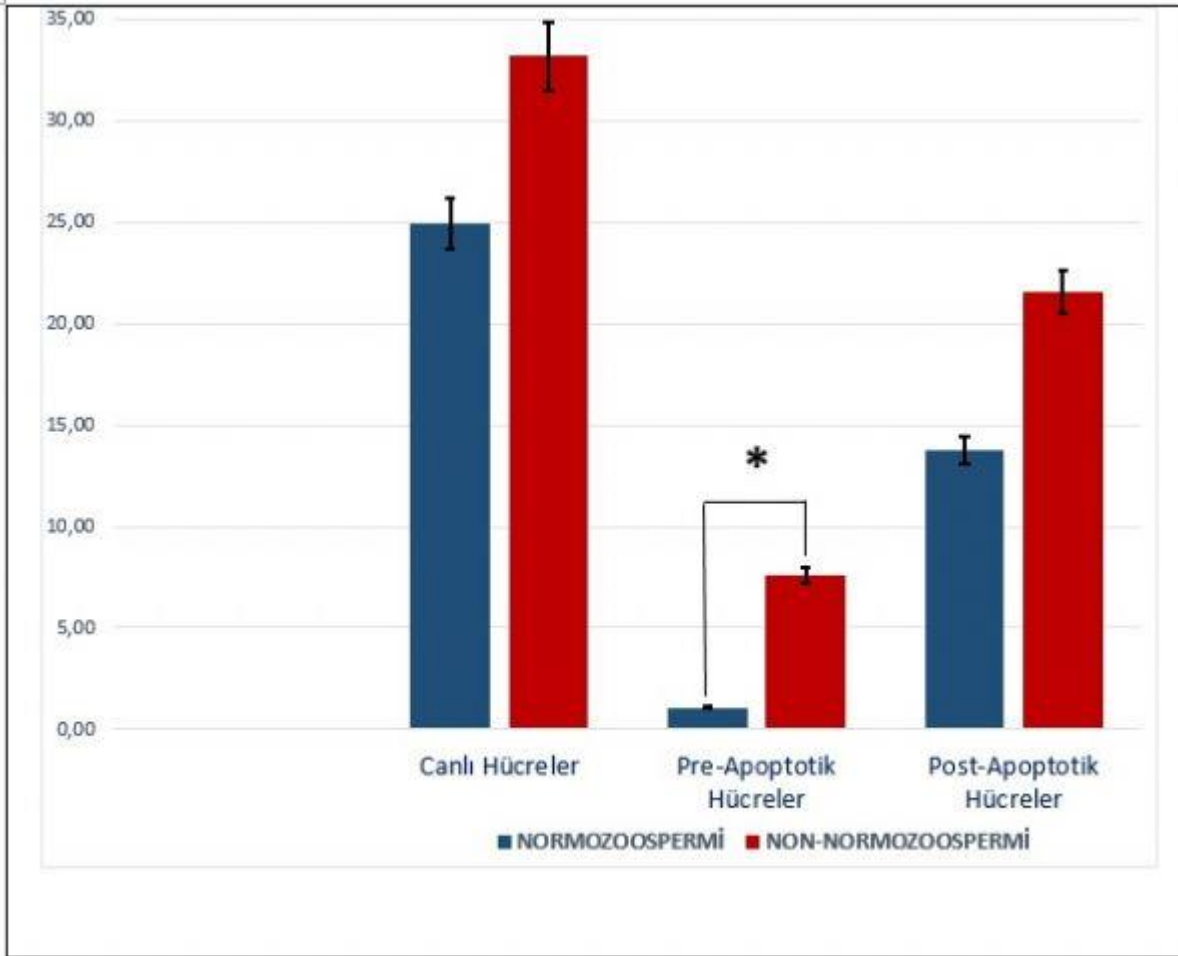
**Anahtar Kelimeler:** Annexin V, FACS, Kaspaz-3, PI, Sperm

### Normozoospermik ve Non-normozoospermik Hastalarda Canlı, Pre-Apoptotik ve Post-Apoptotik Sperm Hücrelerinin Akım Sitometri Analizi Diyagramındaki Dağılımları



Şekil 1: (A) Non-normozoospermik hastalarda Canlı, Pre-Apoptotik ve Post-Apoptotik sperm hücrelerinin Akım Sitometri Analizi diyagramındaki dağılımları, (B) Normozoospermik hastalarda Canlı, Pre-Apoptotik ve Post-Apoptotik sperm hücrelerinin Akım Sitometri Analizi diyagramındaki dağılımları.

### Normozoospermik ve Non-normozoospermik Hastalarda Canlı, Pre-Apoptotik ve Post-Apoptotik Sperm Oranları



Şekil 2: Normozoospermik ve Non-normozoospermik hastalarda Canlı, Pre-Apoptotik ve Post-Apoptotik sperm oranları gösterilmektedir. (\*  $p < 0,05$ )

**S44**

**Kültür Ortamında Büyütülen ve Hipoksi Oluşturulan Embriyolar Üzerine B12 Vitamininin In Vitro Etkisi**

Dilara Patat<sup>1</sup>, Mehtap Nisari<sup>1</sup>, Harun Ülger<sup>1</sup>, Tolga Ertekin<sup>2</sup>, Ertuğrul Gazi Dağlı<sup>1</sup>, Dicle Çayan<sup>3</sup>, Özge Al<sup>1</sup>, Hatice Susar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>2</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Ana Bilim Dalı, Afyon

<sup>3</sup>Niğde Ömer Halis Demir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Ana Bilim Dalı, Niğde

**Giriş-Amaç:** Hipoksi; vücut içinde veya dışında herhangi bir yerde oksijen basıncının azalması anlamına gelmekte ve yaşamsal faaliyetlerin düşmesine neden olmaktadır. Oksijen konsantrasyonunun kritik eşik değer olan %6'nın altına düşmesiyle nörogenez, anjiogenez ve hücre çoğalmasının bozulduğu tespit edilmiştir. Hipoksi koşullarında yaşamlarını sürdürebilmek için hücreler bir seri adaptif cevap geliştirmektedir. Erken embriyonik dönemde hipoksi hücre çoğalmasını engellemekte ve nöral hücrelerin ölümüne neden olmaktadır. Aynı zamanda hipoksiye bağlı kraniofasiyal anomaliler meydana gelmektedir. Antioksidanlar vücutta serbest radikallerin normalin üzerinde oluşumunu engellenmekte ve bu radikaller nedeniyle oluşan hasarları önlenmektedir. Bu çalışmada, hipoksi oluşturulan embriyo kültür ortamına eksojen antioksidan olan B12 vitamini ilave ederek embriyo gelişimi üzerine olan etkisi araştırıldı.

**Gereç-Yöntem:** Bu çalışmada 4-10 aylık Wistar albino (150-250 gr) türü dişi sıçanlar kullanıldı. 1 dişi sıçan çiftleştirilmek üzere bir gece boyunca (17.00 ile 08.00 arasında) 1 yetişkin erkek sıçanla aynı kafeste tutuldu. Vajinal smear'de sperm görülen dişi sıçanlar 0,5 günlük hamile kabul edilerek ayrı bir kafese alınıp normal diyet ile 9 gün beslenerek bekletildi. 9,5 günlük gebe sıçanlardan embriyolar çıkarılarak disekte edildi. Her grupta 10 embriyo olacak şekilde 6 grup oluşturulduktan sonra kültür ortamına konuldu.

**Bulgular:** 48 saatlik kültür periyodu sonunda 10 µM ve 100 µM B12 vitamininin embriyolar üzerine etkisi morfolojik olarak değerlendirildi. Morfolojik skorlama parametreleri, vitellus kesesi çapı, baş-kıç uzunluğu ve somit sayısı karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre hipoksi grubunda gelişim geriliği olduğu gözlemlendi. Hipoksi grubu ile hipoksi düşük doz B12 vitamini grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmazken, hipoksi yüksek doz B12 vitamini grubunda vitellus kesesi damarlanması, allantios, kaudal nöral tüp, orta beyin, mandibular çıkıntı, ön-arka uzuv ve somit parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlendi (p<0.05). Hipoksi grubunda vitellus kesesi damarlanması, kalp ve nöral tüpte gelişim geriliği gözlenirken B12 vitamini verilen gruplarda ise gelişimin kontrole yakın olduğu gözlemlendi.

**Tartışma ve Sonuç:** Eksojen antioksidan ve antianjiogenik madde olan B12 vitamini ile ilgili daha önceki çalışmalar ile bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar, bu maddenin embriyoda meydana gelen sinir sistemi hasarını azalttığını, embriyonik damarlanmayı arttırdığını desteklemektedir. Bu çalışma, antioksidan etkisi olan B12 vitamininin hipoksi oluşturularak embriyonik gelişim geriliği gösteren embriyolar üzerinde etkili olabileceğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** B12 Vitamini, Embriyo Kültürü, Sıçan, Antioksidan Etki, Nöral Tüp

S45

**Kanser hücre proliferasyonu üzerine Juglon ve resveratrol'ün kefir ile oluşturulan metabolitlerinin etkisinin PCNA, Siklin D1 ve AgNOR ile değerlendirilmesi**Esra Aslan<sup>1</sup>, Betül Demirciler Yavaş<sup>2</sup>, Mehmet Bilgehan Pektaş<sup>3</sup>, Tolga Ertekin<sup>4</sup>, Murat Tosun<sup>1</sup><sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Abd<sup>2</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Patoloji Abd<sup>3</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Abd<sup>4</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Anatomi Abd

**Amaç:** Ehrlich Assit Tümörü (EAT) ilk olarak dişi bir farede spontan meme adenokarsinoması olarak keşfedilmiş olup daha sonra ise ticari formu oluşturulmuş olan deneysel transplantabl bir tümör çeşididir. "Nucleolar Organizer Regions" (NOR) proteinleri çekirdekçiğin ipliksi bölgesinde yerleşir ve metafaz NOR'larının karşılığını belirlemek için kullanılırlar. Bu sebeple AgNOR boyama, interfaz çekirdekçindeki çekirdekçikleri göstermek veya metafaz kromozomlarındaki aktif NOR yerleşimini belirlemek amacıyla kullanılan en güvenilir metodlardan biridir. AgNOR proteinlerinin miktarı hücre siklus fazları ile ilişkili olduğu için hücre çoğalmasının bir belirteçlerdir. PCNA hücre proliferasyon markırlarından olup kanserli dokularda arttığı bilinmektedir. Siklin D1, hücre siklusunda G1/S geçişini regüle eder. Tümörlerde bu genin mutasyonu ve aşırı ekspresyonu sıklıkla gözlenmektedir. Çalışmamızda EAT modelinde kefirin juglon ve resveratrol üzerindeki etkileri sonucu ortaya çıkan metabolitlerinin hücre proliferasyonu, hücre siklusu ve NOR proteinleri üzerine etkisini araştırdık.

**Materyal-Metod:** EAT hücreleri Balb-c farelere intraperitoneal olarak (1x10<sup>6</sup>) enjekte edildi. Enjeksiyondan sonraki 5. Gün farelerde abdominal bölgedeki şişlik ve ağırlık artışına bağlı olarak EAT tümörünün asit formunun olduğu belirlendi. Bu süreçten sonra her grupta sekizer hayvan olmak üzere tümör ve tedavi grupları oluşturuldu. Kefir mayasındaki Lactobacillus bakterileri hücre kültürüne (1,5x10<sup>9</sup> / ml) alındı. Juglon ve resveratrol (1:2) ortama ilave edildi ve 48 saat boyunca maruz bırakıldı. Filtreleme sonrasında elde edilen solüsyon, oluşturulan tedavi grubuna (0.1 ml / gün i.p.) beş gün boyunca uygulandı. 11.gün tümör ve tedavi grubundaki farelerden enjektör ile intraperitoneal ortamdan alınan assit sıvısındaki EAT hücreleri, Thoma lamıyla sayıldı. Ayrıca EAT hücreleri lamalar üzerine yayılarak, histokimyasal olarak AgNOR boyaması ve immunohistokimyasal olarak Siklin D1 ve PCNA boyamaları yapıldı. Preparatlardaki analize uygun 50 hücrenin mikroskoptaki görüntüleri bilgisayar ortamına aktarıldı. Toplam AgNOR alanı/çekirdek alanı ölçülerek (TAA/ÇA) değerleri hesaplandı. Tümör ve tedavi grubu karşılaştırıldı. İmmunohistokimyasal boyamalar için 6 alan sayılarak yüzde hesaplaması yapıldı. Tümör ve tedavi grubu istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Tümör grubu EAT hücrelerinde TAA/ÇA değeri tedavi grubuna göre daha yüksek tespit edildi. Siklin D1 ve PCNA ekspresyonları da tümör grubu EAT hücrelerinde oldukça yüksek iken, tedavi grubunda daha düşük değerlerde tespit edildi.

**Sonuç:** Kefirin juglon ve resveratrol üzerindeki etkileri sonucu ortaya çıkan metabolitlerinin kanserlerde hücre proliferasyonunu azaltarak, tedavi edici etkiye sahip olabileceğini düşünüyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Ehrlich Asit Tümör, Juglon, Kefir, AgNOR, Proliferasyon

S46

### Sisplatin İle Oluşturulan Böbrek Hasarına Karşı Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin Tedavi Edici Etkisi

Arzu Yay<sup>1</sup>, Gülay Sezer<sup>2</sup>, Rümeyza Göç<sup>1</sup>, Gözde Özge Önder<sup>1</sup>, Zeynep Soyer Sarıca<sup>3</sup>, Menekşe Ülger<sup>1</sup>, Seçil Yılmaz<sup>4</sup>, Zeynep Burçin Gönen<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>3</sup>Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kayseri

<sup>4</sup>Erciyes Üniversitesi Betül - Ziya EREN Genom ve Kök Hücre Merkezi, Kayseri

**Amaç:** Sisplatin (CİS), yumurtalık, testis, baş, boyun ve servikal kanser gibi çeşitli solid tümörlerin tedavisinde sıklıkla kullanılan kemoterapötik ajanlardan biridir. Bununla birlikte, CİS kullanımı ototoksikite, periferik nöropati ve özellikle de nefrotoksikite gibi çeşitli yan etkilere neden olmaktadır. Akut böbrek hasarının (ABH) tedavisinde mezenşimal kök hücrelerin (MKH) başarılı bir şekilde kullanılması, bu hücrelerin ABH için potansiyel bir tedavi edici olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda, CİS uygulaması sonucu meydana gelen ABH üzerine farklı miktardaki MKH'lerin olası tedavi edici etkisini mekanizmaları ile belirlemeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada, 18 adet Sprague Dawley cinsi (160-200 g) erkek sıçan kullanıldı ve rastgele 4 gruba ayrıldı (n=4). Kontrol grubu; CİS çözücüsü olan serum fizyolojik aynı CİS grubunda olduğu gibi uygulandı. CİS grubu; haftada iki kez 5 hafta boyunca 2 mg/kg dozda intraperitoneal (i.p.) olarak toplam 10 kez CİS enjekte edildi. CİS+1x10<sup>6</sup> MKH grubu; 5. hafta CİS enjeksiyonundan sonra 1x10<sup>6</sup> PKH26 flouresan işaretli MKH 100 µl hacimde PBS (fosfat tamponlu salin) içinde kuyruk veninden enjekte edildi. CİS+5x10<sup>6</sup> MKH grubu; 5. hafta CİS enjeksiyonundan sonra 5x10<sup>6</sup> PKH26 flouresan işaretli MKH aynı şekilde uygulanan grup. Çalışmada kullanılan MKH'ler 2 adet sıçanın kemik iliğinden elde edildi. MKH için; CD105+, CD73+, CD90+ yüzey belirteçlerini eksprese ettiği ve CD45-, CD34-, CD14-, CD79- ve HLA-DR belirteçlerini taşımadığı flow sitometri yöntemiyle gösterildi. Deney sonunda, anestezi altında sıçanların böbrek dokuları alınarak, 10% formaldehit solüsyonunda tespit edildi ve rutin histolojik doku takibi yöntemi uygulanarak parafin bloklar hazırlandı. Deney gruplarına ait böbrek dokularının ışık mikroskopik olarak değerlendirilebilmesi için Hematoksilen&Eozin ve periyodik asit shiff (PAS) boyama metodları kullanıldı. İmmünohistokimyasal olarak PCNA, NOS2, NOS3 ve HIF-2α immünreaktivite yoğunlukları değerlendirildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS yazılım programında yapıldı ve p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** Kontrol grubu böbrek dokuları normal histolojik yapı sergilerken, CİS grubunda fırçamsı kenar kaybı, tübüllerde dejenerasyon ve lümende epitelyal döküntü gözlemlendi. CİS+1x10<sup>6</sup> MKH ve CİS+5x10<sup>6</sup> MKH gruplarında ise, daha çok kontrol grubuna benzer bulgular gözlemlendi. Sadece CİS uygulanan grupta kontrol ve diğer deney gruplarına göre HIF-2α immünreaktivite yoğunluğunda artış gözlenirken, PCNA+ hücre sayısında da anlamlı bir artış vardı (p<0,001). Sadece CİS uygulanan gruba ait böbrek dokularında kontrol ve CİS+5x10<sup>6</sup> MKH gruplarına göre anlamlı derecede artmış NOS2 immünreaktivite yoğunluğu mevcuttu (p<0,001). Benzer şekilde, NOS3 immünreaktivite yoğunluğu CİS grubunda tüm diğer gruplara göre anlamlı derece artış olduğu belirlendi (p<0,001).

**Sonuç:** Çalışmada, MKH uygulamasının CİS kaynaklı böbrek hasarına karşı tedavi edici etkiye sahip olduğu ve MKH'lerin böbrek fonksiyonlarının korunması için önemli bir rol üstlenebileceği gösterilmiştir.

Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından desteklenen 315S176 kodlu projeden türetilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Böbrek, Mezenkimal Kök Hücre, Sisplatin



S47

### Yaşamlarının Başlangıcında Broyler Civcivlerin Barsaklarında Çeşitli İnnate İmmun Sistem Elemanları

Ülker Eren<sup>1</sup>, Şadiye Kum<sup>1</sup>, Ahmet Nazlıgöl<sup>2</sup>, Özay Güleş<sup>1</sup>, Ebru Aka<sup>3</sup>, Seçil Zorlu<sup>3</sup>, Mustafa Yıldız<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Aydın

<sup>2</sup>Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Zootekni Ana Bilim Dalı, Aydın

<sup>3</sup>Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Aydın

<sup>4</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü, Çan Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Çanakkale

**Amaç:** Tavuklarda lenf düğümü bulunmadığından, dalak ve sindirim sistemine ait lenfoid doku adaptif immunité için önemli olan yapılardır. Bununla birlikte, civcivler kuluçkadan çıktığında, sindirim sisteminin işlevsel kapasitesi ve barsağın adaptif immunitesi henüz immatür formdadır. Bu kritik dönemde korunmanın, maternal antikor aktivitesi veya doğuştan gelen immün sistem elemanları ile gerçekleştirildiği düşünülmektedir. Bu çalışma, kuluçkadan çıkışta civciv barsağının, etkili ve fonksiyonel bir innate immün sisteme sahip olduğu görüşüne dayanılarak planlanmıştır. Araştırmada, bir günlük civcivlerin barsağında, innate immün sistemin çeşitli elemanlarının (TLR2, TLR4, CD83 ve MHC sınıf II molekülü) ekspresyonlarının ve doku dağılımlarının araştırılması amaçlanmıştır.

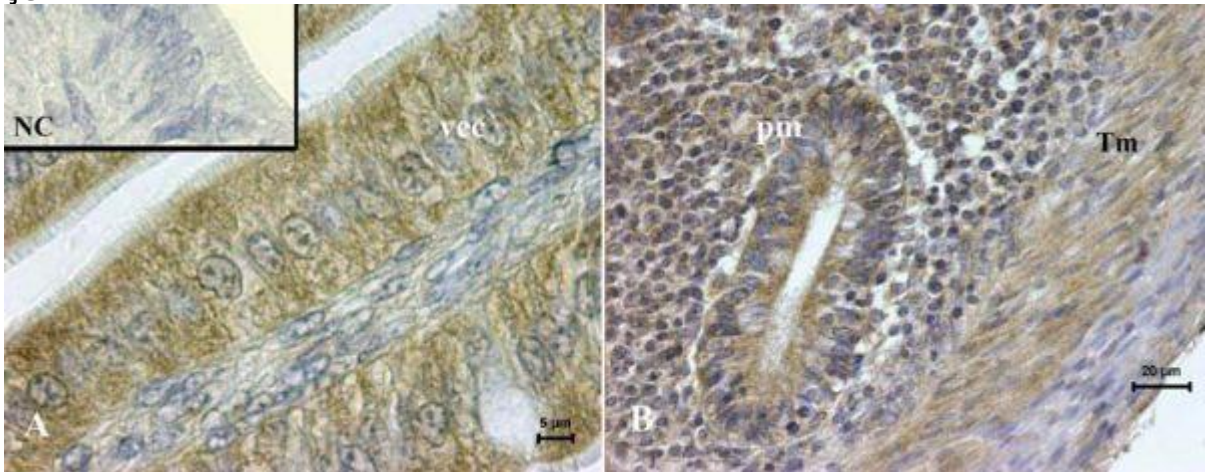
**Gereç ve Yöntemler:** Materyal olarak 45 adet Ross 308 ticari broyler civciv kullanıldı. Civcivler kontrol grubu ile LPS (lipopolysaccharide) ve PBS (phosphate buffered saline) uygulanan olmak üzere, 15'er adet civciv içeren üç gruba ayrıldı. Amaç doğrultusunda, civcivlere intra abdominal LPS ile PBS enjeksiyonlarından 1, 3, 6, 12, 24 saat sonra ve kontrol grubunda da aynı saatlerde olmak üzere, ileum ve sekumdan doku örnekleri toplandı. Dokularda TLR2, TLR4, CD83 ve MHC sınıf II molekülü ekspresyonlarını göstermek için Strept-ABC metodu uygulandı.

**Bulgular:** Araştırmada elde edilen veriler, antijenik uyarıma bakılmaksızın, bir günlük civcivlerin bağırsak dokularında TLR2 ve TLR4 eksprese eden hücrelerin bulunduğunu gösterdi. LPS stimülasyonundan sonra bağırsak segmentlerinin farklı TLR ekspresyon seviyelerine sahip olduğu görüldü. CD83 pozitif dendritik hücreler gözlemlendi ve LPS uygulamasından sonra barsak dokusundan ayrıldıkları tespit edildi. MHC sınıf II moleküllerinin hem ileum hem de sekumda yaygın olarak bulunduğu görüldü.

**Sonuç:** Bu çalışma, bir günlük civcivlerin bağırsak dokusunun, innate immün sisteme ait çeşitli unsurları ile dikkat çekici bir savunma ortamına sahip olduğunu gösterdi.

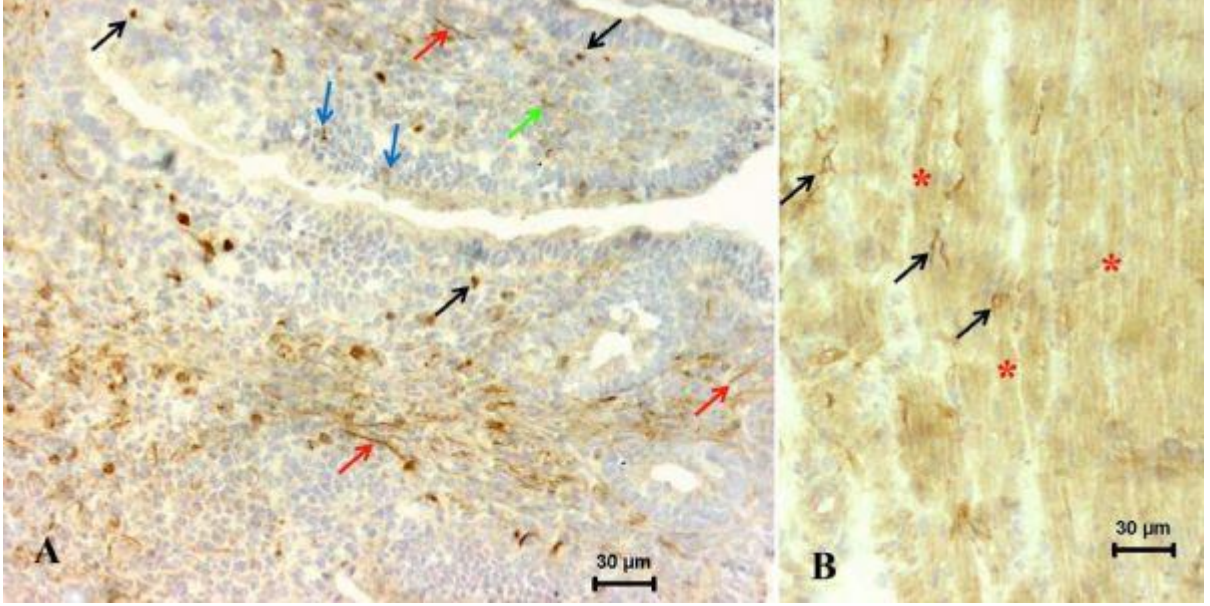
**Anahtar Kelimeler:** Civciv barsağı, dendritik hücreler, MHC sınıf II moleküller, TLR2, TLR4

#### Şekil 1.



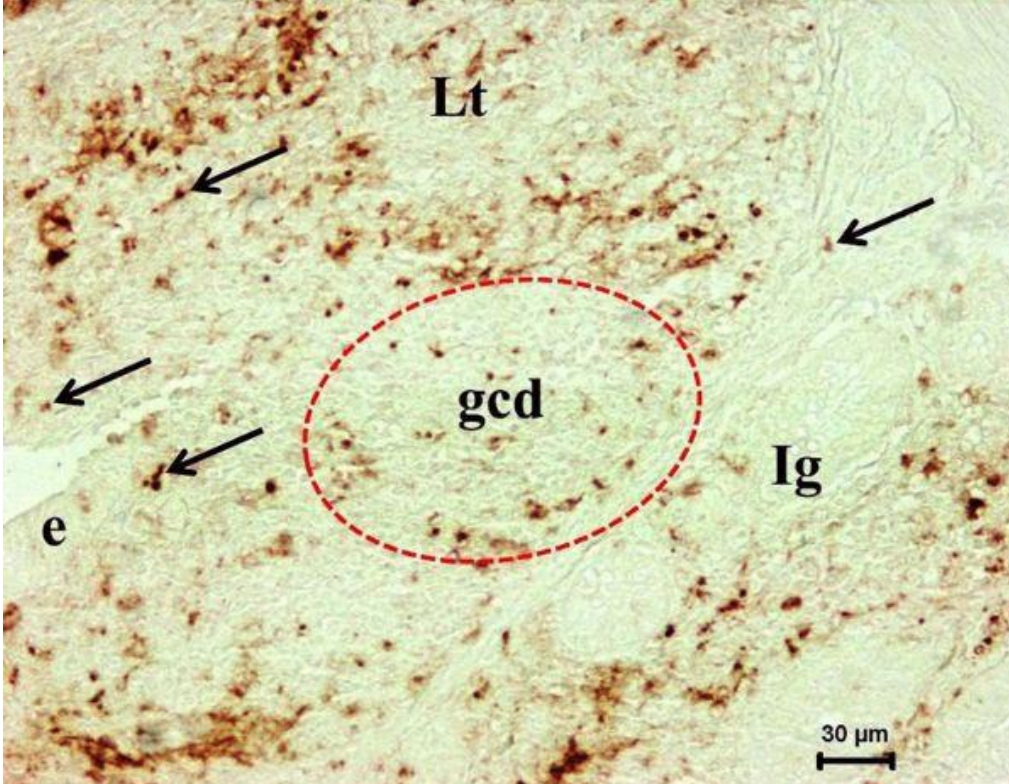
Kontrol grubunda sekal TLR4 pozitivitesinin görünümü (kahverengi çökelti). Strept ABC metodu. A. Bir gün bir saatlik örnekte TLR4 pozitivitesi. vec: Villus epitel hücreleri. B. Bir gün üç saatlik örnekte TLR4 pozitivitesi. pm: Propriya mukoza, Tm: Tunika muskularis.

**Şekil 2.**



Sekal CD83 pozitivitesinin görünümü (kahverengi çökelti). Strept ABC metodu. A. Kontrol grubu bir gün altı saatlik örnekte CD83 pozitivitesi. Mavi oklar: intraepitelyal CD83 pozitif hücreler, siyah oklar: Subepitelyal pozitif hücreler, yeşil ok: villus gövdesinde pozitif hücreler, kırmızı oklar: düz kas hücreleri. B. PBS grubu bir gün altı saatlik örnekte, kas hücreleri arasında CD83 pozitif hücreler (oklar) ve kas hücrelerinde CD83 pozitivitesi (yıldızlar).

**Şekil 3.**



Bir gün bir saatlik örnekte sekal MHC sınıf II pozitivitesi (kahverengi çökelti) Strept ABC metodu. Lt: Lenfoid doku, e:epitelyal hücreler, Ig: intestinal bez, gcd: germinal merkez taslağı, oklar: MHC sınıf II pozitif hücreler.

S48

**Kadın Yaşı ve Östrojen Düzeyinin Folikül Sıvısındaki Oksidatif Stres ve Kümüls Hücresindeki HSP-70, TGF- $\beta$  NOTCH-1, Ekspresyonlarına Etkisi**Seda Karabulut<sup>1</sup>, Oya Korkmaz<sup>1</sup>, Pelin Kutlu<sup>2</sup>, İlknur Keskin<sup>1</sup><sup>1</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul; İstanbul Medipol Üniversitesi Regenerative And Restorative Medicine Research Center(REMER), İstanbul<sup>2</sup>Medicana Çamlıca Hastanesi, Tüp Bebek Merkezi, İstanbul**Giriş**

Ovaryan folikülünde, kümülüs ve granüloza hücreleri ile birlikte folikül sıvısı bulunmakta ve oositlerin gelişimi için uygun bir mikro-ortam sağlamaktadır. ROS'lar gametlerde, hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerde rol alan ve biyomoleküllerin yapısını değiştirebilen oksidatif moleküllerdir(1, 2). Bir mikroçevredeki toplam antioksidan ve oksidanların dengesi o mikroçevre için oksidatif stres düzeyini belirlemektedir. Folikülogenez sürecinde kümülüs ve granüloza hücrelerinde TGF- $\beta$  ve NOTCH-1 sinyal yolları apoptoz ve sağ kalım süreçlerinde, HSP-70 proteini ise strese karşı yanıtta aktif rol oynamaktadır.

Çalışmamızda, foliküler sıvı örneklerinde oksidatif stres seviyelerinin saptanması, oksidatif stresin kadın yaşı ve östrojen seviyesi ile ilişkisinin belirlenmesi ve bu sürecin insan kümülüs ve granüloza hücrelerinde NOTCH-1, TGF- $\beta$  ve HSP-70 proteinlerinin ekspresyonuna etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:**

IVF tedavisi uygulanan 47 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar, kadın yaşı (<35,  $\geq$ 35) ve östrojen seviyelerine göre (<300,  $\geq$ 300 pg/ml) iki farklı gruba ayrılmıştır. Her bir hastanın folikül sıvılarında TAS ve TOS miktarları ölçülmüştür. Kümüls ve granüloza hücrelerinde 3 farklı proteinin (HSP-70, TGF- $\beta$ , NOTCH-1) immünohistokimyasal olarak ekspresyonu analiz edilmiştir. Sonuçlar SPSS 22.0 programı ile istatistiksel olarak değerlendirilmiş,  $p < 0,05$  seviyesi anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir.

**Sonuçlar:**

TAS-TOS seviyelerinde, yaşa ve östrojen seviyelerine göre anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir( $p > 0,05$ ) (Grafik 3). Hasta yaşları dikkate alındığında, HSP-70 ekspresyonlarının 35 yaş üstünde arttığı, NOTCH-1 ekspresyonunun ise 35 yaş üstünde azaldığı gözlemlenmiştir ( $p < 0,05$ ). TGF- $\beta$  ekspresyonlarında ise yaşa göre farklılık belirlenmemiştir(Grafik 1). Hastalar E2 seviyelerine göre (<300,  $\geq$ 300) karşılaştırıldığında ise HSP-70 ve NOTCH-1 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenemezken, E2 $\geq$ 300pg/ml grubunda TGF- $\beta$ 'nin ekspresyonunda bir artış gözlemlenmiştir ( $p < 0,05$ ) (Grafik 2).

**Tartışma:**

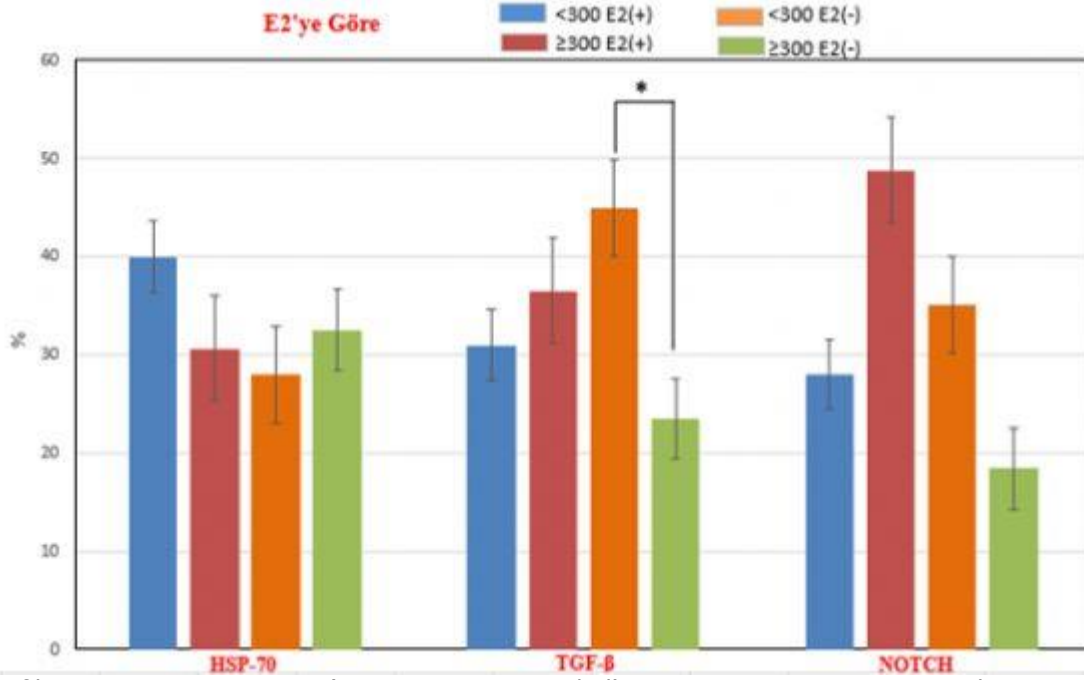
Strese karşı aktive olduğu bilinen HSP-70 ekspresyonunun yaşla birlikte arttığı ve sağ kalım sürecinde rol alan NOTCH-1 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. Yüksek E2 seviyelerinin hücrel sinyal yolları üzerine etkisini incelediğimizde, HSP-70 ve NOTCH-1 ekspresyonlarında değişiklik gözlemlenmezken, TGF- $\beta$  ekspresyonunda artış olduğu gözlemlenmiştir. Bulgularımız, ilerleyen yaşın ve yüksek östrojen seviyelerinin hücre içinde önemli rolü olan proteinlerinde değişikliklere neden olabileceği ancak bu değişikliklerin oksidatif stresle bağlantılı olmadığını göstermektedir.

**Kaynaklar:**

1. Ambekar et al. Proteomic analysis of human follicular fluid: a new perspective towards understanding folliculogenesis. J. Proteome.(2013)
2. Kushnir et al. Exploratory study of the association of steroid profiles in stimulated ovarian follicular fluid with outcomes of IVF treatment. J. Steroid Biochem Mol. Biol.(2016)

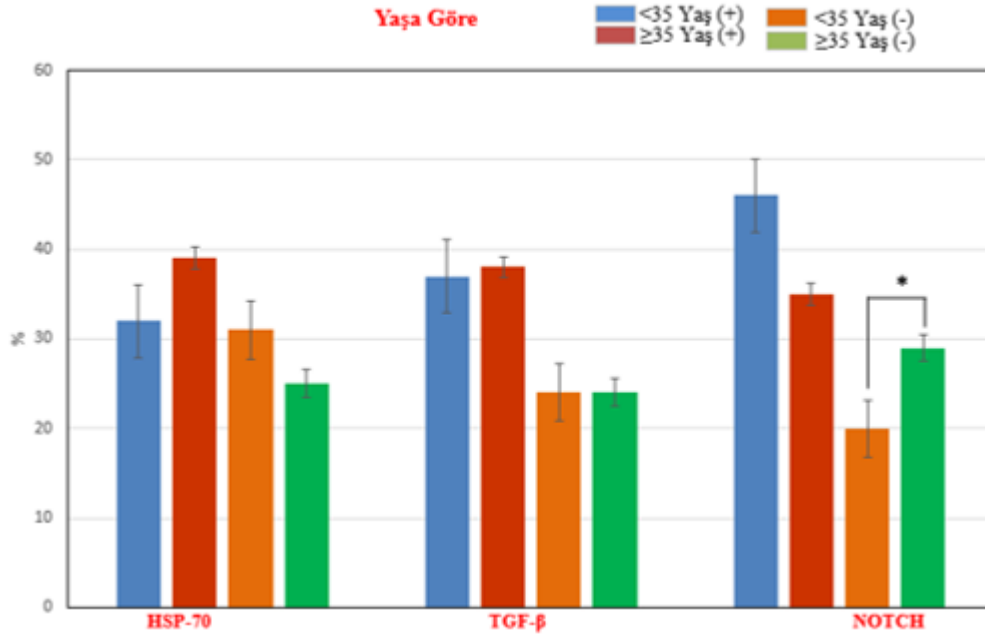
**Anahtar Kelimeler:** Folikül Sıvısı, Kümüls-Granüloza hücreleri, Oksidatif Stres

### E2 seviyesine göre immünohistokimya sonuçları



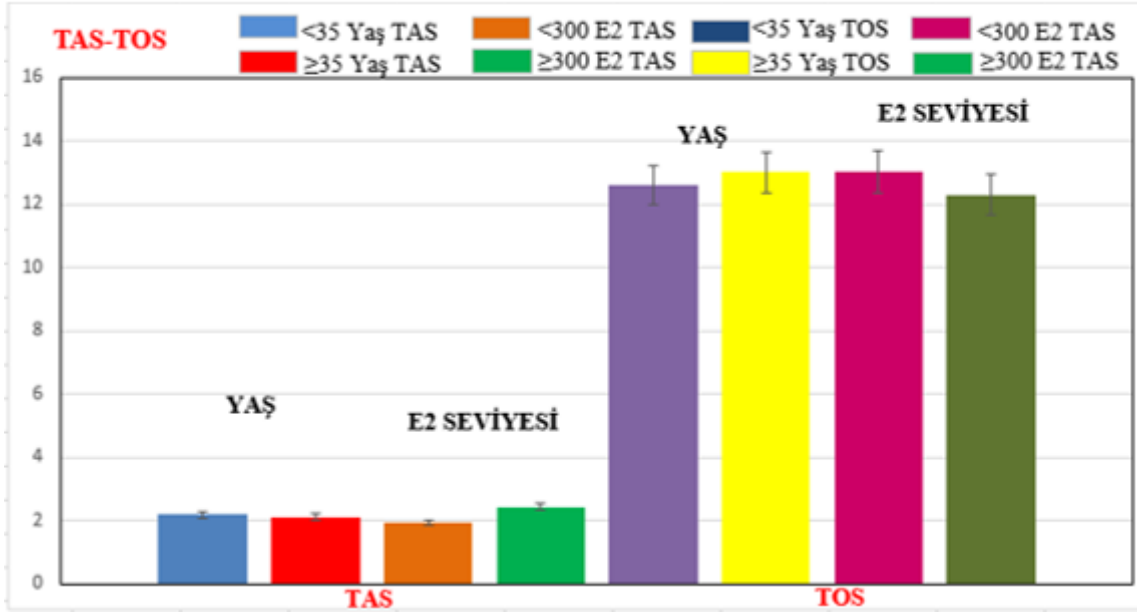
Grafik 2: E2 seviyesine göre ( $\geq 300$  ve  $< 300$  pg/ml), HSP-70, TGF-B ve NOTCH ekspresyonları

### İmmünohistokimya Sonuçları



Grafik 1: Yaşa göre ( $\geq 35$  ve  $< 35$ ) HSP-70, TGF-B ve NOTCH ekspresyonları

### Tas-Tos Seviyeleri



Grafik 3: Yaşa ( $\geq 35$  ve  $< 35$ ) ve E2 seviyelerine göre ( $\geq 300$  ve  $< 300$  pg/ml), TAS-TOS seviyeleri

S49

**Endoplazmik retikulum stresi ile ilişkili katlanmamış protein cevabı hiperglisemik koşullar altında fare ovaryumlarında apoptozu tetikler**

Aslı Okan, Berna Sözen, Necdet Demir

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya

Giriş: Endoplazmik retikulumun (ER) başlıca görevi; yeni oluşan proteinlerin olgunlaşmasını ve tersiyer yapılarda doğru katlanmalarını sağlamaktır. N-bağımlı glikozilasyon inhibisyonu, kalsiyum dengesinin bozulması, hipoksi, oksidatif stres, glukoz yoksunluğu, viral enfeksiyonlar ve ortamın sıcaklığı gibi çevresel koşullar, yanlış katlanmış ya da katlanmamış proteinlerin ER lümeninde birikmesine yol açarak ER stresi (ERS) adı verilen olayı meydana getirir. ERS'ye cevap olarak hücrede dengeyi yeniden sağlamak için katlanmamış protein cevabı (Unfolded Protein Response, UPR) aktif hale gelir. UPR veya ERS cevabının çeşitli fizyolojik durumlara karşı etkili bir adaptasyon mekanizması olduğu bilinmekle birlikte diabetes mellitus (DM) gibi hastalıkların fizyopatolojisi ile ilişkisi olduğu bildirilmiştir.

Diyabetle indüklenmiş hiperglisemi ya da glukoz emilimindeki yetersizliğin fare granuloza hücrelerinin apoptozuna yol açtığı ve oositlerde; mayozun ilerlemesini azalttığı, düşük oosit kalitesi neden olduğu bilinmektedir. Hiperglisemik koşulların fare ovaryumlarında yarattığı olumsuz sonuçların nedenleri arasında, bozulan protein sentez mekanizması, ERS'nin ve buna cevap olarak ortaya çıkan hücre kaderini belirleyen UPR mekanizmasının rolleri olabilir.

Materyal-Metod: Çalışmamızda, 24 günlük toplam 31 adet BalbC ırkı dişi fare kullanılarak üç grup oluşturuldu: 1) kontrol grubu (herhangi bir uygulama yapılmayan grup) (n=10), 2) çözgen grubu (intraperitoneal (i.p) 100 µl sodyum sitrat enjekte edilen grup) (n=6), 3) diyabet grubu (n=15) (tek doz 90 mg/kg streptozotosinin (STZ) i.p. olarak enjekte edilen grup). Diyabet modelinin takibi için, STZ enjeksiyonu takiben 2.,7. ve 14.günlerde kan şekeri ölçüldü. Kan şekeri değeri 300 mg/dl'nin üzerinde çıkan dişiler diyabetik kabul edildi. 14 günlük takip süresinin sonunda dişiler sakrifiye edilerek ovaryum örneklerinde ERS proteinlerinin lokalizasyonları ve ekspresyon seviyelerini göstermek amacıyla immünohistokimya (XBP1, GRP78, DDIT3, Kaspaz12, CleavedKaspaz 3 ve p-PERK için) ve western blot (XBP1s, GRP78, DDIT3, Kaspaz 12 ve p-PERK için) yöntemleri uygulandı. qRT-PCR yöntemi ile ERS belirteçleri olan Grp78 ve Ddit3 genlerine ait mRNA ekspresyon seviyeleri incelendi.

Sonuç ve Tartışma: Diyabet grubuna ait ovaryum örneklerinde Cleaved Kaspaz3 immün reaksiyonunun kontrol ve çözgen gruplarına kıyasla anlamlı olarak arttığı gözlemlendi. XBP1 ve Kaspaz 12 ekspresyonlarında gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi. Her üç proteinin de immün boyanmaları özellikle atretik foliküllerde, apoptotik granuloza hücrelerinde ve dejenere oositlerde görüldü. Western blot tekniği sonuçlarına göre XBP1s ve Kaspaz 12'nin protein ekspresyonlarının diyabetik ovaryumlarda arttığı gözlemlendi. Grp78 mRNA düzeyi gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmazken, Ddit3'ün mRNA miktarının diyabetik ovaryumlarda anlamlı derecede arttığı tespit edildi.

Sonuç olarak; diyabetin fare ovaryumlarında ERS'yi başlatarak UPR sinyal yolağındaki apoptozu tetiklediği tespit edilmiştir. Bulgularımızın, 2017 verilerine göre 199 milyon kadında görülen DM'nin ovaryum fonksiyonu üzerindeki patolojik etkisinin aydınlatılmasına katkısı olacağına inanmaktayız.

**Anahtar Kelimeler:** Endoplazmik retikulum stresi, hiperglisemi, katlanmamış protein cevabı, ovaryum, fare

S50

**İyonize radyasyon ile indüklenmiş akut akciğer hasarında L-karnitinin etkisi: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve PARP-1'in rolü**Meryem Akpolat<sup>1</sup>, Nurten Gülerüz<sup>2</sup>, Büşra Çetinkaya<sup>1</sup>, Çiğdem Özarlan<sup>2</sup>, Kanat Gülle<sup>3</sup>, Zehra Safi Öz<sup>4</sup><sup>1</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Zonguldak<sup>2</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Zonguldak<sup>3</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Isparta<sup>4</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Zonguldak

**Amaç:** İyonize radyasyon; hem hücrelerin bulunduğu sıvı ortamda iyonlaşmaya sebep olarak serbest radikaller oluşturabilir hem de direkt DNA kırıkları meydana getirebilir. L-karnitin küçük, suda eriyebilen, vitamin benzeri bir karnitin türevidir. Çalışmamızda; iyonize radyasyonla oluşturulan akut akciğer hasarına karşı L-karnitinin koruyucu etkisini saptamayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:** 30 adet Wistar albino dişi sıçan kullanılarak 5 grup oluşturuldu. Kontrol grubuna intraperitoneal (ip) yoldan serum fizyolojik uygulandı. Radyasyon-1 (Rad-1) ve radyasyon-2 (Rad-2) gruplarına tek doz 8,3 Gy tüm vücut X ışını uygulandı. Bu gruplar, radyasyon uygulamasından sonra sırası ile 6. saat ve 4. günde sakrifiye edildi. Rad-1+L-karnitin ve Rad-2+L-karnitin gruplarına ise aynı doz radyasyonla birlikte günlük 200 mg/kg L-karnitin ip yoldan verildi. Işınlamadan 1 gün önce ve ışınlamadan sonra 4 gün boyunca L-karnitin uygulaması yapıldı. Belirlenen süreler sonunda tüm denekler anestezi altında sakrifiye edildi. Alınan akciğer doku örnekleri formaldehit fiksasyonu ardından uygulanan parafin inklüzyonu yapılarak bloklandı. İyonize radyasyona bağlı gelişen akut akciğer hasarının belirlenmesinde öne çıkan proinflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyon düzeyleri ve DNA hasarının belirlenmesinde öne çıkan, DNA onarıcı enzim olan PARP-1 ekspresyon seviyesi immünohistokimyasal yöntem ile belirlendi. İlaveten serum MCP-1 düzeyi flow sitometrik yöntem ile analiz edildi.

**Bulgular:** Yapılan analizler neticesinde; Rad-1 ve Rad-2 gruplarında, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyon düzeyleri kontrol ile kıyaslandığında anlamlı artış gösterdiği saptandı. Benzer şekilde PARP-1 düzeyinde de artış olduğu belirlendi. L-karnitin uygulanan gruplarda radyasyona bağlı artan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve PARP-1 ekspresyon düzeylerinde anlamlı azalma olduğu gözlemlendi. Radyasyon uygulaması sonrası artan interalveolar septum kalınlığı, nötrofilik infiltrasyon, hemoraji ve alveolar konjesyon düzeylerinin de L-karnitin uygulaması ile anlamlı düzeyde azaldığı yapılan histopatolojik skorlamalar ile belirlendi. İyonize radyasyona bağlı akut akciğer hasarında makrofajlar anahtar role sahiptir. Radyasyon uygulamasından sonra 6. saatte serum MCP-1 düzeyinde gözlenen artış, kandan akciğer interstisyumuna monosit geçişini ve makrofaj sayısındaki artışı doğrulamaktadır. Artan makrofaj sayısı proinflamatuvar sitokinlerden TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyon düzeylerinin artışı ile ilişkilidir. Radyasyon uygulamasından sonraki 6. saatte ve 4. günde serum MCP-1 düzeyinde zamana göre saptanan artış, Rad-1 ve Rad-2 gruplarında tespit edilen TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyon düzeylerindeki artışı açıklamaktadır. Radyasyon ile birlikte uygulanan L-karnitin artan serum MCP-1 düzeylerini hem 6. saatte hem de 4. günde anlamlı seviyede düşürmüştür. Bu da tedavili gruplarda proinflamatuvar sitokin seviyelerinin neden düşük olduğunu açıklamaktadır.

**Sonuç:** Tüm değerlendirmeler ışığında iyonize radyasyona bağlı gelişen akut akciğer hasarını önlemede, L-karnitin, hem dokuda inflamasyonu tetikleyen TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  düzeylerini düşürerek hem de PARP-1 enzim aktivitesini aşağıya çekerek, iyileştirici yönde etki oluşturabileceği saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** akut akciğer hasarı, DNA hasarı, inflamasyon, iyonize radyasyon, L-karnitin

S51

**Boraks alımına bağlı mide mukozasında görülen değişikliklerin histolojik değerlendirilmesi**Murat Tosun<sup>1</sup>, Sibel Çetinbaş<sup>1</sup>, Esra Gökalp<sup>1</sup>, Mustafa Kabu<sup>2</sup>, Esra Aslan<sup>1</sup><sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

**Amaç:** Boraks suda eriyebilen ve değişik gıdalarla vücuda alınabilen antiseptik özelliği yüksek kimyasal bir bileşiktir. Çalışmamızda ağız yoluyla vücuda alındığında boraksın mide mukozası üzerine yaptığı değişiklikleri değerlendirmeyi amaçladık.

**Materyal-Metod:** Çalışmada 18 adet erişkin Wistar-Albino rat kullanıldı. Bu hayvanlardan ilk grup Kontrol grubu olarak belirlendi ve bu hayvanlara 21 gün süreyle günlük normal gıdaya ilaveten gavajla sadece 1 ml su verildi. Diğer grup LD50 dozun verildiği grup olarak belirlendi ve bu hayvanlara günlük gıdaya ilaveten 1 ml suda çözünmüş 5 mg/kg/gün boraks 21 gün süreyle verildi. Son grup olan Akut doz grubuna 20. gün sonunda tek doz LD50x2 (10 mg/kg/gün) boraks 1 ml suda çözünüp verildi. 21. Gün sonunda hayvanlar sakrifiye edildi ve mide eksizyonla çıkarıldı. Mide kesitleri histokimyasal olarak Hematoksilin-Eozin ve Toluidin blue ile İmmunohistokimyasal olarak VEGF, NFKB, Msi-1 ve Chromogranin ile boyanarak ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

Değerlendirilmede görüntü analiz programında immunpozitif hücreler sayıldı.

**Bulgular:** Hematoksilin Eozin boyamalarda ışık mikroskobik olarak genel doku özellikleri bakımından bir farklılık gözlenmedi. Toluidin Blue ile mast hücresi sayımı yapıldığında mast hücre sayısının doza bağımlı anlamlı düzeyde artış gösterdiği gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Diğer yandan VEGF değerlendirilmesinde ekspresyonun Akut dozda diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi ( $p < 0.05$ ). NFKB değerlendirilmesinde Akut dozda en yüksek değerler elde edildi. Ancak LD50 ile diğer 2 grup arasında anlamlı bir değişiklik yoktu ( $p = 0.077, 0.259$ ). Msi-1 değerlendirilmesinde ise LD50 doz ile Kontrol arasında anlamlı bir farklılık yoktu ( $p = 0,913$ ). Akut doz ile diğer gruplar arasında ise anlamlı bir farklılık vardı ( $p = 0.008, 0.003$ ). Chromogranin pozitif hücre sayıları arasında ise anlamlı bir değişiklik yoktu ( $p > 0.05$ ).

**Sonuçlar:** Elde edilen bulgular LD50 dozunda olsa bile boraksın yavaş olarak uzun süreli alımında midede herhangi bir mukozal dejenerasyon yapmadığını ortaya koymaktadır. Diğer yandan yüksek dozda alımında sadece 1 kez bile alınsa da mukozada mast hücre sayısında artışa neden olması hipersensitivite reaksiyonu oluşturduğu yönünde bir bulgu olarak kabul edildi. Diğer yandan akut dozda alımda VEGF ekspresyonunun anlamlı artması irritasyona bağlı boraks bağımlı neovaskülarizasyon uyarımı oluşturduğunu göstermektedir. Yine NFKB ekspresyonunun ve DNES hücre sayısının doza bağımlı artış göstermesine karşın bu artışın gruplar arasında anlamlı olmaması boraksa bağlı inflamatuvar sürecin uyarılmadığını göstermektedir. Msi-1 pozitif hücre sayısının akut dozda anlamlı yükselmesi ise mukozada geçici bir hasar oluşmuş olabileceğini ve bu bölgenin reperasyonu için mezenseyal kök hücre sayısının artış olduğunu düşündürmektedir. Bütün bu veriler bize boraksa bağlı yavaş dozda alım olduğunda mide mukozası üzerinde hafif değişiklikler olduğunu ama bir anda yüksek dozda alımda ise önemli düzeyde hipersensitivite aracılı mukozal hasar oluşturabildiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** boraks, mide, nfkb, chromogranin, musashi1



S52

### **Deneyisel Diabetli Ratlarda Alfa-Lipoik Asitin Kalp Ve Damar Sistemine Koruyucu Etkisinin Işık Mikroskopik Düzeyde Araştırılması**

Leyla Bahar<sup>1</sup>, Mehmet Gül<sup>2</sup>, Nehir Sucu<sup>3</sup>, Emrah Zayman<sup>2</sup>, Hüseyin Selvi<sup>4</sup>, Semir Gül<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Mersin

<sup>2</sup>İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Malatya

<sup>3</sup>Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Mersin

<sup>4</sup>Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıp Eğitimi Ana Bilim Dalı, Mersin

#### **Amaç:**

Diyabetik kişilerde kardiyovasküler hastalıklar en önemli mortalite nedenidir. Diabetes mellitus (DM); sadece epikardiyal koroner arterleri değil aynı zamanda koroner mikrovasküleriteyi de etkileyen majör risk faktörlerinden biridir. Diabetin makro ve mikro komplikasyonlarını önlemek için erken ve etkin tedavi yaklaşımıyla glisemik kontrol sağlanmalıdır. Bunun için kimyasal kaynaklı ilaçlar yanısıra antioksidanların da faydalı olabileceğine dair çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmanın amacı; serbest radikallerin zararlarını önleyen antioksidanlardan alfa lipoik asitin (ALA), Kardiyovasküler Sistem (KVS) üzerine koruyucu etkisinin olup olmadığının araştırılmasıdır.

#### **Gereç ve Yöntemler:**

Çalışmaya 32 adet wistar Albino rat alınarak, tesadüfi olarak 4 gruba bölünmüştür. Deney gruplarının yarısında DM modeli oluşturulmuş ve gruplar; Kontrol+SF, Kontrol+alpha-lipoik asit, DM modeli, DM +alpha-Lipoik asit" olarak isimlendirildi. Arter dokusu örnekleri %10 nötral fosfat tamponlu formaldehit ile tespit edildi. Rutin doku takip işlemleri uygulanarak, hematoxylin-eosin (H-E) boyaması uygulandı. Ayrıca immunhistokimyasal yöntemle vascular endothelial growth factor (VEGF) immunreaktivitesi belirlendi. Tüm kesitler Nikon Eclipse Ni-U ışık mikroskopta Nikon NIS-Elements Documentation 4.5 görüntü analiz sistemi ile incelenerek ölçümler yapıldı ve fotoğraflar alındı. Damar duvarı hasar skoru ve immünreaktivite pozitifliği (H skoru) hesaplandı. Değerlendirme sonucunda, istatistiksel analizler için, Chi-Square, Mann-Whitney Test ve betimsel analizler uygulandı.

#### **Bulgular:**

Işık mikroskopik incelemelerde; DM grubunun; arter kesitlerinde bazı alanlarda endotel hücre hasarı, media tabakası düz kas hücrelerinde intrasitoplazmik ödem ve şişme, elastik laminalarda deformasyon ve liflerde ayrılmalar saptandı. Ayrıca bazı kesitlerde, intima ve media tabakasında lipofuscin granülleri tespit edildi. İmmunhistokimyasal yöntemle vascular VEGF boyanan arter kesitlerde intima, media ve adventisya tabakalarında VEGF immunreaktive pozitifliği zayıf olarak gözlemlendi.

Kontrol gruplarında benzer bulgular olarak; genelinde endotel hücreleri, media tabakası düz kas hücreleri ve elastik laminalar normal yapıda değerlendirildi. İmmunhistokimyasal yöntemle vascular VEGF ile boyanan kesitlerde intima tabakasında kuvvetli, media ve adventisya tabakalarında orta derecede VEGF immünreaktivite pozitifliği gözlemlendi. DM+ALA grubunda; kesitlerin genelinde endotel hücreleri, media tabakası düz kas hücreleri ve elastik laminalar normal değerlendirildi. VEGF ile boyanan arter kesitlerinde intima, media ve adventisya tabakalarında VEGF immünreaktivite pozitifliği orta düzeyde gözlemlendi. DM grubu ile DM+ALA ve DM grubu ile Control+ALA grupları arasında; hem damar duvarı hasar skoru hem de "H skoru" açısından istatistiki olarak anlamlı fark saptandı (P < 0,005).

#### **Sonuç:**

Çalışmamızda, diyabetli ratlarda ALA kullanımının, antioksidan sistem üzerine etki ederek damar duvarı hasarında olumlu etkiler sağlayabileceği kanısı oluşmuştur. Diabetlilerde, artmış kan glikozu nedeniyle kalp dokusunda ve damar yapısında oluşan vasküler ve mikrovasküler komplikasyonlara bağlı hücre hasar üzerinde ALA'nin iyileştirici etkileri olduğu düşünülmüştür. Özetle, diyabette oksidatif stres aracılı komplikasyonların ortaya çıkışı ve hücre hasarı oluşumuna karşı, ALA'nin faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabet, Kardiyovasküler sistem, Alfa lipoik asit, Damar hasarı

S53

### İnsan spermatogonyal kök hücrelerinin kollajen ile zenginleştirilmesi ve THY1+ testiküler hücreler ile kültüre edilmesi in vitro hayatta kalma kapasitelerini artırır

Pınar Sahin<sup>1</sup>, Meena Sukhwani<sup>2</sup>, Çiler Çelik Özenci<sup>1</sup>, Kyle Orwig<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Histoloji ve Embriyoloji Departmanı, Tıp Fakültesi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, Türkiye

<sup>2</sup>Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Sciences, School of Medicine, University of Pittsburgh, Magee-Womens Research Institute, Pittsburgh, Usa

#### GİRİŞ

Spermatogonyal kök hücre (SKH) tedavileri prepubertal erkeklerin ve bazı infertil erişkin erkeklerin fertilitelerinin korunmasında tedavi seçeneği olarak görülmektedir. Bu tedavilerin uygulanabilmesi için insan SKH karakterlerinin ve gelişimlerine etki eden faktörlerin belirlenmesi önemlidir.

Çalışmanın amacı, iSKH'lerinin izolasyonu sonrasında farklı in vitro koşullarda kültüre edilmesi ve bu koşulların hücrelerin hayatta kalmasına etkisinin değerlendirilmesidir.

#### MATERYAL ve YÖNTEM

Sağlıklı insan testis dokularından (N=6) testiküler hücre süspansiyonları elde edilmiştir (Etik no: 70904504/74). İlk olarak; THY1+ hücrelerin karakterlerinin belirlenmesi için FACS yöntemi ile SSEA4, THY1 antikoları kullanılarak kontrol, SSEA4-/THY1-, SSEA4-/THY1lo, SSEA4+/THY1- hücre fraksiyonları izole edilmiştir. Hücreler busulfan uygulanmış farelerin testislerine transplante edildikten 2 ay sonra oluşan koloniler primat testis hücrelerine özgü antikor ile immünositokimyasal boyama ile sayılmıştır. İkinci olarak; ITGA6 belirteci kullanılarak ITGA6+ hücreler MACS ile izole edilmiştir ve sonraki kültür deneylerinde iSKH'leri olarak kullanılmıştır. Üçüncü olarak; ITGA6+ iSKH'leri SSEA4-/THY1lo hücreleri ve SIM embriyonik fibroblast (STO) destek hücreleri varlığında 1 ve 2 hafta kültüre edilmiştir. Dördüncü olarak; daha fazla sayıda THY1+ hücre elde etmek için THY1+ hücreler MACS ile izole edilmiştir. ITGA6+ iSKH'leri SSEA4-/THY1lo ve MACS ile seçilen THY1+ destekleyici hücreleri varlığında 1 ve 2 hafta kültüre edilmiştir. Son olarak; iSKH'lerinin zenginleştirilmesi için ITGA6+ hücreler kollajen kaplı petrilere inkübe edilerek somatik hücrelerin tutunması sağlanmış, yüzey hücreler zenginleştirilmiş ITGA6+ler olarak alınmıştır. ITGA6+ hücreler ve zenginleştirilmiş ITGA6+ler THY1+ hücreler varlığında 1 ve 2 hafta kültüre edilmiştir. Tüm izolasyon ve kültür süreçleri sonrasında iSKH belirteci UTF1 ile immünositokimyasal boyamalar yapılarak izolasyon/kültür yöntemlerinin etkinliği değerlendirilmiştir.

#### SONUÇLAR ve TARTIŞMA

FACS ve transplantasyon deneyleri sonucunda, SSEA4-/THY1lo hücrelerin oluşturduğu koloni sayıları diğer gruplara göre anlamlı olarak düşüktür ( $p<0.05$ ). Böylece bu hücrelerin kök hücre karakterinde olmadığı belirlenmiştir. (ii) SSEA4-/THY1lo hücrelerin kullanıldığı kültür koşulunda STO hücrelerinin kullanıldığı koşula göre; UTF1+ hücre sayısı yüksektir ( $p<0.05$ ) bu da SSEA4-/THY1lo hücrelerin iSKH'lerini desteklediği gösterir. (iii) SSEA4-/THY1lo ve THY1+ hücrelerin destekleyici olarak kullanıldığı kültür koşullarında; UTF1+ hücre sayısı benzerdir. (iv) Kollajen kullanılarak iSKH zenginleştirme yöntemi UTF1+ hücre sayısını 3.5 kat arttırmıştır ( $p<0.05$ ). THY1+ hücreler varlığında kültüre edilen ITGA6+ ve zenginleştirilmiş ITGA6+ hücrelerin kullanıldığı koşullardan, zenginleştirilmiş ITGA6+ hücrelerin kullanıldığı koşulda; UTF1+ hücre sayısı diğer koşula göre anlamlı olarak yüksektir ( $p<0.05$ ). Bulgularımız; THY1+ hücrelerin in vitro koşullarda iSKH'lerinin hayatta kalımlarını desteklediğini, kollajen yöntemiyle iSKH zenginleştirmenin bu etkiyi artırdığını göstermektedir. Sonuçlarımız literatürde kısıtlı bilgi bulunan iSKH'lerinin in vitro hayatta kalmaları hakkında aydınlatıcı bilgiler sunduğundan, bu hücrelerin ileride SKH terapilerinde kullanılabilirliği açısından önemlidir.

Bu proje TÜBİTAK (2214-A) ve Akdeniz Üniversitesi (TDK-2016-1078) tarafından desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** İnfertilite, İnsan spermatogonyal kök hücre, THY1, FACS, MACS

S54

**Testis torsiyonu ve detorsiyonunda Ginkgo biloba'nın apoptozis, LH-R ekspresyonu ve sperm morfoloji anomalisine iyileştirici etkisinin araştırılması**

Fikret Gevrek<sup>1</sup>, Çiğdem Biçer<sup>1</sup>, Mikail Kara<sup>2</sup>, Fikret Erdemir<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Tokat

<sup>2</sup>Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Hatay

<sup>3</sup>Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Ana Bilim Dalı, Tokat.

**Giriş ve amaç**

Testis torsiyonu ve detorsiyonu (T/D) hem testiküler germinal epitel hem de intersitisyel doku hasarlarını indüklemektedir. Ginkgo biloba ekstraktı (GbE) antioksidan, antiapoptotik, antiinflamatuvar ve serbest radikal uzaklaştırıcı gibi birçok etkilere sahiptir. Bu nedenlerden dolayı bu çalışmada T/D durumunda GbE'nin testiküler doku, Leydig ve sperm hücrelerine karşı koruyucu etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Materyal ve metot**

Çalışmada toplam 28 adet Wistar albino cinsi yetişkin erkek sıçanlar rastgele olacak şekilde Kontrol, GbE, T/D+GbE (Tedavi) ve Torsiyon olarak dört ayrı gruba ayrıldı. Torsiyon ve tedavi gruplarına T/D uygulaması yapıldı. Tedavi grubuna T/D yapılmadan bir saat önce GbE (50 mg/kg, oral) verildi. Kontrol grubu ise herhangi bir madde verilmeyip sham olarak belirlendi. T/D işlemlerinden sonra testisler epididimiler ile birlikte çıkarıldı. Histolojik prosedürlerden sonra her bir grup için Leydig hücrelerde LH-R ekspresyonu, testiküler epitel hücrelerde apoptoz, epididimal sperm morfolojisi ve seminifer tübül histolojik hasar skorları değerlendirildi.

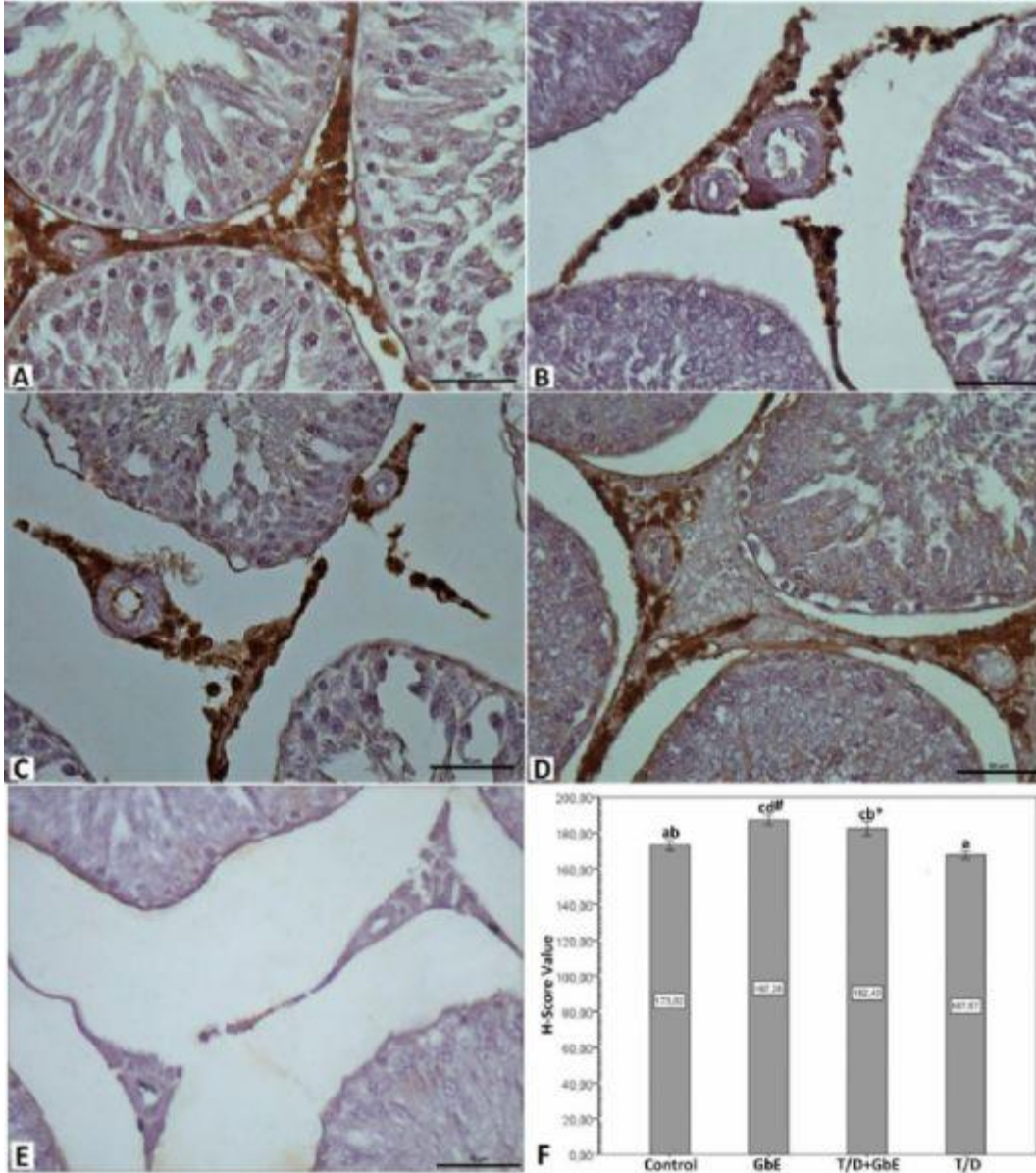
**Bulgular**

Yapılan analizler sonucunda T/D uygulamasının seminifer tübül epitel hücrelerinde apoptotik hücre sayısı ile morfolojik anomalili epididimal spermlerin sayısında belirgin bir artışa, ciddi testiküler histolojik hasara, Leydig hücre LH-R ekspresyonunda azalmaya, normal sperm hücreleri sayısında ise düşüşe neden olduğu saptandı. Bununla birlikte GbE uygulamasının hem tedavi grubunda hem de özellikle sadece GbE verilen grupta LH-R ekspresyonunda artışa, normal sperm hücre sayısında belirgin bir yükselişe sebep olduğu ve ayrıca testiküler histolojik hasarları azalttığı tespit edildi.

**Sonuç**

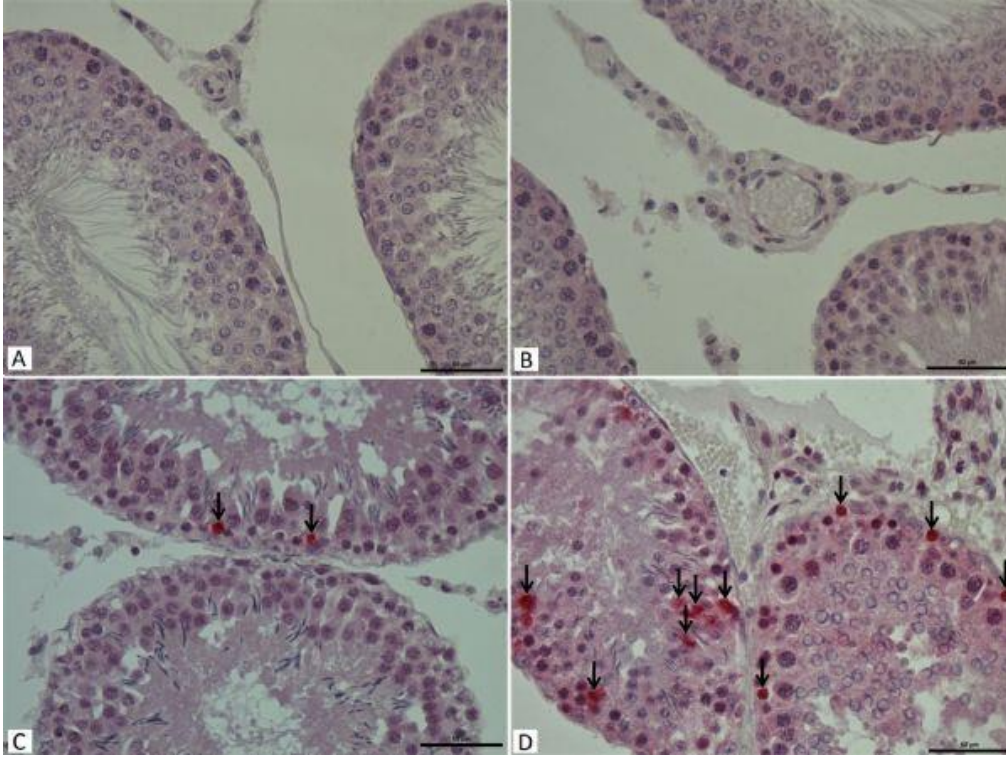
Elde edilen bulgularımızla bağlantılı olarak GbE'nin literatürde tanımlanmış olan antioksidan ve serbest radikal uzaklaştırıcı gibi pek çok özelliklerinden dolayı hem T/D işlemini takiben hem de normal durumlarda bile testiküler hasarı engelleyebileceğini, Leydig ve sperm hücrelerin aktivitelerini artırabileceğini söyleyebiliriz. Üst düzey ileri analizler ile desteklendikten sonra GbE'nin T/D kaynaklı doku hasarlarının azaltılmasında alternatif bir tedavi seçeneği olarak ele alınabileceğini ileri sürebiliriz.

**Anahtar Kelimeler:** Ginkgo biloba extract (GbE), Leydig, Sperm, Testis, Torsiyon

**Figür 1**

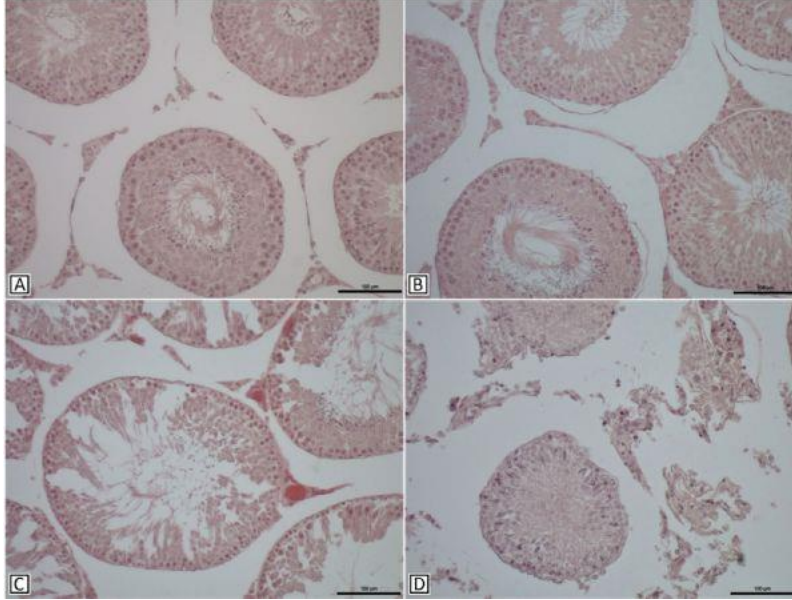
LH antikorü ile immünohistokimyasal boyanmış preparatlardan her bir gruptan temsili mikroskopik görüntüler. A: Kontrol, B: GbE, C: GbE+T/D, D: T/D grubu. E: Negatif kontrol kesiti. (DAB, 40xObj, Bar:50µm). F: LH-R immünohistokimyasal H-Skor değerleri. Barlar üzerindeki aynı harf istatistiksel benzerlikleri gösterir (\* ve #:  $P < 0.05$ , vs Kontrol ve T/D)

**Figür 2**



Her bir gruptan testiküler dokudaki apoptotik hücrelerin temsili mikroskopik görüntüleri. Oklar apoptotik hücreleri göstermektedir. A: Kontrol, B: GbE, C: GbE+T/D, D: T/D grubu (TUNEL, Bar:50µm).

**Figür 3**



Histolojik hasar durumlarının görüldüğü her gruptan temsili testis dokusuna ait mikroskopik resimler. (A) Kontrol ve (B) GbE gruplarda normal testis dokusu, (C) GbE+T/D grupta azalmış histolojik hasarları testis dokusu, (D) T/D grupta belirgin bir histolojik hasarın olduğu testis dokusu (H&E, Bar:100µm).

**Tablo 1. LH-R (anti-hCG-R) immün boyanma şiddetleri derecelendirme kriterleri**

Skor	Immünreactivite
0+	Negatif boyanma
1+	Zayıf boyanma
2+	Orta şiddetli boyanma
3+	Kuvvetli boyanma

**Tablo 2. A) Grupların ortalama Jhonsen skoru değerleri. B) Grupların ortalama apoptotik indeks değerleri ( $\pm$ : SEM, API: Apoptotik indeks, Sc: skor,)**

	Control	GbE	T/D+GbE	T/D
A)JHONSEN Sc. (min-max)	9.67 $\pm$ 0.01a (9.74-9.56)	9.36 $\pm$ 0.02a (9.54-9.20)	8.85 $\pm$ 0.13b* (9.28-7.66)	8.19 $\pm$ 0.07c (8.57-7.68)
B)API (min-max)	0.82 $\pm$ 0.07A (1.00-0.60)	1.22 $\pm$ 0.07A (1.60-1.00)	1.34 $\pm$ 0.12AB* (1.68-1.00)	3.36 $\pm$ 0.16C (4.40-2.64)

Küçük harf üst bilgiler A satırındaki (LSD), büyük harf karakterler ise B satırındaki farklılığı gösterir (Tukey HSD). Aynı üst-yazıya sahip gruplar arasında anlamlı fark yoktur. \*:  $P < 0.05$

**Tablo 3. Grupların Kruger strict morfoloji analizleri ortalama değerleri ( $\pm$ : SEM).**

	Sperm Anomali				
	Normal	Baş	Boyun	Kuyruk	Total
Control	108.00 $\pm$ 3.5A	16.00 $\pm$ 1.9A	20.86 $\pm$ 1.5A	55.43 $\pm$ 2.2A	92.29 $\pm$ 3.5A
GbE	123.88 $\pm$ 3.3B#	16.63 $\pm$ 1.2BC	16.13 $\pm$ 1.8BA	43.25 $\pm$ 3.4B#	76.13 $\pm$ 3.3B#
T/D+GbE	94.17 $\pm$ 2.3C*	17.33 $\pm$ 3.3BC	32.33 $\pm$ 3.0CD	56.50 $\pm$ 2.4A*	106.17 $\pm$ 2.6C*
T/D	46.13 $\pm$ 1.9D	23.88 $\pm$ 1.8C	37.25 $\pm$ 2.2D	92.88 $\pm$ 2.1C	154.00 $\pm$ 1.9D

Büyük harf üst bilgisi, her parametre için sütunların farklılık ve benzerliklerini temsil eder. Aynı üst-yazıya sahip gruplar arasında anlamlı fark yoktur. \*:  $P < 0.05$  vs torsiyon, #:  $P < 0.05$  vs kontrol (Tukey HSD test).

S55

**Sperm kriyoprezervasyonunun apoptoz belirteçlerine etkisi**Seda Karabulut<sup>1</sup>, Asuman Demiroğlu Zergeroğlu<sup>2</sup>, Yusuf Sağıroğlu<sup>3</sup>, İlknur Keskin<sup>1</sup><sup>1</sup>İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi<sup>2</sup>Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik AD.<sup>3</sup>Florence Nightingale Hastanesi, Tüp Bebek Merkezi**Giriş:**

Sperm ve testiküler doku kriyoprezervasyonu, erkek infertilitesi durumlarında fertilitenin korunması amacıyla tedavi yöntemi olarak uygulanmaktadır. Spermin ancak cerrahi olarak çok az miktarda elde edilebildiği testis operasyonları sonrası, sperm elde etmenin bir daha mümkün olmadığı cerrahi operasyonlar, kanser tedavisi ve spermelere zarar verebilecek diğer bazı tedavilerden önce fertilitenin korunması amacıyla spermeler dondurulabilmekte ve uzun yıllar saklanabilmektedir. Dondurularak saklanan sperm hücreleri yardımcı üreme tekniklerinde kullanıldığında, fertilizasyon oranları ve embriyonun gelişim ve implantasyon potansiyelinde azalma, abortus oranlarında ise artma görülmektedir. Kriyoprezervasyonun sperm parametreleri üzerindeki olumsuz etkileri iyi bilinmesine rağmen işlemin moleküler temelleri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, sperm kriyoprezervasyonunun, DNA fragmentasyonu ve Kaspaz-3 aktivasyonunu içeren ana apoptotik bulgular üzerine olan olası etkilerini araştırmak ve bu etkilerin sperm kalitesine göre değişip değişmediğini saptamaktır.

**Yöntem:** Florence Nightingale Hastanesi, Tüp Bebek merkezi'nde kriyoprezervasyon uygulanan 72 hastanın sperm örnekleri çalışmaya dahil edildi. Örnekler, azot buharında yavaş dondurma protokolü kullanılarak dondurulup, yavaş çözme protokolü kullanılarak çözüldü. Kriyoprotektan olarak SpermFreeze Solution (Vitrolife, Sweden) kullanıldı. Hastalar, sperm parametrelerine göre normozoospermik ve non-normozoospermik hastalar olarak iki alt gruba ayrıldı. Her iki grupta da kriyoprezervasyon öncesi ve sonrası TUNEL yöntemi kullanılarak DNA fragmentasyon oranları ve kolorimetrik yöntem kullanılarak Kaspaz-3 aktivasyon seviyeleri analiz edildi

**Bulgular:** Ortalama DNA fragmentasyon oranı dondurulmamış semen örneklerinde % 23.98 olarak belirlenirken kriyoprezervasyon sonrası bu oran % 27.34'e yükselmiştir ( $p < 0,05$ ). DNA fragmentasyon oranlarının non-normozoospermik hastalarda hem taze semende hem de kriyoprezervasyon sonrasında normozoospermik hastalara kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (% 23.25 ve % 24.71 vs % 26.32 ve % 28.36), ( $p > 0,05$ ). Tüm grupta kriyoprezervasyon sonrasında kaspaz-3 aktivasyon seviyelerinin de arttığı (dondurma öncesi: 0.093 ve çözme sonrası: 0.116) belirlendi. Non-normozoospermik hastalarda hem taze semen hem de kriyoprezervasyon sonrasında kaspaz-3 aktivasyonlarının normozoospermiklere göre daha yüksek olduğu görüldü. Caspase-3 ekspresyonlarının lokalizasyonları immünohistokimya yöntemi ile gösterildi. Kaspaz-3'ün hem taze sperm hem de çözülmüş sperm içinde ekspresyon edildiğini ve akrozom bölgesinde, orta parçada ve kuyruk boyunca ekspresyon olduğu gösterilmiştir. Kriyoprezervasyon öncesi, sperm örnekleri akrozom bölgesinin proksimal kısmında ve baş zarında belirgin bir Kaspaz-3 ekspresyonu gösterirken, kriyoprezervasyon sonrası sperm orta parçasında ve sitoplazmik artıklarda göze çarpan bir boyanma gözlemledik.

**Sonuçlar:** Sperm örneğinin kalitesinin, kriyoprezervasyon sırasında apoptotik belirteçler üzerine minimal etkisi gözlenmekle birlikte asıl etkinin kriyoprezervasyon işleminin kendisi tarafından oluşturulduğu ve kriyoprezervasyon işleminin apoptotik süreci tetiklediği gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Sperm, kriyoprezervasyon, apoptoz, kaspaz-3

S56

**Travmatik sıçan beyin hasarında Ganoderma lucidum'in etkilerinin araştırılması (histokimyasal, immunohistokimyasal, biyokimyasal)**

Hüseyin Özevren

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahi Ana Bilim Dalı, Diyarbakır

**Amaç:** Ganoderma lucidum (G. lucidum)'un antioksidan ve koruyucu etkilerinin travmatize-edilen sıçan beyinlerinde biyokimyasal, histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak göstermektir.

**Materyal-Metod:** 64 adet erkek Sprague-Dawley sıçan kontrol, travma, G. lucidum+travma olarak 21'erli 3 grup olarak düzenlendi. Travma gruplarına 1 metre yükseklikten 300 gr ağırlığında ağırlık bırakılarak beyinlerinde hasar oluşturuldu ve serum fizyolojik verildi. Travma+G. lucidum grubuna 20ml/kg/gün gastrik gavajla verildi. Hasardan sonraki 7. günde beyin dokuları çıkarılarak histopatolojik ve immunohistopatolojik analiz için rutin paraffin protokolu uygulandı. Dokulardan bir kısmı western blot için ayrılırken, biyokimya analizi için malondialdehid (MDA) glutation (GSH) ve miyeloperoksidaz (MPO) değerleri ölçüldü.

**Bulgular:** Histopatolojik incelemede kontrol grubunda değişim görülmedi. Travma grubu inflamasyon, ödem ve nöronal hasarın yanında beyin korteksinde hemoraji, kan damarlarında dilatasyon ve kan damarları etrafında ödem tespit edildi. Ayrıca nöronal ve glial hücre dejenerasyonu ve çekirdeklerinde piknozis görüldü. Travma+G. lucidum grubunda, az düzeyde nöronal dejenerasyon, damar dilatasyonu ve azalmış hemoraji görüldü. İmmunohistokimyasal bulgulara: travma grubunda nöron, mikroglia ve endotel hücrelerinde p38 MAPK ekspresyonu; endotel ve inflamatuvar hücrelerde VEGF ekspresyonu; gliyal hücrelerde CD68 ekspresyonunun zayıf olduğu görüldü. Travma+G. lucidum grubunda, hem nöronal hem de gliyal hücrelerde p38 MAPK ekspresyonu; endotel hücrelerinde artmış VEGF ekspresyonu; gliyal hücrelerde CD68 ekspresyonunun yüksek olduğu görüldü.

**Sonuç:** Ganoderma lucidum tedavisinin eğer doğru dozda ve belirli zaman dilimlerinde uygulandığında beyin hasarından sonra beyindeki inflamasyon ve ödemi azalttığı, nöronal ve glial hücre dejenerasyonunu engelleyeceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Ganoderma lucidum, oksidatif stres, travma, beyin, sıçan



S57

**Miyokard Enfarktüsü Geçiren ve Kalp Kasına Kök Hücre Nakli Yapılan Bireylerin Yaşam Kalitesinin Değerlendirilmesi**Ceren Mungan<sup>1</sup>, Emrah Gökay Özgür<sup>2</sup>, Alp Can<sup>3</sup><sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**Amaç:** Bu çalışma, 2014 yılında başlatılan "İnsan göbek kordonu stroması kaynaklı multipotent kök hücrelerin miyokard infarktüsünde kullanıldığı faz 1/2, prospektif, randomize etkinlik/güvenilirlik çalışması (HUC-HEART Projesi)"nın bir alt araştırması niteliğinde olup, buradan elde edilen klinik verilerle hastalardan elde edilen ankete dayalı öznel veriler arasında bir köprü oluşturup yapılan tedavi etkinliğinin hasta grupları arasında karşılaştırılması ve hastalığın getirdiği zorluk ya da kısıtlamaları saptayıp, sayısal veriler oluşturularak bir veri platformu sağlanması amaçlandı. Bu çalışmanın hipotezi "otolog kemik iliği kaynaklı MNH ile allojeneik kordon stroması kaynaklı MKH nakli yapılan hastaların girişim sonrası yaşam kalitelerine ilişkin algılarının kontrol grubunda yer alanlara kıyasla daha yüksektir" şeklinde kurulmuştur.

**Gereç-Yöntem:** Veriler koroner arter hastalığı teşhisi konup, by-pass girişiminde bulunmuş 35 hastadan oluşmaktadır. Araştırma düzeni prospektif, tek kör ve üç ayaklı gözlemsel çalışma türündedir. HUC-HEART projesinde klinik muayenenin yanı sıra ileri radyolojik tetkiklerle infarkt alanının büyüklüğü, miyokardın perfüzyonu ve metabolizması (canlılık) hakkında bilgi veren PET, SPECT ve kardiyak MR görüntüleme teknikleri, operasyon öncesi ve sonrası (12 ay) uygulanarak infarkt alanındaki değişimin karşılaştırılması yapıldı. Hastalardan elde edilen öznel verilerin değerlendirilmesi beş bölümden oluşan veri toplama formundan oluşmaktadır. Hastaların demografik bilgileri, hastalık öyküleri, katıldıkları çalışmayla ilgili görüşleri, girişim sonrası düşünceleri alındı. Yanı sıra fiziksel ve ruhsal parametrelerden oluşan SF-36 yaşam kalitesi ölçeği uygulandı. Bulgular girişim sonrası 12. ayda 35 hasta (9 kontrol, 9 MNH, 17 MKH) üzerinden analiz edildi.

**Bulgu ve Sonuçlar:** Hastaların klinik verilerinde EKO ve kardiyak MR görüntülemesinden elde edilen EF değerleri, grup içi ve gruplar arası 0. ve 12. aylarda değerlendirildi ve klinik olarak iyileşme saptandı. PET sonuçlarından elde edilen hiberne alan kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MNH ve MKH gruplarında büyüme; nekrotik alanda ise sadece kontrol ve MKH gruplarında küçülme saptandı. SF-36 formunun alt parametresi olan fiziksel iş gücü ölçeğinde MNH nakli yapılan grupta diğer gruplara kıyasla daha düşük puan elde edildi. Sonuç olarak MNH grubunda girişimi izleyen 12 ay içinde iş gücünde azalma saptandı. (Bu tez çalışması, 0741-STZ-2014 No'lu SANTEZ Projesi ile desteklenmektedir)

**Anahtar Kelimeler:** allojeneik nakil, miyokard enfarktüsü, multipotent kök hücre, yaşam kalitesi

S58

**Trombositten zengin plazma fibrinin ratlarda cisplatin ile oluşturulan deneysel işitme kaybı üzerine etkisi**Doç. Dr. Necmi Arslan<sup>1</sup>, Dr. Talip Talha Tanyeli<sup>3</sup>, Dr. İlker Akyıldız<sup>1</sup>, Doç. Dr. Naciye Dilara Zeybek<sup>2</sup>, Dr. Mehmet Şenes<sup>1</sup>, Dr. Selim Zırh<sup>2</sup><sup>1</sup>S.B.Ü. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı<sup>3</sup>T.C.S.B. Ankara Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi**GİRİŞ:**

Cisplatin (CDDP) birçok malign tümörün tedavisinde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik bir ajandır. CDDP tedavisinin sık görülen yan etkisi ototoksisitedir. İşitme kaybı, konuşma ve iletişimi bozan çok önemli bir fonksiyon bozukluğudur. Özellikle çocuklarda zihinsel ve dil gelişimini, sosyal beceri ve eğitimi bozabilir. CDDP kullanılan kemoterapilerde ortaya çıkan ototoksik işitme kaybının geçerli bir tedavisi bulunmamaktadır. Trombositten zengin plazma (PRP) santrifüj sonrası tam kandan daha yoğun otolog trombosit içeren plazma konsantresidir. İçeriğindeki yoğun büyüme faktörleri ile doku rejenerasyonunu desteklemekte kullanılabileceği öngörülmektedir. Çalışmanın amacı, CDDPnin yan etkisi olan ototoksik işitme kaybına karşı PRPnin etkisini hayvan modelinde incelemektir.

**Materyal-Metod:**

Çalışma için ağırlıkları 300g ± 25g olan 39 Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanların 6 tanesi PRP eldesi için kullanılırken geriye kalan 33 sıçan; Kontrol, IT(intratimpanik) PRP, IP(intraperitoneal) PRP 5'erli, Ototoksisite, CDDP+IT PRP, CDDP+IP PRP olarak 6şar olarak dağıtıldı. (CDDP+IP PRP grubundaki 1 rat 8. Günde ex, gruptan çıkarıldı) Kontrol için steril serum fizyolojik kullanıldı. CDDP tek doz IP 16 mg/kg; PRP ise, IT 0.2 ml IP doz 0.5 ml uygulandı.

Ratlara öncelikle anestezi altında otomikroskop ile anatomik bozukluk, kist, enfeksiyon, timpan zar perforasyonu açısından kontrol muayeneleri yapıldı. Enjeksiyon öncesi 1.gün ve sonrası 8. günde İşitsel Beyinsapı cevabı(ABR) kayıtları anestezi altında alınarak sakrifiye edildiler. Çıkarılan kohlealar fiksasyon, dekalsifikasyon işlemlerinden sonra elektron mikroskobu için takip edildi ve incelendi. Tüm veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Sonuçlar:**

Işık mikroskopi değerlendirilmesinde CDDP verilen grupta korti organı, spiral gangliyon ve stria vasküleriste şiddetli hasar gözlendi. IT PRP+CDDP veya IP PRP+CDDP verilen gruplarda orta derecede hasar gözlendi. Spiral gangliyon incelemesinde PRP+CDDP gruplarında CDDP grubuna oranla hücre hasarı bulguları ve myelinizasyon hasarı istatistiksel olarak azalmıştı. IP-PRP grubunda IT-PRP ye oranla korti organında daha az değişiklik tespit edildi.

Elektron mikroskopi incelemesinde IT ve IP PRP gruplarının spiral gangliyon hücreleri normal hücre yapıda ancak CDDP gruplarında mitokondri hasarı ve miyelin kaybı gözlendi. PRP gruplarının stria vaskülaris marjinal hücrelerinde kaplı veziküller, bol mitokondri izlenirken CDDP gruplarında dejenerasyon ve vakuoller gözlendi. CDDP + PRP verilen gruplarda ise bu hasar miktarı azalmış ve mitokondriler korunmuş olarak izlendi.

ABR bulguları da ışık ve elektron mikroskopi bulgularıyla uyumluydu.

**TARTIŞMA:**

ABR, ışık ve elektron mikroskopi bulgularımız, nöral işitme kaybına sebep olan CDDP nin kohlear yan etkilerinin, doku rejenerasyonuna pozitif etkileri olan PRP ile sınırlanabileceğini göstermiştir. Tedavi amaçlı CDDP kullanımı sonrasında PRP kullanımı, CDDP temelli ototoksik sensörinöral işitme kaybına karşı kullanılabilir. Yapılacak çalışmalarla bu bulguların desteklenmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** platelet rich plasma/trombositten zengin plazma(PRP), intratimpanik, cisplatin ototoksisitesi, sensörinöral işitme kaybı

S59

**Unilateral Testis Torsiyon Hasarına Protocatechuic Asidin (PCA) Etkisinin Araştırılması**Sevilay Erimşah<sup>1</sup>, Mehmet Emre Erimşah<sup>2</sup>, Havva İmran Özdemir<sup>1</sup>, Aysel Kükner<sup>3</sup><sup>1</sup>Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bolu<sup>2</sup>Sakarya Eğitim Araştırma Hastanesi, Acil Servis, Sakarya.<sup>3</sup>Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, K.K.T.C.

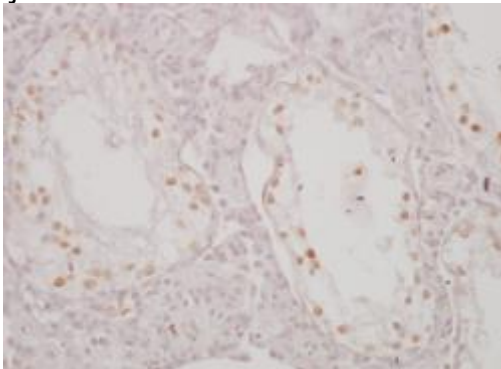
**Giriş:** Testis torsiyonu erken tanı ve cerrahi müdahale ile testiküler hasarın önlenebileceği acil ürolojik bir durumdur. Testis torsiyonunun azalmış fertiliteye ve anormal semen parametrelerine neden olduğu bilinmektedir. İlgili çalışmalarda unilateral testis torsiyonu sonrası vakaların %25'inde infertilite meydana geldiği, bununla birlikte dokuyu koruyucu tedavinin doğurganlığı arttırdığı bildirilmektedir. Çalışmalar, dokudaki iskemi ve reperfüzyon hasarından serbest oksijen radikallerinin (ROS) sorumlu olduğunu göstermektedir. Testis dokusunun iskemi ve reperfüzyon hasarını incelemek için yapılan hayvan çalışmalarında bazı antioksidan maddelerin hasarı azalttığı bildirilmiştir. Hibiscus sabdariffa Linne ekstresinde bir fenol bileşiği olarak bulunan protocatechuic asidin (PCA) antioksidan ve antikarsinojen etkinliği bilinmektedir. Bu çalışma ile unilateral testis iskemi-reperfüzyon hasarında protocatechuic asidin, testis dokusu üzerindeki koruyucu etkisi değerlendirildi.

**Metod:** 36 albino rat 6 gruba ayrıldı. Grup 1, şam grubu olarak seçildi. Grup 2, testis torsiyonu oluşturuldu, 2 saat iskemi sonrası testis detorsiyone edildi, 4 saat perfüzyon beklendi, orşiektomi uygulandı. Grup 3, torsiyonun son 30 dakikasında PCA uygulandı ve 4 saat reperfüzyon sonrası orşiektomi yapıldı. Grup 4, torsiyon ve reperfüzyon 5 gün sonrası orşiektomi uygulandı. Grup 5, torsiyon işleminin son 30 dakikasında PCA uygulandı sonrasında 5 gün PCA (1mg/kg) uygulandı ve orşiektomi yapıldı. Testis dokularına ait histopatolojik değerlendirme, gruplara ait skorlama ve tübül çapı ölçümleri yapıldı. İmmünohistokimyasal olarak TUNEL ve Ki-67 boyamaları yapıldı. Ayrıca epididimden elde edilen spermeler değerlendirildi. Biyokimyasal olarak dokuda SOD, MDA ve glutatyon peroksidaz ölçümleri ELİSA yapıldı.

**Bulgular:** Gruplar tübül çaplarına göre skorlandığında akut gruplar (G3 ile G2) ve kronik gruplar (G5 ile G4) kendi aralarında tedavili ve tedavisiz olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark görüldü (P=0.001). TUNEL+(şekil1) ve Ki 67+(şekil2) boyanma sonuçlarına göre G3 ile G2 ve G5 ile G4 kendi aralarında tedavili ve tedavisiz olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark hesaplandı (P=0.001). Hareketli sperm yüzdeleri karşılaştırıldığında G3 ve G2 arasında anlamlı fark olmadığı ancak G5 ile G4 arasında da anlamlı fark olduğu belirlendi (P=0.001). Normal morfolojili sperm yüzdelerini karşılaştırdığımızda G1 ve G2, G3 arasında anlamlı fark görülmezken G4, G5 arasında anlamlı fark görüldü (P=0.001). MDA değerlerinde G3 ile G2 ve G5 ile G4 kendi aralarında tedavili ve tedavisiz olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark görüldü (p<0,05). SOD değerlerinde ise; G1 ile G2 ve G4 arasında anlamlı azalma görülürken (p<0,05), G3 ve G5 arasında anlamlı fark görülmedi. Ancak G2 ile G3 ve G4 ile G5 arasında anlamlı fark görüldü (p<0,05). CAT ölçümlerine göre G1 ile G2 ve G4 arasında anlamlı azalma görülürken, G3 ve G5 arasında anlamlı fark görülmedi. G2 ile G3, G4, G5 arasında anlamlı fark görüldü (p<0,05).

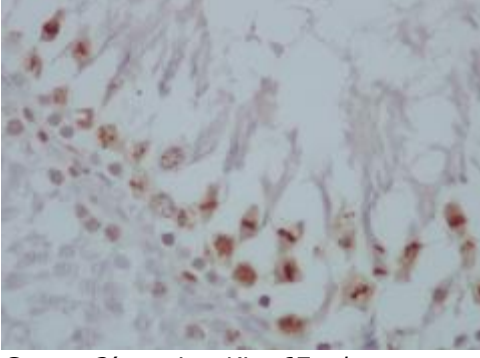
**Tartışma:** Çalışmamızda elde edilen veriler, testis torsiyonu tedavisinde PCA'nın koruyucu etkisinin olduğu ve antioksidan etkisinden faydalanılabileceğini desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** PCA, testis, iskemi-reperfüzyon

**Şekil1**

Grup 2'ye ait TUNEL boyaması ile apoptotik hücreler kahverengi olarak görülmekte.

**Şekil2**



*Grup 3'e ait Ki 67 boyaması ile mitotik hücreler kahverengi olarak görülmekte.*

S60

**Ayna ayna söyle bana, var mı mükemmel sperm bu ejakulatta?**Süheyla Esra Özkoçer<sup>1</sup>, Cemile Merve Seymen<sup>1</sup>, Aslı Öcal<sup>2</sup>, İskender Kaplanoğlu<sup>3</sup>, Çiğdem Elmas<sup>1</sup><sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara<sup>2</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Bölümü, Ankara<sup>3</sup>Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi, Ankara

**Giriş:** İnfertilite şikayetiyle başvuran çiftlerin yaklaşık %15'inde infertiliteyi açıklayan neden bulunamamaktadır. İzumo1 proteini, akrozom reaksiyonu sonrasında spermde görülen ve spermin oositle birleşmesi için gerekli bir proteindir. Bu çalışmada açıklanamayan infertilite hastalarında ve kendiliğinden fertilizasyon gerçekleştirebilmiş kişilerde İzumo1 proteininin ortaya çıkmasının karşılaştırılması; İzumo1 proteininin, semen analizi ve kromatin yoğunlaşmasıyla ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

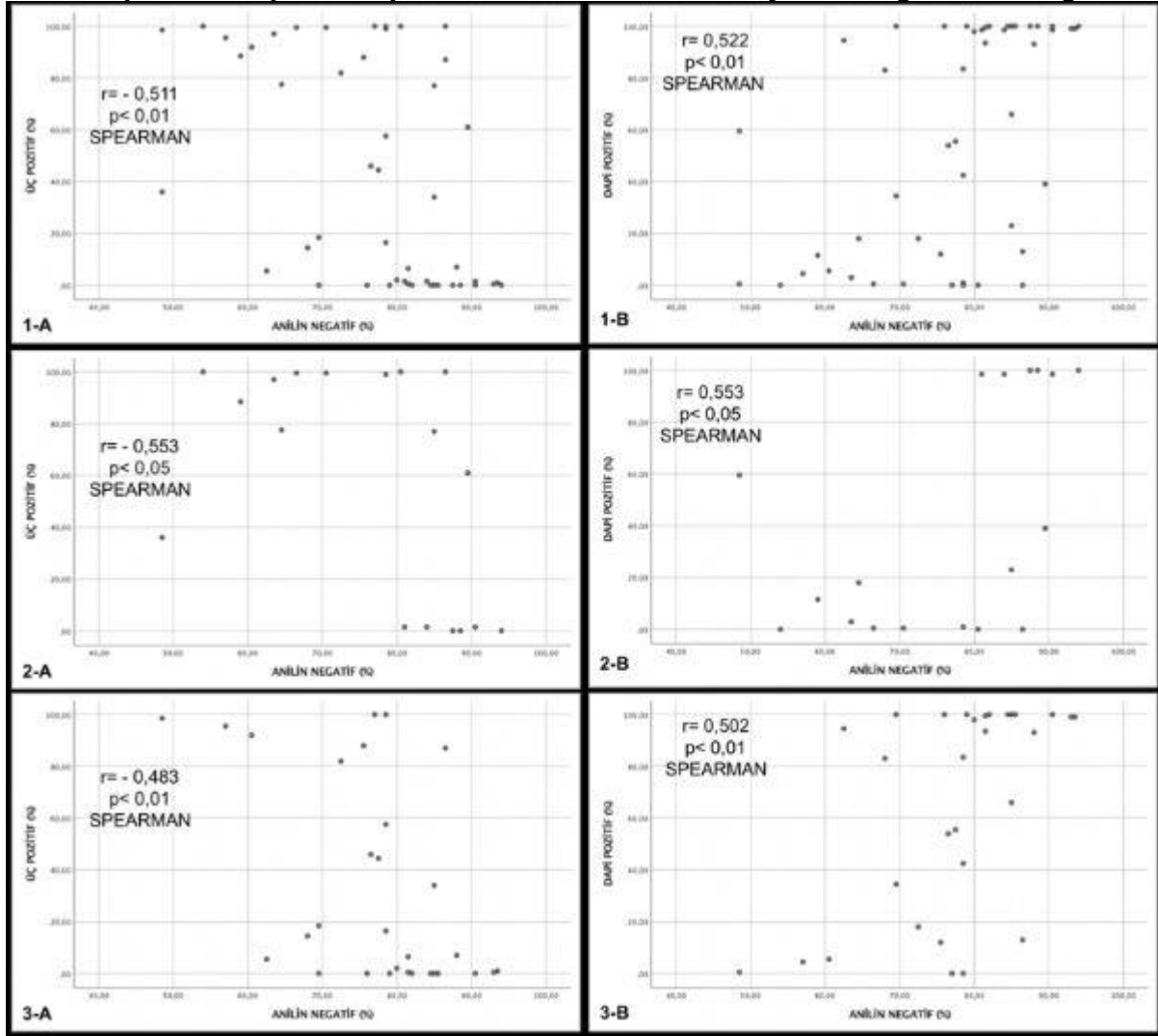
**Yöntem:** Çalışma Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 10.04.2017 tarihli 156 numaralı izniyle yürütülmüştür. İki yıl korunmasız cinsel ilişkiye karşı gebelik oluşturamamış, kendisinde ve eşinde infertiliteyi açıklayacak neden bulunamamış 30 gönüllü (grup 2: açıklanamayan infertilite) ve bir yıl içinde kendiliğinden gebelik oluşturabilmiş 18 gönüllüden (grup 1: kontrol) bilgilendirilmiş onam sonrası semen örnekleri alındı. Semen analizi sonrası asidik anilin mavisini ile kromatin yoğunlaşması değerlendirildi. Kesintili dansite gradyanıyla elde edilen spermelerde, 10M progesteronla bir saat inkübasyon sonrası akrozom reaksiyonunun gerçekleştirilmesi hedeflendi. İzumo1 ve CD46 proteinlerine karşı geliştirilmiş antikolar kullanılarak ikili immünfloresans inceleme yapıldı. Gruplar arası farklar veri dağılımı göz önüne alınarak t testi ya da Mann Whitney U analiziyle değerlendirildi. Değerlendirilen parametreler arası ilişkiler Pearson ya da Spearman korelasyon katsayıları ile belirlendi.

**Bulgular:** Gruplar arasında yaş, semen analizi, asidik anilin mavisiniyle boyanmayan sperm yüzdeleri değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. İkili immünfloresans inceleme sonrası spermeler dört gruba ayrıldı: Üç pozitif (İzumo1+ CD46+ DAPI+), İzumo1 negatif (İzumo1- CD46+ DAPI+), DAPI Pozitif (İzumo1- CD46- DAPI+), DAPI negatif (İzumo1+ CD46+ DAPI-). DAPI negatif spermeler yalnız 2. gruptaki bir örnekte (%2,5) görüldü. İzumo1 negatif spermeler; 1. grupta iki örnekte (%4,5, %4,5), 2. grupta ise üç örnekte (%2,5, %1 ve %47) görüldü ve bu gruptaki spermelerde CD46 pozitifliği çoğunlukla hücre sınırlarında izlendi. Üç pozitif ve DAPI pozitif sperm yüzdeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Anilin negatif spermeler ile üç pozitif spermeler arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif yönde bir ilişki görüldü. Baş anomalisi ile üç pozitif spermeler arasında grup 2'de anlamlı bir ilişki bulunurken grup 1'de anlamlı bir ilişki görülmedi.

**Tartışma ve Sonuç:** CD46 akrozom reaksiyonunun belirteçlerinden biridir. Akrozom reaksiyonu gösteren spermelerde yüksek oranda İzumo1 pozitifliği görülmüştür. Kromatin yoğunlaşması ve akrozom reaksiyonunu gerçekleştirme arasında negatif yönde bir ilişki olması, kromatin yoğunlaşmasını tamamlamamış spermelerde akrozom reaksiyonunun daha kolay gerçekleştiğini düşündürmektedir. Açıklanamayan infertilite grubunda, kontrol grubundan farklı olarak baş anomalisi ve akrozom reaksiyonu gerçekleştirme arasında negatif yönde ilişki görülmüştür. Morfoloji ve fonksiyon arasındaki bu ilişki infertilitenin etiyolojisine yönelik çalışmalarla araştırılmalıdır. İn vitro gerçekleştirilen akrozom reaksiyonu fizyolojik sürecin kısıtlı bir taklididir. Spermelerin in vitro sürece verdikleri yanıtın farklı olmasının nedenleri ve infertiliteye etkisi yeni çalışmalarla incelenmelidir.

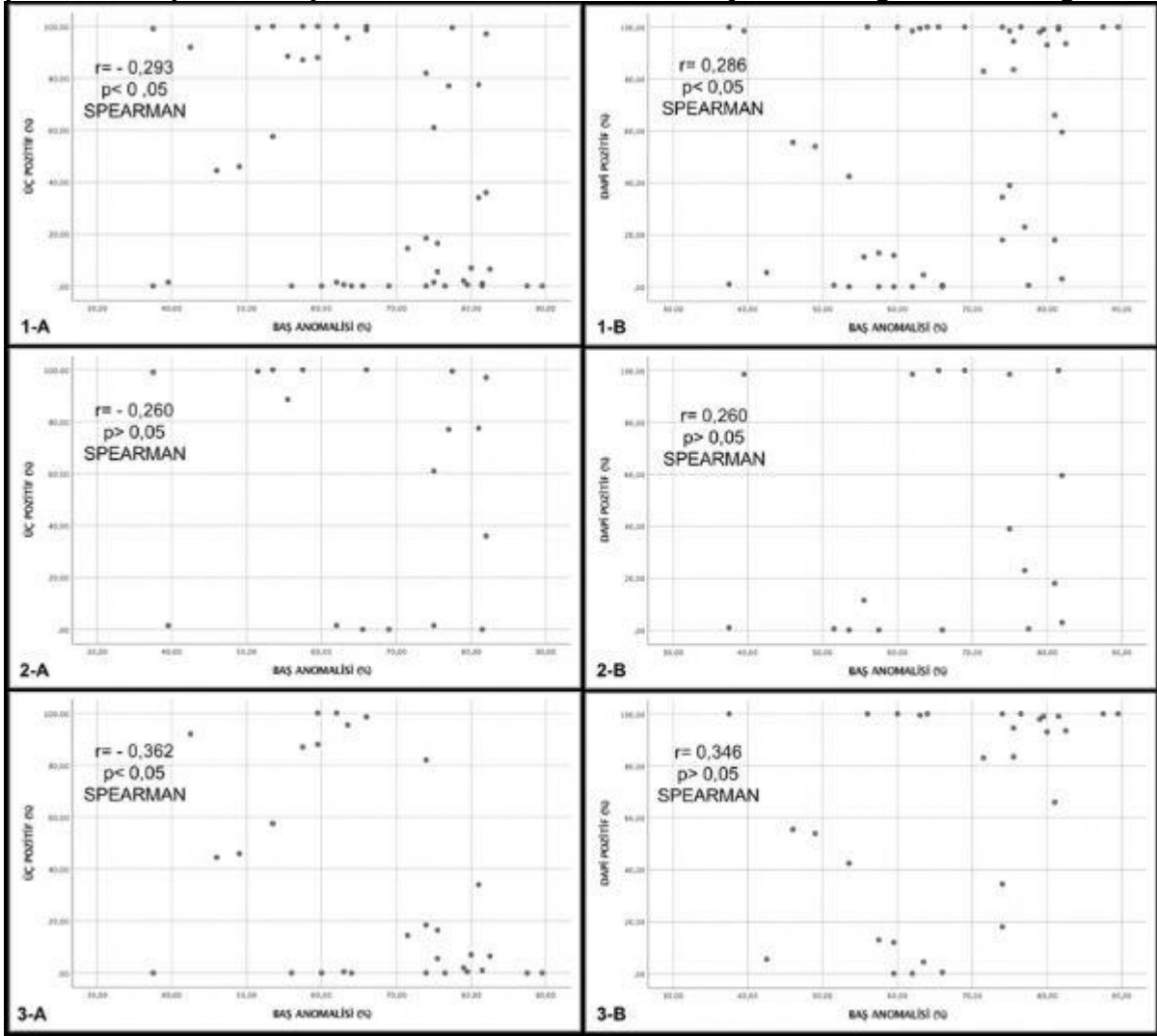
**Anahtar Kelimeler:** Akrozom reaksiyonu, CD46, İzumo1, kromatin yoğunlaşması, sperm

**Anilin mavisiyle boyanmayan sperm yüzdeleriyle, üç pozitif (CD46+, İzumo1+, DAPİ+) ve DAPİ pozitif sperm yüzdeleri arasındaki ilişkileri gösteren grafikler**

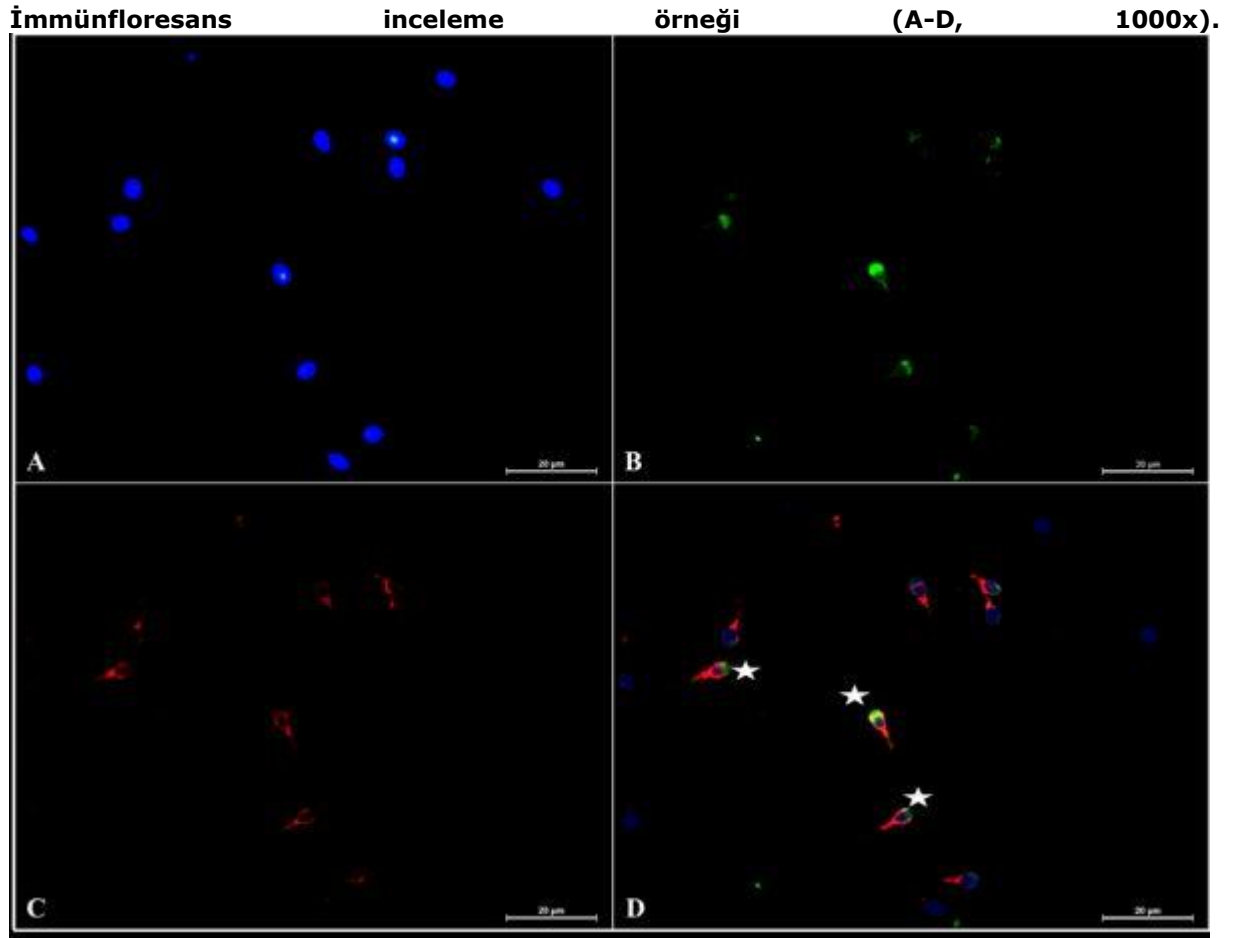


Kullanılan testler, korelasyon katsayıları (r) ve p değerleri grafiklerde verilmiştir. 1-A: Tüm evrende anilin negatif (%) ve üç pozitif (%) ilişkisi. 1-B: Tüm evrende anilin negatif (%) ve DAPİ pozitif (%) ilişkisi. 2-A: Grup birde anilin negatif (%) ve üç pozitif (%) ilişkisi. 2-B: Grup birde anilin negatif (%) ve DAPİ pozitif (%) ilişkisi. 3-A: Grup ikide anilin negatif (%) ve üç pozitif (%) ilişkisi. 3-B: Grup ikide anilin negatif (%) ve DAPİ pozitif (%) ilişkisi.

**Baş anomali görülen sperm yüzdeleriyle, üç pozitif (CD46+, İzumo1+, DAPİ+) ve DAPİ pozitif sperm yüzdeleri arasındaki ilişkileri gösteren grafikler**



Kullanılan testler, korelasyon katsayıları (r) ve p değerleri grafiklerde verilmiştir. 1-A: Tüm evrende baş anomali (%) ve üç pozitif (%) ilişkisi. 1-B: Tüm evrende baş anomali (%) ve DAPİ pozitif (%) ilişkisi. 2-A: Grup birde baş anomali (%) ve üç pozitif (%) ilişkisi. 2-B: Grup birde baş anomali (%) ve DAPİ pozitif (%) ilişkisi. 3-A: Grup ikide baş anomali (%) ve üç pozitif (%) ilişkisi. 3-B: Grup ikide baş anomali (%) ve DAPİ pozitif (%) ilişkisi.



*A: DAPI. B: CD46 immünpozitifliği akrozomal alanda izlenmektedir. C: İzumo1 immünpozitifliği periakrozomal alanda ve orta parçada görülmektedir. D: Birleştirilmiş görüntü. Üç pozitif spermler yıldız işaretiyle gösterilmiştir.*



S61

**Küçük VCP ile etkileşen protein (SVIP)'nin gelişmekte olan fare testisinde ekspresyonunun ve fonksiyonunun belirlenmesi**

Gülben Akcan, Ebru Alimoğulları, Radwan Abu Issa, Sevil Çaylı  
Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AnaBilim Dalı, Ankara

Giriş: Küçük VCP ile etkileşen protein (SVIP: Small VCP-Interacting Protein), Endoplasmik retikulum ile ilişkili protein yıkımı (ERAD) ailesine ait 76 aminoasitten oluşmuş 9-Kda'lık bir proteindir. SVIP'in fare beyнинin serebrum ve serebellumunda yüksek oranda eksprese edildiği, kalp, akciğer, iskelet kası ve ince bağırsakta da normal seviyelerde ekspresyonunun olduğu gösterilmiştir. Son yapılan çalışmalarda, SVIP'in androjene cevap veren bir protein olduğu ve androjenler tarafından SVIP ekspresyonunun düzenlendiği belirlenmiştir. Fakat bugüne kadar SVIP'in androjen reseptörlerinin fazlaca ekspre edildiği bir erkek üreme organı olan testis dokusundaki hücrel lokalizasyonu ve olası fonksiyonu araştırılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada öncelikle SVIP proteinin gelişmekte olan fare testisindeki ekspresyonunu hücrel düzeyde belirlemek ve ikincil olarak da SVIP protein ekspresyonu belirlenen hücrelerde bu proteinin olası fonksiyonunu hücre kültürü çalışmaları ile saptamak amaçlanmıştır.

Materyal-Metod: Gelişmekte olan fare testislerinde SVIP'in protein ekspresyonunu belirlemek amacıyla fetal (18 ve 19 günlük, n:6), postnatal (1, 5, 15, 35 günlük, n:6) ve ergin fareler (50 günlük, n:6)'den elde edilen testis dokuları immunohistokimya ve Western blot çalışmaları için kullanıldı. Ayrıca ATCC firmasına ait TM3 ve MA-10 fare Leydig hücreleri kültüre edilip, bu hücrelerde SVIP ve Steroidogenik akut regülör protein (STAR)'nin ekspresyonları kolokalizasyon çalışmalarıyla floresan mikroskopisi altında değerlendirildi.

Bulgular: Fetal, postnatal ve ergin farelerin testislerinde SVIP'in baskın olarak Leydig hücrelerinde ekspre olduğu belirlendi. İmmunohistokimya ve Western blot çalışmaları sonucunda, gelişime paralel olarak SVIP ekspresyonunda bir artış saptandı. Fare Leydig hücrelerinden TM3 ve MA10 kültürlerinde de SVIP ekspresyonu belirlendi. Leydig hücre belirteci olarak bilinen ve steroidogeneizde aktif rol olan steroidogenik akut regülör protein (STAR)'in SVIP ile hem testis dokularında hem de hücrelerde kolokalize olduğu belirlendi. Ayrıca kontrol olarak insan testisinden elde edilen parafin kesitlerde de SVIP ve STAR'ın birlikte ekspresyonu doğrulandı.

Sonuç: Bu bulgular ışığında, androjen bağımlı bir protein olduğu bilinen SVIP'in ilk olarak gelişmekte olan fare testisinde ve insan testisindeki lokalizasyonları belirlenmiştir. Hem testis dokusunda hem de kültüre Leydig hücrelerinde SVIP'in STAR ile birlikte ekspre olması SVIP'in steroidogeneizde aktif bir rolü olabileceğini önermektedir. Devam etmekte olan hücre kültürü çalışmalarımız ile bu bulgularımız doğrulanacaktır.

Anahtar kelimeler: fare testisi, Küçük VCP ile etkileşen protein (SVIP), Leydig hücresi, MA-10, TM 3

**Anahtar Kelimeler:** fare testisi, küçük VCP ile etkileşen protein (SVIP), Leydig hücresi, MA-10, TM 3

S62

**Dişi Embriyonik Germ Hücre Gelişiminde Hücreler Arası Köprülerin Rolü**Bikem Soygür<sup>1</sup>, Ripla Arora<sup>3</sup>, Adam Fries<sup>4</sup>, Necdet Demir<sup>1</sup>, Diana J Laird<sup>2</sup><sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya<sup>2</sup>University of California San Francisco, Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Sciences, Center for Reproductive Sciences, Eli and Edythe Broad Center of Regeneration Medicine and Stem Cell Research, San Francisco<sup>3</sup>Michigan State University, Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology, College of Human Medicine, East Lansing<sup>4</sup>University of California San Francisco, Biological Imaging Development Center, San Francisco

**Amaç:** Hücreler arası köprüler somatik hücrelerde hücre bölünmesinin sitokinez evresinde oluşan geçici yapılardır. Farede farklılaşan germ hücreleri arasında, TEX14 proteininin varlığı ile kalıcı yapılara dönüşen hücreler arası köprü yapıları, evrimsel olarak birçok türde korunmuştur. Memeli embriyonik dişi germ hücre gelişimi süresince varlığını koruyan bu hücreler arası köprülerin, diploid germ hücrelerindeki fonksiyonları belirsizliğini korumaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, knock out teknolojisi ile germ hücreleri arasında hücreler arası köprü içermeyen *Tex 14* mutant fare soyları kullanılarak, embriyonik germ hücreleri arasında izlenen hücreler arası köprülerin mayozun senkronizasyonu ve germ hücre havuzunun kurulmasındaki rolü 3D analiz yöntemi kullanılarak araştırılmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Germ hücrelerine özgü Oct4 promotörü kontrolü altında GFP transjeni içeren (*Oct4-GFP<sup>+</sup>*) *Tex14* yabanıl tip (*Oct4-GFP<sup>+</sup>;Tex14<sup>+/+</sup>*) ve mutant (*Oct4-GFP<sup>+</sup>;Tex14<sup>-/-</sup>*) embriyonik/postnatal ovaryumlarda mayotik (SYCP3) ve apoptotik belirteçler (cPARP) kullanılarak whole mount immüno Floresan yöntemi uygulandı. Bütün halindeki ovaryumlar Imaris V8.3.0 (Bitplane) programı ile analiz edilerek ovaryumda bulunan her bir germ hücresinin koordinatları belirlenerek embriyonik ovaryumun 3D haritası oluşturuldu.

**Bulgular:** Ovaryumun 3D haritalanması ile embriyonik 13. günde (E13.0) SYCP3 pozitif mayotik dişi germ hücrelerinin ağırlıklı olarak ovaryumun merkezinde lokalize olduğu belirlendi. Gelişimin ilerleyen evrelerinde *Tex14<sup>+/+</sup>* embriyolarda mayozun ovaryumun merkez-anterior'den perifer-posterior'e doğru yayıldığı yani yabanıl tip embriyonik ovaryumlarda merkezden perifer (radyal) ve anteriordan posteriore (AP) mayotik dalganın gerçekleştiği gözlemlendi. Germ hücreleri arasında hücreler arası köprü içermeyen *Tex14<sup>-/-</sup>* ovaryumlarda, radyal mayotik dalganın bozulduğu, sadece AP mayotik dalganın korunduğu belirlendi. Bununla birlikte, *Tex14<sup>-/-</sup>* ovaryumlarda germ hücrelerinin *Tex14<sup>+/+</sup>* germ hücrelerine kıyasla mayoz bölünmeye daha erken başladığı dikkat çekti. Prematür mayotik başlangıcın sonrasında, ovaryumlarda apoptoz ile germ hücre eliminasyonunun gerçekleştiği E18.5 ve postnatal 2. günde (PN2) *Tex14<sup>-/-</sup>* ovaryumlarda *Tex14<sup>+/+</sup>*'e kıyasla germ hücre havuzunun azaldığı, apoptozun ise artmış olduğu tespit edildi.

**Tartışma:** Geliştirdiğimiz 3D analiz yöntemi bugüne kadar klasik histolojik metotlar kullanılarak belirlenen fare embriyonik ovaryumlarda AP mayotik dalgaya ek olarak, insan fetal ovaryumlarına benzer radyal mayotik dalganın da varlığını ortaya koymuştur. Ovaryumun 3D analizi şimdiye kadar E13.0 ovaryumda belirlenemeyen, %5'lik erken mayotik germ hücrelerin varlığını tespit etmemizi sağlayarak mayozun literatürde belirtilenden daha erken başladığını göstermiştir. Hücreler arası köprü içermeyen mutant ovaryumlarda mayoz dalgasının yabanıl tip ovaryumlardan daha önce başlaması, mayozun senkronizasyonunu sağlayacak intrinsik 'inhibitör/durdurucu' sinyallerin olabileceğini ve söz konusu sinyallerin hücreler arası köprüler vasıtası ile iletilerek mayozun senkronizasyonunu kontrol ettiğini göstermiştir. Embriyonik dönem germ hücrelerinin kapsamlı analizi erken dönem germ hücre gelişimi hakkında sahip olduğumuz kısıtlı bilgiye katkıda bulunmakla birlikte, oositlerde sıkça izlenen anöploidi ve diğer doğum defektleri ile ilgili bilinmeyenlere ışık tutabilecek potansiyeldedir.

**Anahtar Kelimeler:** Embriyonik germ hücresi, hücreler arası köprü, *Tex14*, Mayoz, 3D analiz

## S63

**Postnatal fare ovaryum dokularında telomeraz, Trf1 ve Trf2 genlerinin mRNA ve protein ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi**Esra Gözde Köşebent<sup>1</sup>, Fatma Uysal<sup>2</sup>, Saffet Öztürk<sup>1</sup><sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Telomerler, DNA replikasyonu sırasında kromozomların doğru bir şekilde ayrılmasında, kromozom bütünlüğü ile stabilitesinin sağlanmasında ve genom bütünlüğünün korunmasında görevleri olduğu bilinmektedir. Telomerler, kromozomların uç bölgelerinde bulunan ve telomerik DNA ile bu DNA'ya bağlanan telozom kompleksinden (TRF1, TRF2, POT1, TIN2, TPP1 ve RAP1) meydana gelir. DNA replikasyonu ve genotoksik ajanların etkisi ile kısalan telomerler, telomeraz enzimi ile uzatılabilmektedir. Sadece germ hücreleri, granuloza hücreleri ve erken dönem embriyolarda eksprese edilen telomerazlar, TERT ve TERC alt ünitelerinden oluşmaktadır. Yaşlanma ile gözlenen telomer kısalması ve infertilite oluşumunun moleküler alt yapısı tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmanın amacı Tert, Terc, Trf1 ve Trf2 genlerinin mRNA ve protein ekspresyon seviyelerinin gelişimin erken, genç, ergin, geç ergin ve yaşlı dönemlerde analiz etmektir. Böylece, yaşlanmaya bağlı fertilitate kaybında ve telomer kısalmasında telomere bağlı proteinlerin ve telomeraz ekspresyon değişiminin etkisi olup olmadığını değerlendirmektir.

**Gereç-Yöntem:** Farelerde normal ovaryal gelişimin erken dönem (1. ve 2. hafta), genç dönem (3. ve 4. hafta), ergin dönem (5. ve 6. hafta), geç ergin dönem (16. ve 18. hafta) ve yaşlı dönem (52., 60. ve 72. hafta) dönem olmak üzere 5 grup (n=3) oluşturuldu. Total ovaryumda mRNA ekspresyonu qRT-PCR ile protein ekspresyonu ise parafin takibi sonrası immünohistokimya ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler, one way ANOVA testi ve Dunn's post hoc testi ile istatistiksel açıdan değerlendirildi.

**Bulgular:** Analizler sonucunda Tert, Terc, Trf1 ve Trf2 genlerinin tüm gruplarda mRNA düzeyinde eksprese olduğu gözlenmiştir. Erken dönem ovaryum dokularındaki Tert mRNA ekspresyonu, ergin, geç ergin ve yaşlı dönemlere göre anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur (P<0.05). Benzer olarak, Terc mRNA ekspresyonu erken dönemde, yaşlı döneme göre daha yüksek olduğu belirlendi (P<0.05). Fakat, Trf1 ve Trf2 genlerinin mRNA ekspresyonları için gruplar arası anlamlı bir fark görülmemiştir.

TERT proteininin, gelişim aşamasındaki foliküllerin oosit ile granuloza hücrelerinde sitoplazmik yerleşim gösterdiği gözlenmiştir. Gruplar arasında görece TERT ekspresyonu, yaşa bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir (P<0.05).

**Tartışma ve Sonuç:** Bu bulgular, yaşlanmaya bağlı dişi infertilitesinin ve telomer kısalmasının Tert ve Terc genlerindeki ekspresyonel değişimlerin etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda, daha detaylı moleküler biyolojik çalışmaların gerekli olduğu kanısındayız.

**Anahtar Kelimeler:** telomer, telomeraz, infertilite, ovaryum, yaşlanma

S64

**Siçan Ovaryum Dokusunda Doksorubisin ile İndüklenmiş Folliküler Apoptotik Aktivasyonda Visnagin Koruyucu Etkisi**

Aysun Özbay, Berrin Avcı

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa

**GİRİŞ:** Prematür gonadal yetmezlik ve infertilite kemoterapinin yan etkileri arasındadır. Doksorubisin, oosit ve follikül üzerine etki göstererek ovaryan toksisiteye neden olmaktadır. Visnagin ana kaynağı furanochromone olan organik kimyasaldır. Doksorubisin ile indüklenmiş kardiyomiyopatide vazodilatasyona ve kan basıncında düşmeye neden olarak, hücre içine kalsiyum girişini engelleyerek koruyucu etki göstermektedir. Bu çalışmada siçanlarda oluşturulan Doxorubisin'e bağlı ovaryan toksisite modelinde toksisiteye bağlı hücresel düzeydeki doku hasarını önlemede Visnagin tedavisinin etkinliği değerlendirmek hedeflendi.

**Gereç-Yöntem:** Wistar albino cinsi 24 dişi siçan 4 gruba ayrıldı. Grup I (n=6); 7 gün boyunca 0,3 ml intraperitoneal (i.p) serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Grup II (n=6) 7 gün boyunca 21 mg/kg i.p. doksorubisin enjeksiyonu, Grup III (n=6) 7 gün süreyle 30 mg/kg (21µg/ml SF içinde) i.p Visnagin enjeksiyonu, Grup IV (n=6) 7 gün boyunca 21 mg/kg i.p Doksorubisin enjeksiyonunun ardından 2 saat içinde 30 mg/kg i.p Visnagin enjeksiyonu yapıldı. Paraformaldehit (%4, fosfat tamponu içinde) ile perfüzyon fiksasyonu uygulandı. Ovaryum dokularının aynı seviyelerinden alınan 5 µm kalınlığındaki parafin kesitler, morfolojik değerlendirme ve follikül sayımı için H&E ile boyandı. Ovaryan folliküllerin apoptotik aktivasyonu TUNEL yöntemi ile değerlendirildi.

**Bulgular:** Follikül sayımı sonrasında gruplar arasında unilaminar ve multilaminar primer folliküller düzeyinde istatistiksel anlamlılık görülmezken, doksorubisin grubunda primordiyal follikül sayılarında anlamlı düzeyde azalma belirlendi (p=0,001). Doksorubisin grubunda kontrol, visnagin ve doksorubisin+visnagin gruplarına göre sekonder (p=0,002) ve graaf follikül (p=0,001) sayılarında azalmalar olduğu, atretik follikül sayılarında ise artış olduğu görüldü (p=0,001). Doksorubisin+visnagin grubunda sekonder ve graaf follikül sayılarının kontrol ve visnagin grubu ile benzer olduğu, atretik follikül sayılarının doksorubisin grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığı saptandı (p=0,002). Morfolojik değerlendirmede; doksorubisin grubunda atretik follikül grubuna dahil edilen folliküllerde antral sıvı içine dökülen apoptotik granüloza hücrelerinin arttığı, granüloza hücreleriyle oosit arasındaki bağlantıların bozulduğu, follikül hücrelerinde inklüzyonların olduğu gözlemlendi. Sekonder ve graaf folliküllerin granüloza hücrelerinde piknotik görünümüne nukleuslar, sekonder folliküllerde daha belirgin olmak üzere, tüm folliküllerde dejenerasyon bulguları görüldü. **TARTIŞMA-Sonuç:** Doksorubisinle in vivo olarak tedavi edilen farelerin ovaryumunda korteks damarlarında fibrozis olduğu, follikül kaybının yanında, oluşan perivasküler ve parenkimal değişikliklerin, neovaskülarizasyonun, ovaryum dokusu skarlaşmasının primordiyal folliküller üzerindeki toksik etkiyle kombine bir mekanizma olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. İn vitro çalışmalarda germinal vezikül ve metafaz II aşamasındaki oositlerde apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Visnagin vazodilatasyon ve hücre içerisine kalsiyum girişini engelleme ve kan basıncını düşürücü etkisiyle doksorubisin ile indüklenmiş kardiyomiyopatide koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada Visnagin'in Doksorubisin ile indüklenmiş ovaryan toksisitede tedavi edici etkinliği ve ovaryan follikül rezervini koruyucu etkisi saptandı.

**Anahtar Kelimeler:** Doksorubisin, Visnagin, Apoptozis, Ovaryan Toksikite

S65

### **Vücut Kitle İndekslerine Göre Normal, Fazla Kilolu, Obez IVF Kadın Hastaların Yumurta Toplama İşlemi(OPU) Sonrası Granüloza Hücrelerinde Leptin, Ghrelin İmmunfloresan Ekspresyonlarının İncelenmesi Ve Gebelik Durumu İle İlişkisinin Araştırılması**

Elif Gelenli Dolanbay<sup>1</sup>, Melda Yardımoğlu Yılmaz<sup>2</sup>, Birol Vural<sup>3</sup>, Murat Kasap<sup>4</sup>, Ahmet Yiğit Çakıroğlu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

<sup>3</sup>Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Kocaeli

<sup>4</sup>Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı ve Vücut Kitle İndeksleri (VKİ)'lerine göre kadın hastaların granüloza hücrelerinde leptin, ghrelin immunfloresan ekspresyonlarının incelenmesi ve VKİ'nin gebelik durumuna etkisinin incelenmesidir.

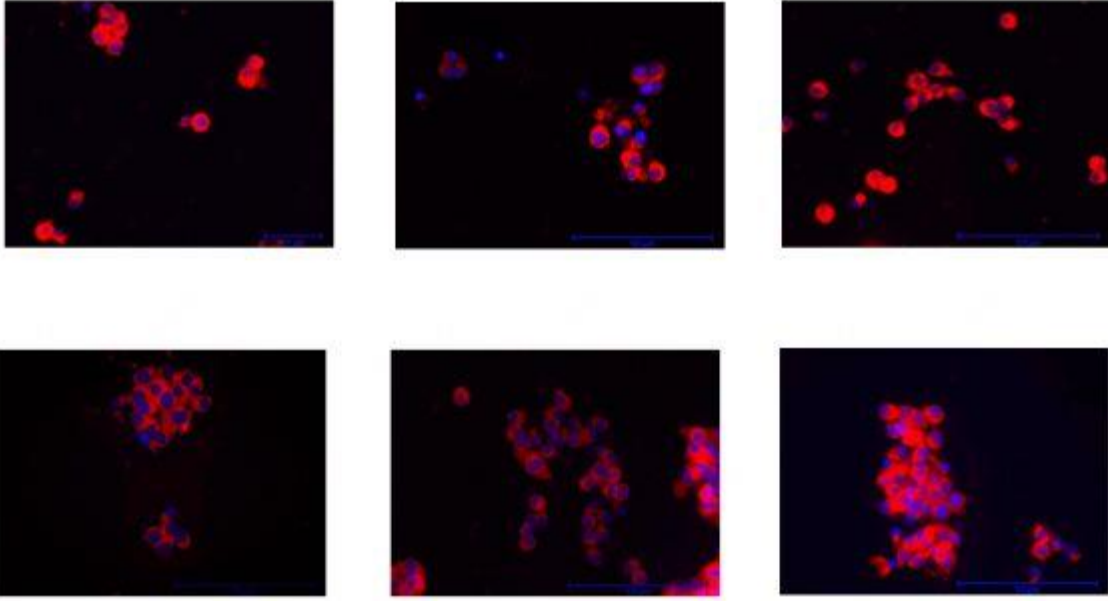
**Yöntem:** Çalışmamıza katılan 86 kadın hastanın anamlları alındı. Hastaların kilo ve boyları, Oosit toplama işlemi (OPU) günü ölçüldü ve VKİ'leri hesaplandı. Dünya Sağlık Örgütüne göre; VKİ<25 Normal Kilolu (N), 25-29 Fazla Kilolu (FK), >30 Obez (OB) olarak kabul edildi. Çalışmaya katılan 86 kadın hastanın 29'u N, 27'si FK, 30'u OB olarak gruplandırılmıştır. Hastaların yaşları kaydedildi. Hastalara antagonist kontrollü ovaryen hiperstimülasyon uygulandı. Yumurta çatlatma iğneleri hCG uygulandıktan 36 saat sonra OPU gerçekleştirildi. Folikül aspirasyon işleminde yıkama yapılmadı, standart yöntemlerle OPU tamamlandı. Embriyoloji Laboratuvarında seçilen oositlere intra sitoplazmik sperm enjeksiyonu yapıldı ve bu işlemden 24 saat sonra dölleme olup olmadığı ve embriyo transferinden sonra gebeliğin gerçekleşip gerçekleşmediği kontrol edildi. Folikül sıvısındaki oositler toplandıktan sonra, sıvıda bulunan granüloza hücreleri coversliplere (Coverslip BD BioCoat Poly-D-Lysine 12 mm 354086) yayıldı. %3'lük soğuk (+4°C) formaldehit ile fikse edildi. Leptin ve Ghrelin immünfloresan tekniği, kit protokolüne göre çalışıldı. İmmün (+) hücreler, Olympus IX 53 immünfloresan mikroskopta incelendi ve fotoğrafları çekildi. Fero Lab (Fred Hutchinson Cancer Research Center; Seattle, WA, ABD) tarafından önerilen hücre sayım protokolü temel alınarak NIH (National Institutes of Health) tarafından oluşturulan Java™ temelli NIH ImageJ programı (NIH, Maryland, ABD) analiz ve sayısallaştırma için kullanıldı. İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı ile yapıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya katılan kadın hastalarda yaş ile N, FK, OB grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (p = 0,474) Kadın hastaların VKİ'leri arttıkça, gebelik oranlarında azalma N:%43,33, FK:%36,67, OB%20 olarak belirlendi. İmmünfloresan boyamada, Leptin (+) granüloza hücreleri açısından N hasta grubuna göre FK ve OB hasta grubunda daha fazla (+) boyanan hücre gözlemlendi. Leptin (+) granüloza hücreleri ile kadın VKİ arasında anlamlı farklılık saptandı (p<0,01). Çalışmamıza katılan hastalardaki leptin(+) hücrelerin yüzdesinin kadın (VKİ) arttıkça arttığı görüldü (N:21,88 FK:31,25, OB:40,88). Ghrelin (+) granüloza hücreleri açısından Obez hasta grubunda daha fazla immünfloresan hücrelere rastlandı ancak çalışmaya katılan N, FK, OB hasta grupları arasında Ghrelin(+) granüloza hücreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı (p = 0,350). Ghrelin(+) granüloza hücrelerin yüzdesinin obeziteyle arttığı gözlemlendi (N:31,82 FK:31,82, OB:36,36). Ghrelin(+) ile leptin(+) arasında pozitif anlamlı korelasyon saptandı (r: 0,344, p: 0,001).

**Sonuçlar:** Obezitenin hormonlar ve sitokinler üzerinden oosit ve embriyo kalitesi, gebelik ve doğum oranları üzerine negatif etkileri olduğu anlaşılmaktadır. Polikistik Over Sendromu dışlanarak sadece obezitenin etkilerini gösteren çalışmamızda elde edilen bulguların literatüre özgün katkılar sağlayacağını umuyoruz.

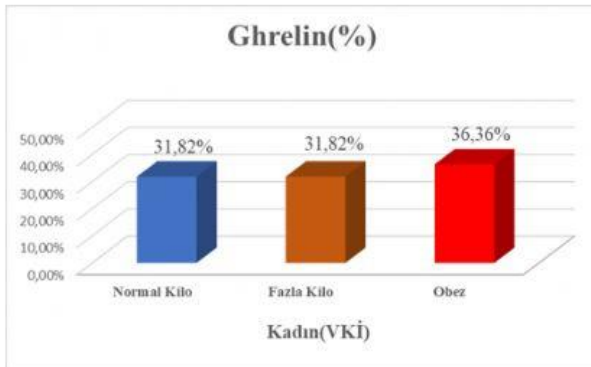
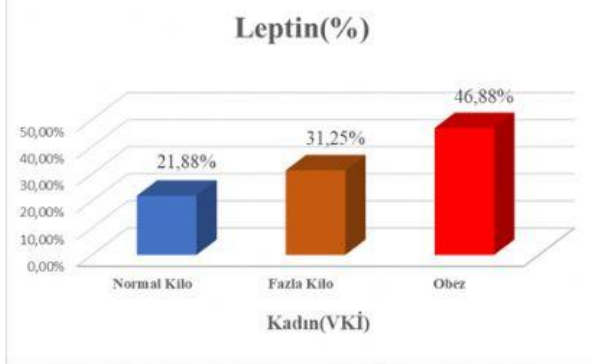
**Anahtar Kelimeler:** Granüloza hücreleri, Ghrelin, İn vitro fertilizasyon, Leptin, Obezite

### Ghrelın(+) ve Leptin(+) Granüloza Hücrelerinin VKİ ile İlişkisinin İmmüfloresan Görüntüsü



Üstte sırasıyla N, FK ve OB gruplarında Ghrelın(+) Granüloza Hücrelerin stoplazmaları kırmızı renkte boyanmış olarak görülmektedir (40XBüyütme) Altta sırasıyla N, FK ve OB gruplarında Leptin(+) Granüloza Hücrelerin stoplazmaları kırmızı renkte boyanmış olarak görülmektedir (40XBüyütme).

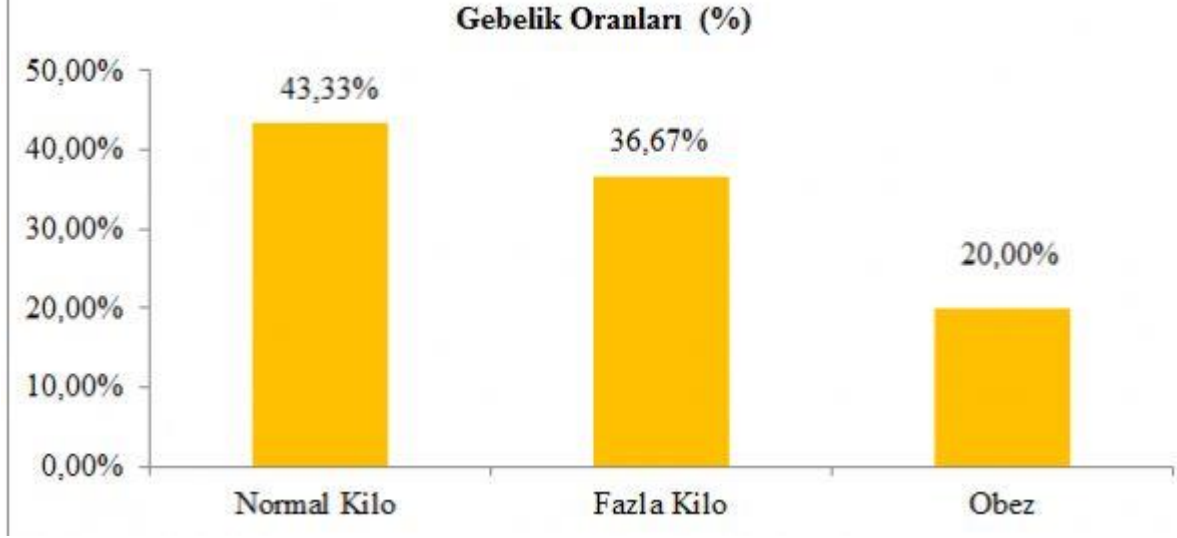
### Leptin(+) ve Ghrelın(+) Granüloza Hücrelerinin Kadın VKİ İle İlişkisi



Leptin ile çalışmaya katılan normal kilo, fazla kilo ve obez olan kadın hastaları arasında istatistiksel olarak N-OB ve FK-OB grupları arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $p < 0.001$ ) Ghrelın ile

*çalışmaya katılan normal kilo, fazla kilo ve obez olan kadın hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p = 0,350$ )*

**Vücut Kitle İndekslerine Göre Gebelik Oranları**



S66

### İn Vivo Kıkırdak Onarımı Üzerine Tgf-β1 Transfekte Edilmiş Dental Pulpa Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrenin Etkisi

Betül Tekin<sup>1</sup>, Saim Özdamar<sup>1</sup>, Zeynep Burçin Gönen<sup>2</sup>, Hasan Salkın<sup>3</sup>, Ayça Lekesizcan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Merkezi, Kayseri

<sup>3</sup>Beykent Üniversitesi, Meslek Yüksek Okulu, Patoloji Laboratuvar Teknikleri Programı, İstanbul

**Amaç:** Kıkırdak rejenerasyonunun zayıf olması nedeniyle hasarlı kıkırdak dokusunun onarımında sorunlar sıklıkla yaşanmaktadır. Bu nedenle kıkırdak onarımında mezenkimal kök hücrelerin (MKH) kullanımı ile tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Ancak MKH kullanımının da yetersiz olduğu çalışmalar bulunmaktadır. Bununla birlikte MKH'lerin aktive gen eklenmesiyle rejenerasyonun daha hızlı ve etkin şekilde gelişebileceği düşünülmüş ve ilgili çalışmalara başlanılmıştır. MKH'lerin kondrogenezinde önemli rol oynayan transforme edici büyüme faktörü-beta 1 (TGF-β1) bunlardan biridir ve in vitro çalışmalarda etkinliği gösterilmiştir. Bu çalışmada, dental pulpa kaynaklı TGF-β1 ile transfekte edilmiş MKH'lerin tavşanlarda oluşturulan eklem kıkırdağı hasarının iyileşmesi üzerine etkisinin in vivo olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada 2-3 kg ağırlığında 3-4 aylık erkek Yeni Zelanda türü 32 tavşan dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmadı. Diğer üç grupta eklem kıkırdağında diril ile osteokondral defektler oluşturuldu. Sonrasında hayvanların eklem boşluğuna; Grup 2'de 0.5mL serum fizyolojik (SF), Grup 3'de 3X10<sup>6</sup> MKH içeren 0.5 mL SF, Grup 4'de 3X10<sup>6</sup> TGF-β1 transfekte edilmiş MKH içeren 0.5 mL SF enjekte edildi. Altı hafta sonra tavşanlar sakrifiye edildi. Femoral artiküler eklem kemikten dirille kesilerek %4'lük formaldehit solüsyonuna alındı. Fiksasyondan sonra %10'luk nitrik oksit solüsyonunda dekalsifiye edildi. Doku takibi basamaklarından geçirilerek parafin bloklara gömülen dokulardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı, hematoksilin-eozin, Masson trikrom ve toludin blue ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi, immünohistokimyal yöntemlerle ve western blot analizi ile değerlendirildi.

**Bulgular:** Kontrol grubunda eklem kıkırdağı düzgün bir görünüme sahipti ve yüzeysel zonda kondrositler kollajen katmanlar arasında disk şeklinde, geçiş zonunda daha küresel ve derin zonda ise eklem hattına dikey yerleşimli para dizileri şeklinde görüldü. Derin zon ile kalsifiye zon arasındaki sınır düzgün bir hat şeklinde izlendi. SF verilen hasar grubunda ise kendi kendine iyileşme bölgesinde, çoğunlukta düzensiz kollajen liflerden oluşan bağ dokusu ve fibröz kıkırdaktan oluşan küçük alanlar gözlemlendi. MKH grubunda SF verilen gruba göre bağ dokusunda azalma fibröz kıkırdak miktarında artış vardı. Belli bölgelerde düzensiz hyalin kıkırdak yapısı ve dağınık kondrositlerin oluşturduğu alanlar görüldü. TGF-β1+MKH uygulanan grupta ise MKH grubuna göre hyalin kıkırdak miktarında artış vardı. Kondrositler yoğun kümelenmiş dağınık bir yapılanma sergilese de yer yer organize düzenli alanlar gözlemlendi.

**Sonuç:** MKH uygulanan grupta kıkırdak onarımı SF uygulanan gruba göre daha iyi iken mezenkimal kök hücrelere TGF-β1 transfeksiyonunun, yapıcı-onarıcı hücreleri uyardığı ve hyalin kıkırdak oluşumu artırarak iyileşmeyi daha da olumlu yönde etkilediği görülmektedir. Gen transfeksiyonu yapılmış MKH uygulamalarının kıkırdak rejenerasyonunu artıran bu çalışmanın sonuçlarının klinikte uygulanabilir hale gelmesi için moleküler düzeyde daha detaylı araştırılması ve geliştirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Eklem kıkırdağı, Kıkırdak İyileşmesi, Kondrojenik Farklılaştırma, Kök Hücre, TGF-β1



S67

**Tunikamisin ile indüklenen endoplazmik retikulum stresine bağlı ileum mukoza hasarında shilajitin koruyucu etkisi**

Meryem Akpolat<sup>1</sup>, Çiğdem Özarslan<sup>2</sup>, Nurten Güleriyüz<sup>2</sup>, Büşra Çetinkaya<sup>1</sup>, Nurten Taşçı<sup>2</sup>, Serkan Karaçetin<sup>2</sup>, Zehra Safi Öz<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Zonguldak

<sup>2</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Zonguldak

<sup>3</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Zonguldak

**Amaç:** Endoplazmik Retikulum (ER) sekretör yolağa giren proteinlerin trafiği ve katlanması için temel organeldir. Çoğu hastalığın etiolojisine katkıda bulunan ER stresi, çevresel travma nedeniyle yanlış katlanmış veya katlanmamış proteinlerin birikimi sonucunda ortaya çıkmaktadır.

Tunikamisin, çeşitli Streptomyces türlerinden üretilen bir nükleotid antibiyotik grubudur.

Tunikamisin, N-bağlı glikoproteinlerin sentezini bloke ederek ER lümeninde hatalı katlanmış veya katlanmamış proteinlerin birikimine neden olur ve bu olay sonucunda ER stresi meydana gelir.

Yapılan çalışmalarda, mikrobiyal metabolitler ile bitki ve organik humuslu maddelerin kompleks bir karışımından oluşan shilajitin antialerjik, antidiabetik, immünomodülatör, antiülserojenik, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip olduğu saptanmıştır. Bu çalışmanın amacı, tunikamisin ile indüklenen ER stresine bağlı ileumda meydana gelen mukozal hasarın seviyesini saptayarak, shilajitin ER stresine karşı koruyucu etkisini ortaya koymaktır.

**Gereç ve Yöntemler:** ER stresi oluşturmak amacıyla Wistar albino sıçanlara tek doz, subkutan yoldan, 200 µg/kg tunikamisin verilmiştir. Tedavi edici ajan olarak kullanılan shilajit, gün aşırı 100 mg/kg dozda gavaj yoluyla uygulanmıştır. İnce barsaklarda epitel yenilenme süreci göz önünde bulundurularak, tunikamisin uygulamasından sonraki 4. günde denekler sakrifiye edilmiştir.

Histopatolojik incelemeler için H-E ve PAS boyamaları yapılmıştır. Tunikamis ile indüklenen ER stresinin yol açtığı ileal mukozal hasar Chiu skorlaması yapılarak değerlendirilmiştir. ER stresi belirteci olan GRP78 ve inflamasyon belirteci olan Nf-κB proteinlerinin ekspresyon seviyeleri immünohistokimyasal yöntemle belirlenmiştir.

**Bulgular:** Tunikamisin uygulanan grupta, GRP78 ve Nf-κB proteinlerinin ekspresyonlarında kontrole göre anlamlı derecede artış olduğu görülmüştür. Tunikamisin grubuna kıyasla, tunikamisin+ shilajit grubunda; aynı proteinlerde, anlamlı düzeyde zayıf immünreaktivite saptanmıştır. Kontrol ve sadece shilajit uygulanan gruplar arasında bu belirteçler açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir. ER stresine bağlı gelişen ileal mukozal hasar skoru en yüksek tunikamisin grubunda gözlenirken, tunikamisin + shilajit grubunda hasar skorunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düştüğü saptanmıştır. Tek başına uygulanan shilajitin ileum mukozasında her hangi bir histopatolojik değişikliğe yol açmadığı, bulguların kontrol grubu ile benzer olduğu belirlenmiştir. PAS boyaması ile yapılan değerlendirmelerde, tunikamisin uygulamasına bağlı olarak, villus epitelinde çizgili kenar yapısının bozulduğu, goblet hücre salgılarının yoğunluğunda da artış olduğu görülmüştür.

Uygulanan shilajit tedavisi ile ER stresi baskılanarak, hem villus intestinalislerin bütünlüğünün, hem de lamina epitelialisin çizgili kenar yapısının korunduğu belirlenmiştir.

**Sonuç:** Elde edilen sonuçlar ışığında, tunikamisin ER stresini indükleyerek ve inflamasyonu tetikleyerek ileum mukozasında belirgin bir hasar meydana getirmiştir. Shilajit uygulaması ile, ER stresinin ve inflamasyonun baskılandığı, ileum mukozasında gözlenen hasarın belirgin düzeyde azaldığı saptanmıştır. Shilajitin ER stresi ile ilişkili ileal mukozal hasarı önlemede etkili olabileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** ER stresi, GRP78, ileum, Nf-κB, tunikamisin

S68

**Pulsu manyetik alanın sepsis modeli oluşturulan sıçanların karaciğer dokularındaki tedavi edici etkilerinin incelenmesi**Serkan Yelli<sup>1</sup>, Fikret Gevrek<sup>1</sup>, Serkan Gürgül<sup>2</sup><sup>1</sup>Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Tokat<sup>2</sup>Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Gaziantep**Giriş ve amaç**

Sepsis enfeksiyonlara karşı gerçekleşen bir konak reaksiyonu olup sistemik inflamatuvar yanıt ile karakterize bir durumdur. Sepsise bağlı olarak organ fonksiyonu kaybından ölüme kadar varabilen ciddi durumlar görülebildiği bildirilmektedir. Sepsisin en önemli zararlı etkileri akciğer, böbrek ve karaciğer gibi organlar üzerinde gözlemlenmektedir. Dolayısıyla sepsis ile mücadele çok önem arz etmekte olup bu amaçla pek çok yöntem ve teknikler uygulanmaktadır. Pulsu manyetik alan (PMA) çeşitli enfeksiyonlarda adjuvan tedavi olarak kullanıldığı bildirildiğinden dolayı bu çalışmamızda sepsisin karaciğerde oluşturduğu hasara karşı PMA'nın etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Materyal ve metot**

Çalışmada Wistar albino cinsi toplamda 28 adet yetişkin sıçan 7'şerli olarak Sham (kontrol), sepsis, 7.5 Hz PMA tedavi ve 15 Hz PMA tedavi olmak üzere 4 farklı gruba ayrıldı. Her iki tedavi ve sepsis gruplarındaki sıçanlar çekal ligasyon perforasyon yöntemi (ÇLP) ile deneysel olarak sepsis hale getirildiler. ÇLP ile sepsis yapıldıktan beş saat sonrasında tedavi gruplarına 24 saat süre ile birine 7.5 Hz PMA, diğerine ise 15 Hz PMA uygulaması yapıldı. Deney sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifiye edilerek karaciğer dokuları histolojik analizler için alındı. Rutin doku tespit ve takibi işlemlerinden sonra parafine gömülen karaciğer dokularından alınan ince kesitler hematoksilin eozin, üçlü boyama, tunel boyama ve immünohistokimyasal olarak boyandıktan sonra araştırma ışık mikroskobu ile analiz edildiler. Analizler sonucunda her bir gruptan elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırılıp yorumlandı.

**Bulgular**

Hematoksilin eosin ve üçlü boyama yapılan preparatların mikroskobik analizleri sonucunda sepsis grubunda biraz soluk boyanma ve doku hasarlarının olduğu tespit edildi. Tunel boyalı preparatların mikroskobik analizlerinde hepatosit apoptotik hücre indeksinin sepsis grubunda arttığı, tedavi gruplarında ise sepsis grubuna göre azalmış olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). İmmünohistokimyasal olarak boyanmış preparatların H-Skoru analizlerinde ise Bax ve Acas-3 proteinleri immün ekspresyonları tedavi gruplarında sepsis grubuna göre kontrol lehinde olacak şekilde azalmıştı. Bcl-2 protein ekspresyonunun ise sadece 7.5 Hz PMA tedavi grubunda kontrolle benzer olduğu tespit edildi.

**Sonuç**

Elde edilen sonuçlara göre PMA uygulamasının sepsis kaynaklı karaciğer dokusu hasarlarının tedavisinde faydalı olabileceği söylenebilir. Ancak daha üst düzey ileri moleküler çalışmalar ile desteklendikten sonra kesin kararların verilmesi daha uygun olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptozis, Karaciğer, Pulsu Manyetik Alan, Sepsis, Sıçan

S69

**Preeklampitik insan plasentasında otofagozom maturasyonunun p97/Valosin içeren protein (VCP) tarafından engellenmesi**Cansu Şahin<sup>1</sup>, Asker Zeki Özsoy<sup>2</sup>, Tuba Özdemir Sancı<sup>1</sup>, Ebru Alimoğulları<sup>1</sup>, Seda Ocaklı<sup>3</sup>, Sevil Çaylı<sup>1</sup><sup>1</sup>Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara<sup>2</sup>Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı, Tokat<sup>3</sup>Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tokat

**Giriş:** Otofaji hücre büyümesi, gelişimi ve farklılaşmasını düzenleyen ve hücrelerin besin eksikliğinde ve stresi durumunda aktive olan bir sistemdir. Son zamanlarda, mekanizmaları henüz açıklanmamış olmasına rağmen, preeklampsi ve intrauterin gelişme geriliği gibi plasenta ile ilişkili obstetrik hastalıklarda otofajinin arttığı bilinmektedir. Özellikle, otofajinin düzenlenmesinde Valosin içeren protein (p97/VCP) ve ubikutin gibi ubikutin-proteazom yolağı proteinleri (UPP) preeklampitik plasentalarda çalışılmamıştır. Bu çalışmanın amacı, normal ve preeklampitik insan plasentalarında UPP (p97/VCP ve ubikutin), otofajik (p62 ve LC3B) ve otolizozomal proteinlerin (Lamp1 ve Lamp2) ekspresyonunu araştırmak ve bu proteinlerin otofaji yolağındaki p97/VCP ile ilişkili düzenleyici mekanizmasını göstermektir.

**Materyal-Metod:** Plasentalar, normal gebelik süresini dolduran kadınlardan (n=20) ve preeklampsisi (n=10) olan kadınlardan sezaryen doğum sonrasında toplandı. Bazal plak ve koryonik membran arasındaki orta kısımdan doku örnekleri alındı. Western blot ve ko-immunopresipitasyon için -80°C'de saklandı, immünohistokimya ve çiftli floresan boyamalar için parafine gömüldü.

**Bulgular:** Normal plasentalar ile karşılaştırıldığında, preeklampitik plasentada p97/VCP ifadesi anlamlı olarak azalmasına rağmen ubikutin ifadesi artış gösterdi. Sitotrofoblast, sinsisyotrofoblast ve Hofbauer hücrelerinde p97/VCP immün boyanmaları izlendi. Western blot ve immünohistokimya çalışmaları, p97/VCP ifadesinin azaldığı preeklampitik plasentalarda, otofajik proteinlerden p62 ve LC3II'nin ifadelerinin anlamlı şekilde arttığını gösterdi. Fakat otolizozomal proteinlerin ekspresyonlarında bir fark izlenmedi. Ayrıca p97/VCP'nin otofagozomal and otolizozomal proteinlerle etkileşim içinde olduğu ko-immunopresipitasyon çalışmalarıyla, ko-lokalize olduğu ise çiftli immunofloresan çalışmalarıyla belirlendi. Otofagozom maturasyonunun (otofagozomların lizozomlarla birleşmesi: p62-Lamp2 etkileşimi) preeklampitik plasentalarda normale göre daha az olduğu gösterildi.

**Sonuç:** Preeklampitik insan plasentasında p97/VCP' nin azalmış ve ubikutinlenmiş proteinlerin artmış ifadesi, otofagozom maturasyonunu engellemiştir. Bu nedenle çalışmamız, preeklampitik plasentada p97/VCP ile otofajik protein ekspresyonları arasındaki ilişki olduğunu vurgulamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Preeklampsi, p97/VCP, ubikutin, otofaji, insan plasenta

S70

### Miyojenik ve Aponevrotik Blefaropitozis Hastalarının Levator Palpebra Kas Örneklerinin Elektron Mikroskopik Olarak Karşılaştırılması

Hilal Nalcı<sup>1</sup>, Melek Banu Hoşal<sup>1</sup>, Zeynep Bengisu Kaya<sup>2</sup>, Petek Korkusuz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**Amaç:** Blefaropitozis (pitozis), üst göz kapağının normal seviyesinden aşağıda olmasıdır. Miyojenik pitozis, levator kasında konjenital veya edinilmiş miyopatiye bağlıdır. Konjenital formu izole veya çeşitli sendromların bir parçası olarak görülebilir. Konjenital ve miyojenik pitozis patogenetik mekanizması ve kas tutulumunun ultrastrüktürel hasar düzeyi ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Bu çalışmada miyojenik ve aponevrotik blefaropitozis nedeniyle levator cerrahisi geçiren hastaların cerrahi sırasında eksizye edilen levator aponevroz örneklerinin ultrastrüktürel kantitatif yöntemlerle karşılaştırılması ve elde edilen bulguların hastalıkların klinik seyri ve patogenezi ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışma için, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'na Haziran 2015 ile Kasım 2017 tarihleri arasında göz kapağı düşüklüğü şikayeti ile başvuran ve miyojenik veya aponevrotik blefaropitozis tanısı ile levator rezeksiyonu cerrahisi uygulanan 25 hasta belirlenmiştir. Olguların çalışmaya dahil edilme kriterleri; tanısız yöntemler ile miyojenik veya aponevrotik blefaropitozis tanısının doğrulanması, hastalarda göz kapakları ile ilgili eşlik eden hastalık, kapak pozisyonunu etkileyecek tiroid orbitopatisi gibi sistemik hastalık, ve nörojenik blefaropitozis olmaması olarak belirlenmiştir. Bu fazla aponevroz dokusunun kasa yakın olan proksimal kısmından 2X5 mm büyüklüğünde doku eksizye edilerek gluteraldehit solüsyonuna alınmıştır. Alınan örnekler soğukta muhafaza edilerek Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na yönlendirilmiştir. Örnekler transmisyon elektronu mikroskobu incelemesi için rutin doku takibi sonrası bloklanmıştır. Longitudinal ve transvers seri yarı ince kesitlerde metilen mavisi-azur II boyaması yapılarak ışık mikroskobuna bağlantılı dijital kamera ve görüntü analiz programında hasar alanları ölçülmüştür. Hasarlı alanlardan elde edilen ince kesitler uranil asetat-kurşun sitrat ile boyandıktan sonra hücrelerin çekirdek ve kontraktıl eleman içeriği, yerleşimi, kontraktıl aparatın bütünlüğü (Z çizgisinin yerleşimi), endoplazma retikulumu ve mitokondriyon morfolojisi, glikojen içeriği ve hücre zarı bütünlüğü açısından ince yapı düzeyinde kantitatif ve kantitatif olarak incelenmiştir. Her örneğe ait en az 2 adet ince kesitte en az 10 adet mitokondriyon çapı ölçülerek elektron mikroskobunda mikrometre (µm) cinsinden kaydedilmiştir. Demografik ve elektron mikroskobik veriler çoklu karşılaştırma için Kruskal-Wallis ve post-hoc analiz için Mann-Whitney U testi ile, korelasyon analizi Spearman testi ile değerlendirilmiştir. **Bulgular:** Her iki gruba ait hastalarda ışık mikroskobu düzeyinde değişen oranlarda kas hasarı, bazı hastalarda hafif derecede yağ infiltrasyonu ve fibrozis saptanmıştır. Elektron mikroskobik incelemede kontraktıl eleman içeriğinin tüm hastalarda değişen derecelerde bozulduğu, bazı hastalarda Z çizgisinde kayma olduğu ve merkezi yerleşimli çekirdeklerin varlığı izlenmiştir. Mitokondriyonlarda şişme ve krista yapısında bozulma görülmüş, mitokondriyon büyüklüğü kantitatif olarak raporlanmıştır.

**Sonuç:** Histolojik bulgular demografik verilerle eşleştirildiğinde, miyojenik ve aponevrotik pitozisin patogenetik mekanizmasına ışık tutulmaya çalışılmıştır. Kas fonksiyonun çoğunlukla korunmuş olduğu aponevrotik pitozis olgularında ultrastrüktürel değişiklikler gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Aponevrotik Pitozis, Miyojenik Pitozis, Transmisyon Elektron Mikroskobu(TEM)

S71

**Prenatal Uygulanan Diklofenak Sodyum ve Timokinonun Postnatal Sıçan Testis Histolojisine Etkilerinin Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması**

Fikret Altındağ, Murat Çetin Rağbetli

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Histoloji Ana Bilim Dalı, Van

**Amaç:** Çalışmamızın amacı ağrı ve antiinflamatuar durumlarda yaygın olarak diklofenak sodyum ve 2000 yılı aşkın bir süredir, antiinflamatuar, antioksidan ve antineoplastik ilaç olarak kullanılan timokinonun gebe sıçanlara uygulanarak postnatal dönemin 4.haftasında testis histolojisine etkilerinin stereolojik yöntemlerle araştırılmasıdır.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmanın başında çiftleşme için ağırlıkları 200-300 g. arasında olan daha önce hiç çiftleşmemiş 20 adet erişkin Albino Wistar cinsi dişi sıçan ve 5 adet erkek sıçan kullanıldı. Çiftleşme için her bir kafese 4 dişi ve 1 erkek sıçan olacak şekilde yerleştirildi. Her gün yapılan vajinal plak kontrolü sonucunda, vajinal plağın görüldüğü gün gebeliğin sıfıncı günü olarak kabul edildi. Gebe Sıçanlar Kontrol, Serum Fizyolojik (SF), Diklofenak Sodyum (DS), Timokinon (TQ) ve Diklofenak Sodyum+Timokinon (DS+TQ) olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna her hangi bir işlem uygulanmazken, gebeliğin 5-15.günleri arası 10 gün süre ile SF grubuna 1ml/kg/gün serum fizyolojik IP yolla, DS grubuna 6.1mg/kg/gün diklofenak sodyum IM yolla, TQ grubuna 5mg/kg/gün içme suyu ile, DS+TQ grubuna ise 6.1mg/kg/gün diklofenak sodyum IM yolla 5mg/kg/gün içme suyu ile verildi. Doğan erkek yavrulardan her bir grupta 7 adet kullanıldı. 4.haftanın sonunda anestezi altında perfüzyona alınarak sağ testisleri çıkarıldı. Bouin solüsyonu ile tespit edildikten sonra rutin histolojik takip aşamalarından sonra parafine gömüldü. 4 µm kalınlığında kesitler alınarak H-E boyası ile boyanarak stereolojik çalışma için Işık mikroskopunda incelendi. Dokuda meydana gelebilecek elektron mikroskopik düzeydeki değişiklikler için elektron mikroskopik görüntüler alındı. Stereolojik olarak Sertoli, Leydig ve spermatogonyum toplam hücre sayımı için disektör-Cavalieri metodu, toplam testis hacim için ise Cavalieri prensibi uygulandı.

**Bulgular-Sonuç:** Çalışma sonucunda deney gruplarının kontrol grubu ile yapılan istatistiksel karşılaştırmada diklofenak sodyum grubuna ait testisin Sertoli ve Leydig toplam hücre sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalmaya ( $p<0.05$ ) neden olduğu, diğer gruplarda anlamlı bir farkın olmadığı ayrıca gruplara ait toplam hacim değerleri bakımından anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi.

**Tartışma:** Çalışmamızda Diklofenak sodyumun postnatal dönemin erken evresinde Sertoli ve leydig hücrelerini anlamlı derecede etkilerken, spermatogonyum hücre sayısında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi. Bu durum diklofenak sodyumunun meydana getirmiş olabileceği testiküler stres sonucu Sertoli ve Leydig hücrelerinin serbest radikallere maruz kalarak hasar gördüğü düşünülmektedir. Ayrıca diklofenak sodyumun meydana getirmiş olduğu hücre sayısındaki düşüşe karşı timokinon koruyucu etkisi olmadığı gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Diklofenak sodyum, Sıçan, Stereoloji, Testis, Timokinon

**Gruplara ait toplam hacim (mm<sup>3</sup>) tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları**

	Gruplar	Median	Mean	St. Dev.	Min.	Max.	p.
TOPLAM HACİM (mm <sup>3</sup> )	KONTROL	200	250.71	95.23	155	366	.08
	SF	249	251.57	79.35	165	396	
	DS	166	172.50	47.79	114	238	
	TQ	197	202.43	40.74	156	276	
	DS+TQ	163	165.29	51.55	114	262	

**Gruplara ait toplam Sertoli, Leydig ve spermatogonyum sayılarının tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları.**

HÜCRE TİPİ	Gruplar	Median	Mean	St. Dev.	Min.	Max.	g.
SERTOLİ	KONTROL	6623210a	7795874.14	2477699.04	5039447	11115379	.01
	SF	7718278a	7271048.86	2058274.36	4623831	9857740	
	DS	4793102b	4718321.33	833503.14	3309108	5648971	
	TQ	6427621ab	6572046.00	1950505.08	4004228	9097341	
	DS+TQ	4362195b	4595403.71	1147195.18	3107925	6145296	
LEYDİĞ	KONTROL	2367765a	2249881.00	492681.21	1471824	3077926	.04
	SF	2320202a	2191673.14	485379.91	1541277	2688216	
	DS	1448515b	1503469.00	325080.29	1129794	1946417	
	TQ	1895279ab	1737155.29	524585.42	1071270	2412057	
	DS+TQ	1692709ab	1894543.43	377830.57	1548412	2389837	
SPERMATO-GONYUM	KONTROL	10104890	9996434.43	3800029.96	4535529	16916482	.32
	SF	10291038	10352958.57	1827859.02	7734007	12769029	
	DS	9323578	8775885.67	2495041.48	5606322	11297942	
	TQ	7453897	8029136.29	1787368.47	5923752	11457272	
	DS+TQ	9814939	9908011.86	1654302.38	7450696	12973403	

*b, a'ya göre anlamlı bir azalma olduğunu göstermektedir.*

S72

**p97/Valosin içeren protein (VCP) inhibitörü olan DBeQ'nun çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemili hastaların ve sağlıklı vericilerin kemik iliği hücrelerinde p97/VCP ekspresyonuna doz ve süre bağımlı etkisi**

Seyma Kipel<sup>1</sup>, Hilal Nakkaş<sup>1</sup>, Tuba Özdemir Sancı<sup>1</sup>, Sevil Çaylı<sup>1</sup>, Meltem Özgüner<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Hematoloji-Onkoloji Eğitim Araştırma Hastanesi Kök Hücre İşleme Ve Saklama Laboratuvarı, Ankara

**Giriş/Amaç:** Akut lenfoblastik lösemi (ALL) kemik iliğinde bulunan lenfoid öncül hücreler olan B ve T progenitör hücrelerin farklılaşmasının herhangi bir safhasında meydana gelen mutasyonlar sonucu gelişen malign bir hastalıktır. Bu hastalığın tedavisine yönelik kesin bir kanıt olmamakla birlikte çalışmalar devam etmektedir. p97/VCP AAA+ATPaz ailesinin bir üyesidir. Hücre içinde übikütin proteozom yolağı, endoplazmik retikulum ilişkili protein yıkımı, hücre siklusu, apoptoz, otofaji gibi birçok önemli yolakta görev yapmaktadır. Yapılan son çalışmalarda p97/VCP'nin birçok kanser türünde fazla ifade edildiği ve bu proteine yönelik inhibitörlerin terapötik ajan olarak çoğalan kanser hücrelerinin apoptozu üzerinde etkisinin olduğu gösterilmiştir. Fakat bugüne kadar, ALL hastalarına ait hücrelerde ve sağlıklı donörlerde karşılaştırmalı olarak p97/VCP ekspresyonu ve p97/VCP inhibitörünün bu hücrelerdeki etkisi üzerine bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle, çalışmadaki ilk amacımız ALL hastaların ve sağlıklı vericilerin kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücre (MKH) ve mononükleer hücrelerinde p97/VCP ekspresyonunu belirlemek, sonrasında da p97/VCP inhibitörü olan DBeQ (dibenzylquinazoline-2,4-diamine) 'nun bu hücreler üzerindeki etkisini araştırmaktır.

**Gereç/Yöntem:** Ankara Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji-Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kök hücre laboratuvarına gelen sağlıklı vericilerin (n:5) kemik iliği örnekleri ve ALL tanısı alan hastaların (n:5) yeni tanı anındaki kemik iliği örnekleri toplandı. Kemik iliği örneklerinden mononükleer hücreler izole edildi ve MKH üretmek için hücreler kültüre edildi. Kültüre edilen hücrelerde, p97/VCP ekspresyonu immunositokimya ve Western blot yöntemleriyle belirlendi. p97/VCP aktivitesini durduran DBeQ farklı doz (5, 10 ve 15µM) ve zaman aralıklarında (1,2,4 ve 12 saat) hücreler ile inkübe edilerek bu hücreler üzerindeki etkisi western-blot analizi ile gösterildi. **Bulgular:** Kemik iliğinden izole edilen mononükleer hücreler ve MKH'lerde p97/VCP ekspresyonu immunositokimya ve Western-blot analizi ile belirlendi. Hasta ve donör hücre grupları arasındaki farklılıklar incelendi. Elde edilen hücreler üzerinde farklı doz ve zaman aralıklarında denenen p97/VCP inhibitörü DBeQ'nun 15 µM dozunda ve 2-4 saat aralıklarında en etkili inhibisyon etkisine sahip olduğu gözlemlendi. İleri araştırmalarımız devam etmektedir.

**Sonuç:** Şu ana kadar elde edilen bulgular p97/VCP'nin donör ve hasta gruplarına ait mononükleer ve MKH'lerdeki farklı ekspresyonunu ve bu ekspresyonun etkisinin p97/VCP inhibitörü uygulanması ile değiştirildiğini göstermektedir. Bu ön bulgular DBeQ'nun ALL hastalığının klinik tedavisinde kullanılabileceği önermesini desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Akut lenfoblastik lösemi(ALL), mezenkimal kök hücre (MKH), p97/VCP, DBeQ

S73

### **Vücut Kitle İndekslerine Göre Gruplandırılan Kadın IVF Hasta Gruplarında Granüloza Hücrelerinde Adiponektin ve Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF $\alpha$ ) İmmünreaktivitesinin İncelenmesi ve Gebelik Durumu ile İlişkisinin Araştırılması**

Elif Gelenli Dolanbay<sup>1</sup>, Melda Yardımoğlu Yılmaz<sup>2</sup>, Birol Vural<sup>3</sup>, Murat Kasap<sup>4</sup>, Gözde Yazıcıoğlu Kaya<sup>2</sup>, Emek Doğer<sup>3</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

<sup>3</sup>Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Kocaeli

<sup>4</sup>Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı Vücut Kitle İndeksleri (VKİ)'lerine göre kadın hastaların granüloza hücrelerinde immunofloresan teknikle Adiponektin ve Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- $\alpha$ )'nın incelenmesi ve gebelik durumu ile ilişkisinin araştırılmasıdır.

**Yöntem:** Çalışmamıza katılan 86 kadın hastanın onamları sözlü ve yazılı olarak alındı. Hastaların yumurta toplama işlemi (OPU) günü VKİ'leri hesaplandı. VKİ<25 Normal (N), 25-29 Fazla Kilolu (FK), >30 Obez (OB) olarak kabul edildi (DSÖ). Çalışmaya katılan 86 kadın hastanın 29'u NK, 27'si FK, 30'u OB olarak gruplandırılmıştır. Tüm hastaların yaşları kaydedildi. Hastalara antagonist kontrollü ovaryen hiperstimülasyon uygulandı, Folikül çaplarına bakılarak yumurta çatlatma iğnesi hCG uygulandı. 36 saat sonra OPU işlemi yapıldı. Araştırma için yapılan folikül aspirasyon işleminde yıkama işlemi yapılmadı, standart yöntemlerle hastanın OPU işlemi tamamlandı. Folikül sıvısındaki oositler toplanıp ayrıldıktan sonra içerisindeki granüloza hücreleri coversliplere (Coverslip BD BioCoat Poly-D-Lysine12 mm 354086) yayıldı ve %3'lük soğuk (+4°C) formaldehit ile fikse edildi. Tnf- $\alpha$  ve adiponektin antikolarıyla boyamaları yapıldı. İmmün (+) hücreler, Olympus IX 53 immünfloresan mikroskopta incelendi ve fotoğrafları çekildi. Hücrelerin sayımı hem göz ile hem de Fero Lab (Fred Hutchinson Cancer Research Center; Seattle, WA, ABD) tarafından önerilen hücre sayım protokolü temel alınarak NIH (National Institutes of Health) tarafından oluşturulan Java™ temelli NIH ImageJ programı (NIH, Maryland, ABD) analiz edildi. İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı ile yapıldı. İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu işleminden 24 saat sonra dölleme ve embriyo gelişimleri izlendi. Transfer edilen embriyolar ile gebeliğin gerçekleşip gerçekleşmediği kontrol edildi

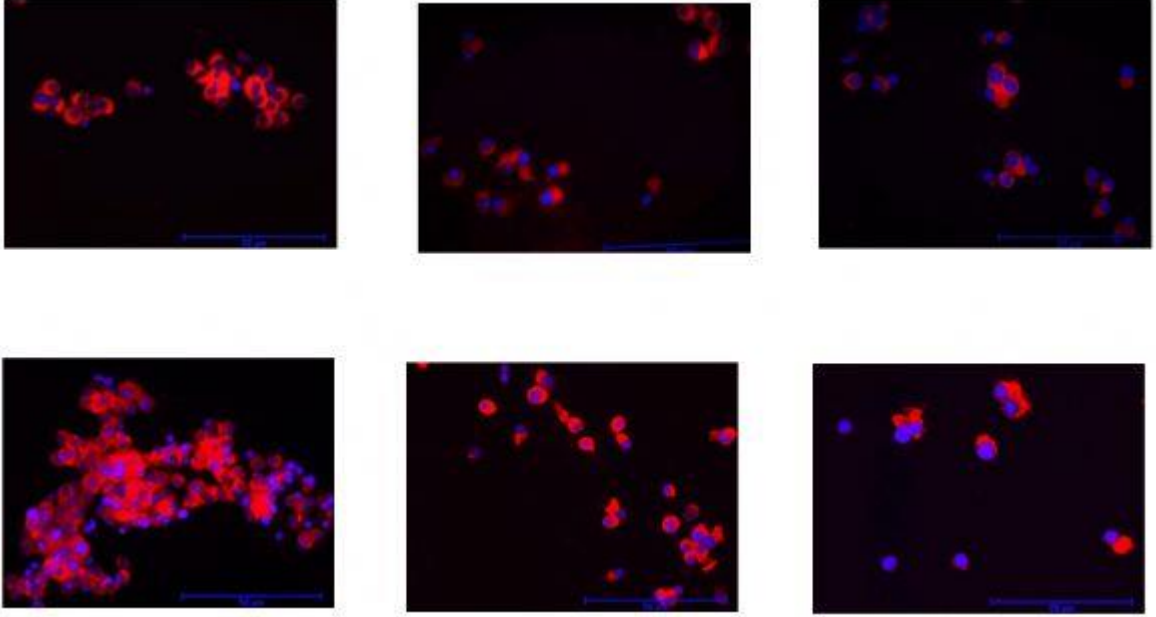
**Bulgular:** Çalışmaya katılan kadın hastaların yaşı ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p = 0,474$ ). Hastaların VKİ'lerindeki artışla gebelik oranlarında azalma görüldü (N:%43,33, FK:%36,67,OB%20). İmmünfloresan boyamada, TNF- $\alpha$  incelemesinde; N, FK ve OB olan kadın hastaları arasında VKİ değeri arttıkça değerin azaldığı (N: %35,46, FK:34,04, OB: 30,50); ancak anlamlı bir fark olmadığı bulundu (0,079). TNF- $\alpha$  ile VKİ arasında negatif anlamlı korelasyon saptandı ( $r: -0,291$ ,  $p: 0,007$ ). N ve FK hasta grubunda adiponektin (+) granüloza hücrelerinin görüntü alanına hakim olduğu gözlemlendi (N:%37,5, FK:%34,38,OB%28,13) ancak gruplar arasında adiponektin(+) granüloza hücreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p= 0,415$ ).

**Sonuçlar:** İnvitro fertilizasyon (IVF) çalışmaları ile en iyi embriyoyu meydana getirecek olan iyi kalitede bir oositin seçilmesinde oosite desteklik sağlayan granüloza hücrelerinin de oositin kalitesi kadar sağlıklı olmaları gerektiği ortaya çıkmıştır. Literatür incelemesi yapıldığında IVF sikluslarında kültüre edilmemiş insan granüloza hücreleri ile yapılan çalışmalar çok azdır. Polikistik Over Sendromu dışlanıp; sadece obezitenin etkilerini gösteren çalışmamızda elde edilen bulguların literatüre özgün ve değerli katkılar sağlayacağını umuyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Adiponektin, Granüloza hücreleri, İnvitro Fertilizasyon, TNF( $\alpha$ )

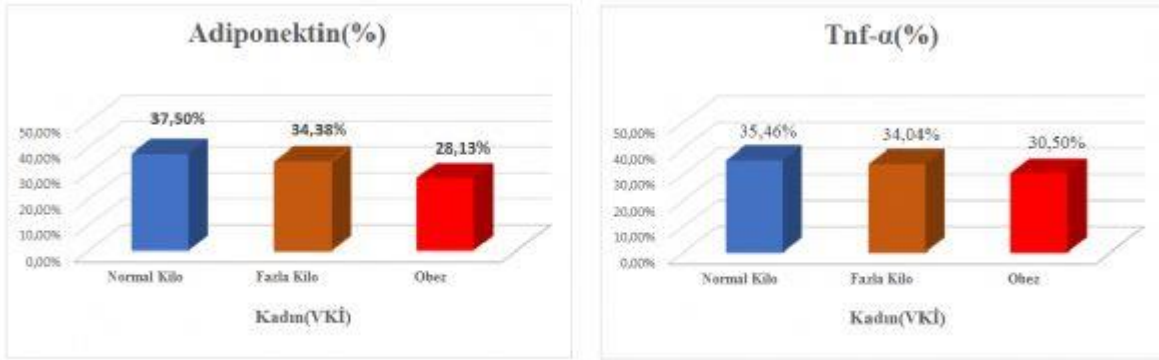


**Çalışmamıza katılan hastaların granüloza hücrelerindeki Adiponektin ve TNF- $\alpha$  ile kadın (VKİ) arasındaki ilişki**



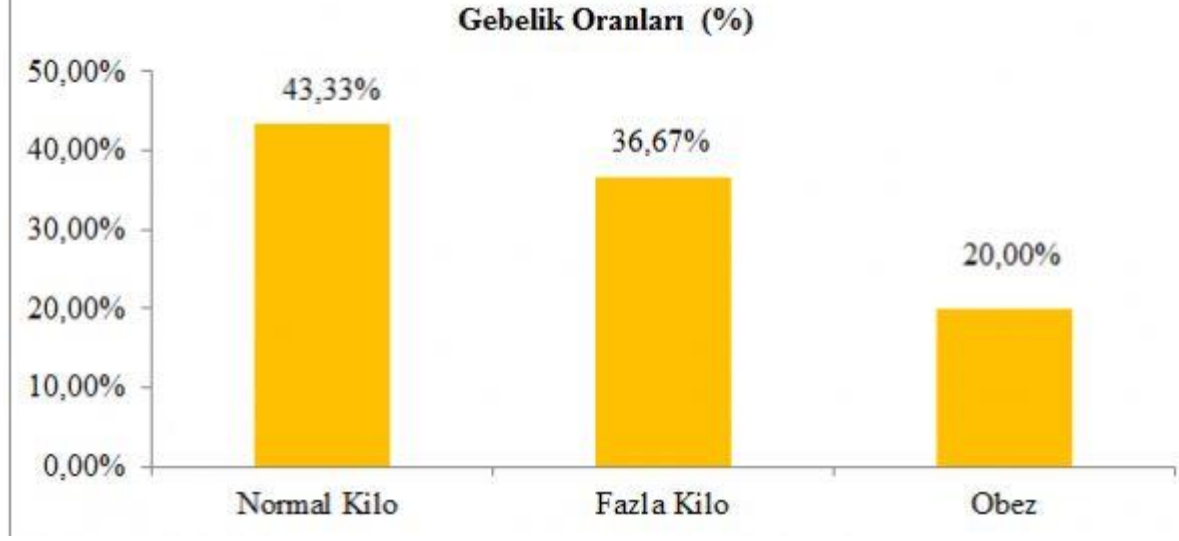
Üstte Adiponektin (+) granüloza hücreleri ile çalışmaya katılan normal kilo, fazla kilo ve obez olan kadın hastaları arasında VKİ değeri arttıkça değerin azaldığı görüldü. Ancak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p= 0.851$ ) Alttta TNF- $\alpha$ (+) granüloza hücreleri ile çalışmaya katılan normal kilo, fazla kilo ve obez olan kadın hastaları arasında VKİ değeri arttıkça değerin azaldığı görüldü. Ancak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p= 0,079$ )

**Çalışmamıza katılan hastaların granüloza hücrelerindeki Adiponektin ve TNF- $\alpha$  ile kadın (VKİ) arasındaki ilişki.**



Adiponektin ile çalışmaya katılan normal kilo, fazla kilo ve obez olan kadın hastaları arasında VKİ değeri arttıkça değerin azaldığı görüldü. Ancak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p= 0.851$ ) TNF- $\alpha$  ile çalışmaya katılan normal kilo, fazla kilo ve obez olan kadın hastaları arasında VKİ değeri arttıkça değerin azaldığı görüldü. Ancak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p= 0,079$ )

**Çalışmaya katılan hastaların gebelik oranları ile kadın (VKİ) arasındaki ilişki.**



S74

### Metastazı Olan ve Olmayan Over Kanselerinde BMP-7 Ve BMP-2, ZEB2 ve İntegrinlerin İmmunreaktivitesinin İn vivo ve İn vitro Değerlendirilmesi

Elham Bahador Zırh<sup>1</sup>, Alp Usubütün<sup>2</sup>, Elif Taşer<sup>2</sup>, Nimet Anıl Dolgun<sup>3</sup>, Naciye Dilara Zeybek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AbD, Ankara

<sup>2</sup> Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji AbD, Ankara

<sup>3</sup> Rmit Üniversitesi Fen Bilimleri Matematik bölümü, Melbourne

**GİRİŞ:** Over kanseri geç dönem tanı koyulması ve tanı alındığında metastaz yapmış olması nedeniyle klinikte önem taşımaktadır. Bone Morfojenik Proteinlerin(BMP) düzenlenmesi, kanser hücrelerinin transkripsiyon faktörleri üzerinden göçünü etkilemektedir. Transkripsiyon faktörü olan ZEB2 ekspresyonunun artışı hücrelerin epithelial mezenkimalgöçüne(EMT) neden olmaktadır. EMT'ye uğrayan hücreler göç sırasında integrinleri kullanmaktadır. Çalışmamızda metastatik olan ve olmayan over kanserinde BMP-2, BMP-7, ZEB2 ve integrin  $\alpha 5$ ,  $\beta 1$  immunreaktivitesinin in vivo ve in vitro olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** Çalışmamızda retrospektif olarak, lenf düğümüne metastazı olan ve olmayan over kanseri örnekleri kullanılmıştır. Lenf düğümü metastazı olan grupta hem over ve hem de lenf düğümü örnekleri, metastazı olmayan grupta sadece over örnekleri olmak üzere 3 grup oluşturulmuştur. Her grupta 42 örnekte Hematoksilen eozin ile histopatolojik değişiklikler ve BMP-2, BMP-7, ZEB2,  $\alpha 5$  ve  $\beta 1$  integrin immunreaktivitesi immunohistokimyasal yöntem ile saptanmıştır. Çalışmamızın in vitro kısmında over adenokarsinoma hücre hattına ait SK-OV-3 hücrelerinde BMP-2, BMP-7, ZEB2,  $\alpha 5$ ,  $\beta 1$  integrin immun işaretlemesi gerçekleştirilmiştir. Tüm örneklerde immunreaktivite rastgele 5 alanda H-SCORE ile değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Örneklerde düzensiz dallanmış papillalar, ortalarında az miktarda stroma gözlenmiştir. Tümör hücre sitoplazmasında, damar endotelinde ve stromada infiltratif hücrelerde şiddetli BMP-2 immunreaktivitesi gözlenmiştir. Metastazı olmayan ve olan gruplar arasında tümör hücrelerinde BMP-2 immunreaktivitesinde anlamlı farkı saptanmamıştır. Stromadaki immunpozitif hücre sayısı metastazı olan gruplarda anlamlı olarak daha fazla saptanmıştır. BMP-7 tümör hücrelerinde çok az ifade edilirken, stromadaki hücrelerde ve damar endotelinde daha fazla ifade edildiği gözlenmiştir. Infiltratif hücre sayısı tümör ve stromada metastazı olan gruplarda anlamlı olarak daha fazlaydı. ZEB2, hem tümör hücrelerinde, hem de stromadaki hücrelerde gözlenmiştir. Gruplar arasında tümör hücrelerindeki ifadelerde anlamlı fark saptanmazken, infiltratif hücrelerdeki ifadesi metastazı olan grupta anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. İntegrin  $\alpha 5$ ,  $\beta 1$ , immunreaktivitesi hücrelerin membranında saptanmıştır. İmmünohistokimyasal işaretlenmelerde, BMP-2 ve BMP-7 immunreaktivitesi SK-OV3 hücresinin sitoplazmasında gözlenmiştir. İmmünohistokimyasal sonuçlarımız immunohistokimyasal sonuçlar ile korelasyon göstermiştir. Çekirdekte ZEB2 immunreaktivitesi pozitif olan hücreler yuvarlak, uzantıları daha kısa ve çevreye tutunmalarının daha az olduğu gözlenmiştir. İntegrin  $\alpha 5$ ,  $\beta 1$ , hücrelerin sitoplazmik uzantılarında, hücre membranında, çekirdek membranına yakın ve bazı hücrelerde hücrelerin uzantıları üzerinde yuvarlak alanlarda boyamalar gözlenmiştir.

**Sonuç:** Yüksek dereceli over kanserleri, nükleer atipi, çok sayıda mitotik hücre ve stromada infiltratif hücre artışı ile karakterizedir. Bizim bulgularımız da bunu destekler şekilde metastatik olan grupta infiltratif hücre artışı ile korelasyon göstermiştir. Literatürle uyumlu şekilde BMP-2 işaretlenmesi kanser dokusunda daha şiddetli, BMP-7 ise infiltratif hücrelerde yüksek ve tümör hücrelerinde düşük şiddettedir, bu da BMP-7 artışının koruyucu mekanizmalarda rol aldığı fikrini öne sürmektedir.

Çalışmamız Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (TSA-2017-13046) tarafından desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** BMP7, BMP2, Over Kanseri, integrin  $\alpha 5\beta 1$ , ZEB2

S75

### **Aristolochic Asit indüklü Nefropatide ER stresi ve Plasental Kökenli Mezenkimal Kök Hücrelerin Rolü**

Büşra Çetinkaya<sup>1</sup>, Emin Türkay Korgun<sup>2</sup>, Sadi Köksoy<sup>3</sup>, Meryem Akpolat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

<sup>3</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji Anabilim Dalı, Antalya

#### **AMAÇ**

Çin bitkisi olan *Aristolochic fangchi*'deki aristolochic asit (AA) renal hasara yol açarak Aristolochic asit nefropatisi (AAN)'ne neden olmaktadır. AAN, hipoksiya ve tübüler hücre ölümü nedeniyle hızlı bir şekilde son evre renal yetmezliğe yol açmaktadır. AA-indüklü kronik böbrek yetmezliğine (KBY) endoplazmik retikulum (ER) stresi aracılık etmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda, mezenkimal kök hücrelerin (MKH) tübüler epitel hücrelerine farklılaşarak renal yapı ve fonksiyonu yenilediği gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı, insan plasentasından elde edilen mezenkimal kök hücrelerin kronik böbrek yetmezliğine neden olan AA-indüklü renal nefropatiye aracılık eden ER stresi mekanizmalarında etkili olup olmadığını belirlemektir.

#### **YÖNTEM**

Bu çalışmada Aristolochic asit uygulanarak KBY modeli oluşturulmuştur. Amniyon membranından izole edilen mezenkimal kök hücreler, deney grubundaki her bir sıçana  $6 \times 10^5$  hücre olarak kuyruk venlerinden transplante edilmiştir. 30 gün ve 60 gün süren iyileşme dönemi sonunda tüm grupların histopatolojik skorlaması tübüler atrofi, lenfosit infiltrasyonu ve interstisyel fibrozis değerlendirilerek yapılmıştır. Ayrıca ER stres belirteçleri olan GRP78, CHOP, IRE1 $\alpha$  ve kaspaz 12 proteinlerinin immünoaktivitesi immünohistokimya yöntemiyle belirlenmiştir.

#### **BULGULAR**

Histopatolojik bulgularda, tübüler atrofi, lenfosit infiltrasyonu ve interstisyel fibrozis skoru AA grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış göstermiştir. Buna karşın MKH uygulanıp 30 gün (AA+KHS30) ve 60 gün (AA+KHS60) iyileşme süresi verilen gruplarda ise tüm histopatolojik skorlarda anlamlı derecede azalma meydana gelmiştir. AA uygulanan grupta, ER stres belirteçleri olan GRP78, CHOP ve IRE1 $\alpha$  ekspresyonları anlamlı derecede artış gösterirken, MKH uygulanan her iki grupta da bu proteinlerin ekspresyonlarında anlamlı derecede azalma olduğu saptanmıştır. ER stresi nedeniyle aktive olan kaspaz 12'nin ekspresyonunda da diğer sonuçlarla uyumlu olarak AA grubunda artış gözlenirken MKH verilen gruplarda anlamlı derecede azalma meydana gelmiştir.

#### **SONUÇ**

ER-stres-aracılı sinyal mekanizmaları arasında ER-stres-indüklü apoptotik transkripsiyon faktörü olan CHOP'un indüksiyonu, kaspaz-12'nin aktivasyonu ve IRE1-JNK ilişkili yolağın aktivasyonu sayılmaktadır. Elde edilen sonuçlara göre, AA uygulaması ile oluşan ER stresinin neden olduğu apoptoz, özellikle tübüler atrofiyi indükleyerek nefropatiye neden olmaktadır. Buna karşın plasental kökenli mezenkimal kök hücre transplantasyonu; hem ER stresini baskılayarak hem de tübüler rejenerasyonu indükleyerek, KBY'de etkin rol oynayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Aristolochic asit, ER stresi, Kronik Böbrek Yetmezliği, Mezenkimal Kök Hücre, Plazenta

S76

### **Sirkadiyen ritim bozukluğu oluşturulan farelerde görülen uterus içi büyüme geriliği sirkadiyen saat proteinlerinin azalan ekspresyonları ve bozulan endotel disfonksiyonu ile ilişkili olabilir**

Nayçe İlayda Bektaş<sup>1</sup>, Dileyra Adıgüzel<sup>1</sup>, Güven Akçay<sup>2</sup>, Narin Derin<sup>2</sup>, Nilay Kuşcu<sup>1</sup>, Çiler Çelik Özenci<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Antalya

**Giriş-Amaç:** Sirkadyen ritim, 24 saatlik bir periyotta ritmik olarak meydana gelen biyolojik ritimdir. Sirkadiyen saat moleküler seviyede; Clock, Bmal1, Per1/2/3 ve Cry1/2 gen/proteinlerini içermektedir. Clock ve Bmal1, Per ve Cry birbirleriyle heterodimer oluşturarak kendilerini ve hedef genlerinin ekspresyonlarını düzenlerler. Clock proteininin paraloğu olan Npas2, Clock eksikliğinde görevi kompanse edebilmektedir. Moleküler saat proteinlerinin endotel fonksiyonunu düzenlediği yeni bir bilgidir. Plasenta sirkadiyen ritim genlerini ritmik olarak ekspre etmektedir ve sirkadiyen ritmin bozulmasının uterus içi büyüme geriliğine (UİBG) sebep olduğu bilinmektedir. Ancak sirkadiyen ritim bozulduğunda bu proteinlerin plasentadaki ekspresyonlarının değişip değişmediği hakkında bilgi mevcut değildir. Bu çalışmanın amacı; aydınlık/karanlık döngüsünün bozulduğu gebe farelerin plasentalarında moleküler saat proteinlerinin ekspresyonunu ve endotel fonksiyonunu değerlendirmektir.

**Materyal ve Yöntem:** 12 saat aydınlık-12 saat karanlık ışık döngüsünde gelişimini devam ettirmiş olan 6 haftalık BALB/c ırkı dişi ve erkek fareler çiftleştirildikten sonra vajinal plak görüldüğü gün dişi fareler erkeklerden ayrılarak gebeliğin 1. günü olarak kabul edilmiştir. Kontrol grubu 12 saat aydınlık/12 saat karanlık, n=6(42 plasenta) ve aydınlık/karanlık fazın ileriye alındığı (AKİ) grup her 5 günde bir ışık 6 saat öne alınarak gebeliğin 16.gününe kadar tekrarlanmıştır, n=5(41 plasenta) olarak iki grup oluşturulmuştur. Sirkadyen ritmin bozulduğu lokomotor aktivite testi ile belirlenmiştir. Gebeliğin 16. gününde plasenta-fetüs ağırlıkları tartılmıştır ve plasenta örnekleri elde edilmiştir. Tüm gruplara, moleküler saat proteinlerinin ekspresyonlarını (Bmal1, Clock, Per1, Cry1, Npas2) ve endotel fonksiyonu belirlemek için eNOS, p-eNOS immünohistokimya analizleri ve Bmal1, Clock, Per1, Cry1 değerlendirmeleri için western blot analizleri yapılmıştır. Plasentanın üç kompartmanında (desidual alan, bağlantı alanı, labrint alan) tüm proteinlerin ekspresyonu H-Score analizi ile değerlendirilmiş ve bulgular student's t-testi ile karşılaştırılmıştır.

**Sonuçlar ve Tartışma:** Sirkadiyen ritmin bozulduğu gruptaki fetuslarda UİBG oluşmuştur ve plasenta ağırlıkları anlamlı olarak azalmıştır(p<0.0001). Kontrol plasentalarında tüm moleküler saat proteinleri; mezometriyal desidual hücrelerde, bağlantı alanında dev trofoblast ve spongiotrofoblast hücrelerinde sitoplazmik ekspre olmaktadır. Bu proteinlerin labrint alanda sitotrofoblastlarda nükleer ekspresyonları gözlenirken, sinsisyotrofoblastlarda, maternal eritrositlerde ve sinüzoid endotelinde ise sitoplazmik ekspresyonları mevcuttur. Npas2; mezometriyal desidual hücrelerde sitoplazmik ve nükleer, bağlantı alanında dev trofoblast ve spongiotrofoblast hücrelerinde sitoplazmik ve nükleer, labrint alanda sitotrofoblastlarda ve sinüzoid endotelinde sitoplazmik, sinsisyotrofoblastlarda ise nükleer ekspresyonu gözlenmiştir. AKİ grubunda labrint alanda Bmal1, Per1, Cry1, Npas2 ve p-eNOS ekspresyonları azalmıştır(p<0.05). Sirkadiyen ritim bozulduğunda plasentada esasen maternal/fetal kan değişiminin yapıldığı labrint alanda sirkadiyen saat ve p-eNOS protein ekspresyonlarının azalması UİBG oluşmasının sebeplerinden biri olabilir. Bu sürecin moleküler mekanizmalarının detaylı olarak aydınlatılması için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bulgularımız, özellikle vardiyalı çalışan kadınlarda sağlıklı bir gebelik sürecinin sağlanması açısından klinikte önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** plasenta, sirkadiyen ritim, moleküler saat proteinleri, uterus içi büyüme geriliği

S77

**Düzenli Melatonin Kullanımı Meme Kanseri Gelişimi Ve Metastazlarını Etkiler Mi?**Asiye Kübra Göksu<sup>1</sup>, Nuray Erin<sup>2</sup>, Gamze Tanrıöver<sup>1</sup><sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya**Amaç:**

Meme kanseri kadınlarda sıklıkla görülen ve mortalite sebebi primer tümörün yarattığı geniş yayımlı metastazlar olan bir kanser türüdür. Melatonin ise, son yıllarda tümör ile ilgili çalışmalarda anti-proliferatif, anti-inflamatuvar ve anti-karsinogenik etkilerinden bahsedilen pineal bezden salınan, indol türevli bir bileşiktir. Karsinogenezin gerilemesinde bazı yanıtları şekillendirebileceği ön görülen melatoninin, karsinogenezden önce düzenli kullanımı ve buna bağlı tümör gelişimi ve metastazlarını içeren literatür bilgisi bildiğimiz kadarıyla bulunmamaktadır. Bu fikirden yola çıkarak; düzenli melatonin kullanımının tümör oluşumuna, gelişimine ve metastazlarına etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

**Gereç-Yöntem:**

Çalışmamızda 4 haftalık Balb-C dişi fareler her grupta 10 hayvan olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. İlk grup (M1+Tm), tümör enjeksiyonu yapılmadan 1 ay önce düşük dozda (M1:10mg/kg) sabah/akşam olmak üzere günde iki kez melatonin uygulanan gruptur. İkinci grup (Ç+Tm), melatoninin içinde çözülmesi için %6'lık EtOH'ün çözücü olarak kullanıldığı gruptur. Üçüncü grup (Tm), sadece tümör enjeksiyonu yapılan gruptur. Dördüncü grup (Tm+M2), tümör sonrası fizyolojik dozda (M2:30mg/kg) melatoninin sabah/akşam olmak üzere günde iki kez uygulandığı gruptur. Beşinci grup (Tm+Ç), tümör sonrası sadece çözücü uygulanan gruptur. Altıncı grup ise herhangi bir uygulama ve tümör enjeksiyonu yapılmayan normal farelerdir. Tümör (4T1 hücrelerinin karaciğere metastazından elde edilen 4TLM hücre hattı) hücrelerinin meme dokusuna ortotopik olarak enjeksiyonundan 26 gün sonra gruplar kurban edildi. Kurbanlamadan önce hayvanlardan kan alınıp periferik yayma yapıldı. Ardından primer tümörler ve karaciğerler çıkartıldı, tümör boyutları ve ağırlıkları not edildi. Karaciğerlerde metastaz analizi yapıldı. Primer tümörlerde anjiyogenik belirteçler olan VEGF-A, VEGFR-1 ile immün yanıtta rol oynayan CD11b, GR1 ve CD33 antikolları immunohistokimya ve western blot analizleriyle değerlendirildi.

**Bulgular:**

Melatonin uygulanan gruplarda; periferik yayma preparatlarında monosit, lenfosit ve nötrofil sayılarında azalma gözlenirken; primer tümör boyutlarında da istatistiğe yansımayan bir azalma vardı. Ancak, belirgin düzeyde karaciğer metastazlarında gerilemenin olması dikkat çekiciydi. Primer tümörlerde değerlendirilen VEGF-A, VEGFR1, GR1, CD11b ve CD33 immün yanıtlarında azalma western blot analizleriyle de doğrulandı.

**Sonuç:**

Sonuçlarımız, fare meme kanseri modelinde önce ya da tümörden sonra melatonin uygulamasının, primer tümör büyüklüğünü ve sistemik inflamatuvar yanıtları çok değiştirmediğini, ancak melatonin uygulanmayan gruplara göre belirgin düzeyde azaldığını gösterdi. Tümördeki anjiyogenik ve tümörü destekleyen faktörlerin ekspresyonunun, önce melatonin uygulanan gruplarda belirgin düzeyde azalması ve karaciğer metastazlarının da gerilemesi; melatoninin, primer tümörün mikroçevre yanıtlarını ve metastazını sınırlandırmaya çalışan önemli bir ajan olabileceğine işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** meme kanseri, melatonin, metastaz, immunohistokimya, western blot

S78

### 3 Boyutlu Biyoyazıcılarda Basılan Dokuların Hücresel Analizleri ve Gerçek Dokular ile Benzerliği

Hakan Darıcı<sup>1</sup>, Zeynep Püren Akgüner<sup>2</sup>, Meral Yılmaz<sup>3</sup>, Ayça Bal Öztürk<sup>4</sup>, Erdal Karaöz<sup>5</sup>

<sup>1</sup>İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.D. İstanbul/TÜRKİYE

<sup>2</sup>HD Bioink Biyoteknoloji Araştırma Geliştirme San. Tic. A.Ş. Yıldız Teknopark. İstanbul/TÜRKİYE

<sup>3</sup>İstinye Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre ve Doku Mühendisliği AUM (İSÜKÖK). İstanbul/TÜRKİYE

<sup>4</sup>İstinye Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya A.D. İstanbul/TÜRKİYE

<sup>5</sup>Liv Hospital, Kök Hücre ve Rejeneratif Tıp Araştırma ve Üretim Merkezi (LivMedCell). İstanbul/TÜRKİYE

#### Amaç

3 Boyutlu yazıcı (3D printing) teknolojisi, son 10 yılda oldukça yaygınlaşmış ve çikolata imalatından köprü yapımına dek sanayinin her alanında kullanılmaya başlanmıştır. 3B biyoyazıcılar ise, aynı sistemin canlı doku ve organ basmak için kullanılabilen versiyonlarıdır. 3B biyoyazıcılar kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar rejeneratif tıp alanında büyük gelecek vadetmektedir. Biyomürekkep (bioink) adı verilen hidrojellerin, kültüre edilmiş hücreler ile karıştırılarak basılması veya hücrelerin 3B olarak basılmış doku iskelelerine sonradan yüklenmesi ile yapay doku ve organ oluşturmak mümkündür. Henüz başlangıç seviyesinde olan bu teknoloji ile basılan doku modelleri için herhangi bir histolojik değerlendirme yapılmadığı ve basılan örneklerin gerçek doku içeriklerini yansıtmaktan uzak olduğu görülmüştür. Çalışmamızda bu analizlerin yapılması ve gerçek doku içeriğine daha benzer biyomürekkep karışımlarının geliştirilmesi amaçlanmıştır.

#### Gereç ve Yöntemler

Çalışmamızda öncelikle dünyada yapılan güncel çalışmalar incelenerek şimdiye dek biyoyazıcılarda basılmış yapay dokuların histolojik özellikleri analiz edilmiştir. Bu analizler doğrultusunda şekillendirilen çalışmamızın ikinci kısmında ise aljinat gibi polimerler, tip I kollajen, jelatin ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks bileşenlerini ile kombine edilerek daha doğal biyomürekkepler üretilmiştir. Ardından bu mürekkepler kullanılarak 3B biyoyazıcı ile yapay doku baskıları alınmıştır. Oluşturulan modeller hücre canlılık testleri ve immünfloresan boyamalar ile analiz edilmiştir.

#### Bulgular

Dünya genelinde yapılan çalışmalarda kulak, burun ve damar yapıları gibi çeşitli şekil ve özellikte yapay dokuların üretilbildiği gözlenmiştir. Bu yapay dokuların üzerlerindeki çeşitli hücre tiplerinin de canlılıklarını %95'i bulan oranlarda koruduğu belirtilmiştir. Ancak yapılan çalışmaların neredeyse hepsinde insan dokularında bulunmayan aljinat, selüloz gibi doğal veya GelMA, PLGA gibi sentetik polimerlerin kullanıldığı görülmüştür. İnsanlarda bulunan kırtan fazla kollajen tipi ve diğer ekstraselüler matriks bileşenleri göz önüne alındığında bu polimerlerin gerçek doku içeriklerini yansıtmaktan oldukça uzak olduğu ve yapay organ modellemesinde kullanımlarının uygun olmayacağı sonucuna varılmıştır. Bu alanda çalışan araştırmacıların çoğunun, Histoloji veya benzeri medikal branşlar yerine kimya veya malzeme alanında uzmanlaşmış mühendislerden oluştuğu, dolayısıyla şimdiye dek üretilen modellerin çoğunun en azından dış görünüşte gerçek doku ve organlar ile benzeşmesine rağmen, histolojik açıdan değerlendirildiğinde gerçek doku içeriklerinden oldukça uzak oldukları da belirlenmiştir.

Çalışmamızın ikinci aşamasında, kendi geliştirdiğimiz, bağ doku ekstraselüler matriks bileşenlerini içeren biyomürekkepleri kullanarak aldığımız 3B baskılarda, polimerlerin üzerinde yerleşmiş hücrelerin canlılıklarını yüksek oranda koruduğu ve konvansiyonel hücre kültür yöntemlerine göre gerçek dokulardaki morfolojilere daha benzer görünüm sergiledikleri belirlenmiştir.

#### Sonuçlar

Çalışmamız sonucunda, gelecekte 3B biyoyazıcı teknolojisinin doku ve organ yenilenmesinde çok geniş kullanım alanına sahip olacağı, ancak üretilen modellerin gerçek dokuların karmaşıklığına ulaşabilmesi için kullanılan biyomürekkeplerin daha doğal içeriklere sahip olması ve doku bilimcilerin bu tip çalışmalarda daha aktif rol alması gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Biyomürekkep, Biyoyazıcı, Doku mühendisliği, Ekstraselüler matriks, Kök hücre

S79

### cGMP Koşullarda Üretilen İnsan Göbek Kordonu Mezenkimal Kök Hücrelerinde (iGK-MKH) PFA ve Gliyoksal Fiksasyonunun Morfolojik Etkisi

Merve Sucu<sup>1</sup>, Ceren Mungan<sup>1</sup>, Selda Kahveci<sup>2</sup>, Ferda Topal Çelikkan<sup>2</sup>, Alp Can<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

**GİRİŞ ve Amaç:** Hücre fiksasyonunda standart fiksatif olarak paraformaldehit (PFA) immünboyamada sıkça kullanılmaktadır. Ancak, PFA ile fiksasyonda morfolojik değişimler, epitop kayıpları ve proteinlerin yer değiştirmesi bildirilmiştir. Aldehit grubu fiksatifi olan Gly fiksasyonunda hücre morfolojisinin ve protein bağlanmalarının daha az bozulduğu öne sürülmektedir. Bu çalışmanın amacı iGK-MKH'de PFA ile Gly'nin fiksasyon kalitelerini karşılaştırmak, yanı sıra her iki fiksatifi Triton X-100™ (TX) ile birleştirerek hücre zarı permeabilizasyonunu sağlamak, hücrelerin çekirdek ve sitoplazma proteinlerinin flüoresan işaretli örneklerde sinyal şiddetinin ölçümü ve dağılımını gözlemlemek; hangi fiksatif grubunun kullanım için daha uygun olduğunu saptamaktır. **Gereç-Yöntem:** iGK-MKH, aşağıdaki fiksasyon gruplarına bölünerek oda ısısında 15 dakika immersiye yöntemiyle fikse edildi. Fiksatif grupları; PFA (pH: 7.2), PFA-TX (pH: 7.2), Gly (pH: 5.0), Gly-TX (pH: 5.0) idi. Her uygulama öncesinde 15 dk canlı olarak kaydedilen hücrelere fiksatif eklenerek fiksasyon süresince kayıt yapıldı. Canlı görüntülümde hücrelerin ortamı CO2 inkübatörünü simüle etmek için %5 CO2, %95 nem ve 37°C olacak şekilde sağlandı. Canlı kayıtlarda zaman aralıklı DIC görüntüleme tekniği kullanıldı. Hücrelerde oluşan kabarcık sayısı ve kesecik yoğunluğu/derecesi nicel olarak belirlendi. Fikse edilen hücreler immünflüoresan yöntemle hücre zarı (N-cadherin; N-cad) hücre iskeleti (vimentin; Vim) ve çekirdek (nucleostemin; NS CENP-A, Pericentrin; PCN, Lamin A/C) proteinlerinin sinyal şiddeti ve örüntü farklılıkları karşılaştırıldı. Bulgular Kruskal Wallis testiyle değerlendirilerek fiksatiflerin boyanmalar üzerindeki doğrudan etkileri ortaya kondu.

**Bulgular-Sonuç:** Canlı hücreler ve fiksasyon grupları baloncuk sayısı ve kesecik yoğunluğu/derecesine göre değerlendirildi. PFA'da diğer gruplara göre daha fazla sayıda ve daha büyük hacimde kabarcık oluştuğu; bu kabarcıkların çoğunlukla patladığı; sitoplazma ve nükleoplazma kayıplarının olduğu saptandı. PFA-TX grubunda sitoplazma kaybının PFA grubuna göre daha fazla olduğu ve 'hayalet hücre' oluştuğu gözlemlendi. Gly grubunda kabarcık olduğu, Gly-TX grubunda bulunmadığı saptandı. PFA-TX'te çekirdek hacminde artış belirlendi. Permeabilizasyon yapılan gruplarda (TX) kabarcık oluşmadı. Fiksatiflerin hücre zarı, hücre iskeleti ve çekirdek proteinlerinin hücre içi dağılımları Süper çözünürlük mikroskopunda belirgin boyanma paterni ve şiddeti farklılıkları olarak izlendi. Vim, NS ve PCN PFA grubundaki hücrelerde diğer gruplara göre daha yoğun gözlemlendi (sırasıyla p=0,031; p=0,019; p=0,037). Lamin A/C ve CENP-A'nın Gly-TX grubundaki şiddeti ve yerleşimi optimum düzeyde bulundu (sırasıyla p=0,000; p=0,01). N-cad ise Gly grubunda en yoğun boyanma paterni ve şiddetini gösterdi (p=0,005). Sinyal şiddetlerinin yanı sıra adı geçen fiksatifler arkaplan boyanmaları, zayıf, diffüz olmayan (lokalize), kenar keskinliği olmayan boyanma modelleri açısından da fark ortaya çıkarmıştır. Sonuç olarak; protein işaretlemelerinin kalitesinin fiksatifle değişmesi, fiksasyonun protein yerleşimi ve sinyal şiddeti üzerinde oldukça önemli etkisi olduğu ve her bir protein için denenerek belirlenmesi gerektiğini ortaya çıkardı.(0741-STZ-2014 projesiyle desteklenmiştir)

**Anahtar Kelimeler:** Gliyoksal, Fiksasyon, İnsan Göbek Kordonu Mezenkimal Kök Hücreleri, Paraformaldehit, Süper Çözünürlük Mikroskobu



S80

**Sirt1 özel bir yolak ile FoxO proteinlerinin hedefini metastazı tetikleyecek şekilde etkileyebilir mi?**

Sendegül Yıldırım<sup>1</sup>, Sayra Dilmaç<sup>1</sup>, Nilay Kuşcu<sup>1</sup>, Dileyra Adıgüzel<sup>1</sup>, Şükran Burçak Yoldaş<sup>2</sup>, Nuray Erin<sup>3</sup>, Gamze Tanrıöver<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Antalya

<sup>3</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya

**Amaç:** Meme kanseri, akciğer kanserinden sonra kadınlarda kansere bağlı görülen başlıca ölüm sebebidir. Malign karaktere sahip meme kanserlerinde tümör hücreleri, belirli bir büyüklüğe ulaştıktan sonra lenfatik sistem ve kan yoluyla tüm vücuda metastaz yapma potansiyelindedirler. Bu nedenle meme kanserinin ilk olarak iskelet sistemi, akciğer, karaciğer ve beyine metastaz yaptığı ve hızla yayıldığı bilinmektedir. Çalışmamızda; malign karakterli primer tümörün metastazı ve benign tümörün yarattığı inflamatuvar yanıtın etkisiyle ortaya çıkan mikroçevrede, hücre siklusunda etken role sahip olduğu bilinen Sirt1 ve FoxO ailesi proteinlerinin ekspresyonlarını değerlendirerek, özellikle bu proteinlerin hem tümör hem de metastatik yolaktaki etkinliğine dikkati çekmeyi amaçladık.

**Gereç-Yöntem:** Projemizde metastatik 4TLM (4T1 hücrelerinin karaciğere metastazından elde edilen hücre hattı; 100.000 hücre/fare) ve metastatik olmayan 67NR (1.000.000 hücre/fare) hücre hatları kullanıldı. Bu hücre hatlarının 8-10 haftalık Balb/C dişi farelerin meme dokularına ortotopik olarak enjekte edilmesiyle oluşturulan modelde, enjeksiyondan 26 gün sonra fareler sakrifiye edildi. Primer tümör, akciğer ve karaciğer dokuları çıkarılıp, immünohistokimya ve western blot ve RT-PCR analizleri ile Sirt1 ve FoxO (FoxO1, FoxO3) ailesine ait proteinlerin ekspresyonları değerlendirildi. İmmün boyanmaların sonuçları image-J analizi ile yorumlanarak gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak yorumlandı.

**Bulgular:** Metastatik olmayan primer tümörlerde, yoğun Sirt1, p53, p21, E2F1, FoxO1 ve FoxO3 ekspresyonlarının, metastatik karakterli tümörlerde düştüğü görüldü. Primer tümörlerde gözlenen immünohistokimyasal ekspresyonlar, western blot ve RT-PCR bulguları ile desteklendi. Primer tümörlere ilaveten metastatik akciğer ve karaciğer dokularında da, Sirt1, E2F1 ve FoxO proteinlerinin özellikle metastaz alanlarında ekspresyonlarının varlığı dikkati çekti.

**Sonuç:** Karaciğer ve akciğer dokularına metastaz yapan hücrelerde; Sirt1, E2F1 ve FoxO proteinlerinin ekspresyonları artarken p53 ve p21 ekspresyonlarının da azaldığı görüldü. Bu ekspresyon paterni bize, Sirt1 ve FoxO proteinlerinin birlikte çalışarak hücrenin hayatta kalmasına destek olacağını, aynı zamanda Sirt1'in p53, p21 yolağını inhibe ederek hücrenin apoptoza gidişine engel olacağını düşündürdü. Metastaz alanlarında yanıtın bu şekilde değişmesi, Sirt1'in özel bir yolak ile FoxO proteinlerinin hedef genlerini etkileyebildiğini tümör hücrelerinin hayatta kalmak için mücadele edebileceğini akla getirmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Meme kanseri, Sirt1, FoxO ailesi, metastaz

S81

**HeLa Hücrelerinde Mikrotübül, F-aktin ve Çekirdek İmmün Boyamasının Farklı Fiksatiflerle Karşılaştırması: Süper Çözünürlük Mikroskobu Çalışması**Selda Kahveci<sup>1</sup>, Merve Sucu<sup>2</sup>, Ceren Mungan<sup>2</sup>, Ferda Topal Çelikkan<sup>1</sup>, Özgür Çınar<sup>1</sup>, Alp Can<sup>1</sup><sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara

**Amaç:** Hücreleri tespit eden ve immün boyama için kullanılan birçok fiksatif bulunur. Fakat bazı fiksatiflerin etkisiyle hücrelerde protein kaybı ve morfolojilerinde bozulmalar meydana gelir. Bunun için hücrelerde ilgilenilen proteinlere uygun fiksasyonun yapılması gerekir. Bu çalışmada mikrotübül (MT) fiksasyonu için rutin olarak kullanılan Mikrotübül Stabilize Edici Tampon Çözeltisi-Triton X-100 Formaldehit (MTSB-XF) kokteyli ile sık kullanılan paraformaldehitin (PFA) tubulin, filamentöz aktin (F-aktin) ve bir seri DNA boyasının boyanma modelleri ve sinyal şiddetleri karşılaştırıldı. MTSB-XF çözeltisinin yanı sıra MTSB içerisine formaldehit yerine PFA eklenerek ikinci bir fiksatif çözeltisi oluşturularak iki grupta tespit işlemi yapıldı. Bu çalışmada HeLa hücrelerinde  $\alpha$ - $\beta$  tubulin, F-aktin ve Hoescht 33258, Sytox Green, To-Pro-3, 7AAD gibi DNA işaretleyicilerinin işaretlemesi yapılarak MTSB-XF ve MTSB-XPFA gruplarında sinyal şiddeti ölçümünün ve dağılımının süper çözünürlük mikroskobunda (SR) değerlendirilmesi amaçlandı.

**Gereç-Yöntem:** HeLa hücreleri 24 kuyucuklu kaplara, cam lamel üzerine ekildi. 48 saat kültüre edildikten sonra D-PBS ile iki kez yıkanarak MTSB-XF ve MTSB-XPFA (pH=7,2) ile fikse edildi. Her iki fiksatifte fiksasyon işlemi 15 dk, 37°C'de yapıldı. Tubulin için fiksasyon sonrasında hücreler PBS ile yıkanıp, anti- $\alpha$ / $\beta$  tubulin antikoruyla 2 saat, FITC konjuge sekonder antikorda 1,5 saat 37°C'de inkübe edildi. F-aktin için hücreler PBS'de yıkandıktan sonra rhodamine-phalloidine çözeltisiyle 45 dk oda sıcaklığında, Sytox Green, To-Pro-3, 7AAD ve Hoescht ise PBS'de yıkandıktan sonra 15 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Kapatma işlemi Hoescht içermeyen medyumuyla yapıldı ve SR'de gözlem yapıldı. Her gruptan 10 farklı görüntü alınarak floresan sinyal yoğunluğu hesaplandı ve Mann-Whitney U Testi yapılarak sonuçlar değerlendirildi.

**Bulgular-Sonuç:** HeLa hücrelerinde tubulin için kullanılan MTSB-XF'in MTSB-XPFA'ya göre MT boyanma özelliğinin literatür ile uyumlu ve sinyal yoğunluğunda anlamlı bir artış olduğu ortaya çıktı (p=0.011). F-aktinin MTSB-XPFA'da hücre gergi liflerine özgü yerleşim gösterdiği ve MTSB-XF'e göre anlamlı bir artış gösterdiği saptandı (p=0.001). Çekirdek boyamalarında 7AAD (p=0.247) ve To-Pro-3 (p=0.218) için iki fiksatif grubu arasında bir fark bulunmadı. Hoescht grubunda MTSB-XPFA, MTSB-XF'e göre daha yüksek sinyal şiddeti saptandı (p=0.004). Sytox Green grubunda ise MTSB-XF fiksatifinde artış belirlendi (p=0.002). Sonuç olarak, tubulin, F-aktin ve DNA boyaları için uygun fiksatifin optimize edilmesi ve sonuçlara göre fiksatif türünün belirlenmesi gerektiği önerilmektedir (0741-STZ-2014 projesiyle desteklenmiştir).

**Anahtar Kelimeler:** HeLa Hücre Hattı, MTSB-XF, MTSB-XPFA, Tubulin, Süper Çözünürlük Mikroskobu

S82

**Glikozamin bağı hyaluronik asit nanopartiküllerin in vitro osteoartritli kıkırdak hücre modellerine etkileri**

Şebnem Şahin<sup>1</sup>, Elif Bilgiç<sup>2</sup>, Kouroush Salimi<sup>3</sup>, Beren Karaosmanoğlu<sup>4</sup>, Ekim Taşkıran<sup>5</sup>, Petek Korkusuz<sup>2</sup>, Süleyman Ali Tuncel<sup>6</sup>, Feza Korkusuz<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>3</sup>Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Bilimleri Anabilim Dalı, Ankara

<sup>5</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Ankara

<sup>6</sup>Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara

<sup>7</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Osteoartrit (OA) dejeneratif bir eklem kıkırdağı hastalığı olup; hareket kısıtlılığı, ağrı ve sakatlığa neden olur (Lotz et al.2013). Tedavide kullanılan sistemik veya transdermal kondroitin sülfat (CS) ve glikozaminoglikan (GAG) ile intraartiküler hyalüronik asit ya da kortikosteroid ve bazı hücre tedavileri hastalığın ilerlemesini engelleyemeyebilir (Aydın et al.2014). Kıkırdak ekstraselüler matriksinde yıkılan bileşenlerin kontrollü salım sağlayan sistemlerin, erken dönemde uygulandıklarında, eklemdeki geri dönüşsüz hasarı önleyebileceğini varsaymaktayız.

**Gereç-Yöntem:** Bu varsayımı test etmek üzere, eklem kıkırdağının bileşenlerinden N-asetil-D-Glukozamin (Sigma A8625, MW: 221,208 g/mol)

ı kontrollü salınan bir doku mühendisliği ürünü geliştirmek amacı ile hyalüronik asiti (Adant-GenVisc850, MW: 850,000 dalton) nanopartikül formuna dönüştürülmüştür.

Sentezlenen hyalüronik asit (HA) nanopartiküllere, N-asetil-D-Glukozaminin (GA) kovalent olarak bağlanması için yüzey modifikasyonu polietilen glikol(PEG) ile gerçekleştirilmiş ve (NDGA) kovalent olarak bağlanmıştır. Nanopartiküller boyut ve yapı açısından taramalı elektron mikroskobu(SEM) ve dinamik ışık saçılımı (DLS) ile incelenmiştir. Salınan etken madde miktarı likit kromatografi (HPLC) yöntemiyle ölçülmüştür.

**Bulgular:** 96 kuyucuklu plakalara ekilen kondrosarkom hücre hatlarına uygulanan kompozitlerin proliferatif etkisi saptanmıştır. Doz penceresi belirlenen kompozitler, ticari primer insan kondrosit ve osteoartritli insan kondrosit hücre hatlarına uygulanmıştır. Kondrositler 12 kuyucuklu plakalara alınarak üzerlerine 3 ayrı dozda kompozitler ve kontrol grupları kuyucuklara eklenmiştir.

Ekstraselüler matriks sentezi için RT-PCR'da analiz edilmiştir. Aynı zamanda ticari mezenkimal kök hücrelere de farklılaştırma protokolü uygulanmış, RT-PCR ve histokimyasal olarak kıkırdaklaşma parametreleri değerlendirilmiştir. Bulgular istatistiksel analiz edildiğinde, GA-nHA kompozitinin GA'nin 21 günde %20'sinin salındığı ve zaman içinde kontrollü bir salındığı, in-vitro koşullarda insan kondrosarkom hücrelerinin proliferasyonunda olumlu etki gösterdiği ve biyoyumlu olduğu saptandı. Sağlıklı ve osteoartritli insan primer kondrositlerinde doz bağımlı olarak erken kondrojenik belirteçlerin ekspresyonunun varlığı saptandı.

**Sonuç:** Sonuç olarak çalışmada OA tedavisi için günümüzde kullanılan HA ve GA, enjekte edilebilir biyoyumlu bir nano-malzeme haline getirilerek, insan mezenkimal kök hücrelerinin kondrojenik farklılaşması; sağlıklı ve OA'li kondrositlerin ekstraselüler matriks bileşenlerinin desteklenmesinde olumlu etkileri in-vitro deney sisteminde ortaya konmuştur. Bu faydalı modelin geçerliliğinin in-vivo koşullarda doğrulanması OA sürecini hafifleterek veya geri döndürerek OA tedavisine yeni bir yaklaşım getirme potansiyeli bulunmaktadır.

Çalışma BAP#TBB-2016-13165 nolu proje ve Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği (TOTBID) tarafından desteklenmiştir.

**Kaynaklar:**

1. Lotz M, Martel Pelletier J, Christiansen C, et al. Value of biomarkers in osteoarthritis: current status and perspectives. *Ann Rheum Dis*. 2013 doi:10.1136/annrheumdis-2013-203726.

2. Aydın O, Korkusuz F, Korkusuz P, Tezcaner A, Bilgiç E, Yaprakçı V, Keskin D. In vitro and in vivo evaluation of doxycycline-chondroitin sulfate/PCLmicrospheres for intraarticular treatment of osteoarthritis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2015 Aug;103(6):1238-48. doi: 10.1002/jbm.b.33303.

**Anahtar Kelimeler:** osteoartrit, glikozamin, hyaluronik asit, nanopartikül, kondrosit

S83

**Retinal Dejenerasyon Oluşturulmuş Fare Modelinde Neuregulin-1'in Endoplazmik Retikulum Stresi Üzerine Etkisi**Şeyma Sultan Gönüldaş, Esmâ Konuk, Necdet Demir

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

**Giriş:**

Kalsiyum dengesinin bozulması, oksidatif stres, viral-bakteriyel enfeksiyon, enerji yoksunluğu gibi olumsuz nedenler endoplazmik retikulumu (ER) olumsuz yönde etkileyerek, yanlış katlanmış veya katlanmamış proteinlerin ER lümeninde birikmesine yol açmaktadır. Bu durum sonucunda ER stresi (ERS) meydana gelmekte ve bu strese cevap olarak hücre dengesinin düzenlenmesi için Katlanmamış Protein Yanıtı (Unfolded Protein Response- UPR) devreye girmektedir. Yapılan çalışmalarda pek çok retina hastalığında ERS 'nin varlığı belirtilmiştir ve hücre sağ kalımının belirlenmesi, ER stresinin şiddeti ve ER'nin UPR homeostazını yeniden kazanma kapasitesi arasındaki denge üzerine bağımlı olduğunu göstermektedir.

Görme bozukluğu; ışığı görüntüye dönüştürmede görevli sistemin ilk basamağı olan, fotoreseptör hasarı veya kaybından kaynaklanır. Retinal dejenerasyonlar geri dönüşümsüz görme bozukluğuna neden olur. Bu hastalıkların hücre boyutlarına bakıldığında; ER stresinden kaynaklı bozulmuş homeostaz tespit edilmiştir.

Epidermal büyüme faktörü ailesine ait bir büyüme ve hayatta kalma faktörü olan Neuregulin-1 (NRG-1), kardiyovasküler sistem, sinir sistemi, meme bezleri, bağırsak ve böbreklerde yaygın şekilde eksprese edilir ve NRG-1, ER'nin homeostazını sağladığı ve ER stresinin aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.

**Amaç:**

Bu çalışmadaki amacımız; methylnitrosourea (MNU) ile oluşturulan retinal dejenerasyon modeli farelerde Neuregulin-1 tedavisiyle ER stresini azaltarak nöronal kayıp önenebilir hipotezini test etmektir.

**Gereç ve Yöntemler:**

Çalışmamızda; toplam 18 adet 6-8 haftalık BalbC ırkı erkek fare kullanılarak 6 grup oluşturulmuştur.

1-) Kontrol grubu: herhangi bir uygulama yapılmamıştır (n:3).

2-) Çözgen grubu: intra peritonel (i.p) olarak 20kg/ml/g serum fizyolojik enjekte edilmiştir (n:3).

3-)Tedavi grubu: MNU (i.p-60kg/ml) verilen farelere 3. günün sonunda NRG-1 (i.p 20kg/ml/g) enjeksiyonu yapılmıştır (n:3).

4-) Önleyici tedavi grubu: MNU enjekte edilen farelere aynı gün NRG-1 (i.p 20kg/ml/g) enjeksiyonu yapılmıştır (n:3).

5-) Retina dejenerasyon grubu: MNU (i.p-60kg/ml) enjeksiyonu yapılmıştır (n:3).

Toplam enjeksiyon süresi 7 gün sürmüştür ve 8. günde hayvanlar sakrifiye edilerek %4 paraformaldehit ile intra kardiak perfüzyon sonrası k gözler alınmıştır. Alınan gözler 24 saat süre ile paraformaldehit ile muamele edilmiş 4 saat yıkandıktan sonra 2 gün PBS+Sükroz solüsyonunda bekletilmiştir. Kriyo takibin ardından kriyo matris gömülmüş ve 5µ kesitler alınarak ER stresi proteinlerinin (GRP 78, CHOP ve C.Caspase-3) lokalizasyonlarını ve ekspresyon seviyelerini belirlemek amacıyla immünfloresan yöntemi uygulanmıştır.

**Bulgular:**

Retinal dejenerasyon tedavi ve önleyici tedavi gruplarında GRP 78, CHOP ve C.Caspase-3'ün protein ekspresyonlarının azaldığı ve NRG-1 enjeksiyonun retinada oluşan ER stresini baskıladığı görülmüştür. Buna ek olarak, kontrol grubu, NRG-1 grubu ve çözgen grupları arasında GRP 78, CHOP ve C.Caspase-3 protein ekspresyonlarında herhangi bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir.

**Sonuç:**

Çalışmamızın sonuçlarına göre retina dejenerasyonu oluşturulmuş fare modellerinde NRG-1 tedavisinin ERS'yi baskıladığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Endoplazmik retikulum stresi, İmmünfloresan, Neuregulin-1, Retina dejenerasyonu

S84

**Preeklampitik Plasentada Tam Reseptör Tirozin Kinazlarının (TAMRTK) ve Ligandlarının Ekspresyon Seviyelerinin Değerlendirilmesi**Eda Orhan<sup>1</sup>, Esmâ Konuk<sup>1</sup>, Mehmet Şimşek<sup>2</sup>, Havva Serap Toru<sup>3</sup>, Necdet Demir<sup>1</sup><sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı<sup>3</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

**GİRİŞ:**Preeklampsi, sürekli olarak yüksek proinflatuorsitokin seviyeleri ve azalan immünoregülatör faktörlerle karakterize kronik immün aktivasyon ile ilişkilimaternal ve perinatal mortalite ve morbiditeye sebep olan bir hastalıktır. Plasentada görlebilen apoptozun ve yetersiz trofoblastik invazyon sorunu neticesinde ortaya çıkan yaygın endotel hasarının preeklampsinin patogenezi etkileyebileceği belirtilmektedir. TAMRTK (Tyro3, Axl, MERTK) ve ligandları (GAS6 ve PROS1), apoptotik hücre kalıntılarının temizlenmesi ve sitokin sinyal kaskadlarının kontrolü yoluyla doğuştan gelen bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde dolayısı ile aşırı inflamasyonun baskılanması ve immün regülasyonda rol oynarlar. Çalışmamızda preeklampitik gebelikte ortaya çıkan proinflatuar ve regülatör sitokinler arasındaki bu dengesizliğe yanıt bulabilmek için TAMRTK ve ligandlarının preeklampitik plasentadaki lokalizasyonunu ve ekspresyonunu araştırmayı hedefledik.

**Materyal-Metod:** Preeklampitik gebelik ve sağlıklı gebelikten elde edilen plasenta örneklerinden parafin bloklar hazırlandı. TAMRTK ve ligandı olan proteinlerin lokalizasyonları ve ekspresyon düzeyleri belirlendi. Sonuçlar, İmageJ ve GraphPad analiz programlarıyla analiz edildi.

**Bulgular:** İmmünohistokimya sonuçlarımıza göre MERTK ve GAS6 ekspresyonlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. MERTK özellikle plasentada desidual hücrelerde eksprese olurken, koryonik villuslarda herhangi bir ekspresyon gözlenmedi. Ayrıca preeklampitik plasentada desidual hücrelerde boyanma gözlemlendi. GAS6, sağlıklı gebelikte villuslarda ve preeklampitik gebelikte desidua da yoğun ekspresyon gösterdi. TYRO3 ekspresyonunda preeklampitik plasentada, normal plasentaya oranla anlamlı bir artış bulundu. Sağlıklı gebelik grubunda TYRO3 ekspresyonu villuslarında izlenmezken desidual hücrelerde lokalize olduğu gözlemlendi. PROS1 ekspresyonunda, preeklampitik plasentada normal plasentaya oranla anlamlı bir artış saptandı. Sağlıklı gebelik grubunda PROS1 ekspresyonunun desidua ve villuslarında düşük seviyede, preeklampitik plasentanın villuslarında yüksek seviyede olduğu gözlemlendi.

**Tartışma ve Sonuç:** MERTK, patoloji durumunda eksprese olarak patojene karşı bir savunma hattı oluşturur. Çalışmamızda MERTK ekspresyonunun desidual hücrelerdeki artışı, preeklampside desidual hücrelerin savunmadaki rollerine işaret etmektedir. PROS1, TYRO3 ekspresyonunu artırır ve immün yanıt oluşturur. TYRO3'ün eksprese olmaması tip2 immün yanıtın oluşmasına neden olabilir. Çalışmamızda TYRO3 ve PROS1 ekspresyonunun anlamlı artışı, preeklampside tip2 immün yanıtın rolünün olmadığını düşündürmektedir. GAS6, TAM reseptörlerinin ligandı olarak görev alır ve Axl'in hücre yüzeyindeki ekspresyonu Gas6'ya bağımlıdır. Çalışmamızda AXL için ekspresyon görmememizin nedeni GAS6 ligandının ekspresyonunun düşük olmasına bağlanabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Plasenta, Preeklampsi, Tam Reseptör Tirozin Kinaz, İmmünohistokimya

S85

### 3G Cep Telefonlarından Yayılan Elektromanyetik Radyasyonun Testis Dokusunda Tam Reseptör Kinazların (TAMRTK) ve Ligandlarının Ekspresyonlarına Etkisinin Değerlendirilmesi

Ertan Katırcı<sup>1</sup>, Esmâ Konuk<sup>1</sup>, Aslı Okan<sup>1</sup>, Enis Hidişoğlu<sup>2</sup>, Piraye Yargıçoğlu<sup>2</sup>, Necdet Demir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Antalya

**Giriş:** Günümüzde teknolojik gelişimin uygulamaya konduğu birçok cihaz ve sistem özellikle de cep telefonu çevremize yoğun bir elektromanyetik radyasyon yaymaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda elektromanyetik maruziyetinin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilere sebep olduğuna dair pek çok çalışma ortaya konmuştur (1-5). Sıçanlarda erkek üreme sistemi üzerine yapılan çalışmada, yüksek elektromanyetik maruziyet (2.45 GHz) interstisyel alandaki leydig hücrelerinin sayısında azalmaya ve seminifer tübülde apoptoza giden hücrelerin sayısında artışa neden olmuştur (6). TAMRTK'lar, Tyro3, Axl ve Mer olmak üzere 3 üyeden oluşmaktadır ve bunlar GAS6 ve PROS1 olmak üzere 2 liganda sahiptir. Genetik çalışmalarında TAMRTK'ların immün ayrıcalıklı bölgelerde özellikle testis, göz ve beyinde doku homeostazisinin temel düzenleyicileri oldukları belirtilmiştir. TAMRTK'lar, Sertoli hücreleri tarafından apoptotik germ hücrelerinin fagositozuna aracılık eder ve otoimmün cevabı engeller (7). Bu çalışmanın amacı; 3G cep telefonlarından yayılan elektromanyetik radyasyonun testis dokusundaki TAMRTK'ların ve ligandlarının ekspresyonuna etkisini belirlemektir.

**Materyal-Metod:** Çalışmamızda 2 aylık 250-300 gram ağırlığında wistar sıçanlar kullanıldı. Denklemler 6 gruba ayrıldı. Bunlar; kontrol grubu, 2150 MHz EMR'a kısa süreli maruziyet grubu, 2150 MHz EMR'a uzun süreli maruziyet grubu, kısa süreli EMR'a uygulanmadan pleksiglas tüplerde bekletilen şem grubu ve uzun süreli EMR'a uygulanmadan pleksiglas tüplerde bekletilen şem gruplarıydı. Bu gruplardaki hayvanlar sakrifiye edildi ve testis dokuları alındı. Gerekli takip işlemleri uygulandıktan sonra immünohistokimyasal yöntemlerle TAMRTK'lar ve ligandlarının ekspresyonu belirlendi.

**Bulgular:** İmmünohistokimya sonuçlarımıza göre, AXL proteininin ekspresyonu kontrole kıyasla 2150MHz EMR'a kısa süreli maruziyet grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda arttı. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi. AXL'nin ligandı olan GAS6 proteininin ekspresyonunda kontrole kıyasla diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. MER, TYRO3 ve PROS1 proteinlerinin ekspresyonunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. AXL, TYRO3, GAS6 ve PROS1 proteinlerinin testiste sertoli hücrelerinde, uzamış spermatitte, primerspermatosit, spermatogonyal hücreler, spermium ve interstisyel alanda lokalize olduğu belirlendi. MER proteini ise spermium hariç bütün spermatogenik hücrelerde lokalize olmaktadır.

**Tartışma ve Sonuç:** AXL ve TYRO3 sertoli hücreleri tarafından fagosite edilecek hücrelerin tanınmasına ve ortadan kaldırılmasına yardım eder (8). Sonuçlarımıza göre, normal fizyolojik durumlarda TYRO3 apoptoza uğrayacak hücrelerin ortadan kaldırılmasında temel olarak görevli olabilir. Ayrıca sonuçlarımız, AXL'nin homeostazinin bozulduğu erken safhalarda esas olarak rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** EMR, TAMRTK, Testis

S86

**Kene tükürük salgısının fare embriyonik kök hücreleri üzerine etkilerinin incelenmesi**Ahmet Kocabay<sup>1</sup>, Ayyub Ebrahimi<sup>2</sup>, Ali Cihan Taşkın<sup>1</sup>, Sırrı Kar<sup>3</sup><sup>1</sup>Koç Üniversitesi, Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi-KUTTAM- Deney Hayvanları Lab, İstanbul<sup>2</sup>Haliç Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul<sup>3</sup>Namık Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Tekirdağ**Amaç;**

Embriyonik kök hücreler (EKH), ilk defa fare blastosist hücrelerinden 1981 yılında izole edilmiştir. Bu keşfi insan blastosistlerinden elde edilen kök hücreleri takip etmiştir. Pluripotent özellikteki embriyonik kök hücreler; kendini yenileme kapasitesine sahip olup, 3 farklı germ hücre tabakasını da oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Fare embriyonik kök hücreleri (fEKH) elde edilmeye başlandıktan kısa süre içerisinde, biyomedikal araştırmaların vazgeçilmez aracı haline geldi. Ancak, kendini yenileme ve pluripotent özelliklerin düzenlenmesi genellikle verimsiz kalmıştır. Çoğu kök hücre laboratuvarı, fEKH kültürlerinde geleneksel metotları kullanmaktadır. Keneler ektoparazitik artropodlardır. Kene tükürük salgısının; antihemostatik, immüno-modülatör aktiviteleri olan ve çok sayıda biyoaktif molekül içerdiği gösterilmiştir. Ayrıca önceki çalışmalarda; kene tükürük salgısının, mitojenle aktive olan protein kinazlarının (MAPK) ve hücre dışı sinyal düzenlenmesinde rol oynayan hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz (ERK1/2) yollarının aktivasyonu üzerindeki olumsuz etkileri görülmüştür. Bu yolların fEKH'lerin kendi kendini yenileme yeteneğine negatif etki ettiklerine dair kanıtlar vardır. Bu çalışmada, kene tükürük salgısının geleneksel fEKH kültür sistemi üzerine etkisini inceledik.

**Gereç ve Yöntem;**

Bu amaçla; 3 farklı kene ırkından (D. Marginatus, R. Bursa and H. Marginatum) elde edilen ve farklı konsantrasyonlardaki kene tükürük salgıları, fEKH kültürü üzerine tabi tutuldu. Bu deneylerde, daha önce CB6F1/J (Balb/c x C57BL/6J) ırkı deney farelerinden elde edilen blastosistlerden izole edilen fEKH'ler kullanılmıştır. 6 Farklı (0.2 µg/ml, 2 µg/ml, 20 µg/ml, 40 µg/ml, 80 µg/ml, 160 µg/ml) konsantrasyonda kene tükürük salgısı içeren kök hücre besiyerleri (Knock Out-DMEM+15% Knock Out-Serum) ile fEKH' ler 37°C sıcaklıkta ve 5% CO<sub>2</sub>' li ortamda inkübasyona bırakıldı. 7 Gün sonra "Cell Titer Glu (CTG)" testi ile canlılık miktarı tespit edildi.

**Bulgular;**

Elde edilen sonuçlar; 80 µg/ml derişimde D. Marginatus tükürük salgısı katkılı kültürün fEKH'lerin çoğalma oranını olumlu yönde etkilediği göstermektedir.

**Sonuç;**

Ancak bu veriler, kene tükürük salgısının geleneksel kültür şartlarında kullanılarak fEKH'lerin kendini yenilemeleri üzerine etkisini arttırdığını söylemek için yeterli değildir. Bu etkinin kanıtlanması ve hangi faktörler ya da proteinlerin fEKH'lerin proliferasyona etki ettiğinin anlaşılması için tamamlayıcı deneylere ihtiyaç vardır.

Çalışma TUBITAK-114O638 no'lu proje tarafından desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Fare embriyonik kök hücre, kene tükürük salgısı, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz (ERK1/2), proliferasyon

S87

**Gebeliğin 5. ve 8. Günlerinde AXL Reseptörünün Desidualizasyon ve Gebeliğin Devamındaki Rolünün Araştırılması**

Esma Konuk, Aslı Okan Oflamaz, Eda Orhan, Ertan Katırcı, Feride Quliyeva, Necdet Demir Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

Giriş: Memelilerde gebeliğin sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi ve ilerlemesinde immün hücreler ve sinyal molekülleri rol almaktadır. Fertilizasyondan sonra embriyonun preimplantif gelişiminin, implantasyonun ve desidualizasyonun sağlıklı ilerlemesinin yanı sıra başarılı gebeliğin oluşumunda ve sürdürülmesinde immünregülasyon önemli role sahiptir.

Stromal hücre proliferasyonu ve farklılaşmasıyla kontrol edilen desidualizasyon, implantasyonda önemli bir olaydır. Farede, blastokist bölgesindeki antimezometriyal alanda farklılaşan stromal hücreler, 5. günde birincil desidual bölgeyi (PDZ) oluştururlar. 6. Günde, PDZ'nin etrafındaki stromal hücreler çoğalmaya ve poliploid desidual hücrelere farklılaşarak, PDZ'nin etrafında ikincil desidual bölge (SDZ)'yi oluştururlar. SDZ, 7. günde tamamen gelişirken PDZ, apoptoz ile dejenere olur ve bu hücrelerin çoğu 8. günde kaybolur. 8. günden sonra SDZ'nin yerini plasenta oluşumu ve embriyo gelişimi alır.

Reseptör tirozin kinaz (RTK) ailesi mensubu TAM reseptörleri, Axl, Mer ve Tyro3'den oluşan üç üyeye sahiptir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda TAM reseptör kinazların (TAMRK) hem fagositozda hem de inflamatuvar çevrenin baskılanmasında önemli rolü olduğu bildirilmektedir. AXL'in epitelial mezensimal transisyon (EMT)daki rolünün yanı sıra, yabancı uyaranlara karşı önce inflamatuvar sitokinleri artırdığı, sonrasında aşırı inflamasyonun konağa zararını engellemek için inflamatuvar sitokinleri baskıladığı bilinmektedir.

AXL'ingebelik sürecindedeki değişiklik gösteren endometriyumda ve fetomaternal kavşakta gerçekleşen immunregülasyondaki rolünü ortaya koyacak ekspresyon düzeyleri ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır. Desidualizasyonda ve gebeliğin sürdürülmesinde gerekli olan immunregülasyonda AXL'in rol aldığı düşünülmektedir.

Materyal-Metod: Çalışmada Akdeniz Üniversitesi 'Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edilen daha önce hiç deneye girmemiş ve çiftleşmemiş Balb/C ırkı dişi ve erkek fareler kullanılmıştır. 6-8 haftalık Balb/C ırkı dişi fareler su ve besin kısıtlaması olmaksızın 12'şer saatlik aydınlık/karanlık döngüsünde tutulmuştur. İki ya da üç dişi fare bir erkek fare ile aynı kafeste gece boyunca bırakılarak çiftleşmeleri sağlanmış, ertesi sabah vajinal plak kontrolü yapılarak gebelik tespiti yapılmıştır. Gebeliğin 5. ve 8. gün dönemlerindeki farelerde implantasyon ve plasentasyon bölgelerine ait uterus örnekleri alınarak Axl'in immunohistokimya, western blot ve Q-PCR yöntemleriyle lokalizasyonu ve ekspresyon düzeyleri incelenmiştir.

Sonuç-Tartışma: İmmunohistokimya, Western blot ve QPCR analizlerimiz sonucunda AXL ekspresyonu 5. güne kıyasla gebeliğin 8. gününde düşüş gösterdi. Gebeliğin 5. Gününe ait immunohistokimyasal analizlerimizde PZD'de bulunan hücrelerde sitoplazmik ve membranöz AXL ekspresyonu oldukça yoğundu. AXL ekspresyonunun artmasının, blastosistin implantasyonu için ilk invazyonunda artan aşırı inflamasyonu engelleyerek maternal hasar ya da rejeksiyonu önlediğini düşünülmektedir. Gebeliğin 8. gününde, SDZ'nin yok olmasıyla bu bölgede AXL ekspresyonunun olmaması desidualizasyonda AXL'in rolü olabileceğine işaret etmektedir. AXL'in invazif trofoblast hücrelerindeki ekspresyonunun, bu hücrelerde EMT'yle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Tüm bu bilgiler, inflamasyonun baskılanması ve toleregenik ortamın sağlanmasında rol oynayan AXL'in, desidualizasyonda ve embriyonun kabulünde önemli rol oynadığını düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** AXL, Desidualizasyon, Fare, Gebelik, İmmünregülasyon



S88

**Gümüş nanopartikülünün boyut ve doz bağımlı olarak karaciğere etkisinin araştırılması**Mehmet Enes Sözen<sup>1</sup>, Sabiha Serpil Kalkan<sup>2</sup>, Mehmet Aköz<sup>3</sup>, Halime Tuba Canbaz<sup>2</sup>, Gökhan Cüce<sup>2</sup><sup>1</sup>Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji, Antalya<sup>2</sup>Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji, Konya<sup>3</sup>Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya, Konya

**Amaç:** Antimikrobiyal özelliklerine bağlı olarak tüketici ve sağlık ürünlerinde yoğun kullanım alanına sahip olan gümüş nanopartikülünün karaciğere etkisini boyut ve doz bağımlı olarak araştırmak

**Gereç ve Yöntemler:** 35 Wistar Albino sıçan her grupta 5 sıçan olacak şekilde 7 gruba ayrılmıştır.

**Kontrol Grubu (Grup 1)** çeşme suyu, **Grup 2** 20 nanometre (nm) 50 mg/kg, **Grup 3** 20 nm 300 mg/kg, **Grup 4** 80-100 nm 50 mg/kg, **Grup 5** 80-100 nm 300 mg/kg gümüş nanopartikülü 10 gün boyunca 24 saat aralıklarla uygulamadan hemen önce 20 dakika ultrasonik sonikatör ile çeşme suyu içinde karıştırılıp oral olarak uygulanmıştır. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda vücut ağırlıkları kaydedilmiştir. TAS, TOS, ALT, AST, ALP, seviyeleri ölçülmüş ve OSI değeri hesaplanmıştır. Alınan kesitler tüm gruplarda hematoksilin&eoziin ile boyanmıştır. CD68 ve TUNEL boyama gerçekleştirilip değerlendirilmiştir. Apoptotik indeks TUNEL boyama ile belirlenmiştir.

**Bulgular:** Grupların ağırlıklarındaki değişimde herhangi bir istatistiksel fark gözlenmemiştir. Her ne kadar bazıları istatistiksel olarak anlamlı fark göstermese de TAS, TOS, OSI değerleri gümüş nanopartikülünün azalan boyutu ve artan dozu ile artış göstermişlerdir. Serum ALT seviyeleri farklılık göstermemiştir. Serum ALP ve AST seviyeleri boyutla ters; doz ile doğru orantılı olarak artış göstermiştir. Sıçanların karaciğerinin H&E boyaması ile yapılan histopatolojik değerlendirmede konjesyon, lenfosit infiltrasyonu, nekroz, pleomorfik nükleus ve sinüzoidlerde dilatasyon gözlenmiştir. TUNEL boyama apoptozisin boyut ile ters, doz ile doğru orantılı olarak arttığını göstermiştir.

**Sonuç:** Bu çalışma, gümüş nanopartikülünün dozla doğru, boyutla ters orantılı olarak vücutta oksidatif stresi ve karaciğerde toksisiteyi oluşturduğunu göstermiştir buna bağlı olarak gümüş nanopartikülü kullanılırken oluşturabileceği toksik etkiler de göz önünde bulundurulmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Nanopartikül, Gümüş, Histopatoloji, Karaciğer, TUNEL

**POSTER BİLDİRİLER**

**(P001-P118)**

- P001 - Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Oktreotid'in JNK ve p-38 MAPK Sinyal Yolu Üzerinden Kalp ve Aort Üzerine Etkileri - Selen Bahçeci
- P002 - Standart kardiyopulmoner bypass rat modelinde; tubing set kısaltılmasının, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve multiorgan üzerinde etkisi - Pınar Akokay
- P003 - Duloksetinin Kalp Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması - Işıl Baysal
- P004 - Doksorubisin kardiyotoksitesinde oluşan oksidatif ve nekrotik hasarda allopurinol, kolşisin ve çörekotunun koruyucu rolü - Yusuf Nergiz
- P005 - Septoplasti Tekniklerinin Tavşan Nazal Septum Mukozasında Işık ve Elektron Mikroskop Düzeyinde İncelenmesi - Elham Bahador Zırh
- P006 - Deneysel Olarak Tip 2 Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Aerobik Egzersiz Sıklıklarının Karaciğer Fibrozisi,  $\alpha$ -Fetoprotein ve Sitokeratin 19 Üzerine Etkileri: İmmunohistokimyasal Çalışma - Serap Uslu
- P007 - Deneysel Ülseratif Kolit Modelinde Oluşan Böbrek Hasarında Tiyaminin Etkisi - Selma Aydemir
- P008 - Tiyamin Hidroklorür'ün İnflamatuvar Bağırsak Hastalığında Karaciğer Üzerine Etkisi - Selma Aydemir
- P009 - Sıçanlarda etanol ile oluşturulan deneysel ülser modelinde p-kumarik asitin iyileştirici etkisinin mikroskopik ve biyokimyasal düzeyde incelenmesi - Serap Arbak
- P010 - Mikrovillus İnküzyon Hastalığı: Olgu Sunumu - Işık Ünal
- P011 - Sleeve Gastrektomi ve Cerrahi Menopoz Yapılmış Sıçanların Mide Mukozasında G Hücrelerinin Dağılımının ve Morfolojisinin Değerlendirilmesi - Damla Kayalı
- P012 - Sıçanlarda Gebelikte Yapılan Akut ve Kronik Aerobik Egzersizin Yavrularda Prefrontal Kortekse Etkileri - Selma Aydemir
- P014 - Nesfatin-1 Nöronlarında Östrojen Reseptör Alfa Ekspresyonu - Ceren Oy
- P015 - Akut Stres Uygulamalarında Nesfatin-1 Nöronlarının c-Fos Ekspresyon Profiline Karşılaştırılması - Gülçin Ekizceli
- P016 - Ratlarda prenatal dönemde 900 MHz elektromanyetik alana maruz kalmanın ventral koklear nukleustaki nöronlara etkisi - Seda Çınar
- P017 - Wistar-Albino Irkı Sıçanların Böbreküstü Bezlerinde Gebelik sırasında Gözlenen Histolojik Değişimler - Özgür Eroğlu
- P018 - 900 ve 2100 MHz Frekanslı Elektromanyetik Radyasyonun Sıçan Timusunda Endoplazmik Retikulum Stres Proteinleri CHOP ve GRP78 Üzerine Etkisinin Araştırılması - Ergi Kaya
- P019 - Gentamisin Neden Olduğu Nefrotoksisitede Curcuminin NFkB ve Nrf2 Sinyal Yolları Üzerinden Koruyucu Etkisi - Duygu Uzun Gören
- P020 - Gümüş Nanopartikülünün Boyut ve Doz Bağımlı Olarak Böbreklere Etkisinin Araştırılması - Halime Tuba Canbaz
- P021 - Ligamentum flavum hipertrofinin histolojik olarak değerlendirilmesinde yeni bir skorlama sistemi - Özlem Delen

- P022 - Konjenital 3., 5., ve 7. sinir hipoplazisi/ aplazisi olan bir olguda ekstraoküler kasların histopatolojik bulguları - İrem İnanc
- P023 - Farede Prenatal ve Postnatal Dönem Ovaryum ve Testis Gelişiminde c-Abl Tirozin Kinaz ve mTERT Telomeraz Katalitik Alt Ünitesinin Ekspresyonunun Gösterilmesi - Ecem Yıldırım
- P024 - Gebe Ratlarda Hipotiroidi ve Hipertiroidinin Sonuçları ve Hofbauer Hücre Davranışı - Gökçen Bilici
- P025 - HELLP sendromlu insan full-term plasental villuslarında yer alan hücrelerin morfolojik, immunohistokimyasal ve ultrastruktürel olarak değerlendirilmesi - Yusuf Nergiz
- P026 - Preeklampşik ve normotansif plasentaların koryonik villuslarındaki apoptotik, inflamatuvar değişikliklerin immunohistokimyasal yöntemler ile gösterilmesi - Sabahaddin Aslan
- P027 - Normotansif ve Preeklampşik Gebelerin Plasentalarında Adam-8 ve Adam-15 Ekspresyon Düzeylerinin İmmunohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi - Fırat Aşır
- P028 - FoxO3 transkripsiyon faktörü farede implantasyon ve desidualizasyonda rol alıyor olabilir - Dileyra Adıgüzel
- P029 - Peri-implantif Dönem Fare Uterus ve İmplantasyon Bölgelerinde Sirtuin 1 Ekspresyonu - Kübra Aksu
- P030 - Peri-implantif Dönem Fare Uterus ve İmplantasyon Bölgelerinde Hippo Sinyal Yolağı Üyesi Fosforile YAP (Yes-associated protein-Yes ilişkili protein) Ekspresyonu - Ezgi Gölal
- P038 - Erişkin rat testislerinde formaldehitin oluşturduğu hasara karşı vitamin E ve selenyumun koruyucu etkilerinin araştırılması - Yusuf Nergiz
- P039 - Ratlara Akut Ve Kronik Farklı Dozlarda Grayanotoxin-III Verilmesinin Testis Dokusu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi - Emin Kaymak
- P040 - Erişkin Sıçanlarda Paklitaksel Kaynaklı Testis Hasarında Kurkuminin Koruyucu Etkisi - Özge Göktepe
- P041 - Radyasyonun neden olduğu testis hasarında Apocynin'in etkilerinin histolojik olarak incelenmesi - Merve Tatlı
- P042 - Sıçanlarda siklofosfamid ile oluşturulan testis hasarında karnozinin etkisi - Bekir Uğur Ergür
- P043 - Non-obstrüktif azospermi tanılı hasta testis dokularında DNA metiltransferaz protein ekspresyonu ve global DNA metilasyon düzeyinin belirlenmesi - Saffet Öztürk
- P044 - Leydig Hücrelerinin İzolasyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması ve Karakterizasyonu - Nida Karahan
- P045 - İnfertil bireylerde sperm sayısı ile bağlantılı sperm uzunluk ölçümlerinin araştırılması - Esra İbiş
- P046 - Diyabetin neden olduğu testis hasarı üzerine Losartan'ın olası anti-apoptotik etkisinin araştırılması - Aylin Buhur
- P047 - Sisplatin ile Oluşturulan Testis Hasarına Karşı N-Asetilsistein'in Etkisi - Tuğçe Merve Özyazgan
- P048 - Paklitaksel Uygulanan Testis Dokusunda Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin Otofajideki Rolü - Gözde Özge Önder

P049 - Kronik miyeloid lösemi tedavisinde kullanılan bir tirozin kinaz inhibitörü olan nilotinib hücre proliferasyonunu azaltarak ve apoptozu arttırarak gonadotoksik etki gösterir - Nilay Kuşcu

P050 - Deneysel Olarak Oluşturulan Diyabet Modelinde Etil Pirüvat'ın Sıçan Testisine Etkisinin İncelenmesi - Selma Aydemir

P051 - Adölesan sıçanların iskemi / reperfüzyon testis modelinde metforminin kan-testis bariyeri üzerine etkisi - Nazlı Ece Güngör Ordueri

P052 - Akut ve kronik dönem 900 MHz elektromanyetik radyasyon uygulamasının rat testisi üzerindeki etkisi - Leyla Satı

P053 - Maternal Hipotiroidinin Yavru Sıçan Leydig Hücrelerinde eNOS ve iNOS İmmunoreaktivitesi Üzerine Etkisi - Derya Karabulut

P054 - Deneysel erişkin sıçan hipertroidi modelinde Quercetin'in testis dokusundaki etkisinin histolojik olarak incelenmesi - Bekir Uğur Ergür

P055 - Karbon Tetraklorür İle Oluşturulan Testis Hasarında Isı Şok Protein Yoğunlukları Üzerine Karnozinin Etkisi - Derya Karabulut

P056 - Farede MEHP aracılı kan-testis bariyerinin bozulduğu testiste Chd1l ve GATA4 ekspresyonlarının değerlendirilmesi - Gamze Tosun

P057 - Deneysel Polikistik Over Sendromu (Pkos) Modelinde Tamoksifen Ve Klomifenin Ovaryum Dokusu Üzerine Etkilerinin Otofajik Açından Değerlendirilmesi - Gökçe Ceren Kuşcu

P058 - Östral ve luteal dönemde siğir ovidukt epitelinde antioksidanların immunohistokimyasal ifadesi - Aytül Kürüm

P059 - Matriks metalloproteinaz 9 ve 12 ile matriks metalloproteinaz doku inhibitörü-1 ekspresyonlarının endometriyozisli dokularda immunohistokimyasal olarak gösterilmesi - Leman Sencar

P060 - Over torsiyonundaki iskemi-reperfüzyon hasarına silymarinin etkisinin incelenmesi - Özcan Üstün

P061 - Sisplatin ile Oluşturulan Ovaryum Toksisitesine Karşı N-Asetil Sisteinin Tedavi Edici Etkisi - Gözde Özge Önder

P062 - Tekrarlanan kontrollü ovaryan hiperstimülasyon'un (KOH) Over rezervi üzerine etkisinin Pten yolağı üzerinden araştırılması. "Ovaryum morfolojisi kontrollü ovaryan hiperstimülasyon'dan etkilenir mi?" - Perihan Yalçinkaya

P063 - Polikistik Over Sendromu Oluşturulmuş Sıçanların Uteruslarında Rho A/Rho-kinaz Ekspresyonu ve Spontan Kontraksiyon Değişiklikleri - Mert Ünvan

P064 - Ovaryum kriyoprezervasyonu primordiyal foliküllerde p-4EBP1 protein ifadesini artırır - Soner Çelik

P065 - Hipotiroidik Sıçanlarda Arı Sütü Takviyesinin Tuba Uterina Üzerindeki Olası Koruyucu Etkisi - Deniz İrem Bulut

P066 - Hipotiroidik Sıçanlarda Arı Sütü Takviyesinin Uterus Üzerindeki Olası Koruyucu Etkisi - Çiğdem Elmas

P067 - Hipotiroidik Sıçanlarda Arı Sütü Takviyesinin Ovaryum Üzerindeki Olası Koruyucu Etkisi - Deniz İrem Bulut

P068 - Farede DMBA ile indüklenmiş ovotoksisitede c-Abl ve mTERT ekspresyonlarının belirlenmesi - Aylin Yaba Uçar

P069 - Melatonin Polikistik Over Sendromuna Bağlı İnfertilitede Yeni Bir Umut Olabilir mi? Deneysel Bir Çalışma - Gökçe Nur Yücel

P070 - Tekrarlanan Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon'un (KOH) Endometriyum Reseptivitesi Üzerine Etkilerinin Moleküler Düzeyde İncelenmesi - Latife Sakiner

P071 - Anneden Ayrılma Stresinin ve Antidepresan Kullanımının Sıçan Ovaryumları Üzerindeki Etkisinin Gösterilmesi - Hatice Kübra Parlaktaş

P072 - MMTV-TGF- $\alpha$  Farelerde Ovariya Yaşlanma Sürecinde mTOR Ekspresyonunun Belirlenmesi - Tuğçe Önel

P073 - Melatoninin Sıçan Ovaryumunda VEGF Ve Reseptörlerinin Ekspresyonları Üzerine Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi - Feride Quliyeva (xxx)

P074 - Farelerde İn Vitro Embriyo Kültürü Ve Embriyo Transferinin Yetişkin Akciğer Dokusunda Toll-Benzeri Reseptör (TLR)-9 Ekspresyonu Üzerine Etkisi - Göksel Doğan

P075 - Farelerde İn Vitro Embriyo Kültürü ve Embriyo Transferinin Yetişkin Akciğer Dokusunda Toll-Benzeri Reseptör (TLR)-5 Ekspresyonu Üzerine Etkisi - Göksel Doğan

P076 - Polikistik Over Sendromlu (PKOS) Hastalarda Hormonal Parametrelere Bağlı Olarak Embriyo Gelişiminin İncelenmesi - Tuğba Elgün

P077 - Nedeni Açıklanamayan İnfertilite Olgularında Sperm DNA Bütünlüğünün Fertilizasyon Başarısı ve Erken Embriyoner Gelişime Etkisi - Cihan Çakır

P078 - İnsan Sperm Hücrelerinin Küçük Volümler Halinde Bakır Gridler Üzerinde Vitrifikasyonu - Gökten Kuşpınar

P079 - D vitamini hormonu ve infertilite - Ebru Çelik

P080 - Desellülarize Kalp ve Akciğer Doku İskelelerinin Farklı Yöntemlerle Dondurulması - Yusufhan Yazır

P081 - Hücrelerinden Arındırılmış Böbrek Dokusunun Saklanması İçin Uygun Yöntem Belirlenmesi - Yusufhan Yazır

P082 - Akut lenfoblastik lösemi hastalarının (ALL) kemik iliğinden üretilen mezenkimal kök hücreler ile blastların ko-kültüründe hücreler arası iletişimde Tunneling Nanotüp (TNT) oluşumunun rolü - Şeyma Kipel

P083 - Plasental Perisit İzolasyonunda Alternatif Bir Yöntem - Gökhan Duruksu

P084 - Kondrosit ve Mezenkimal Kök Hücrelerde Transfeksiyon Oranlarının Karşılaştırılması - Yasin Özkabadayı

P085 - İnsan Plasental Mezenkimal Kök Hücrelerinin Gebelikteki İmmün Tolerans Mekanizmalarındaki Etkisinin Araştırılması - Cansu Şahin

P086 - Deselülarize Kalp Matriksinin Mezenkimal Kök Hücrelerin Kardiyomiyojenik Farklılaşma Potansiyeli Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi - Yusufhan Yazır

P087 - Zoledronik Asit Uygulamasının Meme Kanseri Hücre Hattı (MCF 7) Kanseri Kök Hücrelerinin Üzerine Otofaji Gen Seviyesindeki Etkilerinin Araştırılması - Duygu Çalık Kocatürk

P088 - Ribozom Biyogenezi CD44+/CD24- Meme Kanseri Kök Hücrelerinde Flavopiridolün Antitümör Etkinliğine Aracılık Eder - Eda Açıkgöz

P089 - Granüler Korneal Distrofinin Histolojik Olarak Değerlendirilmesi - İsmail Seçkin

P090 - Korelatif Mikroskopi ile Ekzozomların Görüntülenmesi - Şeyda Demir

P091 - Periferik Sinir Çalışmalarında Işık ve Elektron Mikroskopik İncelemeler Sırasında Histopatolojik Bulguları Taklit Eden Artefaktlar (Görüntübozanlar) - Oya Evirgen

P092 - Radyosensitivitenin Glioblastoma multiforme ve Astrositik Hücre Hatlarının Hücre Sinyalizasyonlarına Etkisi - Duygu Çalık Kocatürk

P093 - Deneysel Diyabetik Sıçanların Beyin Dokularındaki Su Kanalı Proteinlerindeki Değişimlerin İncelenmesi ve Resveratrolün Etkisi - Gökhan Duruksu

P094 - Paklitaksel Ve Mirtazapinin A2780 Hücrelerine Etkilerinin Proliferasyon Ve Apoptozis Yönünden Değerlendirilmesi - Gökhan Cüce

P095 - İnsan primer menisküs fibrokondrosit kültürlerinde pasajlamanın SOX9 mRNA ekspresyon seviyesi ve fibrokondrositik karakter üzerine etkisi - Selma Yılmaz

P096 - Ovaryum Foliküllerinin Yapay Zekâ ile Sınıflandırılması - Ayşe Ceyhan

P097 - Kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin yapay zeka ile sınıflandırılması - Simge Çelebi

P098 - Osteoporotik Omurga Füzyonu için Polilaktik asit-Polietilenglikol ve Nano-Hidroksiapatit (PEG-PLA/nHAp) İçeren rhBMP-2 Taşıyan Kompozitlerin Geliştirilmesi - Petek Korkusuz

P099 - Bor Katkılı Nano-Hidroksiapatit (B-nHAp) Kompozitlerin Mezenkimal Kök Hücrelerinin ve Kemik Hücrelerinin Proliferasyonuna Etkisinin Salımla İlişkili Araştırılması - Petek Korkusuz

P100 - Sisplatin'in Oluşturduğu Testis Hasarı Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in Koruyucu Etkisinin İncelenmesi - Tayfun Ceylan

P101 - Paklitaksel İle Oluşturulan Testis Hasarı Üzerine Resveratrol'ün Koruyucu Etkisinin İncelenmesi - Pınar Bilgici

P102 - Sıçanlarda Paklitaksel'in Neden Olduğu Böbrek Hasarına Karşı Resveratrol'ün Koruyucu Etkisi - Ayça Lekeşizcan

P104 - Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçan böbrek dokusunda apoptozis ve proliferasyon üzerine quercetin'in etkisi - Emine Ceyda Sözüer

P105 - Vildagliptin, yenidoğan STZ-diyabetik sıçan karaciğerinde dejenerasyonu engeller ve oval hücre aracılı rejenerasyonu uyarır - Melek Oztürk

P106 - Hirudin'in otolog yağ grefti yaşayabilirliği üzerine etkisi - Deniz Billur

P107 - Yaşlı sıçanlarda metilglioksal ile oluşturulan endotel hasarına resveratrolün etkisi - Ecem Türkmen

P108 - Temporomandibular eklem dislokasyonunda farklı tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesi - Derya Özdemir

P110 - Levitirasetam Uygulanan Gebe Sıçanların Yavrularında Karaciğer Toksikitesi - Engin Yenilmez

P111 - Levetirasetama maruz kalan gebe sıçan yavrularının midelerindeki histolojik değişiklikler - Engin Yenilmez

P112 - Yüksek Yağlı Diyetle İndüklenmiş Böbrek ve Mesane Hasarı Üzerine Egzersizin Koruyucu Etkileri - Merve Açikel Elmas

P113 - Kronik Deltametrin uygulaması sonrasında karaciğerde Sirinjik asitin koruyucu etkisinin araştırılması - Gizem Gamze Taş

P114 - Sıçanlarda Metotreksat İle İndüklenen Hepatotoksisiteye Karşı N -Asetilsistein'in Koruyucu Etkisi - Tuba Demirci

P115 - Kardeş Kromatid Değişiminin = KKD (Sister Chromatid Exchange = SCE) Oksidatif Strese Bağlı Doku Hasarının Belirlenmesinde Kullanımı - Özgür Eroğlu

P116 - Eş zamanlı yağ grefti uygulamasının insizyonel skar oluşumuna etkisi - Deniz Billur

P117 - Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi 1., 2. ve 3. Sınıf Öğrencilerinin Histoloji ve Embriyoloji Disiplinine Yaklaşımları - Zekiye Gülfem Ataç

P118 - Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi 4., 5. ve 6. Sınıf Öğrencilerinin Histoloji ve Embriyoloji Disiplinine Yaklaşımları - Duygu Uzun Gören



**P001**

**DeneySEL Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Oktreotid'in JNK ve p-38 MAPK Sinyal Yolağı Üzerinden Kalp ve Aort Üzerine Etkileri**

Selen Bahçeci, Sinem Kara  
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi

**Amaç:** Bu çalışma, Streptozotosin ile deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanlarda kalp ve aort dokusunda oluşan histopatolojik değişiklikler üzerine, oktreotidin olası iyileştirici etkilerinin; histokimyasal, JNK ve p-38 MAPK sinyal yolağı üzerinden immünohistokimyasal değişiklikleri göstermeyi amaçladık.

**Materyal-Metod:** Çalışmada 24 adet Sprague Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar her bir grupta 8 adet olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Gruplar sırası ile Kontrol, Diyabet, Diyabet + Oktreotid olarak belirlendi. Kontrol grubuna 1ml %0,9'luk serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı. Diyabet ve Diyabet+ Oktreotid grubunda Streptozotosin, 65 mg/kg olmak üzere tek doz intraperitoneal uygulanarak deneysel diyabet oluşturuldu. Diyabet oluşturulduktan sonra Diyabet + Oktreotid grubuna 1 ay boyunca 400 µg/kg/gün dozunda oktreotid intraperitoneal yoldan uygulandı. Rutin histolojik doku takibinden sonra mikrotomla 5 µm kalınlıkta kesilen kalp ve aort dokusu Hematoksilen-Eozin, JNK ve p-38 MAPK antikorları kullanılarak immünohistokimyasal olarak boyandı. Kesitler OLYMPUS DP21 mikroskobu kullanılarak incelendi.

**Bulgular:** Histopatolojik değerlendirmede; kontrol grubunda kalp kası ve aort dokusu normal histolojik görünümdeydi. Diyabet grubunda kalp kası hücrelerinde kas liflerinde disorganizasyon, interstisyel ödem, fibrozis, nukleer dejenerasyon, lenfosit infiltrasyonu ve interstisyel alanda hemoraji gözlemlendi. Aortun endotel tabakası intaktı, tunika mediasındaki elastik liflerde ödeme bağlı hasar olduğu gözlemlendi. Oktreotid ile tedavi edilen grupta diyabetin neden olduğu kardiomyosit hasarında belirgin derecede azalma gözlemlendi. Aortdaki elastik liflerin yapısındaki hasar anlamlı ölçüde azaldı. Kalp ve aort dokusunda JNK ve p-38 MAPK antikoruna uygulanan dokulardaki immünohistokimyasal değerlendirmede; kontrol grubunda JNK ve p-38 MAPK'ın çok hafif olarak ekspresyonu olduğu gözlemlendi. Diyabet grubunda; MAPK ekspresyonunun JNK'ya göre daha yoğun olduğu, istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ( $p < 0,05$ ). Oktreotid grubunda, diyabet grubuna kıyasla p-38 MAPK ve JNK ekspresyonunun anlamlı ölçüde azaldığı gözlemlendi ( $p < 0,05$ ).

**Sonuç:** Sonuç olarak bu çalışma, Streptozotosin ile deneysel diyabet oluşturulan sıçanların kalp ve aort dokusunda oluşan histopatolojik değişikliklerin somatostatin analogu olan oktreotid uygulaması ile azaldığını göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Oktreotid, streptozotosin, deneysel diyabet, kalp, aort

**P002**

**Standart kardiyopulmoner bypass rat modelinde; tubing set kısaltılmasının, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve multiorgan üzerinde etkisi**

Tuğra Gençpınar<sup>1</sup>, Gökmen Akkaya<sup>2</sup>, Çağatay Bilen<sup>2</sup>, Pınar Akokay<sup>3</sup>, Nuran Ay Dereli<sup>1</sup>, Osman Yılmaz<sup>4</sup>, Kıvanç Metin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, İZMİR

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, İZMİR

<sup>3</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İZMİR

<sup>4</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı, İZMİR

**Amaç:** Kardiyopulmoner bypass rat kalbi modelinde; tubing set kısaltılmasının, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve miyokardiyal koruma üzerinde etkilerinin histolojik olarak karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem-Gereçler:** Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu (HADYEK) izni ile randomize seçilmiş, ağırlıkları 180 gr üzerinde olan (400-450 gr) 12 adet Wistar Albino erkek ratlar iki gruba bölündü. Bir grupta özellikle pompa hatları 1 metre kısa tutuldu. 16G branul ile sağ juguler ven ve kuyruk arteri kanülasyonu yapıldı. 500 IU/kg heparin sodyum iv yapıldı. Deney boyunca kardiyak indeks ortalama 2.4 ml olarak, rektal ısı 36 derece olarak belirlendi. Total hat volümü standart 8 ml tutuldu. Roller pump, ratların kardiyak outputuna benzer şekilde kan akımı 6-28 ml/dakika olacak şekilde ayarlandı (ortalama 10 ml / dak). 15 dk devam ettirildi. Sakrifikasyon yapıp, kalp, karaciğer ve böbrek dokularından histomorfolojik incelemeler için örnekler alındı.

**Bulgular:** Yapılan histokimyasal incelemelerde uzun hat grubunda kalpte, kardiyomiyositlerde çizgilenme kaybına, mononükleer (MNL) hücre infiltrasyonuna ve fibriler organizasyon bozukluğuna rastlandı. Karaciğerde sinüzoidal dilatasyona, az miktarda konjesyona, bazı alanlarda ise fokal nekroza ve periportal MNL infiltrasyonuna rastlandı. Kısa hat grubunda ise kalpte, uzun hat ile karşılaştırıldığında, nadir alanlarda MNL hücre infiltrasyonu, miyofibrillerde çizgilenme kaybı ve kardiyomiyositlerde dejenerasyon, uzun hat grubuna göre daha az olarak gözlemlendi. Karaciğerde, uzun hatta göre daha fazla konjesyon gözlemlendi. Bazı alanlarda ise uzun hatta göre az miktarda MNL hücre infiltrasyonuna rastlandı. Böbrek dokusunda ise her iki grupta da farklılık saptanmadı.

**Sonuçlar:** Kısa hat roller pompa deney modelinde; daha az zararlı multiorgan etkisi ve sistemik inflamatuvar cevabı gözlemlendi. Kalp cerrahisinde, KPB hatlarının masaya mümkün olduğunca yaklaştırılarak özellikle bebek ve çocukları içeren vakalarda kısa tutulması uygulanabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kardiyopulmoner bypass, multiorgan histomorfolojisi, tubing set, sistemik inflamatuvar yanıt

**P003****Duloksetinin Kalp Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması**

Işıl Baysal<sup>1</sup>, Nigar Vardı<sup>1</sup>, Azibe Yıldız<sup>1</sup>, Semir Gül<sup>1</sup>, Hakan Parlakpınar<sup>2</sup>, Onural Özhan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İnönü Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

<sup>2</sup>İnönü Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

**Amaç:** Duloksetin, majör depresyon, diyabetik nöropatik ağrı, fibromyalji tedavisinde kullanılan bir antidepresandır. Presinaptik bölgelerde serotonin ve norepinefrin geri alımının önlenmesi yoluyla etkisini göstermektedir. Duloksetinin sistemik kan basıncı ve kalp hızında artış oluşturabilen ve kardiyak sempatik aktiviteyi uyaran yan etkileri olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada, düşük ve yüksek dozlardaki duloksetin uygulamasının neden olabileceği kardiyojenik etkilerin, erken kardiyak hasar belirteci olarak kullanılan Cx43, TnI ve TnT gibi parametreler üzerinden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** Wistar albino cinsi 24 adet erkek sıçan, her grupta 8 sıçan olacak şekilde; kontrol, duloksetin 10 ve duloksetin 100 olarak 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna; oral gavaj yoluyla sadece 1 ml distile su çözücüsü (21 gün), duloksetin 10 grubuna distile su çözücüsünde 10mg/kg duloksetin (21 gün), duloksetin 100 grubuna ise distile su çözücüsünde 100 mg/kg duloksetin (21 gün) verildi. Deney sonunda alınan kalp dokuları %10'luk formaldehit içinde tespit edildi. Rutin doku takip işlemlerinden sonra parafin bloklardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Dokuların genel özelliklerini incelemek için H-E boyama yöntemi uygulandı. Ayrıca kesitler immünohistokimyasal incelemeler için kardiyak Cx43, TnI ve TnT antikoları ile boyandı.

**Sonuçlar:** H-E boyama yöntemi uygulanan kontrol grubu kesitlerinde, miyokardiyum normal histolojik görünümdeydi. Kardiyomiyositlerin enine bantlaşmaları ve interkalat diskler belirgindi. Düşük doz duloksetin uygulanan gruba ait doku kesitlerinin histolojik görünümünün kontrol grubuna benzer olduğu gözlemlendi. Diğer yandan, yüksek doz duloksetine maruz kalan ratların miyokardiyumunda dejeneratif değişiklikler izlendi. Bu değişiklikler arasında en dikkat çekici olan interstisyel ödemdi. Ayrıca bu grupta, enine bantlaşmalar ve interkalat diskler belirgin değildi. K-43 immünreaktivitesi kontrol grubunda interkalat disklerde düzenli (konturları) bir boyanma gösterirken, duloksetin uygulanan gruplarda konturların bozulduğu gözlemlendi. Bununla birlikte, duloksetin gruplarında K-43 immünreaktivite şiddetinde de belirgin artış tespit edildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, duloksetin gruplarında K-43 boyanmasındaki değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p<0.05$ ). Diğer yandan, düşük doz ve yüksek doz duloksetin uygulanan grupların birbirine benzer olduğu gözlemlendi ( $p>0.05$ ). TnT ve TnI ile boyanma kontrol ve düşük doz duloksetin gruplarında benzer olarak izlendi ( $p>0.05$ ). Buna karşın, yüksek doz duloksetin uygulanan grupta, TnT ve TnI immünreaktivitenin kontrol ve düşük doz duloksetin grubuna göre istatistiksel olarak azaldığı tespit edildi ( $p<0.05$ ).

**Sonuç olarak bu çalışma,** duloksetinin kardiyak K-43, TnT ve TnI gibi parametrelerde değişikliklere neden olduğunu ve doz artışına bağlı olarak kardiyotoksik etkinin artabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Duloksetin, Konneksin 43, TnT, TnI, Kalp

**P004****Dokso rubisin kardiyotoksitesinde oluşan oksidatif ve nekrotik hasarda allopurinol, kolşisin ve çörekotunun koruyucu rolü**

Yusuf Nergiz<sup>1</sup>, A.kadir Yıldız<sup>2</sup>, Emre Uyar<sup>3</sup>, Aysun Ekinci<sup>4</sup>, Uğur Şeker<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, Diyarbakır.

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD, Diyarbakır.

<sup>3</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, Diyarbakır.

<sup>4</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, Diyarbakır.

**Amaç:**

Dokso rubisin kardiyotoksitesinde oluşan hasarı engellemede allopurinol, kolşisin ve çörekotu yağının etkisini araştırmak.

**Giriş:**

Dokso rubisin 1960'lerden beri kanser tedavisinde sıkça kullanılan antrasiklin türevi bir ilaç olup bu ilacın önemli kardiyotoksik yan etkileri vardır. Allopurinol, ksantin oksidaz inhibitörü bir ilaç olup yapılan birkaç çalışmada kronik kalp yetersizliği olan hastalarda endotel fonksiyonlarını, kardiyak fonksiyonları ve kalp yapısını iyileştirdiği gösterilmiştir.

Kolşisin ise antifibrotik, antioksidan özellikli bir antiinflamatuvar ilaç olup çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Dünyanın çeşitli bölgelerinde yetişen çörekotunun antiinflamatuvar, antioksidan, antikarsinojenik, antiiskemik ve antihipertansif gibi pek çok farmakolojik özellikleri olduğu klinik ve deneysel çalışmalarla ortaya konulmuştur.

**Gereç-Yöntem:**

Bu çalışmada 64 adet erkek Sprague-Dawley rat kullanıldı ve ratlar 8 eşit gruba bölündü. 12 gün süren deney çalışmasında her gün kolşisin, allopurinol ve çörekotu yağı, dokso rubisin enjeksiyonundan 1 saat önce uygulandı.

1. Grup: Kontrol grubu.
2. Grup: Kolşisin grubu (1mg/kg/gün).
3. Grup: Allopurinol grubu (40 mg/kg/gün, i.p.),
4. Grup: Çörekotu yağı grubu (4mg/kg/gün p.o.).
5. Grup: Dokso rubisin grubu (15 mg/kg/gün, i.p.),
6. Grup: Allopurinol (40 mg/kg/gün) + Dokso rubisin grubu (15 mg/kg/gün.)
7. Grup: Kolşisin (1mg/kg/gün) + Dokso rubisin grubu (15 mg/kg/gün)
8. Grup: Çörekotu yağı (4mg/kg/gün) + Dokso rubisin grubu (15 mg/kg/gün).

Deney başlangıcından 12 gün sonra fareler sakrifiye edildiler. Sol ventriküleri %10'luk nötral formaline alındı. Rutin histolojik takip yapılarak elde edilen 5 µm kalınlığındaki parafin kesitlere hematoksilin-eozin ve azan boyama protokolü uygulandı. Elde edilen preparatlar Zeiss imager A2 ışık mikroskopunda değerlendirilerek fotomikrografları çekildi.

Histopatolojik değerlendirme daha önce Billingham ve ark. (1978) tarafından geliştirilen grade sistemi ile yapıldı. Elde edilen veriler SPSS'te Kruskal Wallis Testine göre analiz edildi.

**Bulgular:** Kontrol, kolşisin, allopurinol ve çörekotu yağı verilen deney grupları (grup-1-4) miyokard kesitlerinde normal histolojik yapı izlendi.

Oniki gün süreyle dokso rubisin uygulanan (grup-5) ratların kalp kası kesitlerinde çeşitli histolojik değişiklikler görüldü. Pek çok kalp kası hücrelerinin asidofilik sitoplazmasında solukluk, perinukleer vakuolizasyon, myofibril kaybı, eksentrik nukleus ve piknozis yanısıra miyokardiyal kan damarlarında konjesyon izlendi.

Allopurinol+dokso rubisin grubu (grup-6) ile kolşisin+dokso rubisin grubu (grup-7) miyokard kesitlerinde dokso rubisin uygulaması ile oluşan miyokard hasarının kısmen azaldığını saptadık. Dokso rubisin öncesi çörekotu yağı uygulanan grubun (grup-8) ventrikül kesitlerinde ise yer yer periferik yerleşimli piknotik çekirdekler dışında kontrol grubuna yakın görünüm izlendi. Dokso rubisin grubunun kontrol grubuna göre miyokard hasarının anlamlı şekilde artış gösterdiği,  $Dox = 2,44 \pm 0,61$ , ( $p < 0,01$ ). Ayrıca Dokso rubisin+Çörekotu Yağı grubunun ( $0,94 \pm 0,68$ ) miyokard hasarının en azaldığı ( $p = 0,01$ ) grup olduğu tespit edildi.

**Sonuç:** Sonuç olarak, dokso rubisin kardiyotoksitesinde oluşan miyokard hasarını düzeltmede allopurinol ve kolşisin'in kısmen etkili olduğu, buna karşın çörekotu yağı uygulamasıyla miyokard hasarının büyük çapta önlenileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Dokso rubisin, allopurinol, kolşisin, çörekotu yağı, kalp kası

**P005****Septoplasti Tekniklerinin Tavşan Nazal Septum Mukozasında Işık ve Elektron Mikroskop Düzeyinde İncelenmesi**

Semih Özdemir<sup>1</sup>, Hatice Çelik<sup>1</sup>, Ceyhun Cengiz<sup>1</sup>, Naciye Dilara Zeybek<sup>2</sup>, Elham Bahador Zirh<sup>2</sup>, Necmi Aslan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SB Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi KBB Kliniği

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Histoloji Ve Embryoloji Anabilim Dalı

**GİRİŞ:** Septoplasti nazal septumun orta tabakasını oluşturan kıkırdak/kemik yapıdaki eğriliklere yönelik sıkça uygulanan bir operasyondur. Operasyon sonrasında hastaların bir kısmında nazal obstrüksiyon, nazal pasajda kuruma, kabuklanma gibi şikayetler görülmektedir. Bu şikayetlerin septoplastiye bağlı oluşan septal mukozadaki değişikliklerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı tavşan modelinde, septoplasti yöntemlerinin septal mukoza üzerine olan etkisini ortaya koymaktır.

**Materyal-Metod:** Çalışmada 2,5-3,5 kg, 14-16 haftalık Yeni Zelanda erkek tavşan kullanıldı.

Tavşanlar yedişerli 3 gruba ayrıldı. Grup-1'deki tavşanlara açık teknik septoplasti ile mukoperikondrial flep elevasyonu yapılarak L- sitrat yapısı korunacak şekilde kıkırdak rezeksiyonu yapıldı. Grup-2'deki tavşanlarda aynı işlem sonrası çıkarılan kıkırdak ezilerek yerine konuldu. Kontrol grubundakilere herhangi bir cerrahi işlem yapılmadı. Postoperatif 2.ayın sonunda tavşanlar sakrifiye edilerek 2 taraflı septum mukozası ile birlikte septal kıkırdak çıkarılarak, bir parçası, ışık mikroskopunda incelenmek üzere Hematoksilen-Eosin, Masson'un trikromu, Alcian blue-PAS ile boyanan örnekler yalancı çok katlı epitel ve sil kaybı, goblet hücre değişikliği, ödem, vasküler konjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mukozal bezlerde dejenerasyon değerlendirilerek skorlandı. Örneklerin diğer Parçası, rutin elektron mikroskop takibi sonrası, elektron mikroskopu ile değerlendirildi.

**Bulgular:** Grup-1 ve Grup-2 de epitelde silia(p<0.001) ve goblet hücre kaybı(p=0.002), lamina propriada kollagen fibril artışı(p=0.002) ve seröz bez kaybı(p=0.020)gözlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptandı. İnflamasyon, mukoza kalınlığı açısından gruplar arası anlamlı fark izlenmedi(sırasıyla p=0.097, p=0.788). Perikondrium kalınlığı Grup-2'de artmıştı ve kontrol ile arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu(p<0.001). Tavşanlarda enfeksiyon, septal hematoma ve septal perforasyon gibi komplikasyonlar gözlenmedi. Elektron mikroskop incelemesinde kontrol grubunda, epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde siller, mikrovilluslar ve hücrelerinin arasında sıkı bağlantılar gözlendi. Kısa mikrovilluslar hem sili hücrelerde sillerin arasında hem de fırçamsı hücrelerde tesbit edildi. Grup-1'de epitel hücrelerinde şiddetli sil ve mikrovillus kaybı gözlendi. Hücrelerin sitoplazmasında vakuoller, lizozomlar, sekreter granüller ve hücreler arası alanda degenere olmuş hücre artıkları gözlendi. Grup-2'de sil kaybı bazı alanlarda gözlendi

**Sonuç:** Bu çalışmada septoplasti sonrası akut inflamatuvar sürecin eski haline döndüğü, bez ve epitel morfolojisinin operasyon öncesi döneme dönmediği görülmüştür. Elde edilen veriler operasyondan iki ay sonrasında respiratuvar mukozanın eski haline tam dönmediğini göstermektedir. İzlenen bu değişiklikler hastalarda septoplasti sonrasında burunda kuruma, kabuklanma, kanama ve tıkanıklık gibi şikayetlerin devamında rolü olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Nazal mukoza, nazal septum deviasyonu, septoplasti, septal kartilaj

**P006****DeneySEL Olarak Tip 2 Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Aerobik Egzersiz Sıklıklarının Karaciğer Fibrozisi,  $\alpha$ -Fetoprotein ve Sitokeratin 19 Üzerine Etkileri: İmmunohistokimyasal Çalışma**Serap Uslu<sup>1</sup>, Nuray Alaca<sup>2</sup>, Kubilay Doğan Kılıç<sup>3</sup>, Ayşegül Uysal<sup>3</sup>, Hızır Kurtel<sup>4</sup><sup>1</sup>İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, İstanbul<sup>2</sup>Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü, İstanbul<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, İzmir<sup>4</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, İstanbul

**Amaç:** Çalışmanın amacı, deneysel olarak tip 2 diyabet (T2DM) oluşturulmuş sıçanlarda erken dönemde karaciğerde fibrozis, erişkin kök hücreleri oval hücre belirteci  $\alpha$ -feto protein (AFP) ve hepatosellüler karsinoma belirteci sitokeratin 19'un (CK19) rollerini göstermek, karaciğer dokusundaki bu değişikliklerin iki farklı egzersiz modelinden nasıl etkilendiğini ortaya koymaktır. **Gereç-Yöntem:** Hayvanlar, (1) Kontrol sedanter (KS, n=6), (2) Diyabetik sedanter (DS, n=6), (3) Diyabetik düzenli egzersiz (DE1, n=6, 30 dk/günlük/haftada 5 gün; toplam 150 dk/hafta), (4) Diyabetik kısa aralıklı egzersiz grubu (DE2, n=6, 3x10 dk/günlük/haftada 5 gün; toplam 150 dk/hafta) rastgele olarak ayrıldı. Kontrol sedanter grubu hariç tüm sıçanlara gece açlığını takiben intraperitoneal (ip) Nikotinamid (NA) (110 mg/kg) ve 15 dakika sonra Streptozotocin (STZ) (65 mg/kg, i.p.) enjeksiyonu yapıldı. Bir hafta sonra kan glukoz seviyesi 126-300 mg/dl arasında olanlar T2DM olarak kabul edildi. Yüzme egzersizleri 6 hafta boyunca uygulandı. Deney sonunda (diyabetin 8. haftasında) karaciğerler disseke edildi. Kesitlere hematoksilin ve eozin, glikojen birikimi için Periodik asit schiff, fibrozisi göstermek için Masson's trichrome ve  $\alpha$ -SMA, oval hücre aktivasyonu için AFP ve CK19 immunohistokimyasal boyamaları yapılarak sonuçlar Hscore ile değerlendirildi. İstatistiksel yöntem olarak tek yönlü varyans analizi ve tukey testi kullanılıp, p<0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

**Bulgular-Sonuç:** DS grubunda KS grubuna kıyasla, karaciğerde steatozis ve nekrozis görülmüş, egzersiz gruplarında (DE1 ve DE2) ise steatozis ve nekrozis bulgularında azalma tespit edilmiştir. KS grubu ile karşılaştırdığımızda DS, DE1 ve DE2 gruplarında glikojen birikimi daha düşük bulunmuştur (p<0.05). Masson'strichrome boyama sonucuna göre DS grubunda KS grubuna göre artmış fibrosis izlenirken,  $\alpha$ -SMA boyama sonuçlarında ise DS grubunda KS ye göre artan fibrosis (p<0.001), her iki DE grubunda DS grubuna göre anlamlı azaldığı tespit edilmiştir (p<0.05). Oval hücre belirteci olan AFP, DS grubunda KS grubuna göre artmış (p<0.001), egzersiz gruplarında ise DS grubuna göre anlamlı azalmıştır (p<0.05). Egzersiz grupları arasında glikojen, fibrozis ve AFP düzeylerini karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0.05). Hepatosellüler karsinoma belirteci CK19'un DS grubunda bir hayvanda zayıf pozitiflik gösterdiği, KS ve egzersiz gruplarında ise boyanma olmadığı tespit edilmiştir.

**Tartışma:** Deneysel olarak Tip 2 diyabet oluşturulan STZ-NA modelinde, erken dönemde karaciğer dokularında steatozis, fibrozis, nekrozis ve AFP'nin arttığını, ilaveten haftalık toplam sürenin aynı kaldığı sürece farklı sıklıklarla yapılan egzersizin birbirine benzer şekilde steatozis, fibrozis, nekrozis ve AFP seviyelerinde iyileşme sağladığını belirledik. Sonuç olarak; haftalık 150 dakikalık orta şiddetli aerobik egzersizin farklı sıklıklarla da yapılırsa T2DM'ta erken dönem karaciğer hasarını azaltabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** STZ, T2DM, AFP, CK19, egzersiz

**P007**

**Deneyel Ülsertif Kolit Modelinde Oluşan Böbrek Hasarında Tiyaminin Etkisi**

Nazlı Deveci<sup>1</sup>, Selma Aydemir<sup>2</sup>, Betül Aksoy<sup>1</sup>, Başak Baykara<sup>2</sup>, Yeşim Öztürk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk Gastroenteroloji BD, İzmir

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, İzmir

**Amaç:** Ülsertif kolit, değişken sistemik ve ekstraintestinal tutulumlarla seyredabilen kronik ve tekrarlayıcı inflamasyon ile karakterize bir hastalıktır. Ülsertif kolitli bireylerde inflamasyon nedeniyle oksijen radikallerinin artışı bilinmektedir. Tiyamin hidroklorür (Vitamin B1) aminoasitlerin sentezi ve monosakkaritlerin enerji olarak kullanılması gibi birçok hücrenel süreçte yer alan önemli bir vitamin çeşididir. Antioksidan etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. Ancak Tiyaminin ülsertif kolitte meydana gelen böbrek hasarı üzerine etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda deneyel ülsertif kolit modelinde oluşan böbrek hasarında tiyaminin etkisini ışık mikroskopik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** Çalışmada 6- 8 haftalık (adölesan dönem) 200-250 gram 28 adet Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele dört gruba ayrıldı (n=7). Kontrol(K); oral gavaj ile steril serum fizyolojik verilen grup, Ülsertif kolit (ÜK) grubu; %5'lik DSS oral verilen grup, Tiyamin(T) Grubu; oral gavaj ile tiyamin hidroklorid (100mg/kg) verilen grup, Ülsertif kolit + Tiyamin (ÜK+ T) grubu %5'lik DSS ve tiyamin hidroklorid (100mg/kg) oral gavaj ile uygulandı. Denekler deneyin başlangıcından 21 gün sonra anestezi altında sakrifiye edildi. Böbrek dokuları %10 luk formalinle fikse edildi. Rutin doku takibi yapıldı. Parafin bloklardan 5 µ kesitler alındı. Hematoksilen-Eozin, Periyodik Asit Schiff ve Toluidin mavisi boyamaları yapıldı. Preparatlar, tübüler dilatasyon ve fırçamsı kenar kaybı, tübüler atrofi ve interstisyel kanamaya göre değerlendirildi. Hasar skorlaması semikantitatif olarak yapıldı. 0, hasar yok; 1, hafif hasar; 2, orta hasar ve 3, şiddetli hasar.

**Bulgular:** Kontrol ve Tiyamin verilen grupta normal böbrek histolojisi gözlemlendi. DSS ile oluşturulan kolit modelinde böbrek dokusunda, peritübüler infiltrasyon, tübüllerde epitelyal dokularda, epitel hücrelerinde şişme ve vakuolizasyon, mikrovillus kaybı ve glomerüllerde kapiller bazal membran kalınlaşması ve sklerotik değişiklikler saptandı. Hasar skorlaması kontrol grubuna göre yüksek saptandı. DSS+Tiyamin verilen grupta bu bulguların ve hasar skorunun azaldığı görüldü.

**Sonuç:** Tiyaminin, kolite bağlı böbrek hasarında inflamasyonu ve diğer histomorfolojik değişiklikleri azalttığı görüldü. Ülsertif kolitte artan reaktif oksijen türlerini azaltarak, antioksidan savunma sistemlerini destekleyerek bu etkiyi göstermiş olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Ülsertif Kolit, Rat, Böbrek, Histokimya

**P008****Tiyamin Hidroklorür'ün İnflamatuvar Bağırsak Hastalığında Karaciğer Üzerine Etkisi**

Selma Aydemir<sup>1</sup>, Nazlı Deveci<sup>2</sup>, Betül Aksoy<sup>2</sup>, Başak Baykara<sup>1</sup>, Yeşim Öztürk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, İzmir

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk Gastroenterolojisi BD, İzmir

**Amaç:** İnflamatuvar bağırsak hastalıkları günümüzde önemli morbite nedeni olmakla beraber mortalite oranları genellikle düşüktür. Ülseratif kolit (ÜK), değişken sistemik ve ekstraintestinal tutulumlarla seyredabilen kronik ve tekrarlayıcı inflamasyon ile karakterize bir hastalıktır. ÜK hastalarının büyük çoğunluğunda karaciğer ve safra yollarında hasar oluşmaktadır. Bağırsak mukozasındaki kayıp nedeniyle bariyeri aşan patojenler portal venöz sisteme geçerek karaciğer ve safrada inflamatuvar bir reaksiyon oluşturabilmektedir. Tiyamin hidroklorür (Vitamin B1) sinir ve sindirim sisteminde aminoasitlerin sentezi ve monosakkaritlerin enerji olarak kullanılması gibi birçok hücresel süreçte yer alan önemli bir vitamin çeşididir. Tiyamin özellikle karaciğerde glikoz metabolizmasında etkin rol oynamaktadır. Antioksidan etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. Ancak Tiyaminin ülseratif kolitte meydana gelen karaciğer hasarı üzerine etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda deneysel ülseratif kolit modelinde oluşan karaciğer hasarında tiyaminin etkisini ışık mikroskopik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** Çalışmada 6- 8 haftalık (adölesan dönem) 200-250 gram 28 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele dört gruba ayrıldı (n=7). Kontrol(K); oral gavaj ile steril serum fizyolojik verilen grup, Ülseratif kolit (ÜK) grubu; %5'lik DSS (Dekstran Sülfat) oral verilen grup, Tiyamin(T) Grubu; oral gavaj ile tiyamin hidroklorid (100mg/kg) verilen grup, Ülseratif kolit + Tiyamin (ÜK+ T ) grubu %5'lik DSS ve tiyamin hidroklorid (100mg/kg) oral gavaj ile uygulandı. Denekler deneyin başlangıcından 21 gün sonra anestezi altında sakrifiye edildi. Karaciğer dokuları %10'luk formalinle fikse edildi. Rutin doku takibi yapıldı. Parafin bloklardan 5 µ kesitler alındı. Hematoksilen-Eozin, Periyodik Asit Schiff, Gomori retikulum boyamaları yapıldı. Her preparatta rastgele seçilen 5 alan x20 büyütmede değerlendirildi. Hepatositlerde vakuolizasyon ve piknotik hepatositler, Sinüzoidal genişleme, konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu değerlendirilerek. karaciğer hasarı semikantitatif skorlama yapıldı. Hasar skorunda; hasar yok (0; -), hafif hasar (1; +), orta derecede hasar (2; ++ ) ve şiddetli hasar (3; +++). Elde edilen sonuçlar SPSS 22.0 programında değerlendirildi.

**Bulgular:** Kontrol grubunda hepatosit kordonları düzgün şekilde düzenlenmiş, sinüzoidler normal genişlikte, konjesyon ve nötrofil infiltrasyon gözlenmemiştir. Tiyamin grubu kontrol grubuna benzer özellik göstermiştir. Ülseratif kolit grubunda karaciğer parankiminde yer yer dağılmış hücre kordonları, nötrofil infiltrasyonu, sinüzoid genişlemesi konjesyon artışı, glikojen azalması tespit edildi. Hasar skorlaması kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı (p<0.05) Tiyamin+ÜK grubunda parankimal bütünlüğün devam ettiği, sinüzoidal genişleme ve hücre infiltrasyonu dolayısıyla hasar skorunun kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi (p<0.05).

**Sonuç:** Tiyamin Hidroklorür'ün, ülseratif kolite bağlı karaciğer hasarında inflamasyonu ve diğer histomorfolojik değişiklikleri azalttığı görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Tiyamin Hidroklorür, ülseratif kolit, rat, karaciğer



**P009**

**Sıçanlarda etanol ile oluşturulan deneysel ülser modelinde p-kumarik asitin iyileştirici etkisinin mikroskopik ve biyokimyasal düzeyde incelenmesi**

Serap Arbak<sup>1</sup>, Meltem Kolgazi<sup>2</sup>, Edanur Arsoy<sup>3</sup>, Gülşen Öztosun<sup>3</sup>, Müge Yalçın<sup>3</sup>, Simge Oral<sup>3</sup>, Neslişah Z Ünan<sup>3</sup>, Sümeyye Çilingir<sup>2</sup>, Merve Açikel Elmas<sup>1</sup>, Nilsu Atay<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı İstanbul

<sup>2</sup>Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı İstanbul

<sup>3</sup>Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem 3 Öğrencisi İstanbul

**GİRİŞ:** Peptik ülser, mide mukozasında oluşan ve mide duvarının iç katmanlarına dek nüfuz eden yaralarla belirgin bir hastalıktır. Deneysel olarak etanol ile oluşturulan ülser modelinde etanol, koruyucu mukozanın çözülmesine neden olarak mukozayı hidroklorik asit ve pepsin enziminin proteolitik ve hidrolitik faaliyetlerine maruz bırakarak mide hasarına ve ülsera neden olur. p-kumarik asit ise hidroksisünamik asit olan kumarik asitin 3 izomerinden biri olup, diyetle alınan birçok bitki çeşidinde bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda p-kumarik asitin bir çok iltihabi durumda antioksidan bir aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Bu bilgiden yola çıkarak sıçanlarda etanol ile oluşturulan deneysel ülser modelinde p-kumarik asitin doku koruyucu etkisini incelemeyi amaçladık.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmamızda erkek Wistar albino sıçanlar (250-300 g) (n=8/grup) kullanılmış olup, deney grupları şu şekilde planlanmıştır:

**Kontrol Grubu (A):** 1 ml %1 Tween-80 taşıyıcı olarak (kumarik asit çözücüsü) intragastrik (ig) olarak verildikten 60 dk sonra 1 ml serum fizyolojik (SF) ig olarak uygulanmıştır;

**Kumarik Asit Grubu (B):** 1 ml %1 Tween-80 içinde p-kumarik asit (250 mg/kg) ig olarak verildikten 60 dk sonra 1 ml SF ig uygulanmıştır;

**Ülser Grubu (C):** 1 ml %1 Tween-80 ig olarak verildikten 60 dk sonra 1 ml %75 etanol ig olarak verilerek ülser oluşturulmuştur;

**Ülser + Kumarik Asit Grubu (D):** 1 ml 1% Tween-80 içinde çözünmüş p-kumarik asit (250 mg/kg) ig olarak verildikten 60 dk sonra 1 ml %75 etanol ig olarak verilerek ülser oluşturulmuştur.

Etanol ya da SF uygulamasını takiben bir saat sonra tüm deney hayvanları hafif anestezi altında dekapite edilmiş ve mide doku örneklerinde mikroskopik ve makroskopik hasar skoru, Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, Malondialdehit (MDA) ve Glutasyon (GSH) düzeyi ölçümü yapılmıştır. Histopatolojik skor değerlendirmesi için doku kesitlerine hematoksilin ve eozin boyaması uygulanmış olup, histopatolojik skorlama epitelde dökülme, mukozada kanama, bez yapısında hasar ve eozinofil infiltrasyonu kriterleri bazında 0 ile 3 arası skorlama ile değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Ülser grubunda (C) makroskopik ( $p<0.001$ ) ve mikroskopik ( $p<0.001$ ) hasar skorları oldukça yüksek olarak bulunmuş olup, artmış MDA seviyesi ( $p<0.001$ ) and MPO ( $p<0.01$ ) aktivitesi ve bunların yanı sıra azalmış GSH ( $p<0.05$ ) içeriği mikroskopik düzeyde gözlenen yüzey epitelinde ve bez epitelinde ileri derecede harabiyet ve dökülme, ve yaygın mukozada kanama alanları eşliğinde izlenmiştir. Diğer tarafta, p-kumarik asit uygulanan ülser grubunda (D) mikroskopik bulgular hafif bir doku hasarını işaret ederken mikroskopik ( $p<0.001$ ) ve makroskopik ( $p<0.05$ ) hasar skorlarında azalmanın yanı sıra, aynı zamanda MDA seviyesi ( $p<0.01$ ) and MPO aktivitesinde de ( $p<0.01$ ) belirgin bir azalma izlendi. Gastrik GSH seviyesinde ise belirgin bir artış ( $p<0.05$ ) gözlemlendi.

**Sonuç:** Sonuç olarak bu çalışmada, histolojik ve biyokimyasal veriler ışığında p-kumarik asitin etanol ile oluşturulan deneysel ülser oluşumunda inflamasyonu engelleyerek doku hasarını önlediği gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Gastrik mukoza, mikroskopi, p-kumarik asit

**P010**

**Mikrovillus İnküzyon Hastalığı: Olgu Sunumu**

Zeynep Balık<sup>1</sup>, Işık Ünal<sup>2</sup>, Ersin Gümüş<sup>3</sup>, Hülya Demir<sup>3</sup>, Sevda Müftüoğlu<sup>2</sup>, Diclehan Orhan<sup>4</sup>, Aysel Yüce<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Ünitesi, Ankara

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik ve Perinatal Patoloji Ünitesi, Ankara

**Giriş:** Mikrovillus inküzyon hastalığı, ailesel mikrovillus atrofisi olarak da bilinen otozomal resesif geçişli hastalıktır. Yenidoğan döneminde görülen persistan diyarenin en sık sebebidir. Doğumdan itibaren inatçı ağır malabsorpsiyon nedeniyle büyüme geriliği gözlenir. Tanısı için ince barsak biyopsisi gereklidir. Villuslarda atrofi, kript hipoplazisi, fırçamsı kenar yapısında bozukluk görülür. İmmunohistokimyasal olarak CD10'a yönelik pozitif immünreaktivite normal barsak biyopsisinde yüzey epitelinde çizgisel tarzda ve fırçamsı kenarda izlenirken, mikrovillus inküzyon hastalığında sitoplazmadaki inküzyonlar nedeniyle pozitif CD10 sitoplazmik boyanması gösterilmiştir. Ancak kesin tanısı için elektron mikroskopik olarak mikrovillus inküzyonlarının gösterilmesi gerekir. Tek tedavisi barsak transplantasyonudur.

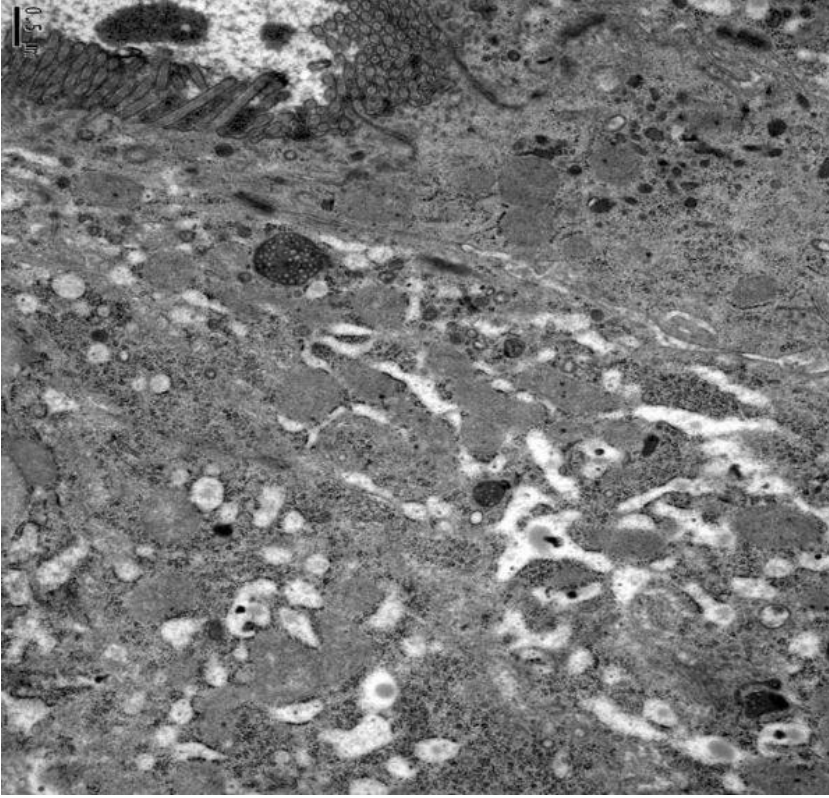
**Olgu:** Anne ve babasında akraba öyküsü olan ve doğumdan itibaren persistan ishali olan 22 aylık erkek bebek hasta, günde 12-13 defa kansız mukuslu ishal, kusma ve dehidratasyona bağlı bulgularla hastaneye getirildi. Fizik muayenesinde büyüme geriliği ve dehidratasyon saptanan hastada yağda eriyen vitaminlerden A vitamini, E vitamini ve D vitamini düzeyleri düşük saptandı. Yapılan gaita incelemesi ile metabolik ve enfeksiyöz nedenler dışlandı. Fekal kalprotektin, akut faz proteinleri, lipid profili ve ter testi normal bulunan hastada kronik ishal ve malabsorpsiyona neden olan kistik fibrozis, abetalipoproteinemi ve erken başlangıçlı inflamatuvar barsak hastalıkları dışlandı. Endoskopik olarak değerlendirilen hastada duodenumda nodülerite izlendi ancak kolon mukozası olağan bulundu.

**Histopatolojik inceleme:** Mikroskopik incelemeler için rutin ışık mikroskopi takibi yanısıra elektron mikroskopik inceleme yapıldı. Bunun için endoskopi sırasında alınan barsak biyopsi örnekleri %2 gluteraldehit ve ardından osmiyum tetroksit ile tespit edildikten sonra rutin elektron mikroskopi takibine alındı. Jeol-JEM 1400 elektron mikroskobu ile incelendi ve CCD kamera ile görüntülendi. Işık mikroskobu ile yapılan incelemelerde kolon biyopsisinde eozinofil lökositlerden zengin iltihabi infiltrasyon, duodenum biyopsisinde kronik iltihabi infiltrasyon izlendi. Elektron mikroskopik değerlendirilmesinde enterositlerde mikrovilluslarda azalma, yer yer kısa ve düzensiz yerleşimli mikrovillus yapıları, apikal sitoplazmada membranla çevrili mikrovillus inküzyonları izlendi (Şekil1-3). Bazı alanlarda intrasitoplazmik mikrovillus uzantıları izlendi. Lateral ve apikal sitoplazmada membranla sarılı çok sayıda lizozomlar görüldü. Enterositler arası bağlantı birimlerinin olağan yapıda olduğu ve goblet hücrelerinin müsinojen granüller ile dolu olduğu izlendi.

**Sonuç:** Mikrovillus inküzyon hastalığı, otozomal resesif geçiş gösteren nadir hastalıklardandır. Ayırıcı tanısında kronik ishal ve malabsorpsiyona neden olan hastalıkların dışlanması ile birlikte elektron mikroskopik değerlendirme gereklidir.

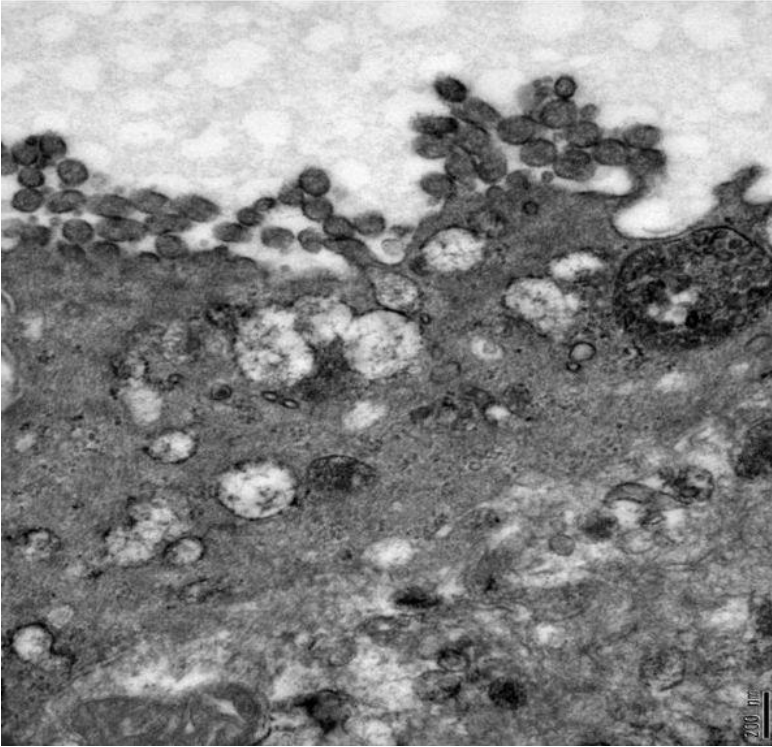
**Anahtar Kelimeler:** Mikrovillus inküzyon hastalığı, kronik ishal, malabsorpsiyon, elektron mikroskopi

**Şekil 1**



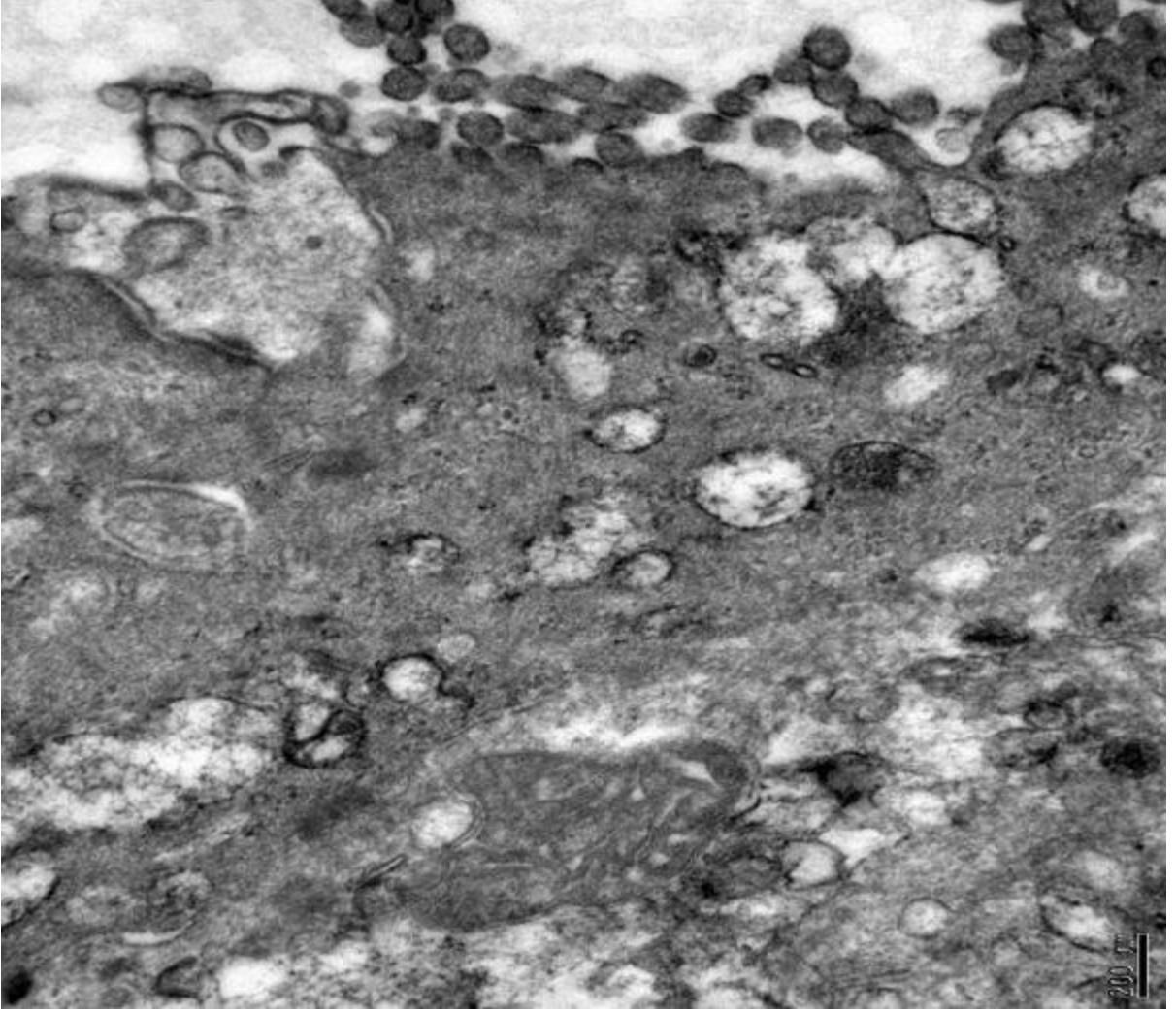
*Enterosit apikal sitoplazmasında membranla sarılı mikrovillus inklüzyonu, ince barsak biyopsi, x20000*

**Şekil 2**



*Enterosit yüzeyinde mikrovilluslarda azalma, apikal sitoplazmada membranla sarılı mikrovillus inklüzyonu, ince barsak biyopsi, x60000*

**Şekil 3**



*Enterosit yüzeyinde mikrovilluslarda azalma, apikal sitoplazmada mikrovillus inklüzyonu, ince barsak biyopsi, x60000*

**P011**

**Sleeve Gastrektomi ve Cerrahi Menopoz Yapılmış Sıçanların Mide Mukozasında G Hücrelerinin Dağılımının ve Morfolojisinin Değerlendirilmesi**

Ümit Mustafa Uğurlu<sup>1</sup>, Hayyam Babayev<sup>1</sup>, Sevil Arabacı Tamer<sup>2</sup>, Alper Yıldırım<sup>2</sup>, Damla Kayalı<sup>3</sup>, Feriha Ercan<sup>3</sup>, Cumhuriyet Yeğen<sup>1</sup>, Berrak Yeğen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>3</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**Giriş:** G hücrelerinden serbestlenen bir peptid hormon olan gastrin, pariyetal hücrelerde trofik etki eder; hidroklorik asit üretimini ve mide motilitesini düzenler. Obezite nedeniyle sleeve gastrektomi (SGx) uygulanan hastaların çoğunluğu kadındır ve kadınların da yarısından fazlası postmenopozal dönemdedir. Sıçanlarda overektomiye bağlı oluşan östrojen yokluğunun, SGx uygulamasının ve östrojen ya da östrojen agonistleri (ER) ile tedavinin mide mukozası ve mide mukozasında G hücrelerin dağılımı üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Obez olmayan Sprague-Dawley sıçanlar (n=128) ikiye ayrılarak, bilateral overektomi (OVx) veya taklit (T) overektomi (T-OVx) yapıldı. Sekiz hafta sonra, her iki gruptaki sıçanlarda midenin %70'i stapler ile çıkarılarak SGx veya T-SGx yapıldı. OVx+SGx, T-OVx+SGx, OVx+T-SGx ve T-OVx+T-SGx grupları tekrar 4 alt-gruba ayrılıp, 3 hafta boyunca 1mg/kg/gün dozunda östrojen (17- $\beta$  östradiol benzoat) veya ER- $\alpha$  agonisti (PPT, propil pirazol triol) veya ER- $\beta$  agonisti (DPN, diariloropiyonitriol), ya da taşıyıcı ile tedavi edildiler. Üçüncü haftanın sonunda dekapite edilen sıçanların östrojen ölçümü (ELISA) için serumları ve mide örnekleri alındı. Mide morfolojisi ışık mikroskopik ve taramalı elektron mikroskopik düzeyde değerlendirildi. Mide mukozasındaki G hücrelerinin dağılımı gastrin immünohistokimyası ile değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirme ANOVA ve Student'in t-testi ile yapıldı.

**Bulgular:** Menopoz geliştiğini doğrulayacak şekilde, T-OVx grupları ile kıyaslandığında tüm OVx gruplarında östradiol düzeyleri düşük bulundu ( $p < 0.001$ ). OVx yapılmış gruplarda daha fazla olacak şekilde, tüm SGx gruplarında mide mukozasının incelendiği ve yer yer yüzey epitelyumunda dökülme ve G hücre yoğunluğunda azalma olduğu gözlemlendi. Buna karşın östrojen/ER agonistleri ile tedavinin mide mukozasındaki incelmeyi ve yüzey epitelyumundaki dökülmeyi orta düzeyde düzelttiği ve G hücreleri yoğunluğunu da arttırdığı gözlemlendi.

**Sonuç:** Çalışmanın sonuçları OVx gruplarında mide mukozasının hasarlandığını ve gastrin üreten hücre sayısının azaldığını, mide küçültücü SGx ile bu hasarın ve G hücrelerindeki azalmanın daha fazla olduğunu ortaya koymuştur. Cerrahi karar alırken, SGx'nin menopoz-sonrası dönemde artmış mide mukozası hasarına, G hücresi kaybına ve gastrin eksikliğine bağlı mide fonksiyon bozukluklarına neden olabileceği dikkate alınmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Sleeve gastrektomi, gastrin, östrojen

**P012**

**Sıçanlarda Gebelikte Yapılan Akut ve Kronik Aerobik Egzersizin Yavrularda Prefrontal Kortekse Etkileri**

Başak Baykara<sup>1</sup>, Müge Kiray<sup>2</sup>, İlkay Aksu<sup>2</sup>, Celal Gençoğlu<sup>3</sup>, Selma Aydemir<sup>1</sup>, Nazan Uysal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, İzmir

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, İzmir

<sup>3</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Spor Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu, İzmir

**Amaç**

Gebelikte yapılan aerobik egzersiz, annenin fazla kilo alımını engelleyerek kaslarını güçlendirmekte, depresyonu ve anksiyeteyi engellemektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar gebelikte yapılan düzenli aerobik egzersizin yavruları da etkilediği görülmüştür. Hem erişkin hem de gençlerde düzenli aerobik egzersiz nöronları olumlu etkileyerek çeşitli beyin bölgelerinde nörogenезisi artırmaktadır. Prefrontal korteksin stres yanıtı ve duygusal yanıtları kontrol ettiği bilinmektedir. Prefrontal korteksi hasarlı insanların hem günlük yaşantılarında hem de laboratuvar testlerinde duygusal düzenlemede sorunlar olduğu görülmüştür. Bu çalışmada, gebelikte yapılan şiddetli akut, ılımlı akut ve kronik ılımlı egzersizin doğan yavrularda prefrontal kortekste bulunan nöron dansitesine ve bunların apoptozuna etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Materyal-Metot**

Çalışmada 8 adet Wistar Albino gebe sıçan kullanıldı. 4 gruba ayrıldı.

Kontrol: Herhangi bir egzersiz yapmayan anneler

Kronik ılımlı egzersiz yapan anneler: Haftada 5 gün 30 dakika, gebelikten 1 hafta önce 5m/dak, gebelikle birlikte 8 m/dak, gebelik son haftasında 6 m/dak

Akut şiddetli egzersiz yapan anneler: Gebeliğin 17. Gününde 30 dakika 25m/dak

Akut ılımlı egzersiz yapan anneler: Gebeliğin 17. Gününde 30 dakika 6 m/dak

Bu annelerden doğan her grupta 7 erkek,7 dişi yavru olacak şekilde ayrıldı. Yavrular doğumdan sonra 60 günlük olduğunda sakrifikasyon yapıldı. Sıçan Beyin atlasına (The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates George Paxinos and Charles Watson) plate 9,11 olan prefrontal korteks kesitleri 5 µm kalınlığında alındı. Nöron sayımı için Cresyl violet boyası, apoptoz için aktive caspase-3 immun boyası kullanıldı. Prefrontal korteksler X40 büyütmede birbiriyle örtüşmeyen benzer alanlar rastgele yöntemle seçildi. 15800 µm<sup>2</sup> lik alanda sayım yapıldı. Sayım sonucu elde edilen sonuçların ortalamaları alındı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. caspase-3 ile boyanan prefrontal korteksler X40 büyütmede birbiriyle örtüşmeyen alanlar rastgele yöntemle seçildi. Pozitif boyanmanın derecesi, yoğunluk ve dağılım açısından 0'dan 3'e kadar olan gösterge çizelgesi kullanılarak semi kantitatif skorlama ile değerlendirildi.

**Bulgular**

Kronik yapılan egzersizin prefrontal kortekste nöronların sayısını arttırdığını, apoptozisi azalttığını, akut yapılan egzersizin herhangi bir değişikliğe neden olmadığını bulduk. Ayrıca cinsiyet farkının sonuçları değiştirmedini gördük.

**Sonuç**

Elde ettiğimiz sonuçlar gebelikte düzenli egzersiz yapılmasının doğan yavruların anksiyete düzeylerini olumlu etkilediğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Rat, Egzersiz, Prefrontal korteks

**P014****Nesfatin-1 Nöronlarında Östrojen Reseptör Alfa Ekspresyonu**Ceren Oy<sup>1</sup>, Semiha Ersoy<sup>2</sup>, Zehra Minbay<sup>2</sup>, Özhan Eyigör<sup>2</sup><sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

**Amaç:** Gonadal hormonlar, özellikle östrojen, metabolizma ve enerji homeostazında önemli bir rol oynar. Östrojenin besin alımını baskıladığı bilinmektedir. Menapozda azalan östrojen seviyelerinin besin alımının artmasına neden olduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Ovariectomi uygulanmış deneklerde ise hiperfaji ve ağırlık artışı belirlenmiştir. Östrojen hormonları etkilerini reseptörleri (östrojen reseptör alfa ve beta) üzerinden gösterirler. Östrojen reseptörleri gen transkripsiyonunu düzenleyen nükleer reseptörlerdir. Çalışmalar östrojenin metabolik etkilerinin çoğunlukla östrojen reseptör alfa (ER- $\alpha$ ) üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir. ER- $\alpha$  hipotalamus, amigdala, hipokampus dahil olmak üzere beyinin çeşitli alanlarında eksprese edilir. Nesfatin-1 nöronları besin alımını baskılayan hipotalamik nöronlardır. Bu nöronların, açlık sonrası besin alımını takiben aktive olarak, sentezlediği nesfatin-1 peptidi güçlü anoreksijenik etki göstermektedir. Literatürde nesfatin-1 nöronlarında ER- $\alpha$  ekspresyonunu gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, östrojenin merkezi anoreksijenik etkilerinin nesfatin-1 nöronlarında eksprese edilen ER- $\alpha$  üzerinden direkt olarak gerçekleşip gerçekleşmediğinin ve bu ekspresyonda cinsiyetler arası olası farklılıkların belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, hipotalamik nesfatin-1 nöronlarında ER- $\alpha$ 'nın ekspresyonu ikili immünohistokimya tekniği kullanılarak araştırılmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmada erişkin Sprague Dawley türü dişi (n=5) ve erkek (n=5) sıçanlar kullanılmıştır. Beyin dokuları perfüzyon ile fikse edilmiştir. Sonrasında beyin örneklerinden vibratomla 40 mikrometre kalınlığında kesitler alınmıştır. Nesfatin-1 ve ER- $\alpha$  işaretlemeleri, yüzen kesitlerde ikili immünohistokimyasal yöntem kullanılarak yapılmıştır. Periventriküler çekirdeklerde ER- $\alpha$  ile ko-lokalize olan nesfatin-1 nöronlarının sayıları belirlenmiştir. Dişi ve erkek deneklerde ER- $\alpha$ -pozitif olan ikili işaretlenmiş nesfatin-1 nöronlarının tüm nesfatin-1 nöronları içerisindeki oranı hesaplanmıştır.

**Bulgular:** Çalışmamızın bu aşamasında hipotalamik periventriküler çekirdeklerde yerleşik nesfatin-1 nöronları incelenmiştir. Bu çekirdekte yerleşik nesfatin-1 nöronların da ER- $\alpha$  immünoreaktivitesi değerlendirildiğinde, dişi deney hayvanlarında yaklaşık %27, erkek deney hayvanlarında ise %23 oranında nesfatin-1 nöronunun ER- $\alpha$ -pozitif olduğu belirlenmiştir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda dişi ve erkek deney hayvanları arasında ER- $\alpha$  eksprese eden nesfatin-1 nöron sayıları bakımından anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

**Tartışma ve Sonuç:** Sonuç olarak bu çalışmada periventriküler alanda yerleşik nesfatin-1 nöronlarında ER- $\alpha$  ekspresyonunun varlığı literatürde ilk defa gösterilmiş olup, östrojenin ER- $\alpha$  aracılığıyla nesfatin-1 nöronlarının aktivitesini etkileyerek besin alımını baskılayabileceği düşünülmüştür. Dişi ve erkek denekler arasında ikili işaretlenen nesfatin-1 nöron sayısında anlamlı bir fark olmaması, östrojenin nesfatin-1 nöronlarına etkisinde cinsiyetler arası farklılığın olmadığına işaret etmektedir. Devam eden çalışmalarda hipotalamusun diğer alanlarında lokalize nesfatin-1 nöronlarında östrojen reseptörlerinin varlığı araştırılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Besin alımı, Nesfatin-1, Östrojen reseptör alfa

P015

**Akut Stres Uygulamalarında Nesfatin-1 Nöronlarının c-Fos Ekspresyon Profiline Karşılaştırılması**Gülçin Ekizceli<sup>1</sup>, Kıymet Zülal Halk<sup>1</sup>, Zehra Minbay<sup>2</sup>, Özhan Eyigör<sup>2</sup><sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

**Giriş:** Strese maruz kalan organizmada çok çeşitli metabolik ve davranışsal değişiklikler ortaya çıkar. İnsanlarda yapılan çalışmalarda stres sonrası her iki yönde de besin alımı değişiklikleri kaydedilmişken, deney hayvanlarında özellikle akut stres sonrasında besin alımının önemli oranda baskılandığı gösterilmiştir. Nesfatin-1 tokluk molekülü olarak da bilinen yakın zamanda tanımlanmış anoreksijenik bir peptittir. Çalışmamızda besin alımını baskılayan nesfatin-1 nöronlarının stres sonrası aktive olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, periventriküler ve paraventriküler çekirdekler başta olmak üzere hipotalamik alanlardaki nöronlarda nesfatin-1 ve c-Fos ko-lokalizasyonu ikili immünohistokimya yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmada genç erişkin Sprague Dawley tipi erkek ve dişi sıçanlar kullanılmıştır. Çalışma 6 grup altında gerçekleştirilmiştir; hareketsizlik stresi dişi (n=3) ve erkek (n=3), yüzme stresi dişi (n=3) ve erkek (n=3), stres kontrol dişi (n=3) ve erkek (n=3). Perfüzyon fiksasyonun ardından beyin örneklerinden vibratomla alınan 40 mikrometre kalınlığındaki kesitlerde ikili yüzen kesit immünohistokimyası yöntemi ile nesfatin-1 ve c-Fos işaretlemeleri yapılmıştır. Periventriküler, paraventriküler ve arkuat çekirdeklerdeki immüno-pozitif hücrelerin lokalizasyonunun belirlenmesini takiben bu alanlarda nesfatin-1 içeren nöronlar sayılmış ve bu nöronlardan c-Fos ekspresyon eden hücrelerin sayıları belirlenmiştir. Dişi ve erkek deneklerde c-Fos pozitif olan nesfatin-1 nöronlarının tüm nesfatin-1 nöronlarına oranı her hipotalamik bölge için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

**Bulgular:** Hareketsizlik ve yüzme stresi uygulanan deney gruplarında, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında periventriküler nukleus (PeN) ve paraventriküler nukleusdaki (PVN) nesfatin-1 nöronlarının yaklaşık üçte birinin dişi ve erkek deney hayvanlarında c-Fos pozitif immüno-reaktivite gösterdiği yani stres uygulaması sonrası aktifleştiği gösterilmiştir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda; tüm deneysel gruplarda erkek ve dişi deney hayvanları arasında ve hareketsizlik ile yüzme stresi grupları arasında c-Fos ekspresyon eden nesfatin-1 nöron sayıları bakımından anlamlı farklılık görülmez iken stres grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında c-Fos ekspresyon eden nesfatin-1 nöron sayıları bakımından stres gruplarında anlamlı artış izlenmiştir.

**Tartışma ve Sonuç:** Çalışmada belirtilen hipotalamik alanlarda besin alımını baskılayan bir molekül olan nesfatin-1 nöronlarının yaklaşık üçte birinin akut stres uygulaması sonucu aktifleştiğinin belirlenmesi, akut stres durumunda besin alımında kısmen baskılanmanın olabileceğini düşündürmüştür. Stres adaptasyonunda cinsiyete bağlı farklılıkların olduğu bilinmekle birlikte c-Fos ekspresyon eden nesfatin-1 nöronları açısından böyle bir durumun söz konusu olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak stres sonrası ortaya çıkan beslenme bozukluklarında, nesfatin-1 nöronlarının da bir rolü olabileceği değerlendirilmiştir.

(TÜBİTAK 116S748 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.)

**Anahtar Kelimeler:** Besin Alımı, C-Fos, Hareketsizlik stresi, Nesfatin-1, Yüzme stresi



**P016**

**Ratlarda prenatal dönemde 900 MHz elektromanyetik alana maruz kalmanın ventral koklear nukleustaki nöronlara etkisi**

Levent Tümkaya<sup>1</sup>, Orhan Baş<sup>2</sup>, Seda Çınar<sup>1</sup>, Tolga Mercantepe<sup>1</sup>, Zehra Topal Suzan<sup>1</sup>, Abdulkadir Özgür<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Rize

<sup>2</sup>Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Ordu

<sup>3</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Rize

**Amaç:** Koklear nukleus, kokleadan gelen tüm efferentleri alan ve işitsel bilgilerin işlendiği ilk merkezi sinir sistemi nukleusudur. İşitme ve dolayısıyla dil gelişimi ve öğrenme ile de ilgili olduğundan, klinik çalışmaların yanı sıra çok sayıda temel bilim disiplini de çalışma konusu olmuştur. Farklı morfolojik ve fizyolojik tipte nöronlar içeren koklear nukleus, ventral koklear nukleus (VKN) ve dorsal koklear nukleus olmak üzere iki alt nukleustan oluşur. Yapılan çalışmalarda işitmenin postnatal yaklaşık 11-12. günlerde olduğu ve işitsel uyarılara cevap alındığı bildirilmiştir. Gelişen teknolojiyle hayatımızın ayrılmaz bir parçası olan cep telefonlarının zararlı etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir. Merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileri araştırılmaya devam edilmektedir. Cep telefonu kullanımında kulak ile yakın temasta olacağından dolayı yaydığı elektromanyetik alana (EMA) karşı en duyarlı alan koklear nukleustur. Amacımız prenatal dönemde cep telefonuna maruziyetin gebe sıçanlardaki VKN'deki değişiklikleri ve buna bağlı işitme fonksiyonlarına etkisini araştırmaktır.

**Yöntem-Gereçler:** Çalışmamızda, Sprague-Dawley cinsi gebe sıçanlar EMA maruz kalan grup ve kontrol grubu olarak iki eşit gruba ayrıldı. İlk grup gebelik boyunca her gün aynı saatte 1 saat süreyle 900 MHz EMA maruz kalırken, kontrol grubu maruz bırakılmadı. Gebelik sırasında EMA maruz kalan ve kontrol grubundan doğan toplam 48 adet erkek sıçan kullanıldı. Her iki grupta postnatal 7. günde (P7), P10, P15 ve P30'da olmak üzere işitme öncesi iki grup ve işitme sonrası iki grup olmak üzere dört gruba ayrıldı. Sıçanlara postnatal 13. günde ABR (işitsel beyin sapı yanıtı) testi uygulandı. Sıçanlar belirlenen günlerde sakrifiye edildikten sonra beyin sapları rutin histolojik işlemlerden geçirilerek bloklandı. Bloklanan dokular kesit kalınlığı 4-5µm olacak şekilde koronal düzlemde kesildi. Hematoksilen-eozin ve kaspaz-3 ile boyanıp fotoğraflandırdıktan sonra istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Kontrol grubuna ait VKN'den alınan hematoksilen-eozin ile boyanmış ışık mikroskopik kesitlerde normal histolojik yapı özellikleri gözlemlendi. P7, P10, P15 ve P30 günlük EMA grubunda kontrol grubu deneklerinden farklı olarak hipertrofiye uğramış ve sitoplazmalarında geniş vakuollere sahip nekrotik nöronlar ve gliya hücreleri bulunduğu gözlemlendi. Ayrıca fragmente çekirdeklere sahip büzülmüş apoptotik nöronlar ve gliya hücrelerin bulunduğunu saptanmıştır. Maruz kalan grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ( $p < 0.05$ ). EMA gruplarında kontrol gruplarına kıyasla kaspaz-3 ekspresyonunda artış olduğu gözlemlendi. EMA grupları ile kontrol grupları aralarında değerlendirildiğinde kaspaz-3 pozitif nöron ve gliyal hücrelerde anlamlı bir fark gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Ancak yapılan işitme testinde kontrol grubu ile EMA grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).

**Sonuç:** Cep telefonlarından yayılan elektromanyetik dalgaların prenatal dönemde dahi sıçanların VKN'deki nöron ve gliyal hücrelerde histopatolojik değişiklikler oluşturduğu ancak bu zararlı etkinin işitme fonksiyonunu etkilemediği görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Cep telefonu, Elektromanyetik alan, Kaspaz-3, Koklear nukleus, Nöron

**P017****Wistar-Albino Irkı Sıçanların Böbreküstü Bezlerinde Gebelik sırasında Gözlenen Histolojik Değişimler**Özgür Eroğlu<sup>1</sup>, Serdar Yüksel<sup>2</sup><sup>1</sup>Van Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Androloji Ana Bilim Dalı, Van<sup>2</sup>T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Kiraz MTAL, İzmir

**Giriş:** Böbrek üstü bezleri, hamilelik süresince daha ağır ve daha büyük olmaktadır. Özellikle, hamilelikte böbrek üstü bezinden salgılanan kortizol, aldosteron hormonları ve cinsiyet hormonlarından östradiol düzeyinde belirgin artış olmaktadır. Bu fizyolojik değişimlerin böbreküstü bezi hücre ve tabakalarını da etkilediği düşünülmektedir.

**Amaç:** Gebeliğin böbreküstü bezi hücrelerinde yaptığı histolojik değişimleri tespit etmek.

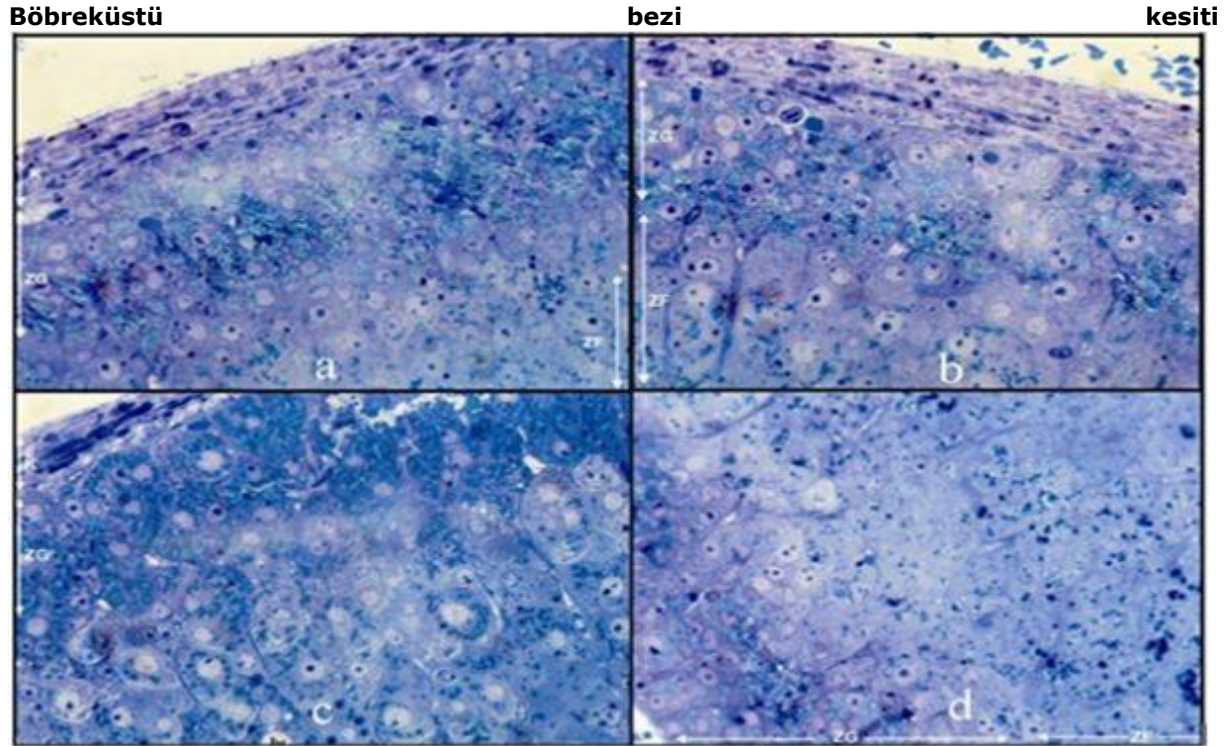
**Materyal-Metod:** Bu çalışmada kullanılan gebeliğin farklı dönemlerine ait böbreküstü bezi doku örnekleri, Ankara İbni Sina Hastanesi'nden sağlanan Wistar-albino ırkı, 1 yaşında ve ağırlıkları ortalama 350 g. olan dişi sıçanlardan sağlanmıştır. Çalışmada kontrol(gebe olmayan), 6, 12 ve 18 günlük gebe olmak üzere 4 grup kullanıldı. Mikroskopik incelemede elde edilen yarı ince kesitler Toluidin mavisi ile boyanarak BH2 Olympos fotomikroskopta incelenerek resimleri çekildi.

Bloklardan daha sonra alınan ince kesitler kurşun sitrat ve uranil asetat ile boyanarak Carl Zeiss 900 Elektron Mikroskopta 3000 büyütmede resimleri çekildi. Her bir grup için 3 hayvan, her hayvandan 2 blok, yaklaşık 10 seri kesit ve 30'a yakın dijital görüntü olmak üzere toplamda 12 hayvan, 24 blok, yaklaşık 120 seri kesit ve 400'e yakın dijital görüntü kullanıldı.

**Bulgular-Sonuç:** Morfometri çalışmalarında tpsDIG2w32 yazılımı kullanıldı. Hücre morfometrileri bakımından zona arkuata hücrelerinin nükleus çapları, hücre çapları ve alanlarının bütün gruplarda farklılık gösterdiği, zona fasikülata nükleus çaplarının büyük oranda farklı olmadığı, hücre çapları ve alanlarının birbirinden farklı olduğu, zona fasikülata hücrelerinin büyüklüklerinin gebelik sonuna kadar düzenli olarak arttığı, zona arkuata hücrelerinin gebelik günü ilerledikçe boyutlarının arttığı, fakat gebelik sonuna doğru küçüldükleri tespit edildi (Tablo 1).

Literatür araştırmalarına göre benzer çalışmalarda böbreküstü bezi korteksinde kalınlaşma görüldüğünü, zona arkuata hücreleri sayısında gruplar arasında önemli bir farkın olmadığını, zona arkuata hücrelerinde hiperplazi, zona fasikülata ve zona retikülaris hücrelerinde gebelerde kontrol grubuna göre birim alanda daha az sayıda hücre olduğunu, gebelerin hücrelerinde lipit miktarında artış olduğunu, lipofuksin pigmentleri, myelin figürleri ve polimorfik mitokondrilerin olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada zona kalınlığı ile ilgili yorumlar gözleme dayalıdır, ölçüm yapılmamıştır. Ayrıca zona arkuata hücrelerinin sayısının 0.1 mm<sup>2</sup>'lik alanda, kontrol grubunda 43,2±3,1 6 günlük gebelerde 35±2.3, 12 günlük gebelerde 12,8±2,2 ve 18 günlük gebelerde 18±4,3 olduğu ve zona fasikülata hücrelerinin 0.1 mm<sup>2</sup>'lik alanda kontrol grubunda 17,6±2.2, 6 günlük gebelerde 24±4.2, 12 günlük gebelerde 22±1.6 ve 18 günlük gebelerde 16,8±4.6 olduğu tespit edilmiştir. Birim alana düşen ortalama hücre sayıları gebelik günü ilerledikçe azalmaktadır. Bunun nedeni, artmış metabolik aktivite ve steroid sentezinde öncül madde olarak kullanılan yağ esterlerinin oluşturduğu, hücrelerde genişlemeye sebep olan lipit damlacıkları olabilir. Elektron mikroskobu fotoğraflarında ayrıca gebe grubun lipit damlacıklarının ve lipofuksin pigmentlerinin arttığı, mitokondriumların genişlediği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Böbreküstü bezi, Histoloji, Gebelik



Şekil 1. a. Kontrol grubu, b. 6 günlük gebe grubu, c. 12 günlük gebe grubu, d. 18 günlük gebe grubu zona glomerulosa (ZG) ve zona fasikülata (ZF) tabakaları (Toluidin mavisi, x200)

**Tablo**

**1**

**TABLO 1: Bütün grupların tanımlayıcı istatistikleri ve varyans analizi sonuçları.**

Ölçüm yeri	Grup	n	Zona glomerulosa		Zona fasikülata		
			Ortalama ± Std.Sapma	p	n	Ortalama ± Std.Sapma	p
Nükleus çapı	Kontrol grubu	67	3.68 ± 0.344 µm	<0.001	62	5.37 ± 0.561 µm	0.02
	6 günlük gebe sıçan	64	4.07 ± 0.302 µm *		63	5.33 ± 0.697 µm	
	12 günlük gebe sıçan	61	3.99 ± 0.238 µm *		64	5.03 ± 0.681 µm *, †	
	18 günlük gebe sıçan	61	3.44 ± 0.276 µm *, †, ‡		56	5.10 ± 0.351 µm *, †	
Hücre çapı	Kontrol Grubu	67	8.20 ± 0.821 µm	<0.001	62	12.56 ± 0.836 µm	<0.001
	6 günlük gebe sıçan	64	9.28 ± 0.766 µm *		63	12.23 ± 1.419 µm	
	12 günlük gebe sıçan	61	9.22 ± 0.724 µm *		64	19.55 ± 3.973 µm *, †	
	18 günlük gebe sıçan	61	7.90 ± 0.730 µm *, †, ‡		56	31.06 ± 1.704 µm *, †, ‡	
Hücre alanı	Kontrol Grubu	67	535.73 ± 114.788 µm <sup>2</sup>	<0.001	62	932.94 ± 147.830 µm <sup>2</sup>	<0.001
	6 günlük gebe sıçan	64	642.86 ± 99.167 µm <sup>2</sup> *		63	1095.26 ± 246.562 µm <sup>2</sup> *	
	12 günlük gebe sıçan	61	695.67 ± 101.591 µm <sup>2</sup> *, †		64	1892.89 ± 686.210 µm <sup>2</sup> *, †	
	18 günlük gebe sıçan	61	486.33 ± 95.738 µm <sup>2</sup> *, †, ‡		56	3872.60 ± 806.580 µm <sup>2</sup> *, †, ‡	

\*; kontrol grubu ile farklılıklar, †; 6 günlük ile farklılıklar, ‡; 12 günlük ile farklılıklar, §; 18 günlük ile farklılıklar göstermektedir.

Bütün grupların hücre çapı, nükleus çapı ve hücre alanı verileri

**P018****900 ve 2100 MHz Frekanslı Elektromanyetik Radyasyonun Sıçan Timusunda Endoplazmik Retikulum Stres Proteinleri CHOP ve GRP78 Üzerine Etkisinin Araştırılması**Ergi Kaya<sup>1</sup>, Esmâ Konuk<sup>2</sup>, Necdet Demir<sup>2</sup><sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya

**Amaç:** Günümüzde telefon, tablet, cep telefonu, bilgisayar ve elektrikli eşyalardan kaynaklanan elektromanyetik radyasyona (EMR) yoğun olarak maruz kalınmaktadır. EMR'nin organizma üzerindeki etkilerine yönelik çok sayıda araştırma gerçekleştirilmekle birlikte bu konu henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Sunulan çalışmada, yoğun EMR'a maruz kalmanın neden olacağı endoplazmik retikulum (ER) stresinin immün sistemde olumsuz etki yaratacağı hipotezi test edildi. Yapılan çalışmada, 900MHz ve 2100 MHz frekansındaki EMR'nin sıçan timusunda ER stres yolağı üzerine etkilerinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Her biri 20 Wistar erkek sıçan içeren; I) Sham- 1 hafta grubu, II) 900 MHz-1hafta grubu, III) 2100 MHz-1 hafta grubu, IV) Sham- 10 hafta grubu, V) 900 MHz 10 hafta grubu, VI) 2100 MHz 10 hafta grubu olmak üzere altı grup oluşturuldu. EMR, gruplarda günde 2 saat uygulanırken sham grupları aynı sürelerle deney düzeneğinde tutuldu. Deneyin ardından denekler sakrifiye edildikten sonra timusları çıkarılarak doku takibi yapıldı. Hazırlanan parafin kesitlerde, GRP78, CHOP, Clv caspase3 ve caspase12 için immunohistokimyasal boyama gerçekleştirildi.

**Bulgular:** GRP78 ekspresyonu, EMR uygulanmış gruplarda sham gruplarına göre anlamlı olarak yüksek düzeyde bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Ancak bu artış 900-1h grubunda genelde epitelioretikuler hücre sitoplazmalarında iken diğer gruplarda ek olarak timositlerde de izlenmiştir. CHOP ekspresyonunun sham gruplarıyla karşılaştırıldığında, EMR uygulanan gruplarda istatistiksel olarak önemli düzeyde artmış olduğu belirlenmiştir (2100-10h/Sham10h ve 21001h/Sham1h için  $p < 0,001$ , 900-10h/Sham10 için  $p = 0,004$ , 9001h/Sham1h için  $p = 0,003$ ). CHOP ekspresyon lokalizasyonunun, nükleus membranı ve sitoplazmada bulunduğu tespit edilmiştir. Caspase12 ekspresyonu değerlendirmelerinde EMR gruplarında daha yüksek düzeyde olduğu görülmüş, farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (900-1h/Sham1h  $p = 0,006$ , diğerleri  $p < 0,001$ ). Clv caspase3 değerlendirmelerinde de diğer gruplara benzer şekilde EMR gruplarında sham gruplarına göre anlamlı artış tespit edilmiştir ( $p < 0,001$ ).

**Sonuç:** EMR uygulanmasının, timusta ER stresinde görev alan proteinlerin ekspresyon düzeyinde artışa neden olduğundan, hücrelerde ER stresi yaratarak apoptoza sürükleyebileceği düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** apoptozis, elektromanyetik radyasyon, er stres, timus

**P019**

**Gentamisin Neden Olduğu Nefrotoksisitede Curcuminin NFkB ve Nrf2 Sinyal Yolakları Üzerinden Koruyucu Etkisi**

Duygu Uzun Gören, Yeşim Hülya Uz

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne

**Giriş:** Gentamisin, hayatı tehdit eden gram negatif bakteri enfeksiyonlarına karşı yaygın olarak kullanılan aminoglikozid grubu bir antibiyotiktir. Ancak, yan etkisi olan nefrotoksisiteye sebep olması dolayısıyla ilacın kullanımı sınırlandırılmıştır. Gentamisin neden olduğu nefrotoksisitenin büyük oranda oksidatif stresten kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, oksidatif strese cevap olarak nükleer faktör kappa B (NFkB) aktivasyonu yolu ile renal inflamasyona yol açtığı üzerinde durulmuştur. Nükleer faktör eritroid 2-ilişkili faktör 2 (Nrf2), pek çok sitoprotektif gen ekspresyonunda görev alan bir transkripsiyon faktörüdür. Nrf2 aktivasyonu, antioksidan defans sistemini uyararak inflamatuvar yolağın baskılanmasında rol oynar ve hücreyi oksidatif strese karşı korur. Curcumin, Zingiberaceae (Zencefilgiller) familyasına ait Curcuma longa bitkisinin yumrusundan elde edilen bir ajandır ve antioksidan aktivitesinin yanı sıra, antitümöral, antiinflamatuvar ve antidiyabetik etkileri de rapor edilmiştir.

**Amaç:** Bu çalışmada, gentamisin neden olduğu nefrotoksisitede curcuminin NFkB ve Nrf2 sinyal yolakları üzerinden koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı.

**Gereç-Yöntem:** Kırk adet Wistar albino erkek sıçan (200-250 g) her birinde on adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Birinci grup, kontrol grubu olarak belirlendi ve dimetilsülfoksit (curcuminin içinde çözündüğü) intragastrik yol ile 15 gün boyunca verildi. İkinci (curcumin) ve dördüncü (gentamisin+curcumin) gruba, curcumin (100 mg/kg/gün) intragastrik yol ile 15 gün boyunca verildi. Üçüncü (gentamisin) ve dördüncü (gentamisin+curcumin) gruba ise gentamisin (80 mg/kg/gün) intraperitoneal yol ile son 10 gün enjekte edildi. Sıçanlar, ksilazin-ketamin anestezisi altında 15. günde sakrifiye edildi ve böbrekler çıkarılarak %10'luk formol ile fikse edildi. Rutin doku takibi ardından immünohistokimyasal olarak NFkB ve Nrf2 antikorları ile boyandı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak analiz edildi.

**Bulgular:** Kontrol ve curcumin grubu böbrek dokuları değerlendirildiğinde, NFkB immünoaktivitesinin her iki grupta da zayıf seviyede olduğu gözlemlendi. Buna karşılık, gentamisin verilen grupta NFkB immünoaktivitesi kontrol ve curcumin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi. Curcumin tedavisi, gentamisin neden olduğu NFkB immünoaktivitesindeki artışı anlamlı derecede azalttı. Bununla birlikte, antioksidan defans sistemi üyesi olan Nrf2 immünoaktivitesi, kontrol ve curcumin grubunda benzer olarak güçlü seviyede iken, gentamisin grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdi. Curcumin tedavisinin uygulanması ile immünoaktivitede anlamlı bir artış belirlendi.

**Sonuç:** Bu çalışma, curcumin tedavisinin; gentamisin neden olduğu nefrotoksisitede, NFkB sinyal yolağının inhibisyonu ve Nrf2 sinyal yolağının aktivasyonunu sağlayarak koruyucu etki sağlayabileceğini ileri sürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Curcumin, gentamisin, nefrotoksisite, nükleer faktör eritroid 2-ilişkili faktör 2, nükleer faktör-kappa B

**P020**

**Gümüş Nanopartikülünün Boyut ve Doz Bağımlı Olarak Böbreklere Etkisinin Araştırılması**

Mehmet Enes Sözen<sup>1</sup>, Halime Tuba Canbaz<sup>2</sup>, Burcu Gültekin<sup>2</sup>, Seda Çetinkaya<sup>3</sup>, Gökhan Cüce<sup>2</sup>, Sabiha Serpil Kalkan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya

<sup>2</sup>Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

<sup>3</sup>KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

**Amaç-gereç:** Çalışmamızdaki amacımız gümüş nanopartikülünün doz ve boyut bağımlı olarak vücutta en çok yerleştiği organlardan olan böbreklere etkisinin araştırılması.

**Yöntemler ve Bulgular:** Çalışmamızda 200-300 gr arasında değişen 4 aylık 35 adet Wistar Albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar standart diyet ve çeşme suyu ile beslendiler, 22 ± 2 °C oda sıcaklığı, % 60 nem oranı, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ritmi olan ortam kullanıldı. Sıçanlar I. Grup kontrol, II. Grup 20 nanometre (nm) 50 mg/kg, III. Grup 20 nm 300 mg/kg, IV. Grup 80-100 nm 50 mg/kg, V. Grup 80-100 nm 300 mg/kg gümüş nanopartikülü uygulanan gruplar olarak 5 gruba ayrılmıştır. Gümüş nanopartikülü uygulamadan hemen önce 20 dk ultrasonik sonikatör ile çeşme suyu içinde karıştırılmıştır ve 10 gün süreyle uygulanmıştır. Yirmilik büyütme alanı rastgele seçilmiştir ve her grup için apoptotik hücre/100 tübül hücresi sayılarak hesaplanmıştır. TUNEL pozitif hücre sayısı tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. 20 nm 50 mg/kg grubu 80 nm 50 mg/kg ve 80 nm 300 mg/kg gruplarıyla benzer ortalamalara sahip olarak bulundu. TUNEL pozitif hücre sayısı 80-100 nm 300 mg/kg grubunda 80-100 nm 50 mg/kg grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. En yüksek TUNEL pozitif hücre sayısı 20 nm 300 mg/kg grubunda bulundu ve tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi.

**Sonuç:** Gümüş nanopartikülünün böbreklerdeki toksik etkisini; 20nm boyutlu ve 300mg/kg lık grupta anlamlı farklılık gösterdiği görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** böbrek, nanopartikül, TUNEL

**P021****Ligamentum flavum hipertrofinin histolojik olarak değerlendirilmesinde yeni bir skorlama sistemi**Özlem Delen<sup>1</sup>, Emre Delen<sup>2</sup>, Ahmet Tolgay Akıncı<sup>2</sup><sup>1</sup>Trakya Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Edirne<sup>2</sup>Trakya Üniversitesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Edirne

**Giriş:** Ligamentum flavum (LF), medulla spinalisi posterolateral düzlemde saran omurganın arka ligamanlarından. Sağlıklı bireylerde LF'un elastik ve kollajen lifleri belirli bir oranda bulunur. LF hipertrofinin yaşlanma süreciyle ya da mekanik instabiliteye sekonder olarak gelişen dejeneratif değişikliklerle ilişkili olduğu bilinmektedir. Omurganın dejeneratif sürecinde bu oran bozulur ve kollajen liflerinin miktarı artarak fibrozis gelişir. Sonuçta LF'da hipertrofi gelişmesi ile ligamanın kalınlığı artarak medulla spinalisi daraltır ve lomber dar kanal (LDK) hastalığı ortaya çıkar. Bu çalışmada, LF hipertrofi için yeni bir histolojik skorlamayı tanımlamak amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Bu çalışmada, lomber disk hernisi (grup1:kontrol; n=7) ve LDK tanısıyla (grup2:hasta; n=18) ameliyat edilen hastalardan alınan LF doku örnekleri kullanıldı. Dokular %10 formolin solüsyonunda fikse edildi. Rutin doku takibi aşamalarının sonunda sert parafine gömüldü. Mikrotomla 4µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinize edilen kesitler alkol serilerinden geçirilerek Masson trikrom boyasıyla boyandı. Histopatolojik olarak fibrozis değerlendirildi. Olympus BX-51 mikroskop ile 200X büyütmede fotoğraflandı. Argenit Kameram 2.11.5.1 programıyla, Sairyo ve ark (1) tarafından önerilen skorlama kullanılarak, iç ve dış membranların fibrozis alanlarının yüzdesi hesaplandı. Grade 0; fibrotik saha yok, Grade1: %25'den az fibrotik saha, Grade2: %25-50 fibrotik saha, Grade3: %50-75 arası fibrotik saha, Grade4: >%75 fibrotik saha olarak skorlama yapıldı.

**Bulgular:** Grup 1 olgularının yaş ortalaması 52,5 (±12,2) iken grup 2 için 62,1 (±9,1) idi. Grup 1 deki 7 hastanın 2'si, diğer grupta ise 18 hastanın 10'u kadındı. Sairyo skorlamasına göre; iç membran grade ortalaması Grup1'de 1,14 (±0,37) ve grup2'de ise 1,11 (±0,32) idi. Dış membran grade ortalaması ise sırasıyla 2,14 (±0,69) ve 3,77 (±0,42) idi. Bizim önerdiğimiz skorlamaya göre; dış/iç membran kollajen lif yüzdesi oranlandığında grup 1'in ortalaması 2,29 (±0,60) ve grup 2'nin 5,32 (±2,00) olarak hesaplandı. Hasta ve kontrol grubu kıyaslandığında dış/iç membran oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıydı (p<0,001).

**Tartışma:** LF anatomik olarak iç ve dış olmak üzere iki membran oluşur. Omurganın vücut yükünü taşıması sırasında dış membran, yüklere daha fazla maruz kalır. Bu bakımdan omurganın dejeneratif sürecine bir yanıt olarak gelişen hipertrofi LF'un dış membranında daha etkin bir şekilde görülür ve bu LDK'nın temelinde yatan mekanizmadır. Bu bakımdan yazarlar, LF hipertrofinde, dış ve iç membranın kollajen liflerinin oranlanmasını yeni bir histolojik skorlama olarak önermişlerdir.

**Sonuç:** LF hipertrofinin histolojik skorlamasında dış ve iç membran kollajen lif miktarının oranlanması, mekanizmayı daha iyi yansıttığı düşünülmektedir.

(1) Sairyo K, Biyani A, Goel VK, Leaman DW, Booth R Jr, Thomas J, Ebraheim NA, Cowgill IA, Mohan SE. Lumbar ligamentum flavum hypertrophy is due to accumulation of inflammation-related scar tissue. Spine 2007;15:32(11),E340-7

**Anahtar Kelimeler:** ligamentum flavum, fibrozis, skorlama, masson trikrom

**P022****Konjenital 3., 5., ve 7. sinir hipoplazisi/ aplazisi olan bir olguda ekstraoküler kasların histopatolojik bulguları**İrem İnanc<sup>1</sup>, Pinar Bingöl Kızıltunç<sup>2</sup>, Belgin Can<sup>1</sup>, Huban Atilla<sup>2</sup><sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Kranial sinirlerin anormal gelişimi konjenital kranial disinnervasyon bozukluğu adı verilen bir grup hastalığa neden olmaktadır. Duane Sendromu, konjenital ekstraoküler kas fibrozisi, Möbius Sendromu, izole konjenital pitoz ve konjenital fasiyal paralizi bu bozukluklardandır. Yapılan çalışmalarda bu tip hastaların göz kas biyopsileri değerlendirildiğinde kollajen ve fibröz dokunun arttığı, kas fibrillerinin azaldığı ve atrofi gözlemlendiği belirtilmektedir. Çalışmamızda klinik muayenesinde görme bozukluğu, her yöne hareket kısıtlılığı, geniş açılı ekzotropya ve bilateral pitozisi olan hastanın şaşılık ameliyatı sonrası ekstraoküler kas yapısı histopatolojik ve ince yapısal düzeyde değerlendirildi.

**Gereç ve Yöntemler:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Kliniğine başvuran 17 yaşındaki erkek hastadan ameliyat sırasında sağ ve sol gözün iç rektus kasından rezeksiyonla alınan örnekler ışık mikroskopi takip yöntemleri için tamponlu formaldehite konuldu. Rutin takip yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklar haline getirilen örnekler 4µ kalınlıkta kesilip Hematoksilen&Eosin ve Mallory Azanla boyandı. İnce yapısal gözlem için örnekler tamponlu gluteraldehitte tespit edilip elektron mikroskopi takip yöntemleri uygulanarak araldite gömüldü. Yarı ince kesitler toluidin mavisiyle boyandı, ardından ince kesitler LEO 906 E Geçirimli Elektron Mikroskopunda gözlemlendi.

**Bulgular:** Hastanın ameliyatı sırasında makroskobik olarak sağ dış rektus kası ileri derecede fibrotik ve ince, iç rektus kası da ince fakat dış rektusa göre daha iyi olduğu gözlemlenip alt oblik kası izlenmedi. Sol gözde dış rektus kası normalden iç rektus kasında yağ dejenerasyonu ve atrofi gözlemlenip alt oblik kas izlenmedi. Hastanın beyin MR sonucunda bilateral 7. sinirler izlenememiştir (aplazi). Bilateral 5. sinirlerde hipoplazik görünüm tespit edilmiştir. Bilateral 3.sinirlerin intrasisternal segmentleri izlenememiştir. H&E ve Mallory Azan boyamasıyla her iki gözün iç rektus kasında kollajen miktarının oldukça yoğun olduğu belirlendi. Geçirimli elektron mikroskopi incelemesinde sağ rektus kasında kollajen liflerinde artış, sol rektus kasında Z bandında anomaliler gözlemlendi.

**Sonuç:** Konjenital kranial disinnervasyon bozuklukları; ilerleyici olmayan, sporadik veya ailesel görülen anormal göz, göz kapağı ve/veya yüz hareketleriyle karakterize edilen kranial sinirlerin gelişimsel anomalilerindendir. Yapılan çalışmalarda bu hastalıkların göz kas biyopsilerinde kas dokusunun yerini fibröz bağ dokusunun aldığı belirtilmiş, histolojik analizler iç rektus kasında kollajen ve fibröz dokunun arttığı, kas fibrillerinde sayısal olarak azalma ve atrofi gözlemlenmiştir. Bu vakada da yaptığımız histolojik ve ince yapısal seviyedeki değerlendirmelerde, önceki çalışmaları destekler nitelikte olup kollajen miktarının artışı ve kasın yapısal düzenleniminde anomali gözlemlenmiştir. Literatürde bu hastalıkların teşhisinde III, IV ve VI. kranial sinirlerin görüntülerinin değerlendirildiği çalışmalar bulunmaktadır. Çalışmamızda bu olgu üzerinden III. sinire ek olarak V.sinirde hipoplazi ve VII. sinirde aplazi gözlemlenmesi kranial disinnervasyon bozukluklarına dahil edilebilecek yeni bir alt grup olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** göz iç-dış rektus kası, histopatoloji, konjenital kranial disinnervasyon bozukluğu



**P023**

**Farede Prenatal ve Postnatal Dönem Ovaryum ve Testis Gelişiminde c-Abl Tirozin Kinaz ve mTERT Telomeraz Katalitik Alt Ünitesinin Ekspresyonunun Gösterilmesi**

Ecem Yıldırım, Aylın Yaba Uçar

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

**Giriş**

Abelson tirozin kinaz (c-Abl) hücre proliferasyonu ve büyümesi gibi çeşitli hücre fonksiyonları için önemli bir reseptör olmayan tirozin kinazdır. Telomeraz ters transkriptaz (TERT) telomerazın bir alt birimidir ve telomeraz aktivitesini gösterir. Telomeraz fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli rolü olduğu bilinen c-Abl ve mTERT'in, farede prenatal ve postnatal gonadal gelişim sürecinde önemli bir rol oynayabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda prenatal ve postnatal gonad gelişiminde c-Abl ve mTERT'in lokalizasyonunu göstermeyi amaçladık.

**MATERYAL- METOD**

Çalışmamızda embriyonik (E) 10.5, 11.5, 12.5 ve 13.5, postnatal (PN) 1, 3, 5 ve 9. günlerden ve 25 haftalık farelerden gonadlar izole edildi. Gonadların gelişimsel morfolojisini karşılaştırmak için hematoksilen-eozin boyama yapıldı. c-Abl ve mTERT'in lokalizasyonu immüno Floresan boyama ile tespit edildi ve konfokal mikroskop ile görüntüldü. c-Abl ve mTERT ekspresyonları protein ve mRNA seviyesinde sırasıyla western blott ve qRT-PCR yöntemi ile belirlendi.

**SONUÇLAR**

Embriyonik 10.5, 11.5, 12.5 ve 13.5 günlerde morfolojik değerlendirme ile belirlenen bölgelerdeki germ hücrelerinde ve foliküler hücrelerde c-Abl ve mTERT lokalizasyonu gözlemlendi. Postnatal 1, 3, 5 ve 9 günlük ovaryumlarda c-Abl lokalizasyonu sadece oositte sitoplazmik olarak belirlenirken, yetişkin ovaryumunda oosit ve granuloza hücrelerinde gözlemlendi. mTERT ekspresyonu 1, 3 ve 5. günlerde c-Abl ekspresyonuna göre daha zayıf olarak görülürken, 9. günde granuloza hücrelerinde ekspresyonun arttığı belirlendi. Testis dokusunda 1, 3, 5 ve 9. günlerde c-Abl immünoaktivitesi Sertoli hücrelerinde belirgin bir şekilde görüldü. PN 5 ve 9. günlerde c-Abl lokalizasyonu Leydig hücrelerinde izlenirken mTERT ekspresyonu bu hücrelerde zayıf olarak görüldü. Erişkin testiste seminifer tübül lümeninde bulunan spermatidlerde c-Abl immünoaktivitesi, mTERT'ten daha yoğun olarak tespit edildi.

qRT-PCR sonuçlarımızda, E10.5, 11.5, 12.5 ve 13.5 mTERT'in mRNA ifadesi c-Abl'e göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. PN 1, 3, 5 günlük ovaryumlarda mTERT ekspresyonunun c-Abl ekspresyonundan yüksek, PN 9. gün ovaryumda ise c-Abl ekspresyonu mTERT ekspresyonuna oranla daha yüksek belirlenmiştir. PN 1. gün testiste c-Abl ve mTERT ekspresyon seviyeleri benzer olarak izlenirken, PN 3, 5, 9 günlük testiste mTERT ekspresyonu c-Abl ekspresyonundan yüksek bulunmuştur. Yetişkin ovaryum ve testiste mTERT ekspresyonu c-Abl ekspresyonuna oranla yüksek bulunmuştur. c-Abl ve mTERT protein seviyelerinin gonadal gelişim sürecinde ovaryum ve testis dokusunda yaşa bağlı olarak arttığı belirlenmiştir.

**TARTIŞMA**

Embriyonik ve postnatal gonad gelişimi sürecinde c-Abl ve mTERT lokalizasyonları, protein ve mRNA seviyeleri farklılık göstermiştir. c-Abl tirozin kinaz ve mTERT telomeraz katalitik alt ünitesinin prenatal ve postnatal dönemde ovaryum ve testisin sağlıklı olarak gelişmesi açısından belirleyici faktörler olabileceğini düşünmekteyiz. c-Abl ve mTERT ekspresyon seviyelerinin ovaryum ve testis gelişiminde ortaya koyulmasının, özellikle gonadal gelişim anomalilerinde literatüre katkı sağlayacağına inanmaktayız.

**Anahtar Kelimeler:** c-Abl, mTERT, ovaryum, testis

**P024**

**Gebe Ratlarda Hipotiroidi ve Hipertiroidinin Sonuçları ve Hofbauer Hücre Davranışı**

Gökçen Bilici<sup>1</sup>, Güven Erbil<sup>1</sup>, Zahide Çavdar<sup>2</sup>, Cemre Ural<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.D

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp A.D.

**Amaç:** Maternal hipotiroidi ve hipertiroidi anne ve fetus arasında gaz, besin değişimi, hormon üretimi, fetüsün korunması gibi görevleri olan plasenta gelişiminde etkili olmaktadır. Literatürde, deneysel olarak oluşturulmuş hipotiroidi ve hipertiroidili gebelerde Hofbauer hücreleri ile yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Amacımız, deneysel olarak maternal hipotiroidi ve hipertiroidi oluşturduğumuz deneklerden elde edilen plasentalarda Hofbauer hücrelerinden eksprese edilen VEGF ve SPRY2'de ki değişim ile bu annelerden doğan yavrulara etkisinin morfolojik, histolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal olarak incelemektir.

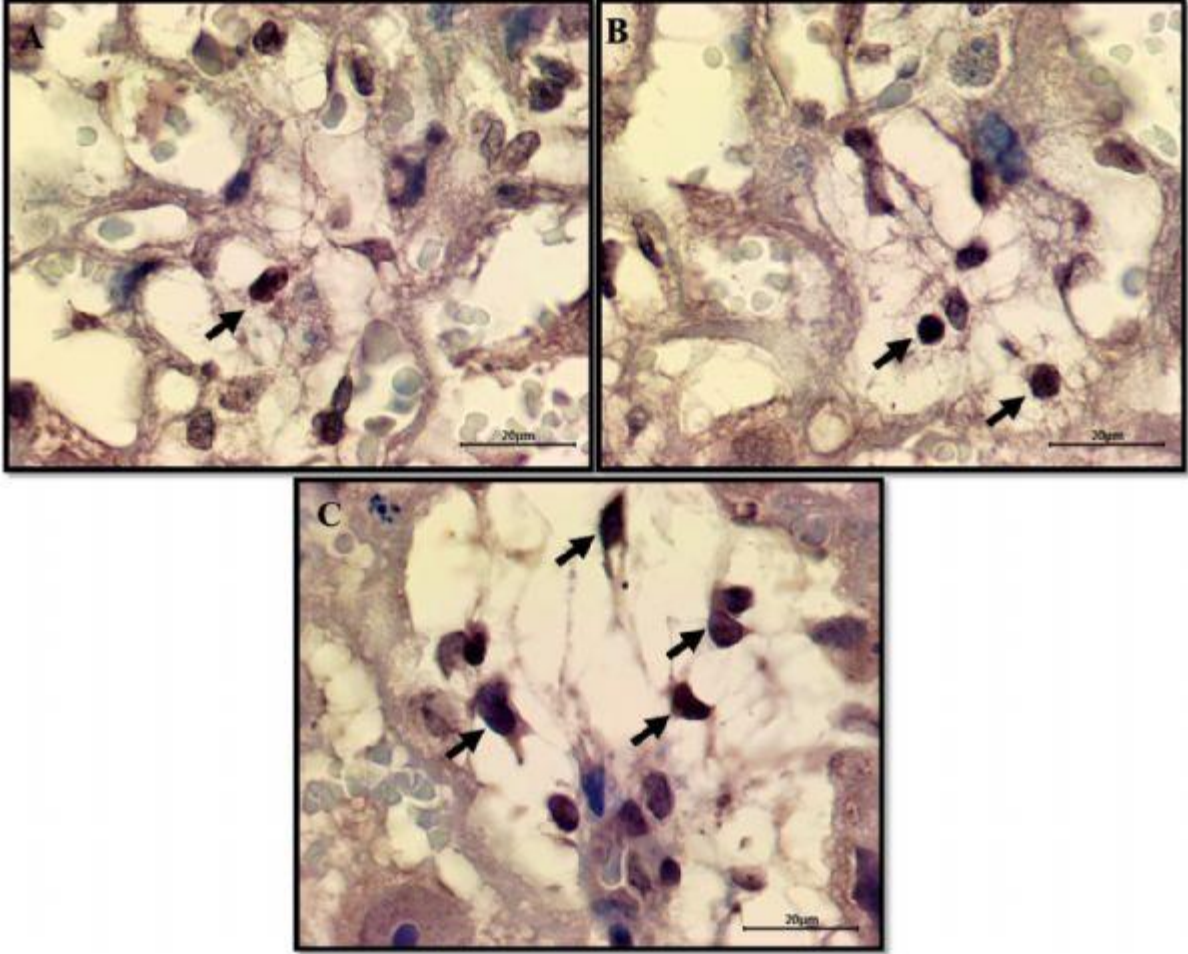
**Yöntem-Gereçler:** 21 adet Wistar suşu albino dişi sıçan rastgele 3 gruba (Kontrol, Hipotiroidi ve Hipertiroidi) ayrılmıştır. Kontrol grubuna distile su, Hipotiroidi grubuna 1 mg/denek gün o.g Propiltiourasil ve Hipertiroidi grubuna 50µg/denek/gün o.g Levotiroksin uygulaması yapıldı. Katıma almadan 5 gün önce ilaç uygulamalarına başlandı ve 5. Gün denekler erkek sıçanlar ile katıma alındı. Ertesi gün erkek sıçanlardan ayrılan denekler gebe kabul edilerek bireysel olarak kafeslendi. Gebeliğin 19. gününe kadar uygulamalara devam edildi ve 19. günde eter anestezisi altında sezaryen ile plasenta ve fetüsler alındı. Denek, plasenta ve fetüs ağırlıkları ile fetüs sayıları değerlendirildi. Histolojik incelemeler (H&E, PAS ve Masson Trichrome) ve CD68, VEGF ve SPRY2 immün boyamaları yapıldı. ELISA ile serum FT4 ve VEGF protein miktarları ölçüldü.

**Bulgular:** Deney sonunda maternal, fetal ve plasental ağırlıklar ve fetüs sayısı hipotiroidi ve hipertiroidi grubunda daha düşük bulundu. Plasental tabaka kalınlıklarına baktığımızda hipotiroidi ve hipertiroidi grubunda, labirent zon kalınlığı azalmış, bazal zon ve desidua bazalis kalınlığı artmıştı. Bazal zondaki glikojen hücre grupları hipotiroidi ve hipertiroidi grubunda artış gösterdi. Bağ doku miktarında gruplar arası bir değişiklik saptanmadı. CD68+ Hofbauer hücrelerinin sayısı ve VEGF immünreaktivitesi hipotiroidi ve hipertiroidi grubunda artmış, SPRY2 immünreaktivitesi azalmıştı. Elde edilen fetüslere yapılan iskelet boyaması sonucunda kemikleşmenin kontrol grubu fetüslerine göre geri kaldığı görüldü. Serum FT4 değerleri bazal değerlere göre hipotiroidi grubunda azalmış, hipertiroidi grubunda artmıştı. VEGF protein ekspresyonu da kontrol grubuna göre artış göstermişti.

**Sonuçlar:** Elde ettiğimiz sonuçlar maternal tiroid bozukluklarının plasental makrofajlar olan Hofbauer hücreleri üzerinde sayısal değişikliğe neden olduğunu ve protein ekspresyonunda birbiri ile korelasyon içinde artış ve azalma meydana geldiğini göstermiştir. Fetüslerde de özellikle ekstremitelerde gelişme geriliği, düşük doğum ağırlığı gibi sonuçlar elde ettik.

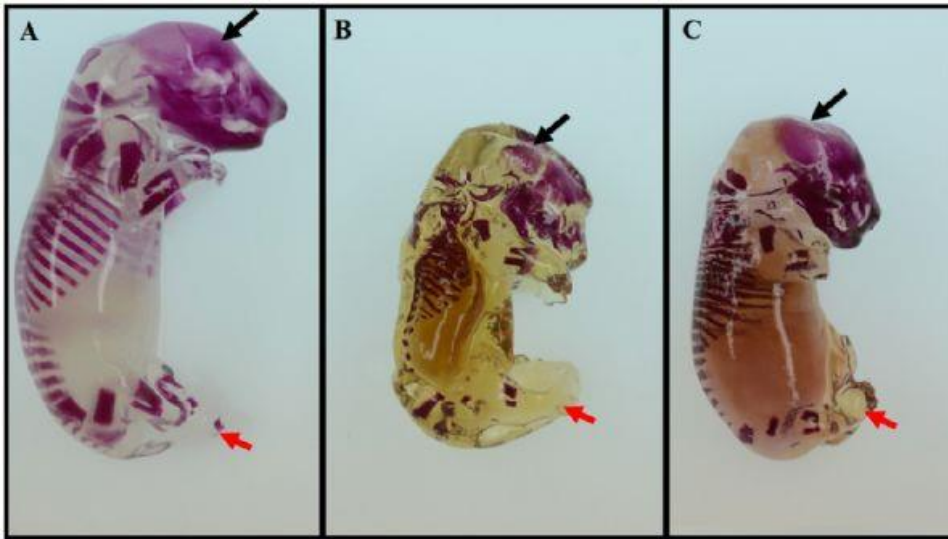
**Anahtar Kelimeler:** Hipertiroidi, hipotiroidi, Hofbauer hücresi, plasenta

### Gruplara ait CD68 immünohistokimyasal boyama sonuçları

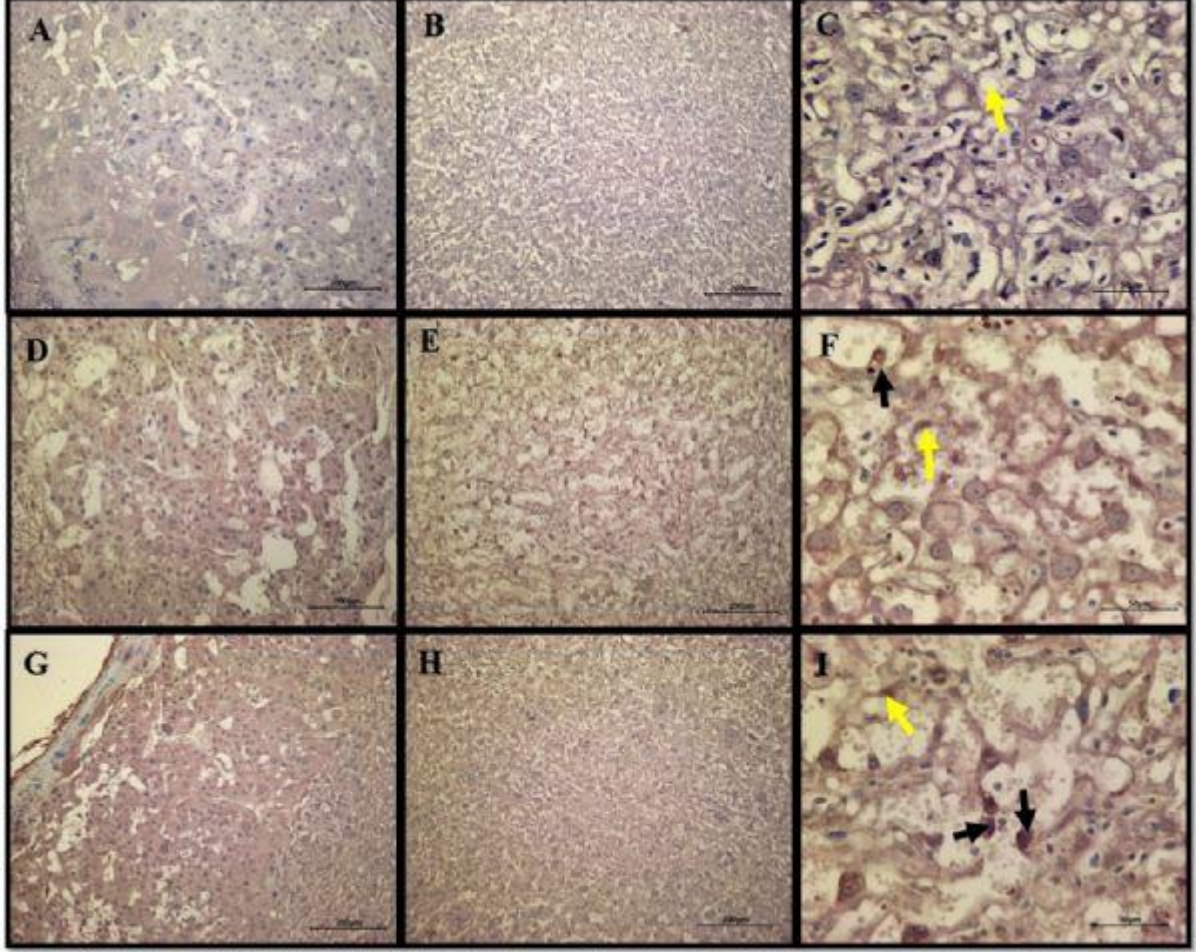


Kontrol grubunda ve hipotiroidi grubunda hücreler daha yuvarlak morfoloji gösterirken, hipertiroidi grubunda hücre morfolojisi değişmiştir. CD68 pozitif hücreler siyah ok ile gösterilmiştir. (A) Kontrol grubu, (B) Hipotiroidi grubu, (C) Hipertiroidi grubu.

### Gruplara ait fetüs görüntüleri



Hipotiroidi ve hipertiroidi gruplarına ait fetüsler kontrol grubuna göre daha küçük ve kemik gelişimi bakımından geri kalmış. Özellikle kafatası kemiklerinde ve ekstremitte kemiklerinde kemikleşme de gerilik görülmektedir. Siyah oklar kafatası kemiklerin, sarı oklar ekstremitte kemiklerini göstermektedir. (A) Kontrol grubu, (B) Hipotiroidi grubu, (C) Hipertiroidi grubu.

**Gruplara ait VEGF immünohistokimyasal boyama sonuçları**

Hipotiroidi ve hipertiroidi gruplarında VEGF immünreaktivitesi kontrol grubuna göre artış göstermiştir. (A,B,C) Kontrol grubu, (D,E,F) Hipotiroidi grubu, (G,H,I) Hipertiroidi grubu.

**Serumda serbest T4 seviyeleri.**

Gruplar	Deney Sonunda Serumdaki Serbest T4 Seviyeleri
Bazal Değer	4,547±0,356
Kontrol Grubu	4,875±0,164
Hipotiroidi Grubu	3,438±0,099*
Hipertiroidi Grubu	6,375±0,396*

Serumdaki serbest T4 değerleri bazal değere göre kontrol grubunda benzer, hipotiroidi grubunda düşmüş ve hipertiroidi grubunda artmıştır.

**VEGF protein ekspresyonu değerleri**

Gruplar	VEGF Protein Ekspresyonu
Kontrol Grubu	0,267±0,020
Hipotiroidi Grubu	0,437±0,038*
Hipertiroidi Grubu	0,523±0,041*

Plasental dokudaki VEGF protein ekspresyonu hipotiroidi ve hipertiroidi gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış göstermiştir.

**P025**

**Hellp sendromlu insan full-term plasental villuslarında yer alan hücrelerin morfolojik, immunohistokimyasal ve ultrastruktürel olarak değerlendirilmesi**

Yusuf Nergiz<sup>1</sup>, Engin Deveci<sup>1</sup>, Erdal Sak<sup>2</sup>, Sıddık Evsen<sup>2</sup>, Tunik Selçuk<sup>1</sup>, Uğur Şeker<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, Diyarbakır.

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Diyarbakır.

**Amaç:** Bu çalışmada, hellp sendromlu hastaların plasental villuslarında yer alan sinsityotrofoblast ve Hofbauer hücrelerinin immunohistokimyasal ve ultrastruktürel yönden incelenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Bu çalışma, iki grup halinde ve toplam 40 full-term insan plasentasında gerçekleştirilmiştir. Birinci grupta Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterleri baz alınarak hellp tanısı almış 20 hastadan alınan plasenta doku örnekleri ve ikinci grupta ise 20 normal gebeliklere ait plasental doku örnekleri alındı.

Işık mikroskopik inceleme için alınan 1.5x1.5x1cm'lik fotal plasenta doku örnekleri nötral formalinde fikse edildi. Fiksasyon işleminden sonra rutin histolojik takibe alındı. Parafin bloklardan alınan 5 µm'lik kesitler immunohistokimya boyama için poli-L-lysinli lamlara alındı. Immunohistokimya protokolü takip edilerek alınan kesitlere Hofbauer hücre markır'ı olan CD68 ile boyandı ve kör bir araştırmacı tarafından her bir preparatta 5 alanda Hofbauer hücreleri ve plasental villus miktarı sayıldı. Yapılan sayım sonrasında villus başına düşen ortalama Hofbauer hücre sayısı tespit edildi. Elde edilen veriler SPSS programında t-testi ile analiz edildi ve gruplar arasındaki Hofbauer hücre sayısı değerlendirildi. Elde edilen preparatlar Zeiss Imager A2 ışık mikroskopunda değerlendirilerek mikrografları alındı.

Transmission Elektron Mikroskopunda incelemek amacıyla fotal plasentadan alınan 1x1 mm'lik doku örnekleri %2,5'lük tamponlanmış gluteraldehit içerisinde fikse edildi. Daha sonra %1'lik osmiyum tetraoksit solüsyonunda ikinci fiksasyona tabi tutularak rutin elektron mikroskopik takip protokolü uygulandı. Araldit bloklardan alınan yarı ince kesitlere toluidin mavisi ve ince kesitlere ise uranil asetat-kurşun sitrat kontrast boyaması uygulandı. Elde edilen gridler Carl Zeiss Libra 120 elektron mikroskopunda değerlendirilerek mikrografları alındı.

**Bulgular:** Hellp grubu fotal plasenta kesitlerinde, sinsityotrofoblastlarda intrasitoplazmik ödem, dejeneratif vakouller, villöz ödem ve hücre yüzey membranlarında dejeneratif bulgular gözlemlendi. Aynı grubun başka bir plasenta kesitinde ise, intravasküler koagülasyonun yanısıra, endotelial dejenerasyon nedeniyle ekstravasküler alanlarda kırmızı kan hücrelerinin varlığı, kapiller endotelinde incelleme durumu ile villöz ödem ve dejeneratif vakuoller gözlemlendi.

CD68 uygulanan kontrol grubu kesitlerinde villus başına düşen CD68 pozitif Hofbauer hücre sayısının  $0,23 \pm 0,02$ , Hellp grubu plasenta kesitlerinde villus başına düşen CD68 pozitif hücre sayısının ise  $0,83 \pm 0,12$  olduğu ve Hellp grubunda villus başına düşen Hofbauer hücre sayısı artışının istatistiksel yönden anlamlı olduğu ( $p < 0.00$ ) tespit edildi.

**Sonuç:** Kontrol grubuyla karşılaştırılması sonucu hellp grubu plasentalarında Hofbauer hücreleri ve sinsityotrofoblast sayısında belirgin bir artış olduğu ve bu hücrelerin ultrastruktürel yapısında dejeneratif değişiklikler olduğu kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Hellp sendromu, Hofbauer hücresi, sinsityotrofoblast, immunohistokimya, plasenta

**P026**

**Preeklampitik ve normotansif plasentaların koryonik villuslarındaki apoptotik, inflamatuvar değişikliklerin immunohistokimyasal yöntemler ile gösterilmesi**

Sabahaddin Aslan<sup>1</sup>, Fırat Aşır<sup>1</sup>, Ayşegül Pala<sup>1</sup>, Elif Ağaçayak<sup>2</sup>, Engin Deveci<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Doğum Hastalıkları Anabilim Dalı

**Amaç:** Bu çalışmada Preeklampitik plasentaların koryonik villuslarında meydana gelen histopatolojik değişiklikler ile Bax, CD68 ve Tip IV kollajen ekspresyonlarının immunohistokimyasal olarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** Çalışmada hipertansif hamile kadından sezeryan sonrası 20 adet preeklampitik plasenta, 20 adet normotansif plasenta olmak üzere toplam 40 adet plasenta örneği alındı. Dicle Üniversitesi insan etik kurulundan ve hamile kadınlardan hasta onayı belgesi alındı. Hastaların kan değerleri ile ilgili biyokimyasal analiz yapıldı. Plasentanın fetal yüzünden alınan plasenta örnekleri %10 luk formaldehit solüsyonuna alındı. Dehidratasyon ve parafin işlemleri ardından histopatolojik ve immunohistokimyasal analiz için 5µm kalınlığında kesitler alındı. Plasenta kesitleri Masson-Trikrom ve PAS boyamaları ile boyandı. İmmunohistokimyasal inceleme için Bax, CD68 ve Tip IV kollajen antikoları ile ekspresyon düzeylerine bakıldı.

**Bulgular:** Kontrol grubu ile preeklampitik hastalara ait biyokimyasal değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Kontrol grubuna göre preeklampitik hastalarda anlamlı sonuç elde edildi. Preeklampitik ve normotansif plasentaların histopatolojik karşılaştırmasında trofoblastlarda hipertrofi, sinsitiyal dilatasyon ve hemoraji görüldü. Bir kısım sitotrofoblast hücreleri ile intervillöz alandaki bir kısım bağ doku hücrelerinde apoptotik değişiklikler görüldü. Özellikle damar çevresindeki hücrelerde yoğun inflamasyon artışı görüldü. Trofoblast hücreleri ve endotel hücrelerinin bazal membranlarında kalınlaşma görüldü. Koryon villusları ile intervillöz aralıktaki inflamatuvar hücrelerinde CD68 ekspresyonu pozitif olarak görüldü. Sitotrofoblast ve bazı bağ doku hücrelerinde Bax ekspresyonu pozitif olarak görüldü. Özellikle kapiller damar bazal laminası ile trofoblast hücrelerinin bulunduğu bazal laminada Tip IV kollajen ekspresyonu kontrol grubuna göre artış gösterdiği görülmüştür.

**Sonuç:** Korion villuslarında Preeklampsinin derecesine göre apoptozisin paralel olarak arttığı görüldü. Preeklampitik dönemin gelişimine bağlı olarak apoptotik değişim, inflamatuvar etki ve ekstrasellüler matriks yapısının bozulduğu ve maternal ile fetal plasenta arasındaki ilişkiyi önemli ölçüde etkilediği görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Preeklampitik plasenta, koryonik villus, Bax, CD68, Tip-IV kollajen

P027

### **Normotansif ve Preeklampitik Gebelerin Plasentalarında Adam-8 ve Adam-15 Ekspresyon Düzeylerinin İmmunohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi**

Fırat Aşır<sup>1</sup>, Ayşegül Pala<sup>1</sup>, Engin Deveci<sup>1</sup>, Şenay Deveci<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi, Atatürk Sağlık Yüksek Okulu, Diyarbakır

**Amaç:** Bu çalışmada preeklampitik ve normotansif plasentalarda hücre-membran arasındaki bağlantı ilişkisinin Adam-8 ve Adam-15 molekülleri ile immunohistokimyasal olarak gösterilmesi amaçlanmaktadır.

**Materyal-Metod:** Çalışmada hipertansif hamile kadından sezeryan sonrası preeklampitik 20 adet plasenta, 20 adet normotansif plasenta olmak üzere toplam 40 adet plasenta örneği alındı. Dicle Üniversitesi insan etik kurulundan ve hamile kadınlardan hasta onayı belgesi alındı. Hastaların kan değerleri ile ilgili biyokimyasal analiz yapıldı. Plasentanın fetal yüzünden alınan plasenta örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonuna alındı. Rutin histopatolojik takip yapıldıktan sonra plasenta kesitleri PAS boyaması ile boyandı. İmmunohistolojik inceleme için Adam-8 ve Adam-15 antikorları ile ekspresyon düzeylerine bakıldı.

**Bulgular:** Kontrol ve preeklampsi grubu hastalardan elde edilen plasentalar histopatolojik olarak incelendi. PAS ile boyanan kontrol grubu plasentalarda kök villusları içerisinde yer alan bağ doku liflerinin düzenli dağılımı, desidual hücrelerde glikojen birikiminin homojen ve bazal membran kalınlıklarının normal olduğu ve koryonik villuslardaki sinsitiyotrofoblast hücreleri yassı görünümde olup iki villus arasında kısa koryonik köprüler görüldü. preeklampitik gebelerin plasentalarında kök villusları içerisinde yer alan kan damarlarında aşırı dilatasyon ve hemoraji damar içi endotel hücrelerinde hiperplazi, desidual hücrelerde glikojen birikiminde artış ve bazal membranda kalınlaşma gözlemlendi. İmmunohistokimyasal olarak boyanan kontrol ve preeklampsi gruplarında ise Adam-8 antikor ile boyanan kontrol grubu plasentalarda bağlantı sapı bölgesindeki damarların bazal membranında Adam-8 ekspresyon pozitif olarak gözlemlenirken; koryonik villus bağ dokusundaki hücrelerinde Adam-8 ekspresyonu negatif izlendi. Endotel hücrelerinde Adam-8 ekspresyonu pozitif reaksiyon gözlemlendi. Yine aynı şekilde Adam-8 antikoruyla boyanan preeklampitik hastaların plasentalarda bağlantı sapı bölgesinde Adam-8 ekspresyonu negatif, desidual hücrelerinin bazılarında ve koryonik villus bağ dokusunda Adam-8 ekspresyonu pozitif gözlemlendi. Yine aynı şekilde Adam-15 antikorları ile boyanan kontrol ve preeklampsi grubuna ait plasentalarda kontrol grubunda kök villuslarının kapiler damarlarındaki endotel hücreleri arasında, endotel hücreleri ile bazal membran arasında, sinsitiyal düğümlerde sinsitiyotrofoblast hücreleri arasındaki köprülerde ve Hoffbauer hücrelerinde Adam-15 ekspresyonu pozitif izlendi. Adam-15 antikor ile boyanan preeklampsi grubu hastaların plasentalarında ise desidual hücrelerin bazılarında Adam-15 ekspresyonu artışı özellikle dış membran çevresinde görüldü. Endotel hücreleri ile endotel bazal membran arasında Adam-15 ekspresyonun zayıfladığı, sinsitiyal hücrelerde Adam-15 ekspresyonun negatif olduğu görüldü. Hoffbauer hücrelerinde ve bağ doku hücrelerinden fibroblastlarda Adam-15 ekspresyonu pozitif olarak gözlemlendi.

**Sonuç:** Preeklampitik plasentalarda Adam-8 ekspresyonu hücrelerde ekstrasellüler matriks seviyesinin azalmasına, Adam-15 ekspresyonuna bağlı olarak hücreler arası bağlantının hem damar endotel hücreleri ve membranında hem de sinsitiyal köprülerde bozulmaya neden olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Preeklampsi, Adam-8, Adam-15

P028

**FoxO3 transkripsiyon faktörü farede implantasyon ve desidualizasyonda rol alıyor olabilir**

Dileyra Adıgüzel, Pınar Şahin, Nayçe İlayda Bektaş, Gamze Tosun, Nilay Kuşcu, Çiler Çelik Özenci Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

**Amaç:** Pre-implantif embriyo gelişimine paralel olarak, reseptif bir endometriyumun oluşması gebeliğin gelişimi ve devam etmesindeki en kritik basamaklardandır. Bu çalışmada, hücre döngüsü, DNA tamiri, apoptoz ve hücre metabolizması gibi süreçlerde rolleri olduğu bilinen FoxO transkripsiyon faktörlerinden FoxO3'ün fare peri-implantasyon sürecinde ekspresyon olup olmadığı, bu ekspresyonun gebelik hormonları tarafından düzenlenip düzenlenmediği ve desidualizasyonla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Yöntem:** Çalışmada; BALB/C ırkı 6-8 haftalık dişi fareler kullanılarak gebe olmayan östrus fazındaki ve gebeliğin 1, 4, 5, 6 ve 8. günlerine ait uterus dokularında immünohistokimya ve western blot yöntemi uygulanarak FoxO3 protein ekspresyonu belirlenmiştir (n=6). Ayrıca blastosisin olmadığı ancak sadece gebelikteki hormonal ortamın taklit edildiği yalancı gebelik modelinde ve blastosistin varlığının oluşturacağı mekanik etki taklit edilerek desidualizasyonun indüklendiği yapay desidualizasyon modelinde FoxO3 protein ekspresyonlarının nasıl bir değişim gösterdiği immünohistokimya ve western analizleri ile değerlendirilerek, uygun istatistiksel analizler yapılmıştır.

**Bulgular:** FoxO3 proteini esasen endometriyum stromasında gebelik günlerine göre farklı yoğunlukta nükleer/sitoplazmik ekspresyon göstermiştir. Östrus fazında endometriyum stromasında bazı hücrelerde zayıf FoxO3 nükleer ekspresyonu gözlenirken, gebeliğin 1. ve 4. günlerinde giderek artan nükleer ekspresyonu gözlenmiştir. Gebeliğin 5. ve 6. günlerinde implantasyon alanlarında stromal hücrelerde sitoplazmik FoxO3 ekspresyonu gözlenirken, bu günlerdeki inter-implantasyon alanlarında (embriyo implantasyonunun olmadığı iki implantasyon bölgesindeki alan) ise yoğun nükleer FoxO3 ekspresyonu gözlenmiştir. Gebeliğin 8. gününde, gelişmekte olan embriyoda da FoxO3 ekspresyonu gözlenmiştir. Western blot analizleri sonucunda embriyo implantasyonunun meydana geldiği 5.günde diğer günlere göre FoxO3 ekspresyonu anlamlı derecede yüksektir (p<0.001). Yalancı gebelik modelindeki uteruslarda, stromal hücrelerde FoxO3 ekspresyonu vardır ve western blot analizlerinde yalancı gebeliğin değişen gebelik günlerinde benzerdir. Yapay desidualizasyon modelinde, FoxO3'ün stroma hücrelerdeki ekspresyonu 6. günde anlamlı olarak artmıştır (p<0.001).

**Sonuç:** Gebeliğin 5. gününde, implantasyonunda, FoxO3 ekspresyonunun anlamlı artışı dikkat çekicidir ve implantasyonda bu transkripsiyon faktörünün rolü olabileceğini düşündürmektedir. Yalancı gebelik modelinde FoxO3 ekspresyonunun 5, 6 ve 8. günlerde benzer olması ve diğer yandan yapay desidualizasyon modelinde 6. günde FoxO3 ekspresyonunun ekspresyonunun artması desidualizasyonda bir rolü olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak; çalışmamızın bulguları erken gebelik sürecinde FoxO3 transkripsiyon faktörünün fare embriyo implantasyonunda, uterus reseptivitesi ve desidualizasyon süreçlerinde rolleri olabileceğini düşündürmüştür ve bu konuyla ilgili çalışmaların planlanması için temel oluşturmuştur. Bu süreçlerin aydınlatılması klinikteki tekrarlayan gebelik kayıpları ve implantasyon bozuklukları mekanizmalarına ışık tutacaktır.

Bu çalışma 215S868 numaralı projeye TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** fare, endometriyum, FoxO3, peri-implantasyon, desidualizasyon



**P029**

**Peri-implantif Dönem Fare Uterus ve İmplantasyon Bölgelerinde Sirtuin 1 Ekspresyonu**

Kübra Aksu, Ezgi Golal, İsmail Üstünel, Nuray Acar Aydemir

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

**Giriş**

Memelilerde gebeliğin sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi ve ilerlemesinde birçok faktör rol almaktadır. Fertilizasyondan sonra embriyonun preimplantif dönem gelişimi ve implantasyon ile desidualizasyonun sağlıklı gelişimi, başarılı gebeliğin kurulmasında temel oluşturmaktadır. Bu olaylar heterojen hücre toplulukları içeren uterusu gerçekleştirir. Preimplantif gelişimini sağlıklı tamamlayan embriyo, senkronize bir şekilde hazırlanmış ve reseptif hale gelmiş uterusu implante olabilmektedir. Farelerde uterus, gebeliğin 4. gününe kadar pre-reseptif, 4. günün gecesinden 5. güne kadar reseptiftir ve embriyo bu süreçte implante olabilir, 5. gün öğleden sonra non-reseptiftir ve embriyo varlığına yanıt vermez.

Memelilerde histon deasetilaz üyesi olan sirtuinler metabolik kontrol, apoptoz, hücre yaşamı, inflamasyon ve sağlıklı yaşamla ilişkilidir. Sirtuin 1'in hedefleri arasında histon proteinlerinin yanı sıra p53, nükleer faktör-κB (NF-κB), forkhead transkripsiyon faktörleri (Foxo) gibi deasetilasyonunu ve dolayısıyla nükleusta kalmasını tetikleyerek hücre siklusu duraklaması, oksidatif strese direnç ve apoptozun baskılanmasındaki genlerin aktivasyonunu sağladığı düşünülmektedir. Çalışmamızda gebeliğin farklı günlerinde fare uterus ve implantasyon bölgelerinde Sirtuin 1 immüno lokalizasyon ve ekspresyon düzeylerini belirlemeyi amaçladık. Materyal ve metot

Çalışmamızda Balb/C ırkı fare kullanıldı. Bir erkek ve iki dişi fare gece boyu aynı kafeste tutuldu, ertesi gün sabah vajinal plağı olan dişi farelerin gebeliğin birinci gününde oldukları kabul edildi. Gebe olmayan ve östrus fazında olan dişi fareler kontrol grubuna dahil edildi. Gebeliğin 1, 4, 5, 6 ve 8. günlerindeki ve östrus grubundaki fareler sakrifiye edilip uterus ve implantasyon bölgeleri toplandı. Sirtuin 1 ekspresyonları immünohistokimya ve western blot ile saptandı.

**Sonuçlar**

Yaptığımız western blot analizleri sonucunda Sirtuin 1 ekspresyonunun kontrol grubuna göre gebeliğin 1. ve 4. günlerinde azaldığını 5. gün artış gösterdiğini, 6. gün azaldığını ve 8. gün arttığını gözlemledik. İmmünohistokimya sonuçlarına göre Sirtuin 1'in tüm gruplarda lümen ve bez epitelinde lokalize olduğu, 5. günde ayrıca stromada ve 6. günde primer desidual bölgede belirgin şekilde arttığı gözlemlenmiştir.

**Tartışma**

Histon deasetilaz ailesi üyesi olan ve hedef proteinlerinin deasetilasyonunu sağlayan Sirtuin 1'in gebeliğin 5. gününde belirgin bir artış göstermiş olması bu proteinin implantasyon boyunca gerekli olduğunu düşündürmektedir. Sirtuin 1'in implantasyondaki rolünün aydınlatılması için daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Sirtuin 1, implantasyon, uterus, fare

**P030****Peri-implantif Dönem Fare Uterus ve İmplantasyon Bölgelerinde Hippo Sinyal Yolağı Üyesi Fosforile YAP (Yes-associated protein-Yes ilişkili protein) Ekspresyonu**

Ezgi Gokal, Kübra Aksu, İsmail Üstünel, Nuray Acar Aydemir

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

**GİRİŞ**

Memelilerde gebeliğin ilerlemesi için fertilizasyon, preimplantif dönem embriyo gelişimi, implantasyonun gerçekleşmesi gerekmektedir. İmplantasyon için blastosistin sağlıklı olarak gelişmesinin yanı sıra uterusun da reseptif halde olması gerekir. Farelerde uterus gebeliğin 4. günü gecesinde 5. güne kadar reseptiftir. Hippo sinyal yolağı ilk kez *Drosophila melanogaster*'de organ büyüklüğünü düzenleyen sinyal yolağı olarak keşfedilmiş, daha sonra memelilerdeki varlığı kanıtlanmıştır. Hippo sinyal yolağı hücre proliferasyonu, apoptozu ve farklılaşmasını regüle ederek hücre sayısını düzenler. Hippo yolağının hücre apoptozu ve farklılaşmasını tetiklediği ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Omurgalılarda Hippo yolağının temel bileşenleri arasında MST (mammalian Ste (sterile) 20-like /memeli STE (steril) 20-benzeri) 1/2 kinazları bulunur. Sav1'i fosforile ederek aktif bir kompleks oluştururlar. MST1/2 daha sonra LATS (large tumour suppressor/büyük tümör baskılayıcı) 1/2 kinazları ve koaktivatörleri MOB1'i (Mps one binder/Mps 1 bağlayıcı) fosforile eder. LATS1 veya LATS2 daha sonra Hippo yolağının alt hedefi olan YAP (Yes associated protein/Yes-ilişkili protein) fosforile eder. Böylece YAP 14-3-3 proteinleri ile sitoplazma içinde tutulur veya degrade edilir. Yolağın üstünde bulunan kinazlar inaktif olduğunda YAP defosforile olur ve gen ekspresyonu sağlamak için nükleusa transloke olurlar. Çalışmamızda gebeliğin farklı günlerinde fare uterus ve implantasyon bölgelerinde Hippo sinyal yolağı bileşenlerinden fosforile YAP (pYAP)'ın immünohistokimya ve ekspresyon düzeylerini belirledik.

**MATERYAL METOT**

Çalışmamızda Balb/C ırkı fareler kullandık. Bir erkek ve iki dişi fare gece boyu aynı kafeste tutuldu, ertesi gün vajinal plağı olan dişi fareler gebeliğin birinci gününde kabul edildi. Östrus fazındaki gebe olmayan fareler kontrol grubuna dahil edildi. Östrus fazı ve gebeliğin 1, 4, 5, 6 ve 8. günlerindeki fareler sakrifiye edildiler (n=5). Uterus ve implantasyon bölgeleri toplanarak pYAP ekspresyonu immünohistokimya ve western blot ile saptandı.

**SONUÇLAR**

Western blot sonuçlarımıza göre, pYAP ekspresyonu kontrol grubu ve gebeliğin 5. gününde en yüksekti. İmmünohistokimya sonuçlarımıza göre pYAP kontrol grubunda lümen ve bez epitelinde, gebeliğin 5. gününde lümen, bez epiteli ve özellikle stromada lokalizeydi. Western blot sonuçlarımıza göre gebeliğin 6. ve 8. günlerinde pYAP ekspresyonu düşük düzeydeydi. İmmünohistokimya sonuçlarımıza göre pYAP'ın gebeliğin 6. gününe ait primer ve sekonder desidual bölgelerde ve az şiddetli, gebeliğin 8. gününe ait sekonder desidual alanda ve çok daha az şiddette lokalize olduğunu gözlemledik.

**TARTIŞMA**

Hippo sinyal yolağının hücre proliferasyonu, apoptozu ve farklılaşmasını regüle ederek hücre sayısını düzenlediği bilinmektedir ve yolağın bileşenlerinden biri olan pYAP'ın kontrol grubunda ve gebeliğin 5. gününde ekspresyonunun fazla olması ve gebeliğin ilerleyen günlerinde bu ekspresyon düzeylerinin azalması bize Hippo sinyal yolağının implantasyonda rolü olabileceğini düşündürdü. Hippo sinyal yolunun implantasyon sürecindeki rolünü belirlemek için ileri çalışmalar gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Hippo, pYAP, implantasyon, uterus, fare

**P038**

**Erişkin rat testislerinde formaldehitin oluşturduğu hasara karşı vitamin E ve selenyumun koruyucu etkilerinin araştırılması**

Yusuf Nergiz, Evren Karaman

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır

**Amaç:** Bu çalışma, formaldehit'in testis üzerindeki olumsuz etkilerini ve bunları önlemede vitamin E ve selenyumun rolünü araştırmak için tasarlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmada 28 adet erişkin Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Ratlar yedişerli 4 eşit gruba bölündü.

Birinci grup ratlara serum fizyolojik enjekte edildi.

İkinci gruba ratlara, 15 gün süreyle 10mg/kg dozunda %37 lik formaldehit solüsyonu enjekte edildi.

Üçüncü grup ratlara, 15 gün süreyle 0.3mg/kg dozunda sodyum selenit ve 1 saat sonra 10 mg /kg dozunda FA enjekte edildi.

Dördüncü grup ratlara ise 15 gün süreyle 30 mg/kg dozunda vitamin E ile vitamin E enjeksiyonundan 1 saat sonra 10 mg /kg dozunda FA verildi. FA ve ilaç uygulamaları i.p.yolla gerçekleştirildi.

Deney bitiminde tüm hayvanlar sakrifiye edildi. Ratların sağ testisleri alınarak Bouin solüsyonunda fikse edildi. Işık mikroskobu için rutin parafin takibine alınan dokulardan 5 mikrometrelik kesitler alınarak hematoksilin eozin (H.E),periyodik asit Schiff (PAS),Masson trikrom ve methamin gümüş boyasıyla histokimyasal olarak boyandılar. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda incelenerek mikrografları alındı.

**Bulgular:** FA grubu testis kesitlerinde kapsülada kalınlaşma, germinal epitel içermeyen tübüller yanı sıra çok sayıda düzensiz şekilli ve atrofik seminifer tübüller görüldü. Sertoli hücreleri ve Leydig hücrelerinde belirgin bir dejenerasyon gözlemlendi. Tübüllerin pek çoğunda spermatogenezisin arrest olduğu, kapsüle ve seminifer tübül bazal membranlarında (STBM) belirgin bir kalınlaşma izlendi.

FA+S grubu testis kesitleri ışık mikroskopi incelemesinde testisteki yapısal değişiklikler, kapsüle ve seminifer tubul bazal membranındaki kalınlaşmanın kısmen devam ettiği izlendi.FA+VE grubu rat testis kesitlerinde, yapısal patolojik değişikliklerden germinal epitel disintegrasyonu, konjesyon ve interstisyel ödem dışındaki bulgular hariç diğer yapısal değişikliklerin büyük çapta kaybolduğu ve testisin normal histolojik görünüm kazandığı izlendi.Aynı zamanda seminifer tubul bazal membranlarındaki kalınlaşmanın da FA grubuna göre minimale indiği gözlemlendi.

**Sonuç:** Sonuç olarak, formaldehit maruziyetinin rat testislerinde histopatolojik ve morfometrik değişikliklere neden olduğunu ve bu olumsuz etkilerinin vitamin E uygulamasıyla büyük çapta önlenebileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Formaldehit, rat, testis, selenyum, vitamin E

**P039**

**Ratlara Akut Ve Kronik Farklı Dozlarda Grayanotoxin-III Verilmesinin Testis Dokusu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi**

Züleyha Doğanyığıt<sup>1</sup>, Abdullah Demirtaş<sup>2</sup>, Ertuğrul Kaya<sup>3</sup>, Emin Kaymak<sup>1</sup>, Sibel Silici<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji ABD, YOZGAT

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD, KAYSERİ

<sup>3</sup>Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ABD, DÜZCE

<sup>4</sup>Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, KAYSERİ

**Amaç:** Grayanotoxin (GTX)-III bir Na kanalı nörotoksinidir. Grayanotoksinler Ericaceae familyasından Rhododendron cinsi bitkilerin nektar, polen ve diğer bitki kısımlarında bulunabilmektedir. Karadeniz bölgesinde yoğun olarak bulunan bu bitkilerden üretilen balın geleneksel olarak seksüel performansı artırıcı özellikte olduğu görüşü yaygındır. Hem faydalı hem de toksik etkileri bildirilen bu bileşik için etkili faktörün doz olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle bu araştırmada farklı dozlarda verilen GTX-III'ün rat testis dokusunda akut ve kronik etkilerinin histolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Bu amaçla, 100 Sprague Dawley erkek rat akut ve kronik araştırma için ayrı ayrı 5'er gruba ayrılmıştır. Deneme gruplarında doz grupları (kontrol, 0.1,0.2, 0.4, ve 0.8 ug/kg bw) iken akut etki için tek doz (i.p.) kronik etki için ise 3 hafta boyunca her gün aynı dozlarda uygulama yapılmıştır. Deney sonunda alınan testis doku örneklerinde Johnsen testiküler biyopsi skorlaması yapılmış, seminifer tübül çapları ölçülmüş, TUNEL metodu ile apoptotik hücreler değerlendirildi.

**Bulgular:** Akut dozların Johnsen skorunun kontrole göre önemli oranda düşük olduğu, seminifer tübül çapının akut ve kronik doz uygulanan gruplarda kontrole göre önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir. Akut ve kronik doz deneme gruplarında kontrole göre hemoraji, epiteliyal dökülme, seminifer epitelde düzensizlik ve vakuolizasyon gözlenmiş, apoptotik hücrelerde artış belirlenmiştir.

**Sonuç:** GTX-III'ün doza bağlı akut ve kronik etkilerinin farklı olduğu, yüksek dozun olumsuz etkilerinden dolayı araştırmalarda bu faktörün göz önünde tutulması gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Grayanotoxin, Ericaceae, Seksüel hormon, Histoloji

**P040****Erişkin Sıçanlarda Paklitaksel Kaynaklı Testis Hasarında Kurkuminin Koruyucu Etkisi**Esra Balcioğlu<sup>1</sup>, Özge Göktepe<sup>1</sup>, Saim Özdamar<sup>1</sup>, Birkan Yakan<sup>1</sup>, Fazile Tan Cantürk<sup>2</sup><sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı,Kayseri<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı,Kayseri

**Amaç:** Bu çalışmada, kemoterapi ilaçları ile bitkisel tedavi sürecinin birlikte kullanılmasının hastaya sağlayacağı fayda ve zararları test etmek üzere; erkek genital sistem üzerinde paklitaksel oluşturulan hasara karşı kurkuminin koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**GEREÇ VE Yöntemler:** Wistar albino erkek sıçanlar kontrol, paklitaksel (7,6 mg/kg), kurkumin (15 mg/kg) ve paklitaksel+kurkumin grupları (7,6 mg/kg+ 15 mg/kg) olarak ayrıldı. Deney süresince ağırlıkları tartıldı. Dekapite işleminden sonra testis ve epididimis dokuları çıkarılarak ağırlıkları ölçüldü. Inferior vena cavadan gelen kanlar toplandı, ELISA yöntemi ile Testosteron değerine bakıldı. Rutin histolojik doku takibi işleminden sonra Hematoksilen&Eozin ile boyandı. TUNEL yöntemi kullanılarak apoptotik hücreler, Comet yöntemiyle de spermde meydana gelen DNA hasarı Olympus BX51 mikroskobu kullanılarak görüntüldü. Elde edilen veriler istatistiksel yöntemler kullanılarak analizler yapıldı.

**Bulgular:** Deney süresince gruplar arasında ortalama vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde; 2, 3, ve 4. haftalarda paklitaksel verilen grubun vücut ağırlıklarında düşüş olduğu, ayrıca 3. ve 4. haftalarda pak+kur grubunda da vücut ağırlığında meydana gelen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ortalama testis ve epididimis ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ve paklitaksel grupları arasında anlamlı farklılık olduğu belirlendi. Kandaki testosteron değerleri incelendiğinde, kontrol grubu ile kurkumin, paklitaksel ve pak+kur verilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu. Tüm gruplarda Comet yöntemi kullanılarak DNA hasarı belirlendi ve söz konusu hasarlar, kuyruk uzunluğu, başta % DNA, kuyrukta % DNA, Tail moment ve olive tail moment değerleri açısından karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre, sadece paklitaksel grubunda DNA hasarında artış olduğu saptandı. Paklitaksel grubu histopatolojik olarak değerlendirildiğine; kontrol grubundan farklı olarak, germinal epitelde vakuolizasyon, spermatojenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve epitelde yer yer dökülmeler ve Interstiyel alanda ödem bölgelerine rastlandı. Aynı zamanda Sertoli hücrelerine baş kısımları ile yerleşim gösteren spermatidlerin normal pozisyonunu kaybettiği gözlemlendi. Pak+Kur maddelerinin birlikte verildiği grupta, tübül yapılarında paklitakselin oluşturduğu hasarın antioksidan özelliğinde olan kurkumin tarafından azaltıldığı gözlemlendi. Aynı zamanda korunmuş spermatojenik hücreler ile spermatogenezin devam ettiği saptandı. Spermatidler kuyruk lümende, baş kısmı Sertoli hücrelerinin arasına yerleşerek normale yakın bir yapı sergilediği görüldü. Sadece kurkumin uygulanan grupta ise, kontrol grubuna benzer özellikler elde edildi. Kontrol, paklitaksel, kurkumin ve kur+pak gruplarına ait Johnsen tübüler biyopsi sonuçlarından elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrol ve kurkumin grubu dışındaki tüm gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildi. Apoptotik hücreler genellikle spermatogenetik seriye ait hücrelerde belirlendi ve apoptotik hücre sayısı açısından kontrol grubu ile paklitaksel verilen grup arasında anlamlı fark bulundu.

**Sonuç:** Elde edilen bu sonuçlara göre, testis dokusunda paklitakselin oluşturduğu oksidatif stresin, kurkuminin oluşturduğu antioksidan mekanizması ile azaltılabileceği ifade edilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Paklitaksel, Kurkumin, Oksidatif Stres

**P041**

**Radyasyonun neden olduğu testis hasarında Apocynin'in etkilerinin histolojik olarak incelenmesi**

Merve Tatlı<sup>1</sup>, Seda Özbal<sup>1</sup>, Zahide Çavdar<sup>2</sup>, Cenk Umay<sup>3</sup>, Cemre Ural<sup>2</sup>, Bekir Uğur Ergür<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp AD, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi AD, İzmir, Türkiye

**Amaç:**

Radyasyon, doğal ya da yapay radyoaktif çekirdeklerin kararlı yapıya geçmeleri için dışarı saldıkları hızlı parçacıklar ve elektromanyetik dalga şeklinde taşınan fazla enerjileridir. Bu iyonize radyasyon, etkileştiği hücrelerde biyolojik hasarlar meydana getirir. Testis, vücutta en radyosensitif organlardan biridir. Spermatozitler ve spermatogoniumlar uygulanan radyasyonun doz ve süresine bağlı olarak farklı derecelerde etkilenmekte ve bunun sonucunda testis dokusunda hasar ve hücrelerde apoptoz meydana gelmektedir. Apocynin, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri gösterilmiş olan bir NADPH oksidaz inhibitörüdür. Çalışmamızda, radyasyon uygulanan sıçanlarda testis dokusunda oluşan hasara karşı kuvvetli bir antioksidan olan apocynin uygulamasının histokimyasal, immünohistokimyasal ve biyokimyasal etkilerini incelemeyi amaçladık.

**Yöntem-Gereçler:**

Çalışmamızda 35 adet Wistar albino erkek rat her grupta eşit sayıda (n=7) olacak şekilde 5 gruba ayrıldı: kontrol, sham, apocynin, radyasyon ve apocynin+radyasyon grubu. Apocynin deneklere 5 gün boyunca günde tek doz 20 mg/kg (ip) 2 cc. salin solüsyonunda çözülerek verildi. Radyasyon, son dozdan 24 saat sonra tek doz 10 Gy skrotal uygulandı. Radyasyon uygulamasından 24 saat sonra tüm gruplar sakrifiye edildi. Deneklerden alınan sağ testis, histolojik incelemeler için, sol testis ise biyokimyasal incelemeler için kullanıldı. Testis dokuları rutin histolojik takip yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü ve kesitler alındı. Işık mikroskopik incelemeler için elde edilen kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E), Periyodik Asit Sciff (PAS) ve Masson Trikrom boyaması ile boyandı. Kesitlerde Johnsen's skorlaması yapıldı, seminifer tübül çapları ölçüldü. Apoptozisi saptamak için TUNEL ve aktive kaspaz-3 immün boyaması yapıldı. Biyokimyasal incelemeler için doku homojenatlarında Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GPx) ve Malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:**

Yapılan histokimyasal incelemelerde kontrol, sham ve apocynin gruplarında normal testis yapısı gözlemlendi. Radyasyon grubunda seminifer tübül çaplarında azalma, germ hücre kaybı, intertisyel alanda bağ doku artışı gözlemlendi. Apocynin+radyasyon grubunda ise normale yakın morfolojide testis yapısı gözlemlendi. Yapılan immünohistokimyasal incelemeler sonucunda radyasyon grubunda kontrol grubuna oranla seminifer tübüllerinde TUNEL (+) boyanan hücre sayısının ve aktive kaspaz-3 immünpozitif boyanan hücre sayısının arttığı, apocynin+radyasyon grubunda ise TUNEL (+) ve aktive kaspaz-3 immünpozitif hücre sayısının azaldığı gözlemlendi. Apocynin uygulamasının hasar grubu ile karşılaştırıldığında GPx ve SOD düzeyini arttırdığı, MDA düzeyini ise azalttığı görüldü.

**Sonuçlar:**

Radyasyonun oluşturduğu testis hasarında, Apocynin'in oluşan doku hasarını, oksidatif stresi ve apoptozu azaltarak olumlu etkileri olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** apocynin, radyasyon, rat, testis

**P042****Siçanlarda siklofosfamidle oluşturulan testis hasarında karnozinin etkisi**Umut Demirdelen<sup>1</sup>, Müge Kiray<sup>2</sup>, Başak Baykara<sup>1</sup>, Bekir Uğur Ergür<sup>1</sup><sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

**Amaç:** Siklofosfamid romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, multiple sklerozis ve birçok kanser tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Karaciğerde metabolik aktivasyona girdikten sonra reaktif oksijen radikalleri oluşturan toksik metabolitler oluşturur. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda siklofosfamidin testise sitotoksik hasar verdiği; testis ağırlığında azalma, oligospermi, spermatogonialarda DNA sentezinde azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Karnozin ise, insanda kas ve sinir dokuda sentezlenen, sindirim sisteminden kolayca emilebilen doğal bir antioksidan dipeptiddir. Çalışmamızdaki amaç, erkek siçanlarda siklofosfamidin testis dokusunda oluşturduğu hasarı incelemek ve bu hasarda karnozinin etkisini, histokimyasal, immunohistokimyasal olarak göstermektir.

**Yöntem-Gereçler:** Çalışmada Wistar Albino suşu 10-12 haftalık (200-250gr) toplam 40 denek ile 6 grup oluşturulmuştur. Kontrol grubunda 5 diğer deney gruplarında 7 denek kullanıldı. Deneyde kullanılan ilaçlar karnozin 250 mg/kg, siklofosfamid 150 mg/kg intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı. Kontrol grubu; herhangi bir ilaç ve çözgen verilmeyen grup, siklofosfamid (CP) grubu; Sadece tek doz siklofosfamid verilen grup, karnozin grubu (K); sadece karnozin verilen grup, K+CP grubu; deneklere önce tek doz karnozin, 1 saat sonra siklofosfamid verilen grup, K=CP grubu; deneklere karnozin ve siklofosfamidin eş zamanlı verildiği grup CP+K grubu; deneklere önce siklofosfamid, 1 saat sonra karnozin verilen grup. Tüm grupların son doz uygulamadan 48 saat sonra testis doku örnekleri alınarak fiksatife konuldu. Rutin histolojik takip yöntemlerinden sonra testis dokuları parafin bloklara gömüldü. Her bloktan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilin-eozin ile testis dokusunun morfolojisi, seminifer tübül çap ölçümü, Johnson skorlaması; PAS boyaması ile bazal membran kalınlık ölçümü; Masson trikrom boyaması ile bağ dokusu incelendi. İmmunohistokimyasal olarak anti-claudin5 ve aktive kaspaz-3 antikolları ile immunhistokimyasal boyamalar yapıldı.

**Bulgular:** Kontrol ve Karnozin grubunda normal testis histolojik yapısı gözlemlendi. Hematoksilin-Eozin boyamada; siklofosfamid grubunda belirgin germinal epitel hasarı olduğu görüldü. Seminifer tübülün germinal epitelinin bazal membrandan ayrıldığı (bazal membran ondülasyonu) görüldü. Hem karnozin hem siklofosfamid kullanılan diğer 3 grupta bazı seminifer tübüllerin arasındaki interstisyel alanda eritrosit görülmekle birlikte birçok seminifer tübülde spermatogenik seri hücrelerinin hasarsız, germinal epitelin düzenli olduğu ve dizilim bozukluğunun azaldığı gözlemlendi. Masson-Trikrom boyamada; siklofosfamid hasar grubunda diğer gruplara göre intertübüler bağ dokusunda kollajen artışı izlendi. PAS boyamada; siklofosfamid grubunda diğer gruplara göre bazal membranda kalınlaşma saptandı. İmmunohistokimyasal olarak siklofosfamid grubunda diğer gruplara göre artmış Caspase-3 ve azalmış anti-claudin5 immunreaktivitesi görüldü.

**Sonuç:** Elde ettiğimiz bulgulara göre siklofosfamidin testiste oluşturduğu hasarda karnozinin koruyucu ve tedavi edici etkinliği bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** karnozin, siklofosfamid, testis histolojisi

**P043****Non-obstrüktif azospermi tanılı hasta testis dokularında DNA metiltransferaz protein ekspresyonu ve global DNA metilasyon düzeyinin belirlenmesi**Fatma Uysal<sup>1</sup>, Gökhan Akkoyunlu<sup>2</sup>, Saffet Öztürk<sup>2</sup><sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

**Amaç:** Azospermi, ejakülatta sperm bulunmaması olarak bilinmektedir. İki tipi vardır: non-obstrüktif ve obstrüktif olmak üzere. Erkek infertilitesine neden olan ve testiküler bozukluğa bağlı olarak gelişen non-obstrüktif azosperminin moleküler alt yapısı henüz net olarak bilinmemektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, spermatogenez sürecinde meydana gelen anormal DNA metilasyonunun, infertiliteye neden olabileceği gösterilmiştir. DNA metilasyonu, genomdaki CpG ya da CpG olmayan adacıklardaki sitozin nükleotidlerinin 5. karbonuna metil grubu takılmasıyla gerçekleştirilir. De novo (yeni baştan) ve sürdürme metilasyon süreçlerinde DNA metiltransferaz (DNMT) enzimleri görev almaktadır. Bu çalışmada, global DNA metilasyonu için 5-metilsitozin, sürdürme metilasyon için DNMT1 ve yeni baştan metilasyon için DNMT3A ve DNMT3B proteinlerinin ekspresyon düzeyleri ve hücresel yerleşimlerinin non-obstrüktif azospermi tanılı testis dokularında analiz edilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Çalışma, Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından etik açıdan uygun bulunmuştur. Non-obstrüktif azospermi tanılı infertil erkek hastalardan (n= 36) alınan TESE (testiküler sperm ekstraksiyonu) örneklerinin rutin parafin takipleri gerçekleştirildi. Parafin bloklardan alınan kesitler, hematoksilin-eozin (HE) boyama ile 5-metilsitozin, DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B proteinlerinin immünohistokimyasal boyamalarında kullanıldı. HE boyanmış biyopsi örnekleri, patolojik açıdan analiz edilerek; hipospermatogenez (HS; n= 16), yuvarlak spermatid tutulum (YST; n= 8), spermatoisit tutulum (ST; n= 8) ve sadece Sertoli hücresi sendromu (SSHS; n= 8) olarak dört gruba ayrıldı. 5-metilsitozin, DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B için elde edilen immünohistokimyasal boyanmalar, ImageJ programı ile analiz edilip; one-way ANOVA testi ile istatistiksel açıdan değerlendirildi.

**Bulgular:** Yapılan analizler sonucunda 5-metilsitozin düzeyinin, YST, ST ve SSHS olan hasta testis dokularında HS grubuna göre anlamlı olarak azaldığı bulundu (P<0.05). En düşük 5-metilsitozin ise SSHS'lu hasta testis dokularında gözlemlendi. DNMT1 protein ekspresyonunun, YST, ST ve SSHS olan hasta testis dokularında HS grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı belirlendi (P<0.05). En düşük DNMT1 ekspresyonu ise SSHS grubu hasta testis dokularında görüldü. DNMT1 sonuçlarına benzer olarak; DNMT3A ekspresyonunun, YST, ST ve SSHS olan hasta testis dokularında HS grubuna göre anlamlı olarak azaldığı bulundu (P<0.05). En düşük DNMT3A ekspresyonu da SSHS grubu hasta testis dokularında gözlemlendi. HS grubu testis dokularının, YST ve SSHS gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek DNMT3B ekspresyonuna sahip olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Her bir protein için yapılan seminifer tübül değerlendirmeleri, total testis bulguları ile uyumlu olduğu görüldü.

**Tartışma ve Sonuç:** Bu çalışma ile global DNA metilasyonu ve DNMT proteinlerinin testis dokusundaki ekspresyonel düzeylerindeki değişim ile azospermiye bağlı erkek infertilitesi arasındaki ilişki olduğu ilk defa ortaya konulmuştur. Bu bulguların, daha geniş azospermi tanılı erkek hastalar ve sağlıklı kontrol gruplarında analiz edilmesi gerektiği kanısındayız.

**Anahtar Kelimeler:** Azospermi, DNMT, global DNA metilasyonu, İnfertilite



**P044**

**Leydig Hücrelerinin İzolasyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması ve Karakterizasyonu**

Nida Karahan<sup>1</sup>, Gizem Nur Şahin<sup>1</sup>, Kübra Sarı<sup>1</sup>, Serçin Karahüseyinoğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Koç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Üreme Biyolojisi Yüksek Lisans Programı; İstanbul/Türkiye

<sup>2</sup>Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji ABD; Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM); İstanbul/Türkiye

**GİRİŞ**

Leydig hücreleri; erkeklerde testosteron hormonunun ana kaynağıdır 1 ve toplam testis hacminin yaklaşık %10-60'ını oluştururlar 2. Spermatogenez ve steroidogenez ile ilişkili olayların kapsamlı bir şekilde çalışılması ve anlaşılması için testis hücrelerinin etkin oldukları moleküler yollar ayrı ayrı belirlenmelidir. Dolayısıyla bu hücrelerin ayrı ayrı izolasyonu ve in-vitro kültürü optimum şekilde yapılmalıdır.

**YÖNTEM**

Bu çalışmada literatür taraması sonucunda en sık kullanıldığı gözlenen 5 farklı "fare Leydig hücresi izolasyonu" protokolü karşılaştırılmıştır. Yaş grupları arasındaki farklılığı gözlemek için 6-8 haftalık ve 2-3 aylık CD1 fareler kullanılmıştır. Deney grupları istatistiksel anlamlılık açısından 3'er kez tekrarlanmıştır. Toplam 10 deney grubu ve n=30 adet fare ile elde edilen deney sonuçları, izolasyondaki etkinlikleri açısından karşılaştırılmıştır. Deney grupları şu şekilde planlanmıştır (tablo 1):

Protokol 1: Enzimatik parçalama- %60 Percoll ile ultra santrifüj

Protokol 2: Enzimatik parçalama- %60 Gradient percoll ile ultra santrifüj

Protokol 3: Enzimatik parçalama- Nylon mesh ile filtrasyon- %30-40-60 Gradient percoll ile santrifüj

Protokol 4: Enzimatik parçalama- Nylon mesh ile filtrasyon

Protokol 5: 2 aşamalı enzimatik parçalama- Nylon mesh ile filtrasyon

Protokollere uygun izole edilen Leydig hücreleri DMEM:F12 medium içerisinde %10 fetal bovin serum, %1 penisilin- streptomisin, 100ng/ml rekombinant insan koryonik gonadotropini (hCG) ile %5 CO<sub>2</sub>, 37°C'de inkübe edilmiştir. Karakterizasyonu ve saflık yüzdesi, bir Leydig markeri olan 3β-Hydroxysteroid dehydrogenase (3BHSD) kullanılarak ve oluşan yağ damlacıklarını gösteren oil red O boyanarak immünofloresans/konfokal mikroskopisi, ile protein ve gen ürünleri ise Western Blot, qRT-PCR deneyleri sonucunda gösterilmiştir.

**SONUÇLAR VE TARTIŞMA**

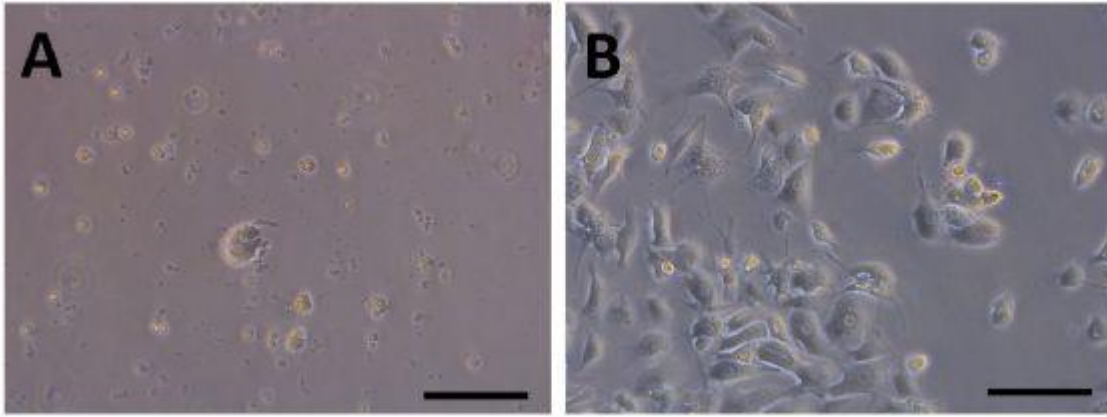
Deney sonuçları 2-3 ay yaş grubundan elde edilen kültür gruplarında matür Leydig hücre sayısının %30 daha fazla olduğunu göstermiştir. Protokoller arasında ise en yetersiz yöntemin protokol 1, etkili yöntemin ise protokol 5 olduğu belirlenmiştir. Tüm sonuçlar göz önüne alındığında, etkili bir Leydig hücre izolasyonunun 2-3 aylık erkek farelerden protokol 5 ile %85 saflıkta yapılabilineceği sonucu çıkarılmıştır.

**KAYNAKLAR**

1. C., S., Sertoli cells and Leydig cells in man. Adv Anat Embryol Cell Biol 1984. 88:1-104.
2. Setchell, B.P., Maddocks, S. & Brooks, D. E., Anatomy, Vasculature, Innervation, and Fluids of the Male Reproductive Tract. The Physiology of Reproduction. Second ed., ed. E.N. Knobil, J. D.. 1994, New York: Raven Press Ltd.

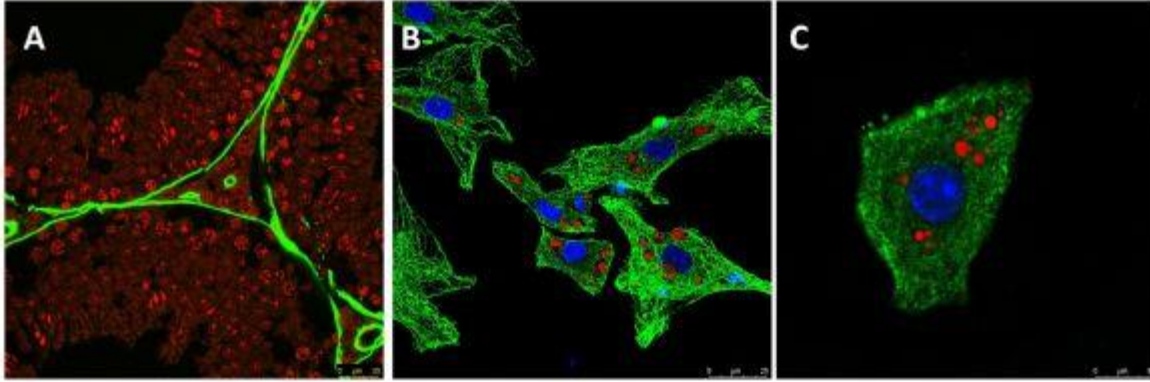
**Anahtar Kelimeler:** hücre izolasyonu, karakterizasyon, Leydig hücresi

### Leydig Hücrelerin İzolasyonu



Protokol 1 (A) ve Protokol 5 (B) ile 2-3 aylık CD1 erkek fare testisinden izole edilen primer Leydig hücre kültürü, faz kontrast mikroskobu görüntüleri. Barlar: A=200  $\mu$ m, B=100  $\mu$ m

### Testis dokusu ve Leydig hücreleri



A: Testis doku kesiti laminin (yeşil), nukleus (kırmızı); B ve C: Primer Leydig hücre kültürü  $\beta$ -tubulin (yeşil), nukleus (mavi) ve lipid damlaları (kırmızı) immüno Floresans boyaması, konfokal mikroskop.

### Deney grupları

	6-8 Haftalık CD1	2-3 Aylık CD1
Protokol 1	Grup 1	Grup 2
Protokol 2	Grup 3	Grup 4
Protokol 3	Grup 5	Grup 6
Protokol 4	Grup 7	Grup 8
Protokol 5	Grup 9	Grup 10

**P045****İnfertil bireylerde sperm sayısı ile bağlantılı sperm uzunluk ölçümlerinin araştırılması**Esra İbis<sup>1</sup>, Oktay Kaplan<sup>2</sup>, Emre Salabas<sup>3</sup>, Erkan Erdem<sup>4</sup>, Nazlı Ece Gungor Ordueri<sup>5</sup><sup>1</sup>Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biruni Üniversitesi, İstanbul<sup>2</sup>Biyomühendislik Anabilim Dalı, Mühendislik Fakültesi, Abdullah Gül Üniversitesi, Kayseri<sup>3</sup>Üroloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Biruni Üniversitesi, İstanbul<sup>4</sup>Üroloji Kliniği, OTA & Jinemed Hastanesi, İstanbul<sup>5</sup>Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Biruni Üniversitesi, İstanbul

**Giriş:** İnfertilite, günümüzde oldukça yaygın olarak gözlenen gebelik sağlanamaması durumu olarak tanımlanmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda infertil bireylerin %40-50 oranında sperm kaynaklı olduğu belirlenmiştir. Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde ve infertilite sebeplerinin gösterilmesinde semen analizi oldukça önemlidir. Semen analizinde değerlendirilen parametreler arasında ejakülat miktarı, sperm hareketi, total sperm sayısı ve sperm morfolojisi gibi kriterler olmakla birlikte gen ilişkili parametreler henüz yaygın olarak kullanılmamaktadır. Y kromozomu üzerindeki testis özgün protein (TSPY1) ile spermatogenez arasındaki ilişkinin biyoenformatik çalışmalar sonucu sperm sayısı ile körele olduğu tespit edilmiştir. Bu verileri destelemek amacı ile yaptığımız bu pilot bu çalışmamızda infertil erkek bireylerdeki sperm sayısı ile sperm uzunluk miktarları arasındaki korelasyonun tespitini hedefledik.

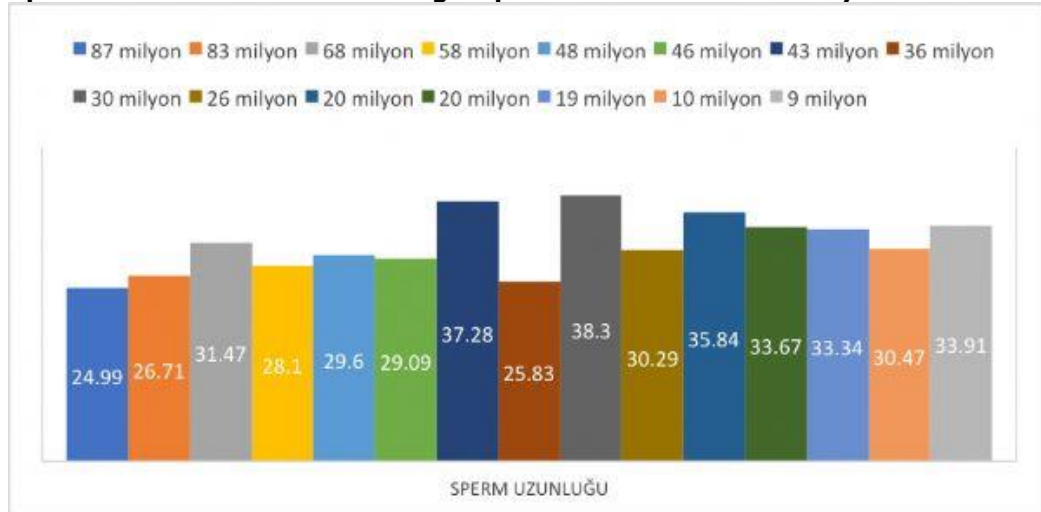
**Yöntem:** İnfertil bireylerden alınan semen örnekleri (16) sperm yayma işlemi ve fiksasyonu sonrası Maygraünwald ve Giemsa boyanma protokolü ile mikroskop altında incelenmek üzere hazırlandı. Sperm sayımı gerçekleştirilen semen örneklerinde sperm yayma preparatları, Kruger kriterlerine göre uygun ve uygun olmayan tipte olmak üzere iki grupta incelendi ve fotoğraflandı. Her iki grup için spermiumlarda uzunluk ölçümleri gerçekleştirildi. İstatistiksel analizler ile morfolojik kriterleri iyi olan sperm uzunluklarının iyi olduğu sperm sayısı arasında anlamlı korelasyon tespit edildi.

**Sonuçlar:** İnfertil bireylerde sperm sayısı ve iyi morfolojideki sperm uzunlukları arasında zıt korelasyon olduğu tespit edildi. Sperm sayısı fazla olan bireylerde sperm uzunluklarının daha kısa olduğu tespit edildi (Şekil 1.) Sperm olgunlaşma sürecinde uzunluk faktörünün de etkili olabileceğini düşündürmektedir.

**Tartışma:** Bu sonuçlar, bundan sonraki aşamada yapılacak olan DNA analiz deneylerinde, söz konusu olan TSPY1 geni ve kopya sayısı arasındaki bağlantının kurulabilmesi adına alt yapı oluşturmuştur. Semen örnek sayısının yeterli sayıya ulaşması ile birlikte, ikinci basamak olarak örneklerde TSPY1 gen analizlerinin gerçekleştirilmesi ve bu genin sperm sayı ile olduğu korelasyon gibi sperm uzunluk korelasyonu ile de uyumlu olup olmadığının araştırılması planlanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Erkek infertilitesi, semen analizi, sperm uzunluğu

**Sperm uzunluğu-Sperm sayısı grafiği**



Sperm sayısı ile sperm uzunluğunun zıt korelasyonu gösterilmektedir.

**P046**

**Diyabetin neden olduğu testis hasarı üzerine Losartan'ın olası anti-apoptotik etkisinin araştırılması**

Aylin Buhur<sup>1</sup>, Gürkan Yiğittürk<sup>2</sup>, Çevik Gürel<sup>1</sup>, Gökçe Ceren Kuşçu<sup>1</sup>, Fatih Oltulu<sup>1</sup>, Nefise Ülkü Karabay Yavaşoğlu<sup>3</sup>, Ayşegül Uysal<sup>1</sup>, Altuğ Yavaşoğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

<sup>2</sup>Muğla Sıtkı Koçman Tıp fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Muğla

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

**Amaç**

Diyabet kan glikoz seviyesindeki aşırı yükselmeye sonuçlanan, birçok doku ve organ yapısını olumsuz etkileyen yüksek mortalite ve morbiditeye sahip metabolik bir hastalıktır. Böbrek, kalp, göz gibi birçok doku ve organ yapısında gösterdiği bozukluğun yanı sıra testis yapısını ve spermatogenez sürecini de olumsuz etkilemektedir. Diyabetin erkek infertilitesi üzerindeki olumsuz etkileri birçok çalışma ile gösterilmiştir. Yapılan birçok çalışmada Streptozotosin (STZ) ile indüklenmiş diyabetik sıçan modellerinde diyabetin testis dokusu üzerine olumsuz etkilerinin giderilmeye çalışıldığı gözlemlenmektedir.

Angiotensin II tip 1 reseptör blokörü olan Losartan özellikle diyabet ve hipertansiyon birlikteliği olan hastalarda diyabetik nefropatiyi geciktirici etkiye sahip özelliğinden dolayı oldukça sık tercih edilen bir ajandır. Yapılan çeşitli çalışmalardan elde edilen bulgular, Losartan'ın antihipertansif etkilerinin yanı sıra farklı hastalık modellerinde, testis dokusu üzerine olumlu etkilerinin olduğu göstermiştir. Bu çalışmada diyabet modellenmesinde losartanın testis dokusu üzerine olumlu etkisinin olup olmadığı ve varsa olumlu etkinin hangi dozda gözlemlendiği araştırılmıştır

**Gereç ve Yöntemler**

Yapılan çalışmada STZ (50mg/kg) ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda testiste oluşabilecek hasarın farklı dozlarda losartan kullanılarak düzeltilebilme olasılığı araştırılmıştır. Bu amaçla 5 farklı deney grubu oluşturulmuştur. Bu gruplarda kontrol, diyabetik kontrol, düşük doz losartan uygulanan diyabetik grup, orta doz losartan uygulanan diyabetik grup ve yüksek doz losartan uygulanan diyabetik grup yer almaktadır. Oluşturulan deney gruplarından alınan testis dokuları, artan dozlarda uygulanan Losartanın, STZ ile indüklenen testis hasarı modelinde, apoptotik yollar üzerine etkilerinin araştırılması amacıyla immünohistokimyasal ve Real Time-PCR analizler ile incelenmiştir. Ayrıca sperm parametreleri ve biyokimyasal açıdan kan testosteron seviyeleri değerlendirilmiştir.

**Bulgular**

Histolojik ve real-time PCR yöntemleri ile incelenen testis dokularında diyabetle birlikte artan pro-apoptotik protein aktivitesi ve azalan anti apoptotik protein aktivitesi uygulanan tedaviye cevap olarak değişmektedir. Losartanın yüksek miktarda uygulandığı gruplarda anti apoptotik bir protein olan Bcl-2 miktarındaki artış ve pro-apoptotik protein olan Bax aktivitesinde gözlenen azalma dokunun apoptotik yöndeki yöneliminin değiştiğini göstermektedir. Ayrıca dokular arasındaki apoptotik değerlerde de değişim gözlemlenmektedir. Diyabetle birlikte artan apoptoz oranının da tedavi uygulanan gruplarda azaldığı görülmektedir.

**Sonuç**

Çalışmanın sonucunda artan losartan dozuyla bağlantılı olarak testiste gözlenen apoptoz oranlarında azalma tespit edilmiştir. Bu durum, diyabetle birlikte artan anjiyotensin II miktarına karşı, anjiyotensin II'nin reseptörü olan anjiyotensin II tip I reseptör blokajının, anjiyotensin II nin bu reseptöre bağlanarak dokuda oluşturduğu olumsuz etkilerin giderilmesini sağladığını gösterebilir. Araştırma sonunda, Losartanın doz artışının diyabetin neden olduğu testis hasarı üzerine olumlu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptosis, Diabetes mellitus, Losartan, RT-PCR, Testis

P047

**Sisplatin ile Oluşturulan Testis Hasarına Karşı N-Asetilsistein'in Etkisi**Esra Balcioğlu<sup>1</sup>, Tuğçe Merve Özyazgan<sup>1</sup>, Ayşe Ceyhan<sup>1</sup>, Rümeyza Göç<sup>1</sup>, İnayet Türkoğlu<sup>2</sup>, Cevat Yazıcı<sup>2</sup>, Arzu Yay<sup>1</sup><sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kayseri

**Amaç:** Sisplatin (Cp) pek çok kanserin tedavisinde kullanılan etkili bir antineoplastik ajandır. Ancak birçok sistem üzerinde olduğu gibi reproduktif sistem üzerindeki toksik etkisi sisplatinin klinik kullanımını sınırlandırmaktadır. N-asetilsistein (NAC) doğal bir aminoasit olan L-sistein'in N-asetillenmiş türevi olan bir antioksidan ve antiinflamatuardır. Bu çalışmada, Cp uygulanması ile ortaya çıkabilecek testis hasarının belirlenmesi ve buna karşı NAC'nin olası tedavi edici etkilerinin histolojik yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada, 32 adet Wistar albino cinsi erkek sıçanlar rastgele 4 gruba ayrıldı: Kontrol grubu; 4 saat arayla 2 kez intraperitoneal (ip) serum fizyolojik uygulanan grup, Cp grubu; ilk gün 10 mg/kg tek doz ip Cp uygulanan grup, NAC; üç gün süreyle 500 mg/kg ip NAC uygulanan grup, Cp+NAC; ilk gün önce 10 mg/kg tek doz ip Cp, 4 saat sonrasında ve ardışık iki gün daha 500 mg/kg dozda ip NAC uygulanan grup. Deney bitiminde anestezi altında testis dokuları %10 formaldehit solüsyonuna alındıktan sonra sıçanlar dekapite edildi. Formaldehit ile tespit edilen dokulara rutin histolojik doku takibi yöntemi uygulanarak parafin bloklar hazırlandı. Deney gruplarına ait testis dokularının ışık mikroskop altında histolojik özelliklerini incelemek üzere 5µm kalınlığında alınan kesitler hematoksilin ve eozin ile boyandı. Histopatolojik olarak değerlendirme için Johnsen'in testiküler biyopsi skorlaması (JTBS) kullanıldı. Apoptoz ise TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) metodu kullanılarak değerlendirildi. İnflamasyon belirteci olarak kullanılan tümör nekroz faktör-alfanın (TNF-α) immünreaktivite yoğunluğunu belirlemek üzere immünohistokimya boyama metodu kullanıldı. TNF-α'nın immünoreaktivite yoğunluğu Image J software programı kullanılarak ölçüldü. Elde edilen veriler R (www.r-project.org) 3.2.2 yazılımı ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Anlamlılık düzeyi p<0,05 olarak kabul edildi.

**Bulgular:** JTBS sonuçlarına göre, Cp grubuna ait değerlerin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu, Cp+NAC grubundaki değerlerin Cp grubuna göre anlamlı bir şekilde artış gösterdiği görüldü (p<0,001). NAC grubu JTBS sonuçları kontrol grubuna yakındı. TNF-α ekspresyonuna bakıldığında Cp grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artma olduğu (p<0,001), Cp+Nac grubunda ise Cp grubuna göre anlamlı derecede azalma olduğu gözlemlendi (p<0,001). Cp grubunda TUNEL+ apoptotik hücre sayısı kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazlaydı. Cp+NAC grubunda ise TUNEL+ apoptotik hücre sayısında Cp grubuna göre anlamlı biçimde azalma gözlemlendi (p<0,001).

**Sonuç:** Bu çalışmada, kanser tedavisinde sıkça kullanılan bir kemoterapötik ajan olan Cp'nin birçok organ üzerinde olduğu gibi testis üzerinde de toksik etkiye sahip olduğu görüldü. Çalışmadan elde edilen verilere göre, sentetik bir antioksidan ve antiinflamatuvar olarak bilinen NAC'nin testis dokusunda Cp aracılı toksik hasarı hafiflettiği söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** N-asetilsistein, oksidan stres, sisplatin, testis

**P048****Paklitaksel Uygulanan Testis Dokusunda Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin Otofajideki Rolü**

Gözde Özge Önder<sup>1</sup>, Gülay Sezer<sup>2</sup>, Arzu Yay<sup>1</sup>, Ayşe Ceyhan<sup>1</sup>, Zeynep Soyer Sarıca<sup>3</sup>, Seçil Yılmaz<sup>4</sup>, Zeynep Burçin Gönen<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>3</sup>Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kayseri

<sup>4</sup>Erciyes Üniversitesi Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi, Kayseri

**Amaç:** Taksoid grubu ilaçlardan olan paklitaksel (PTX) günümüzde birçok kanser türünün tedavisinde kullanılmaktadır. Kemoterapotiklerin yüksek antitümör aktivitesine sahip olmalarının yanı sıra özellikle üreme sistemi üzerine toksik etki gösterdiği bilinmektedir. Otofaji ise protein ve organellerin hücresel geri dönüşümünü sağlayan evrimsel bir süreçtir. Çalışmamızda PTX'in testis dokusunda oluşturduğu hasara karşı kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin (MKH) otofaji üzerine etkisi araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada toplam 22 adet 6-8 haftalık Sprague Dawley erkek sıçan, her bir grupta 4 hayvan olacak şekilde kontrol, kromofor, PTX, PTX+1x10<sup>6</sup>MKH ve PTX+5x10<sup>6</sup>MKH olarak rastgele 5 gruba ayrıldı. MKH'ler Genom ve Kök Hücre Merkezi Kök Hücre Departmanı'nda çalışmadaki iki sıçanın kemik iliğinden elde edilerek hazırlandı. MKH için; CD105+, CD73+, CD90+ yüzey belirteçlerini ekspres ettiği ve CD45-, CD34-, CD14-, CD79- ve HLA-DR belirteçlerini taşımadığı flow sitometri yöntemiyle gösterildi. Kontrol grubuna ait sıçanlara deney süresince intraperitoneal (i.p.) olarak serum fizyolojik PTX grubundaki gibi enjekte edildi. PTX grubuna 4 mg/kg i.p. olarak 1., 2., 4., 7. günlerde olmak üzere toplam 4 kez enjekte edildi. PTX+1x10<sup>6</sup> MKH grubuna PTX enjeksiyonundan sonra 9. günde 1x10<sup>6</sup> MKH kuyruk veninden enjekte edilirken, PTX+5x10<sup>6</sup> MKH grubuna ise yine aynı şekilde PTX uygulamasından sonra 5x10<sup>6</sup> MKH verildi. Deney sonunda gruplara ait sıçanlardan testis dokuları çıkarılarak rutin histolojik doku takibi ile hazırlanan kesitlere Hematoksilen&Eozin boyama metodu uygulandı. Tübüllerdeki hasarlanmanın derecesi Johnsen Testiküleri Biyopsi Skoru (JTBS) ile belirlendi. Otofaji markerları olarak kullanılan LC3A/B ve p62 ekspresyon yoğunluklarını belirlemek için immunohistokimya boyama metodu kullanıldı. İmmunoreaktivite yoğunlukları ise Image J software programı kullanılarak ölçüldü. Elde edilen veriler R (www.r-project.org) 3.2.2 yazılımı ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi.

**Bulgular:** PTX grubunda diğer gruplara göre JTBS azalmıştı (p<0.001). LC3A/B immunoreaktivite yoğunluğuna bakıldığında, LC3A/B ekspresyonunun PTX grubunda tüm deney gruplarına göre anlamlı derecede artış gösterdiği (p<0.001). 1x10<sup>6</sup>MKH ve 5x10<sup>6</sup>MKH gruplarında ise PTX grubuna göre anlamlı şekilde azalma olduğu belirlenmiştir (p<0.001). 1x10<sup>6</sup>MKH ve 5x10<sup>6</sup>MKH grupları kendi arasında kıyaslandığında anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir. p62 immunoreaktivite yoğunluğuna bakıldığında, PTX grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir (p<0.001). 5x10<sup>6</sup>MKH grubu 1x10<sup>6</sup>MKH grubu ile karşılaştırıldığında, 5x10<sup>6</sup>MKH grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma mevcuttu (p<0.001).

**Sonuç:** PTX'in kanser hücrelerinde otofajiyi apoptozdan korunmak için kullandığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda PTX'in testis tübül hücrelerinde ciddi hasara neden olduğu ve otofaji markerlarını artırdığı belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen verilere göre, MKH'lerin PTX ile oluşturulan hasarı ve otofaji markerlarını azalttığı sonucuna varılmıştır.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenen 315S176 no'lu projeden türetilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** LC3A/B, Otofaji, Paklitaksel, p62, Testis

P049

**Kronik miyeloid lösemi tedavisinde kullanılan bir tirozin kinaz inhibitörü olan nilotinib hücre proliferasyonunu azaltarak ve apoptozu arttırarak gonadotoksik etki gösterir**Nilay Kuşcu<sup>1</sup>, Dileyra Adıgüzel<sup>1</sup>, Sinan Özkavukcu<sup>2</sup>, Güldane Cengiz Seval<sup>3</sup>, Çiler Çelik Özenci<sup>1</sup><sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Antalya<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Ankara<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hematoloji BD, Ankara

**Giriş-Amaç:** Kronik miyeloid lösemiye (KML) yol açan temel bozukluk, 9. ve 22. kromozomlar üzerindeki gen gruplarının yer değişimiyle oluşan Philadelphia kromozomundaki bozuk gen bölgesidir. Bu bozukluk sonucunda üretilen gen ürünü, hücre içinde tirozin kinaz enziminin normale göre daha fazla işlev görmesine neden olur. Bu da hücre içi sinyal iletimi, hücrelerin çoğalması ve programlı ölümü gibi işlevlerin kontrolünde değişikliklere neden olarak kemik iliğinde kanser gelişimine ve metastazlara neden olmaktadır. KML'nin tedavisinde son yıllarda en etkili seçenek; aktivitesi artmış tirozin kinazı baskılayan tirozin kinaz inhibitörleridir (TKİ). Bu ilaç grubunda, son kuşak olarak kullanıma sunulan ve etkisi ilk kuşak TKİ'lere göre 30-50 kat daha yüksek olan ilaçlardan bir tanesi de nilotinibdir. Protein tirozin kinaz (PTK) ailesinin spermatogenez ve oogenez sürecinde önemli rolleri bilinmesine rağmen, TKİ'lerin endokrin ve üreme fonksiyonlarına etkisini gösteren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı; nilotinib uygulanan farelerde görülen gonadotoksik etkinin hücre proliferasyonu ve apoptoz ile ilişkisini değerlendirmektir.

**Materyal ve Yöntem:** Nilotinibin suda çözünen formu Balb/C türü n=20 erkek, n=20 dişi fareye 20 mg/kg/hayvan olacak şekilde, 1 ay boyunca her sabah içme sularına eklenerek verilmiştir. İçme sularının fareler tarafından tamamen tüketildiği her gün kontrol edilmiştir. Nilotinib alan ve almayan (kontrol grubu) erkek ve dişi farelerin vücut ağırlıkları ölçümleri deney süresince ve ovaryum ve testis ağırlık ölçümleri ise deney bitişinde yapılmıştır. Testis ve ovaryumlarda; morfolojik değerlendirmeler ve dişilerde folikül sayımı amacıyla hematoksilen-eozin boyaması yapılmıştır. Apoptozu değerlendirmek amacıyla ovaryum ve testiste cleaved caspase-3, proliferasyonun değerlendirilmesi için testiste PCNA ve germ hücrelerini değerlendirmek amacıyla ise VASA ekspresyonları immünohistokimya yöntemiyle incelenmiştir.

**Sonuç ve Tartışma:** Nilotinib alan gruptaki erkek ve dişilerin gonad/vücut ağırlığı oranı kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır. Dişilerde ovaryum folikül sayıları incelendiğinde; primordiyal, primer, sekonder, tersiyer ve toplam folikül sayısının nilotinib grubunda kontrol grubuna göre azalmıştır. Ovaryum histolojisi değerlendirildiğinde; nilotinib grubunda granüloza hücre diziliminde düzensizlikler ve oositlerde belirgin vakuolizasyon artışı tespit edilmiştir. Testis histolojisi değerlendirildiğinde, nilotinib uygulaması seminifer epitelyum düzeninin bozulmasına ve spermatogenezin duraklamasına neden olmuştur. Cleaved caspase-3 ekspresyonu, nilotinib uygulanan farelerin ovaryum ve testisinde kontrol grubuna göre artmıştır. Nilotinib uygulanmış farelerin testislerinde PCNA ve VASA ekspresyonları kontrol grubuna göre azalmıştır. Sonuç olarak; nilotinib gonadotoksik bir ajan olup bu etkisini testis ve ovaryumda hücre proliferasyonunu azaltarak ve apoptozu arttırarak göstermektedir. Bu gonadotoksik etkinin altında yatan moleküler mekanizmaların ve nilotinibin teratojenite ve fertilité üzerine etkisinin detaylı olarak araştırılacağı yeni çalışmalara hızla ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Kronik miyeloid lösemi, tirozin kinaz, nilotinib, gonadotoksikite

**P050**

**DeneySEL Olarak Oluşturulan Diyabet Modelinde Etil Pirüvat'ın Sıçan Testisine Etkisinin İncelenmesi**

Yavuz Genç<sup>1</sup>, Başak Baykara<sup>1</sup>, Burcu Açıkgöz<sup>2</sup>, Selma Aydemir<sup>1</sup>, Müge Kiray<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, İzmir

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, İzmir

**Amaç:** Diabetes Mellitus (DM) modeli oluşturulan erkek sıçanlarda DM'nin testis yapısında oluşturduğu hasarı incelemek ve bu hasarda Etil Pirüvat'ın (EP) etkisini, histokimyasal (Hematoksilen-Eozin, Masson Trikrom, Periyodik Asit Schiff (PAS), immunohistokimyasal (Aktive Kaspaz-3 ve TUNEL) ve biyokimyasal Malondialdehit (MDA), Glutasyon (GSH) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx) olarak göstermektir.

**Materyal-Metod:** Çalışmada deney grupları aşağıdaki gibi düzenlendi

1.Grup. Kontrol Grubu: Hiçbir madde uygulanmayan, bazal değerler için kullanılan gruptur. Deney başladıktan sonraki 18. günde tüm denekler sakrifiye edildi ve testis doku örnekleri alındı.

2.Grup. Etil Pirüvat Grubu: Deneklere deney başlangıcının 3. gününden itibaren 18. güne kadar günde iki defa intraperitoneal (i.p.) yolla 50 mg/kg Etil Pirüvat verildi. 18. gün sakrifiye edildi.

3.Grup. Diyabet Grubu: Deneklere ilk gün i.p yolla tek doz 45 mg/kg streptozotosin (STZ) verildi. 18.gün sakrifiye edildi.

4.Grup. Diyabet ve Etil Pirüvat Grubu: Deneklere ilk gün i.p yolla tek doz 45 mg/kg STZ verildi. Deney başlangıcının 3. gününden itibaren 18. güne kadar günde iki defa i.p yolla 50 mg/kg Etil Pirüvat verildi. 18. gün sakrifiye edildi.

Histolojik ve morfometrik incelemeler için deneklerden alınan sağ testiste Hematoksilin-Eozin, Masson Trikrom, Periyodik Asit Schiff (PAS), immünohistokimyasal olarak; TUNEL ve Aktif Kaspaz-3 boyamaları yapıldı. Biyokimyasal incelemeler için deneklerden alınan sol testiste GSH, GPx, MDA düzeyleri incelendi.

**Bulgular:** Yapılan histokimyasal incelemelerde, kontrol grubunda normal testis yapısı gözlemlendi. Diyabet grubunda; bazal membran kalınlaşması, bazal membran ondülasyonu, seminifer tübüllerde vakuolizasyon, germ hücre kaybı ve interstisyel alanda bağ doku artışı gözlemlendi. Etil pirüvat ve diyabet+ etil pirüvat gruplarında Hematoksilin-Eozin, Masson Trikrom, PAS boyamaları ve Johnsen skorlaması yapıldığında normale yakın testis yapısı gözlemlendi.

İmmünohistokimyasal olarak TUNEL ve kaspaz-3 boyamaları yapılarak testis doku örneklerinde pozitif hücre aktivasyonuna bakıldı. Kontrol grubuna göre diyabet grubunda apoptotik hücre sayısı anlamlı olarak arttığını belirledik. Diyabet+ etil pirüvat grubuyla diyabet grubu kıyaslandığında, diyabet+ etil pirüvat grubunda apoptotik hücre sayısında anlamlı azalma olduğunu gözlemledik. Biyokimyasal incelemelerde, GPx, GSH ve MDA değerlendirildi. MDA'nın, diyabet grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığını, GSH ve GPx'in ise anlamlı olarak azaldığını tespit ettik. MDA değerleri için diyabet grubu ile etil pirüvat ve diyabet+ etil pirüvat grupları kıyaslandığında, etil pirüvat ve diyabet+ etil pirüvat gruplarında anlamlı bir azalmanın olduğunu gözlemledik. Ayrıca diyabet grubuna göre etil pirüvat ve diyabet+ etil pirüvat gruplarında GSH ve GPx değerleri anlamlı olarak yüksek bulundu.

**Sonuç:** Çalışmamızda STZ ile oluşturulan diyabette testis dokularında oluşan hasarı, etil pirüvat tedavisinin azalttığını bulduk.

**Çalışmamız TÜBİTAK 1002/216S259 proje no ile desteklenmiştir.**

**Anahtar Kelimeler:** EP: Etil Pirüvat, Sıçan, Testis, Tip 1 DM: Tip 1 Diabetes Mellitus



**P051****Adölesan sıçanların iskemii / reperfüzyon testis modelinde metforminin kan-testis bariyeri üzerine etkisi**

Nazlı Ece Güngör Orduer<sup>1</sup>, Erkan Erdem<sup>2</sup>, Meriç Karacan<sup>3</sup>, Akın Usta<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Bilgi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>3</sup>OTA Jinemed Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>4</sup>Balıkesir Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Balıkesir

**Giriş-Amaç:** Testis kan akımını önlemek için spermatik kordonların döndürülmesi olarak tanımlanan testis torsiyonu, erkek çocuklarda ergenlik döneminde akut skrotuma ve testiste iskemik hasara yol açmaktadır. De-torsiyon, reperfüzyon hasarı ile testiste yapısal ve biyokimyasal değişikliklere yol açar. Seminifer tübül hasarına yol açan kan testis bariyeri (KTB) bütünlüğü de bozulur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda reaktif oksijen türlerinin antioksidan tedavilerle azaldığı gösterilmiştir.

Spermatogenez ve KTB dinamiklerinin önlenmesi için, metforminin, torsiyondan sonra protein ekspresyon seviyelerini değerlendirmek için bir antioksidan olarak kullanılmasını hedefliyoruz. **Gereç-Yöntem:** Çalışmamızda Wistar-Albino cinsi, 40 adet, 250-300 gr ağırlığında 6 haftalık adölesan erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 8 adet olmak üzere 5 gruba ayrıldı. 1. Grup olan kontrol grubuna hiçbir cerrahi uygulama yapılmadı. Torsiyon, sol testisin spermatik kordunun 720° saat yönünün tersine çevrilmesiyle oluşturuldu. Detorsiyon, 4 saat torsiyondan sonra testisin eski pozisyonuna getirilmesiyle sağlandı. 2. Grup olan iskemii grubunda sol testise, 4 saat torsiyon uygulanıp detorsiyon yapılmadan testisler çıkartıldı. 3. grup olan İ/R grubunda sol testise, 4 saat torsiyon ve 2 saat detorsiyon uygulanıp testisler çıkartıldı. 4. Grup olan metformin grubunda torsiyondan 60 dk önce ve 4 saatlik detorsiyondan hemen sonra 2 defa oro-gastrik gavaj ile 300 mg/kg metformin verildi. 2 saat detorsiyon uygulanıp testisler çıkartıldı. 5. Grup ise sham grubu olarak değerlendirildi. Doku kesitlerine PAS boyanması yanında Jhonsen skorlama ile histolojik analiz gerçekleştirildi. Aktif kaspaz-3, KTB düzenleyici proteinler olarak n-kaderin ve okludinin; aktin düzenleyici proteinler olarak ezrin ve fascin1'in immünohistokimya ile boyanması gerçekleştirildi. Ekspresyon seviyeleri ImageJ yazılımı ile değerlendirildi. Bazal membran bütünlüğü de kalitatif olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Seminifer tübül organizasyonunun iskemiden (I) sonra bozulduğunu saptadık. I / R ve metformin gruplarında seminifer tübül organizasyonunun önlendiğini gösterdik. Metformin grubunda (M) apoptoz için anlamlı bir değişiklik olmadığı; I / R gruplarında seminifer tübüllerde aktif kaspaz-3 pozitif hücre oranının az olduğunu tespit ettik. KTB ve aktin düzenleyici proteinlerin ekspresyon seviyeleri, KTB bölgesindeki iskemii grubunda önemli ölçüde azalmış ve delokalize olarak gözlemlendi. Metformin grubunda ise KTB proteinlerinin ekspresyon düzeyleri kontrol ve I / R grubu ile benzerdi. Detaylı morfolojik analiz için, iskemii grubunda anlamlı bazal membran bütünlüğünde bozulma gözlenirken, I / R ve metformin gruplarında görülmedi.

**Tartışma:** Metforminin koruyucu etkisi, sıçan testisindeki iskemii-reperfüzyon hasarında iyileşme ve kendisinin anti-oksidan faydaları ile ortaya çıkabilir. KTB düzenleyici proteinlerdeki azalma ile spermatogenez engellenebileceği için bu koruyucu etkiye ihtiyaç vardır. Testisin de-torsiyonundan sonra KTB dinamiğinin korunması ile testis hasarının ve spermatogenezin geri kazanılması adına metforminin yararlı olabileceğini öneriyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Adölesan sıçan, torsiyon /de-torsiyon, testis hasarı, KTB, metformin

**P052****Akut ve kronik dönem 900 MHz elektromanyetik radyasyon uygulamasının rat testisi üzerindeki etkisi**

Leyla Satı<sup>1</sup>, Bikem Soygür<sup>1</sup>, Gizem Gamze Taş<sup>1</sup>, Hakan Er<sup>2</sup>, Piraye Yargıçoğlu Akkiraz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, Antalya

**Amaç:** Son yıllarda yapılan çalışmalarda, cep telefonlarından yayılan elektromanyetik radyasyona (EMR) maruziyetin, potansiyel olarak insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceği gösterilmiştir. Özellikle EMR'nin yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak, erkekte üreme ile ilişkili parametreleri olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir. Bununla birlikte EMR'nin erkek üreme sistemi üzerindeki etki mekanizması halen açık değildir. Bu noktadan hareketle çalışmamızda, akut (1 hafta) ve kronik (10 hafta) periyotlarda 900 MHz EMR'ye maruz kalmış Wistar rat testislerinde, hücre ölümü ve proliferasyon ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem-Gereçler:** Çalışmamızda kullandığımız 900 MHz radyofrekans değeri, cep telefonu haberleşmesinde de kullanılan bir frekanstır. Kontrol (sham) grupları 1 hafta ve 10 hafta süreyle elektromanyetik alan olmadan, özel yapılmış olan pleksiglas tüpler içerisinde günde 2 saat bekletilmiştir. Deney grupları ise 1 hafta ve 10 hafta süreyle yine aynı tüpler içerisinde günde 2 saat olmak üzere, 900 MHz frekansta EMR yayan anten etrafında 10 cm mesafede bekletilmiştir (n=6/grup). Deney süreleri tamamlanınca testis örneklerinden biri Bouin fiksatif ile fiksasyon sonrasında, rutin doku takibi işlemlerine tabi tutularak, immünohistokimya için parafin kesitler alınmıştır. Aynı hayvana ait diğer testis örneği ise sıvı nitrojene alınarak, sonrasında Western Blot analizleri için protein lizatları elde edilmiştir. Kesitler üzerinde TUNEL yöntemi uygulanarak apoptotik indeks çıkarılmıştır. Ayrıca apoptoz ve proliferasyon için sırasıyla aktif kaspaz-3 ve PCNA (Prolifere olan hücre nüklear antijeni) proteinlerinin ekspresyon ve lokalizasyonları immünohistokimya ve Western Blot yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Akut ve kronik periyotlara ait bulgular, ilgili haftaya ait kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** TUNEL metodu ile elde edilen apoptotik indeks analizlerinde, 900 MHz radyofrekans uygulamasının özellikle akut dönemde, kontrol grubuna göre hücre ölümünü artırdığı tespit edilmiştir (p<=0.05). İmmünohistokimyasal olarak aktif kaspaz-3'ün, postmayotik üreme hücrelerinde, özellikle de yuvarlak spermatidlerde varlığı dikkat çekmiştir. Boyanma paterninin özellikle VII-VIII tübül evrelerinde yoğunlaştığı izlenmiştir. Akut ya da kronik deney gruplarında aktif kaspaz-3'ün bu lokalizasyon paterni açısından kontrol gruplarına göre herhangi bir fark gözlenmemiştir. Bununla birlikte Western Blot yönteminde aktif kaspaz-3 ekspresyon miktarı, akut fazda herhangi bir fark gözlenmemesine rağmen, kronik periyotta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış bulunmuştur (P = 0.027). PCNA lokalizasyon paterni ve ekspresyon miktarı açısından ise kontrol grupları ile akut veya kronik gruplar arasında herhangi bir fark izlenmemiştir.

**Sonuçlar:** Elde ettiğimiz bulgularımıza göre, 900 MHz radyofrekans uygulaması, akut fazda hücre ölümünün artmasına neden olurken; ilginç olarak kronik periyotta, aktif kaspaz-3'ün anlamlı bir şekilde azalmış ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur. Kronik maruziyette meydana gelen bu olası adaptasyon sürecinin değerlendirilmesi amacıyla moleküler düzeyde yolak analizlerinin yapılması için araştırmalarımız devam etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptoz, elektromanyetik radyasyon, proliferasyon, rat, testis

P053

### Maternal Hipotiroidinin Yavru Sıçan Leydig Hücrelerinde eNOS ve iNOS İmmunoreaktivitesi Üzerine Etkisi

Ayşegül Burçin Yıldırım, Saim Özdamar, Emin Kaymak, Derya Karabulut  
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji AD, Kayseri

**Giriş-Amaç:** Tiroid hormonları organizmada metabolizma üzerine oldukça etkilidir ve organizmanın oksidatif ve antioksidatif durumuyla ilişkilidir. Hipotiroidizmde tiroid hormon seviyesindeki azalma bazal metabolizma hızının düşmesine ve metabolik baskılanmaya yol açmaktadır. Bunun sonucu olarak serbest radikal oluşumunun azaldığı ve dokuların lipid peroksidasyonuna karşı korunduğu rapor edilmiştir ancak hipotiroidizm de artmış oksidatif stres olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Tiroid hormonları aynı zamanda steroidiyogenezi ve spermatogenezi düzenleyerek erkek fertilitatesini oksidatif stres üzerinden etkilemektedir. Bu çalışmada propiltiourasil (PTU) ile hipotiroidi oluşturulan annelerden doğan yavru sıçanların testislerindeki Leydig hücrelerinde endotelial Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) ve induklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) ekspresyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** 12 adet Wistar albino türü gebe sıçanlar H (hipotiroidi) ve K (kontrol) grubu olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Hipotiroidi içme sularına PTU (%0,01) eklenerek oluşturuldu. H grubu sıçanlara gebelikten önce 21 gün ve gebelik süresince de 21 gün olmak üzere toplam 42 gün PTU verildi. Kontrol grubuna ise sadece su verildi. Annelerden doğan erkek yavrular kontrol grubu 15. (n=7) ve 60. günlerde (n=7) ve hipotiroidili 15. (n=7) ve 60. günlerde (n=7) sakrifiye edilerek testis dokuları alındı ve testiste eNOS ve iNOS ekspresyon yoğunluğunu belirlemek için immunohistokimyasal boyama yapıldı. eNOS ve iNOS ekspresyon yoğunluğu testiste Leydig hücrelerinde Image j programı kullanılarak ölçüldü. Anne sıçanlardan alınan kan örneklerinde T3, T4, TSH değerleri ELISA yöntemiyle belirlendi. Bütün veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Hipotiroidi grubunda anne sıçanların tiroid hormonlarının kontrole göre düşük, TSH değerlerinin yüksek olmasından ( $p<,05$ ) dolayı hipotiroidinin olduğu görüldü (Tablo 1). Onbeş ve 60 günlük deney ve kontrol grubunda eNOS (Şekil 1) ve iNOS (Şekil 1) ekspresyonları ayrı ayrı değerlendirildi. Hem 15 günlük hem de 60 günlük gruplarda kontrol gruplarına göre eNOS ve iNOS ekspresyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ( $p<,05$ ), (Tablo 2).

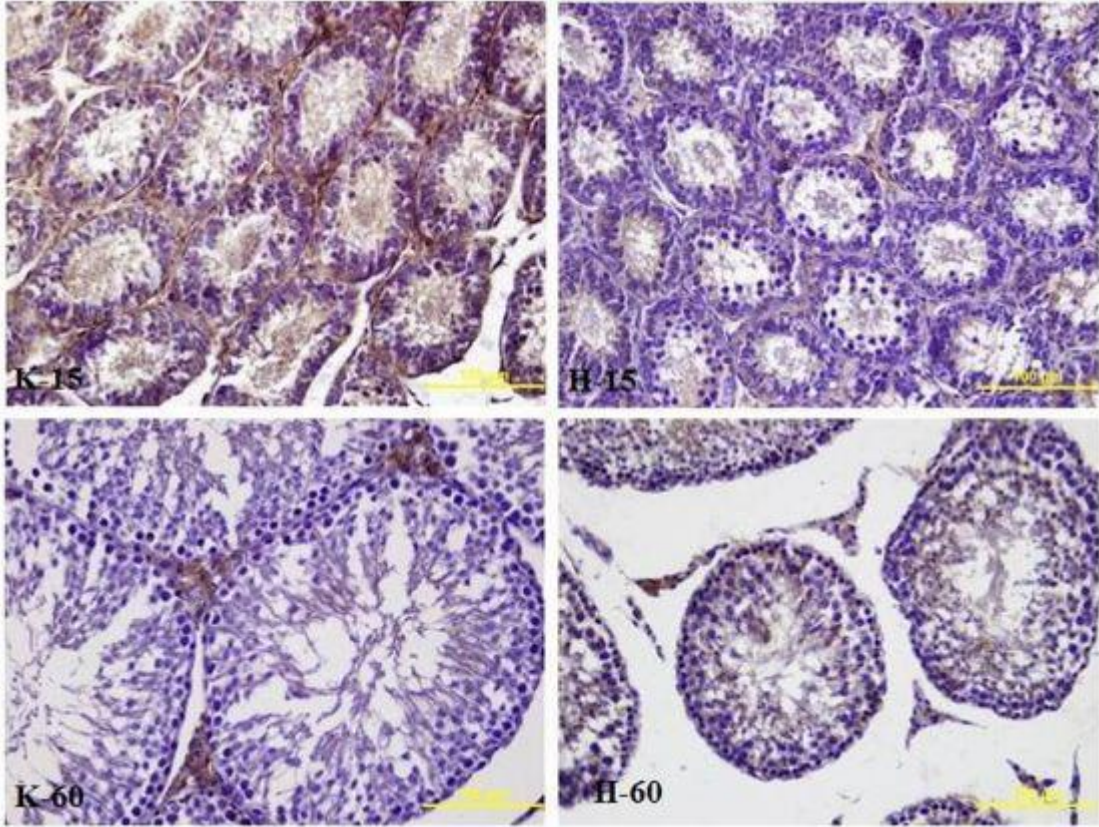
**Tartışma-Sonuç:** Hipotiroidili sıçan testisinde eNOS ve iNOS ekspresyonlarındaki azalma Leydig hücre aktivitelerinin ve steroidogenezin bozulduğuna işaret etmektedir. Leydig hücrelerinde eNOS ve iNOS'un aktivitesinin seminifer tübüldeki spermatojenik hücrelere göre yüksek olması, NOS'un androjen üretimi üzerine etkili olabileceğini desteklemektedir. Bu çalışmanın sonuçları annedeki hipotiroidinin yavru Leydig hücrelerinin androjen üretim fonksiyonundaki bozulmaya neden olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Hipotiroid, eNOS, iNOS

eNOS

immünreaktivitesi

eNOS

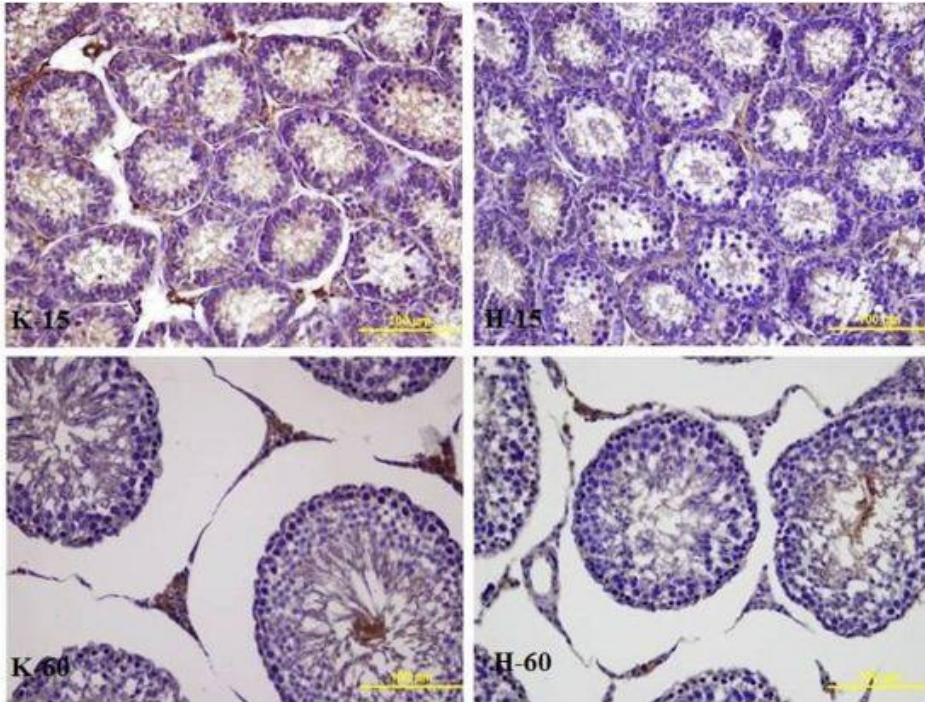


Şekil 1: Leydig hücrelerinde eNOS İmmunoreaktivitesi, K15; Kontrol 15 günlük, H15; Hipotiroidi 15 günlük, K60; Kontrol 60 günlük, H60; Hipotiroidi 60 günlük. (X40, Bar 100 µm, immunohistokimya).

iNOS

immünreaktivitesi

iNOS



Şekil 2: Leydig hücrelerinde iNOS immunoreaktivitesi, K15; Kontrol 15 günlük, H15; Hipotiroidi 15 günlük, K60; Kontrol 60 günlük, H60; Hipotiroidi 60 günlük. (X40, Bar 100 µm, immunohistokimya).

**Tablo 1. Anne sıçanların gebelik sonundaki tiroid hormon düzeyleri**

Gruplar	TSH (mIU /ml)	T4 (ng/ml)	T3 (ng /L)
K-Anne	3,10±0,53	59,84±4,23	602,34±173,80
H-Anne	4,06±0,75*	45,52±12,47	595,85±126,44

\* $p < ,05$  düzeyinde kontrol grubundan farklı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. İstatistiksel analizde t-testi kullanılmıştır.

**Tablo 2. Annesi hipotiroidi olan 15 ve 60 günlük yavruların eNOS ve iNOS immunoreaktivite skorları**

Yavru Gruplar	eNOS(n=100)	p	iNOS(n=100-)	p
K-15	119,50±17,28		105,51±17,47	
H-15	112,41±18,86*	,006	96,64±12,32*	,000
K-60	137,32±19,27		135,73±16,33	
H-60	120,13±19,45*	,000	123,21±20,12*	,000

\* $p < ,05$  düzeyinde kontrol grubundan farklı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. İstatistiksel analizde t-testi kullanılmıştır.

**P054**

**DeneySEL erişkin sıçan hipertroidi modelinde Quercetin'in testis dokusundaki etkisinin histolojik olarak incelenmesi**

Meltem Avcı<sup>1</sup>, Seda Özbal<sup>1</sup>, Zahide Çavdar<sup>2</sup>, Aslı Çelik<sup>3</sup>, Alper Bağrıyanık<sup>1</sup>, Cemre Ural<sup>2</sup>, Bekir Uğur Ergür<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Moleküler Tıp Ana Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisiplin Deney Hayvanları Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

**Amaç:**

Hipertiroidizm, tiroid hormonlarının sentezinin artışıyla oluşan klinik bir tablodur. Erişkin dönemde oluşan hipertiroidi, testis dokusunda spermatogenik hücreleri etkilemekte, seminifer tübül yapısında değişikliğe neden olmakta ve bunun sonucunda testis dokusunda hasar ve hücrelerde apoptoz meydana gelmektedir. Quercetin, antiapoptotik etkileri gösterilmiş olan kuvvetli bir antioksidandır. Çalışmamızda, hipertroidi modeli uygulanan sıçanlarda testis dokusunda oluşan hasara karşı kuvvetli bir antioksidan olan Quercetin uygulamasının etkilerini ışık mikroskopik, elektron mikroskopik ve biyokimyasal düzeyde incelemeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:**

Çalışmamızda 35 adet Wistar albino erkek rat her grupta eşit sayıda (n=7) olacak şekilde 5 gruba ayrıldı: kontrol, sham, quercetin, hipertroidi ve hipertroidi+quercetin grubu. Hipertiroidi grubuna 21 gün günde bir defa i.p. yolla 0,3mg/kg L-tiroksin uygulandı. Quercetin 21 gün günde tek doz 20 mg/kg (po) 2 cc. mısır yağında çözülürerek verildi. 21 gün sonunda tüm denekler kurban edildi. Deneklerden alınan sağ testis, histolojik incelemeler için, sol testis ise biyokimyasal ve elektron mikroskopik incelemeler için kullanıldı. Testis dokuları rutin histolojik takip yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü ve kesitler alındı. Işık mikroskopik incelemeler için elde edilen kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E), Periyodik Asit Schiff (PAS) ve Masson Trikrom boyaması ile boyandı. Kesitlerde Johnson's skorlaması yapıldı, seminifer tübül çapları ölçüldü. Apoptozisi saptamak için terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labeling (TUNEL) ve aktive kaspaz-3 immün boyaması yapıldı. Biyokimyasal incelemeler için kan örneklerinde triiyodotironin (T3), tetrayodotironin (T4) ve tiroid stimulan hormon (TSH) düzeyleri, doku homojenatlarında ise superoxide dismutase (SOD), glutathion peroxidase (GPx) ve melondialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:**

Işık mikroskopik ve elektron mikroskopik incelemelerde kontrol, sham ve quercetin gruplarında normal testis yapısı gözlemlendi. Hipertiroidi grubunda seminifer tübül çaplarında azalma, germ hücre kaybı, intertisyel alanda bağ doku artışı, Hipertiroidi+quercetin grubunda ise normale yakın morfolojide testis yapısı gözlemlendi. İmmunohistokimyasal incelemeler sonucunda hipertiroidi grubunda kontrol grubuna oranla seminifer tübüllerinde TUNEL (+) boyanan hücre sayısının ve aktive kaspaz-3 immünpozitif boyanan hücre sayısının arttığı, hipertiroidi+quercetin grubunda ise TUNEL (+) ve aktive kaspaz-3 immünpozitif hücre sayısının azaldığı gözlemlendi. Hipertiroidi grubunda T3 ve T4 düzeylerinin arttığı, TSH düzeyinin azaldığı ancak tedavi grubunda hormon düzeylerinde anlamlı düzelme olmadığı görüldü. Quercetin uygulamasının hasar grubu ile karşılaştırıldığında SOD düzeyini anlamlı arttırdığı saptandı. İstatistiksel analizler SPSS 17.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Deneydeki veriler Kruskal Wallis ve Mann-Whitney U testi ile analiz edildi. p<0,05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Sonuç:**

Hipertiroidi modelinde oluşan testis hasarında, Quercetin'in oluşan doku hasarını, oksidatif stresi ve apoptozu azaltarak olumlu etkileri olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** hipertiroidi, quercetin, rat, testis

P055

**Karbon Tetraklorür İle Oluşturulan Testis Hasarında Isı Şok Protein Yoğunlukları Üzerine Karnozinin Etkisi**

Derya Karabulut<sup>1</sup>, Nurhan Kuloğlu<sup>2</sup>, Emin Kaymak<sup>3</sup>, Emel Öztürk<sup>1</sup>, Murat Ünsal<sup>1</sup>, Ali Tuğrul Akin<sup>4</sup>, Birkan Yakan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji AD, Kayseri

<sup>2</sup>Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Niğde Zübeyde Hanım Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Sağlık Bakım Hizmetleri Bölümü, Niğde

<sup>3</sup>Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji AD, Yozgat

<sup>4</sup>Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kayseri

**Amaç:** Erkek cinsel işlev bozukluğu alkol, sigara, uyuşturucu, ilaç kullanımı, yaşlanma ve toksik maddeler gibi çeşitli etkenlerden kaynaklanmaktadır. Renksiz toksik bir madde olan karbontetraklorür (CCL4) insanlarda ve hayvanlarda herhangi bir maruziyet yoluyla hızla emilerek, çeşitli organ ve dokularda triklorometil gibi serbest radikallerin aşırı üretimine bağlı yapısal ve fonksiyonel değişiklikler oluşturur ve hasara neden olur. Bu şekilde toksik bileşikler ve oksidatif stres birçok hücre tipinde ısı şok proteinlerinin (HSP) sentezlenmesine neden olmaktadır. Karnozin serbest radikallerin neden olduğu hasara karşı kullanılan güçlü antioksidanlardan biridir. Çalışmamızda CCL4 ile oluşturulan testis hasarında HSP-47 ve HSP-70 proteinlerinin yoğunlukları üzerine karnozinin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

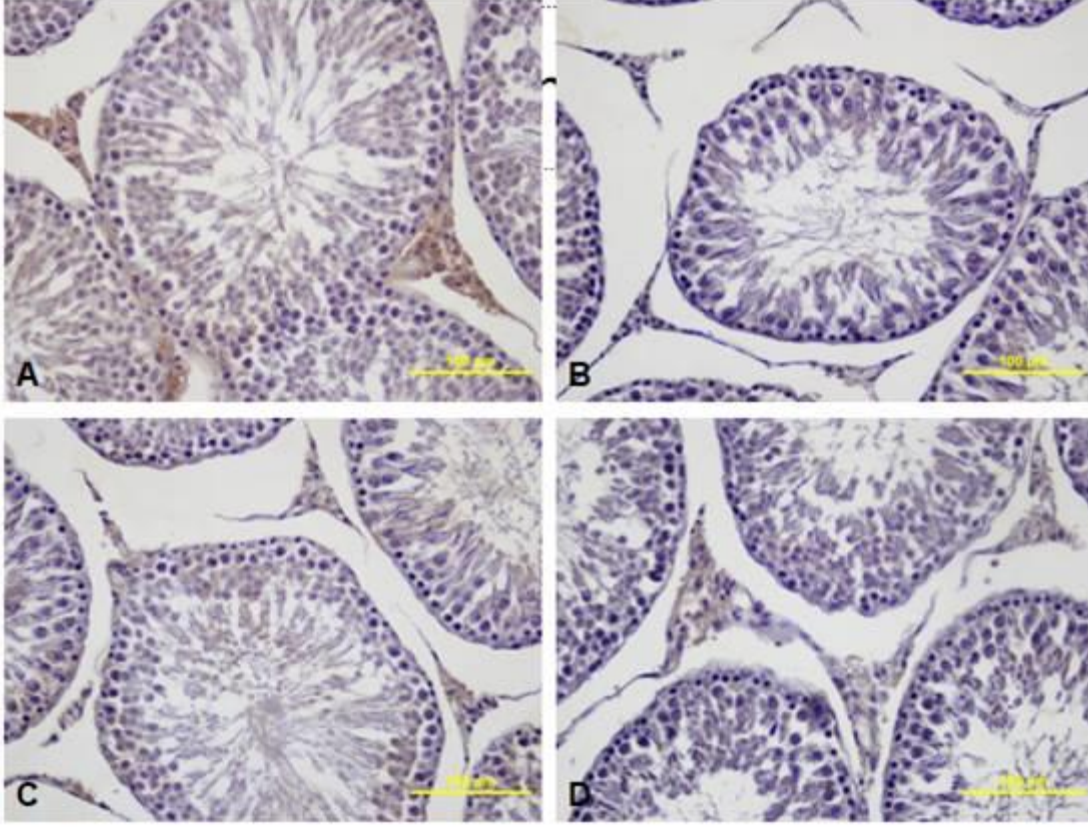
**Yöntem-Gereç:** Çalışmada 32 adet ergin Wistar albino türü erkek sıçan kullanıldı. Denekler kontrol grubu, CCL4 intraperitoneal (ip) uygulanan grup (0,2 ml/kg), CCL4 (0,2 ml/kg) (ip)+ karnozin (200mg/kg) (ip) uygulanan grup, karnozin (200mg/kg) (ip) olmak üzere dört eşit (n=8) gruba ayrıldı. Deneyin on birinci gününde deneklerin hayatlarına son verilerek testis dokuları alındı. Doku kesitlerinde HSP-47 ve HSP-70 proteinleri immunohistokimyasal olarak boyanırken, TUNEL metodu ile programlı hücre ölümüne giden hücre sayısı belirlendi.

**Bulgular:** HSP-47 ve HSP-70 protein yoğunluğu çoğunlukla seminifer tübüller arasındaki bağ dokuda boyanma gösterdi. HSP-47 yoğunluğu CCL4 uygulamasıyla kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterirken, karnozin uygulaması ile bir miktar artış gösterdi. HSP-70 yoğunluğu CCL4 uygulamasıyla kontrole göre anlamlı bir artış, karnozin uygulamasıyla da kontrole göre istatistiksel olarak artma gözlemlendi. TUNEL boyama sonuçlarına göre seminifer tübüldeki apoptotik hücre sayısı CCL4 uygulanan grupta kontrole göre anlamlı artış gösterirken, tübüller arası bağ dokusunda gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmaksızın apoptotik hücrelerin varlığı tespit edildi.

**Sonuç:** HSP-70 proteini çoğunlukla kimyasalların sitotoksik etkisiyle ilişkili iken, HSP-47 kollajen olgunlaşması, biyosentezi ve sekresyonu ile ilişkilidir. HSP-47 yoğunluğundaki artışın karaciğer, böbrek, akciğer gibi dokularda fibrotik bozukluklarda kollajen birikimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. HSP-47 yoğunluğunun tübüller arasındaki bağ dokusunda azalmış olması CCL4 uygulamasına bağlı bağ dokusu kaybından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Ayrıca karnozin uygulamasının HSP-47 yoğunluğunda kontrole göre artış göstermesi dokunun normal yapı ve fonksiyonunun korunmasında karnozinin etkili bir antioksidan olduğunu öne sürmektedir. HSP-70'in fibrotik dokularda koruyucu etkisiyle ifadesinin arttığı bilinmektedir. Buna bağlı olarak kontrole göre CCL4 uygulanan grup da HSP-70 yoğunluğunun artması bağ dokusu bölgesinin CCL4 uygulanmasından daha fazla etkilenmesinden dolayı HSP-70'in koruyucu özelliğine bağlı olarak ifadesinin arttığı düşünülebilir. HSP proteinlerinin sitokrom c ve kaspaz gibi programlı hücre ölümüne dahil olan proteinlerle etkileşime girerek apoptozu inhibe ettiği de bilinmektedir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda karnozin uygulamasının, CCL4 ile oluşturulan testis hasarında HSP-47 ve HSP-70 protein yoğunluklarını dokuyu koruyucu yönde etkilediği sonucuna varılmıştır.

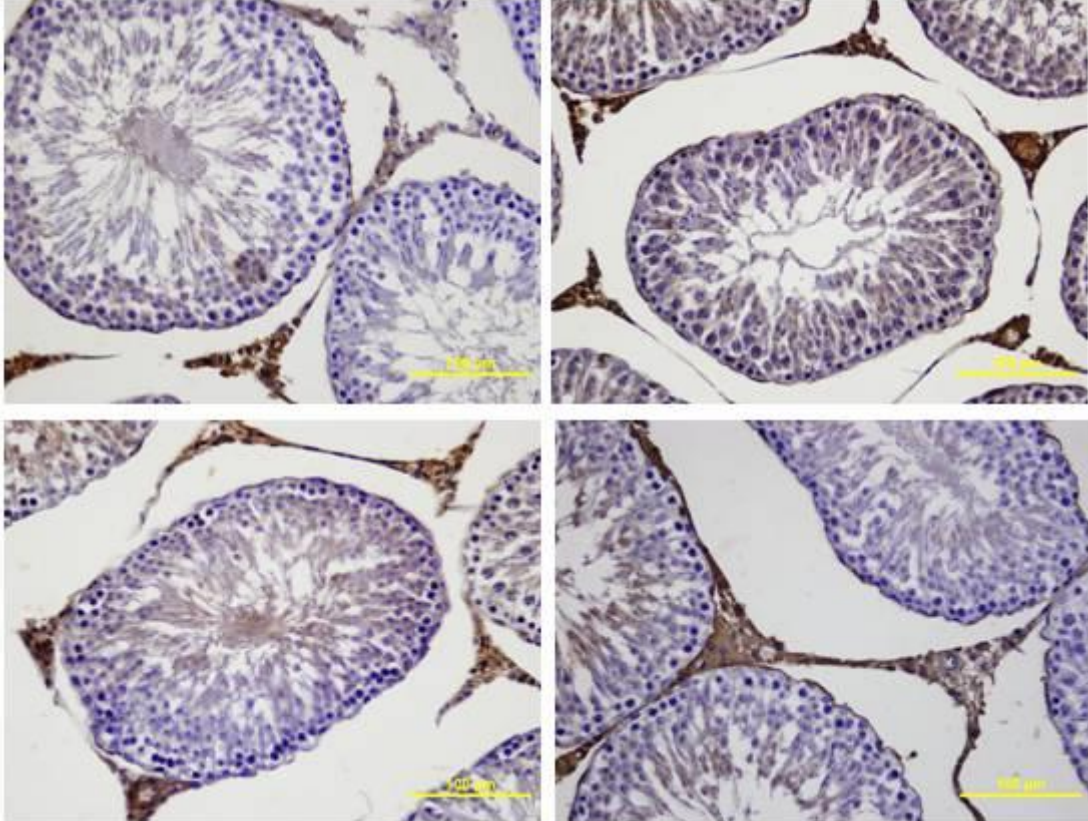
**Anahtar Kelimeler:** Karbontetraklorür, HSP47, HSP70, Karnozin

### HSP47 immünreaktivitesi



Şekil 1. Sıçan testis dokusunda HSP47 immünreaktivitesi. A) Kontrol grubu, B) CCL4 grubu C) CCL4 grubu+ Karnozin grubu, D) Karnozin grubu (X400, Bar 100 µm)

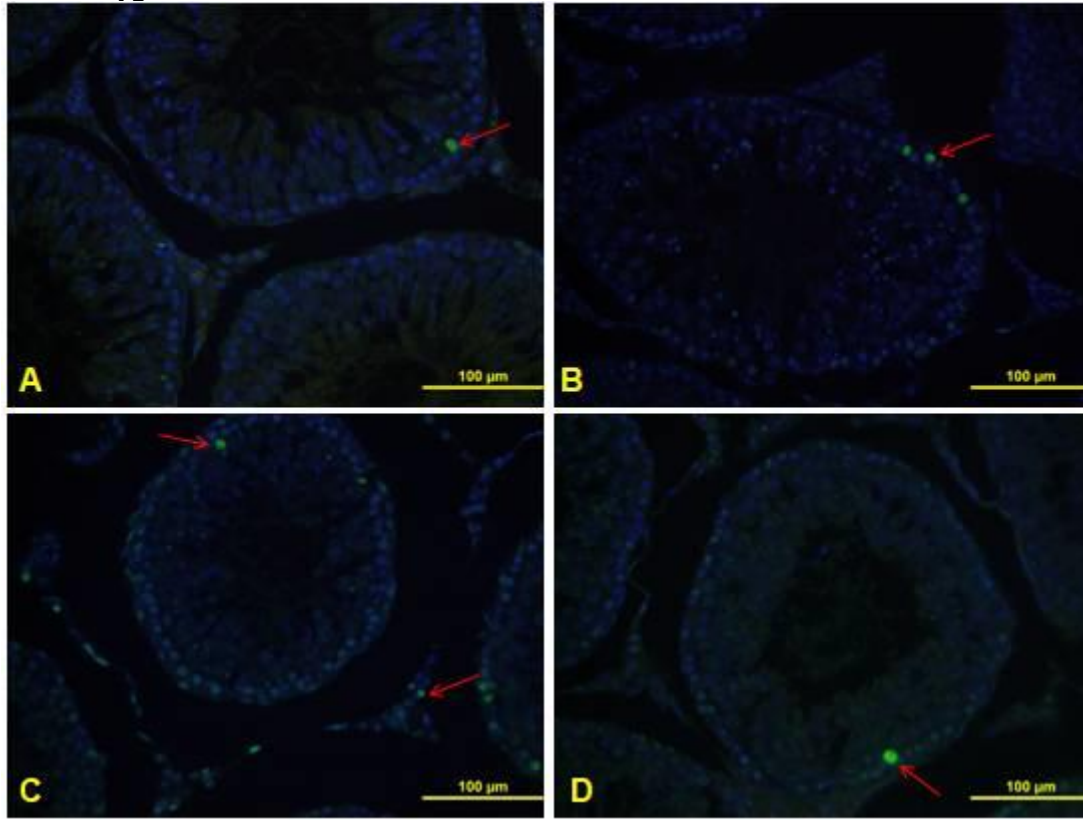
### HSP70 immünreaktivitesi





Şekil 2. Sıçan testis dokusunda HSP70 immünreaktivitesi. A) Kontrol grubu, B) CCL4 grubu C) CCL4 grubu+ Karnozin grubu, D) Karnozin grubu (X400, Bar 100 µm)

### TUNEL uygulama



Şekil 3. Sıçan testis dokusunda kırmızı ok TUNEL-pozitif hücreler. A) Kontrol grubu, B) CCL4 grubu C) CCL4 grubu+ Karnozin grubu, D) Karnozin grubu (X400, Bar 100 µm)

**Tablo 1. Sıçan testis dokusunda HSP47, HSP70 ve TUNEL boyamaları istatistik sonuçları**

Grup	Kontrol grubu	Karbontetraklorür grubu	Karbontetraklorür+ Karnozin grubu	Karnozin grubu	P
HSP47	112.19±12.51a	106.34±9.28b	109.20±13.67ab	108.40±12.21b	0.001
HSP70	138.87±15.39a	146.07±17.00b	142.80±17.89ab	147.12±18.22b	0.006
TUNEL	0.44±0.85a	1.06±1.59b	0.22±0.57a	0.37±0.97a	0.001

Veriler  $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir.  $P < 0.05$  anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizde OneWay-ANOVA, ikili karşılaştırmalar için post hoc Tukey testi uygulanmıştır (SPSS22 programı). Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir.

**P056**

**Farede MEHP aracılı kan-testis bariyerinin bozulduğu testiste Chd1l ve GATA4 ekspresyonlarının değerlendirilmesi**

Gamze Tosun, Pınar Şahin, Çiler Çelik Özenci

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

**Giriş-Amaç:** Testiste Sertoli hücrelerinin arasında oluşan sıkı bağlantılar kan-testis bariyerini oluşturmaktadır ve bu bariyer seminifer epiteli bazal ve adlüminal olmak üzere 2 farklı kompartmana ayırmaktadır. Spermatogenezin sağlıklı bir şekilde gerçekleşebilmesi için bariyerin yıkılıp-yeniden kurulma mekanizması dengeli bir şekilde gerçekleşmelidir. Bu mekanizmanın bozulması matüritesini tamamlayamayan germ hücrelerinin lümene erken salınımına neden olmakta, bunun sonucunda da spermatogenez bozuklukları ve infertilite görülmektedir. Kromodomain helikaz/ATPaz DNA bağlanma protein 1 benzeri (Chd1l) kromatin yeniden modellenmesinde rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. Chd1l'nin kanser metastazında, embriyonik kök hücre pluripotensisinde ve farklanmalarındaki rollerine ek olarak 2016 yılındaki bir çalışmada spermatogonyal kök hücre proliferasyonundada rolü olduğu bildirilmiştir. GATA4 ise Sertoli hücre fonksiyonunu düzenleyen önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Çalışmamızın amacı, MEHP aracılığıyla kan-testis bariyerinin bozulduğu fare modelinde Chd1l'nin ve GATA4'ün ekspresyonunun değerlendirilmesidir.

**Materyal ve Yöntem:** Çalışmada 4-5 haftalık erkek fareler kullanıldı. Kan-testis bariyerinin yıkılması amacı ile Mono-(2-ethylhexyl) phthalate(MEHP) kullanıldı. Kontrol grubu ve MEHP uygulanan grup olmak üzere 2 grup oluşturuldu. Deney grubundaki farelere MEHP tek doz(1g/kg)mısır yağı içerisinde oral gavaj yolu ile uygulandı. Kontrol grubundaki farelere sadece mısır yağı uygulaması yapıldı. MEHP uygulamasından 24 saat sonra farelerin testis dokuları alındı ve parafin bloklar edildi. Parafin bloklardan elde edilen kesitlere rutin histolojik boyama (hematoksilen-eozin) yapılarak testis morfolojileri değerlendirildi. Chd1l ve Gata4 protein ekspresyonları western blot yöntemi ile değerlendirildi.

**Sonuçlar ve Tartışma:** Rutin histolojik boyamalar ile testis morfolojilerinin değerlendirilmesi sonrasında, MEHP grubunda kan-testis bariyerinin bozulmuş olduğu, farklanmamış germ hücrelerinin lümene erken salındığı ve lümeninde spermatid kümelerinin varlığı gözlenmiştir. Böylece bariyerin bozulduğu kanıtlanmıştır. Chd1l ekspresyonu MEHP uygulanan grupta kontrol grubuna göre artmıştır. GATA4 ekspresyonu ise kontrol ve MEHP grubunda benzerdir. Sonuçlarımız; kan-testis bariyerinin 24 saat sonra bozulduğu modelde artan Chd1l ve değişmeyen GATA4 ekspresyonunun Sertoli hücre fonksiyonu ve spermatogonyal kök hücre çoğalması ile ilişkisinin ileri araştırmalarla ortaya konması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma TYL-2018-3008 numaralı projeye Akdeniz Üniversitesi BAP tarafından desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** CHD1L, MEHP, testis, spermatogenez

P057

**Deneyisel Polikistik Over Sendromu (Pkos) Modelinde Tamoksifen Ve Klomifenin Ovaryum Dokusu Üzerine Etkilerinin Otofajik Açından Değerlendirilmesi**Gökçe Ceren Kuşçu<sup>1</sup>, Aylın Buhur<sup>1</sup>, Çevik Gürel<sup>1</sup>, Fatih Oltulu<sup>1</sup>, Nefise Ülkü Karabay Yavaşoğlu<sup>2</sup>, Gürkan Yiğittürk<sup>3</sup>, Levent Akman<sup>4</sup>, Altuğ Yavaşoğlu<sup>1</sup><sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir<sup>3</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Muğla<sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir**Amaç**

Polikistik Over Sendromu (PKOS), menstrüel disfonksiyon, hiperandrojenizm, hirsutizm, infertilite ve polikistik overlerle karakterize endokrin bir bozukluktur. Üreme çağındaki kadınların %5 ila %10'unu etkileyen bu hastalık anovulasyon nedeniyle ortaya çıkan infertilitenin en önemli sebeplerinden biridir. PKOS'lu kadınlarda tedavi seçimi, hastada gözlemlenen semptomlara bağlıdır. Bu hastalığın neden olduğu infertilitenin tedavisinde ise en sık kullanılan ilaç klomifendir. Bu ilaç, hipotalamusta bulunan östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojenin negatif feed-back mekanizmasını engeller. Bu durum FSH hormonunun artmasına neden olarak ovulasyonun gerçekleşmesini sağlar. Buna karşın klomifen sitratın tüm üreme sistemi üzerindeki anti-östrojenik etkileri hakkındaki endişeler, bazı klinisyenlerin, PKOS'lu anovulatuvar kadınlarda ovulasyon indüksiyonu için klomifene alternatif olarak tamoksifen gibi diğer anti-östrojenik ilaçların kullanımını önermelerine yol açmıştır. Tamoksifen, klomifen gibi nonsteroid selektif östrojen modülatörüdür ve yapısal olarak klomifene benzerdir. Esas olarak meme kanseri tedavisinde kullanılsa da ovulasyon indüksiyonu için yapılan çalışmalarda klomifenle benzer ovulasyon ve gebelik oranlarına ulaşılmıştır. Bunun yanı sıra bu ilaç; homeostazis, gelişim ve stres adaptasyonu gibi biyolojik süreçlerde rol oynayan ve "hücresele kendi kendini yeme" (self-eating) mekanizması olarak da isimlendirilen otofaji süreci ile de yakından ilişkilidir. Otofaji, tamoksifen dahil birçok anti-kanser terapötiklerine karşı hücresele cevapta rol oynamaktadır. Tamoksifen uygulanmış meme kanseri hücre hatlarında otofajinin arttığı, bunun yanı sıra otofajinin inhibe edilmesiyle tamoksifen tedavisi kombine edildiğinde ise meme kanseri hücre viabilitesinin düştüğü gözlemlenmiştir. Hücre, otofajik süreç açısından bakıldığında tamoksifene ya hayatta kalma ya da kendini koruma yönünde tepki verir. Yukarıda değinildiği gibi, tamoksifenin otofajiye etki ettiği bilinmektedir. Bu çalışmada tamoksifene benzer özelliklere sahip olan klomifenin PKOS hastalarının ovaryumlarında benzer otofajik etkiyi gösterip göstermediğinin ortaya konulması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntemler**

Çalışmada her biri 7 hayvan içerecek şekilde 4 grup (Kontrol, PKOS Kontrol, Tamoksifen, Klomifen) oluşturulmuştur. Kontrol grubu dışında kalan diğer üç gruba PKOS modeli oluşturulmak üzere 21 gün boyunca gavaj yöntemiyle 1mg/kg Letrozol verildikten sonra, grup ismine bağlı kalınarak hayvanlara 5 gün boyunca 1mg/kg tamoksifen ve klomifen uygulaması yapılmıştır. Uygulama süresinin sonunda sakrifiye edilen hayvanlardan alınan ovaryum dokuları, Hematoksilin-Eozin ve Masson trikrom histokimyasal, mTOR ve LC3 immünohistokimyasal boyamaları ve Real time-PCR (RT-PCR) tekniği ile analiz edilmiştir.

**Bulgular**

Sonuç olarak, immünohistokimyasal, mTOR ve LC3 boyamaları ve bu genlere ait RT-PCR analizlerinden elde edilen bulgular, tamoksifen ve klomifen gruplarında LC3 ekspresyonunun arttığını, mTOR ekspresyonunun azaldığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte, klomifenin LC3 pozitif hücre yoğunluğunun ve LC3 mRNA ekspresyonunun tamoksifene oranla daha az olduğu gözlemlenmiştir.

**Sonuç**

Bu bulgulara dayanarak, tamoksifen ve klomifenin PKOS'lu ovaryumlarda, otofajiyi indükleyebileceği, ancak klomifenin otofaji indüksiyonunda tamoksifene kıyasla daha az etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Klomifen, Otofaji, Polikistik Over Sendromu, Tamoksifen

**P058**

**Östral ve luteal dönemde siğir ovidukt epitelinde antioksidanların immunohistokimyasal ifadesi**

Aytül Kürüm<sup>1</sup>, Turgay Deprem<sup>2</sup>, Hakan Kocamış<sup>1</sup>, Siyami Karahan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji ABD

<sup>2</sup>Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji ABD

**Amaç:** Sunulan çalışmada östral ve luteal dönemdeki siğir ovidukt epitelinde, anti-oksidadif enzimler Cu Zn-Süperoksit dismutaz (SOD-1), katalaz, ve Glutaston peroksidaz-1 (GPX1) immünohistokimyasal dağılımının incelenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç:** Mezbahanedenden kesim sırasında alınan ovaryumların makroskopik incelenmesi ile siklusun dönemi belirlenmiştir. Toplanan ovidukt örnekleri, fimbriya, ampulla ve istmus bölümlerine ayrılarak 10% formolde 24 saat tespit edilmiştir. Yıkayıp, dereceli alkollerde suyu giderilen ve parafinde bloklanana dokulardan, 5µm'luk kesitler alınmıştır

**Yöntem:** Avidin-biotin-peroxidase (ABC) tekniği kullanılmıştır. Kesitler deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra endojen peroksid aktivitesini önlemek için %3 lük H2O2 ile inkübe edildi. 0.1 M sitrat buffer'da (Ph 6.0) mikrodalga fırında (800 watt) 10 dk. antijen geri alımı yapıldı. Kesitlerin PBS (Fosfatlı Buffer Solüsyonu) ile yıkanmalarının ardından spesifik olmayan bağlanmaları engellemek amacıyla sekonder antikorun üretildiği türe uygun serumda 10 dakika süreyle inkübe edildi. Sonrasında kesitler oda sıcaklığında 1 saat süreyle anti-SOD-1, anti-GPx 1 ve anti- CAT ile inkübe edilip, PBS ile yıkandı. Biotinlenmiş sekonder antikor 30 dk. uygulandı. PBS ile yıkama sonrası kesitlere streptavidin horse radish peroksidaz ilave edilip oda ısısında 30 dk. bekletildi. PBS ile yıkandıktan sonra kromojen uygulaması için DAB-H2O2 tekniği kullanıldı. Çekirdek boyaması için hematoksilen yapıldı ve Lieca DM 5000B mikroskopta incelendi.

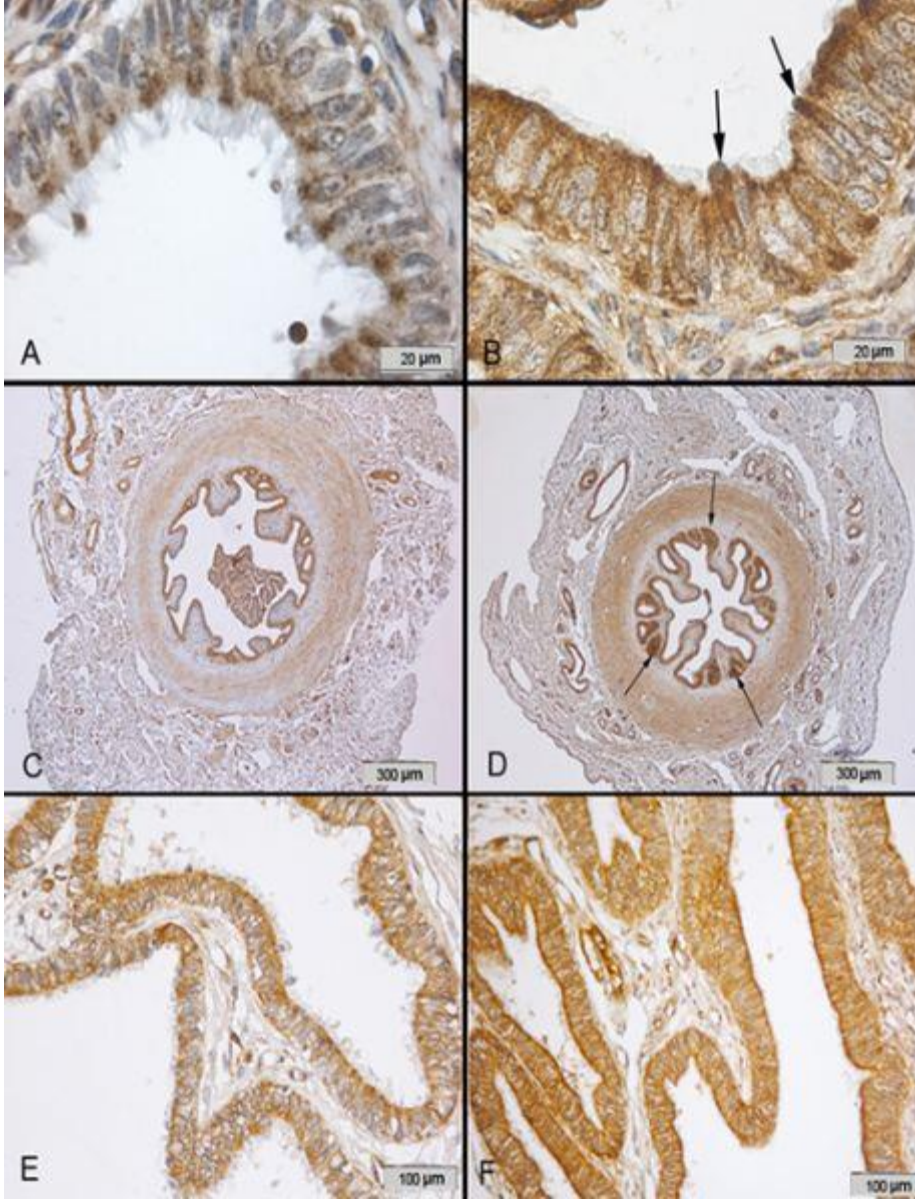
**Bulgular:** İmmunoperoksidaz test sonuçları ovidukt mukozasında silyalı ve sekretorik hücrelerin katalaz, SOD-1, and GPX1 için değişen derecelerde immunoreaktivite göstermiştir. SOD-1 ve GPX1 immünoreaktiviteleri luteal dönemde daha belirgin iken katalaz östral dönemde özellikle istmusta daha belirgin reaksiyon göstermiştir. Oviduktun tüm bölgeleri benzer SOD-1 immunoreaktivitesi göstermiştir. SOD-1 ve GPX1 luteal fazın örneklerinde, katalaz ise östral dönemin örneklerinde daha belirgin immunoreaktivite göstermiştir.

**Resim1-Siğir oviduktunda Katalaz immun boyaması.** A) Katalaz reaksiyonu oviduktta silyalı ve sekretorik hücrelerin sitoplazmasında bulunmaktadır. İmmunreaktivite özellikle de silyalı hücrelerde görülmektedir, östral dönem, ampulla. B) Östral dönemde ampullada ise sekretorik hücrelerin protrüzyonlarında da (ok) görülmektedir. C) İmmun boyama luteal dönemde östral döneme (D) göre daha az yoğunluktadır. E) İmmun boyama Luteal dönemde östral döneme (F) göre fimbriyada daha az yoğunudur.

**Sonuç:** Siğir oviduktunda katalaz, SOD-1, and GPX1 anti-oksidadif enzimlerinin immünoreaktivitesinin yer alması ovidukt epitel hücrelerinin bu enzimleri sentezlediğini ve ovidukt sıvısındaki anti-oksidadif enzimlerin kaynağı olabileceğini düşündürmektedir. Farklı reproduktif fonksiyonları yerine getiren ovidukt bölümleri katalaz ve GPX1 immunoreaktivitesi açısından farklılık göstermektedir. Bu durum anti-oksidadiflerin seksüel sıklısta farklı fizyolojik süreçlere katılma olasılıklarını düşündürmektedir. Ayrıca luteal ve östral dönem arasında anti-oksidadiflerin göstermiş olduğu farklı immunreaksiyonun ovidukt epitel hücrelerinin üreme hormonlarından anti-oksidadif ekspresyonu açısından etkilendiğini düşündürmektedir. SOD-1 immünoreaktivitesinin ovidukt epitelindeki bazal hücrelerin bazılarında görülüp bazılarında görülmemesi, bu hücrelerdeki gerek heterojenite gerekse silyalı ve sekretorik hücrelerin kökenleri açısından incelenmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Anti-oksidadif, luteal, ovidukt, östral, siğir

**Sığır oviduktunda Katalaz immün boyaması.**



P059

**Matriks metalloproteinaz 9 ve 12 ile matriks metalloproteinaz doku inhibitörü-1 ekspresyonlarının endometriyozisli dokularda immunohistokimyasal olarak gösterilmesi**Leman Sencar<sup>1</sup>, Hanife Genç<sup>1</sup>, Derya Gümürdülü<sup>2</sup>, İbrahim Ferhat Ürünsak<sup>3</sup>, Sait Polat<sup>1</sup>, Begüm Alisinanoğlu<sup>1</sup>, Tuğçe Sapmaz<sup>1</sup><sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AnaBilim Dalı, Adana<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AnaBilim Dalı, Adana<sup>3</sup>Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AnaBilim Dalı, Adana

**Amaç:** Endometriyozis, endometriyal dokuların uterus dışında, periton, overler, rektouterin poş gibi dokularda yerleşmesiyle oluşan östrojen bağımlı bir hastalıktır. Üreme çağındaki kadınların yaklaşık %6-10'unda görülen bu hastalık genellikle kronik pelvik ağrı, dismenore ve infertilite ile birlikte seyreder. Genetik, hormonal ve çevresel faktörlerin kompleks etkileşimlerinin endometriyozis oluşumunda rol oynadığı bilinmekle birlikte endometriyozis patogenezinde yer alan moleküler mekanizmalar hala aydınlatılamamıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, matriks metalloproteinazları (MMP) ve bunların endojen inhibitörleri olan matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) endometriyozis oluşumunda hedef moleküller olarak karşımıza çıkmaktadır. Bazal membranın ve bazı ekstrasellüler matriks proteinlerinin yıkımından sorumlu bir matriks metalloproteinazi olan MMP-9'un ektopik endometriyal dokuların implantasyonu ve invazyonunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir. İnsan makrofaj metalloelastazı (MMP-12)'nin oral skuamöz hücreli kanserler ve akciğer kanserlerinde makrofajlar ve transforme olmuş epitelial hücreler tarafından eksprese edildiği gösterilmiştir. Endometriyozisli dokularda, MMP-12 ekspresyonunun gösterildiği, MMP-9, MMP-12 ve bunların doğal inhibitörü olan TIMP-1 ekspresyonlarının ve bu ekspresyonlar arasındaki dengenin birlikte değerlendirildiği bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu sebeple, çalışmamızda, normal endometriyal ve endometriyozisli dokulardan elde edilen parafin bloklarda, MMP-9, MMP-12, TIMP-1 ekspresyonlarının ve bu ekspresyonlar arasındaki dengenin immunohistokimyasal yöntemlerle gösterilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu amaçla, normal endometriyal dokulardan oluşan kontrol grubu (n=15) ve endometriyozisli dokulardan oluşan deney grubundan (n=25) elde edilen parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınmış ve bu kesitlere MMP-9, MMP-12 ve TIMP-1 ekspresyonlarının gösterilmesi için immunohistokimyasal yöntemler uygulanmış ve skorlama yapılmıştır.

**Bulgular:** İmmünohistokimyasal skorlamada, deney grubunda MMP-9 ekspresyonlarının yüzey ve bez epitel hücrelerinde kontrol grubuna oranla artış gösterdiği fakat bu artışın anlamlı olmadığı, stromada ise MMP-9 ekspresyonunun kontrol grubuna oranla anlamlı derecede artmış olduğu görüldü. MMP-12 ekspresyonlarının deney grubunda yüzey ve bez epitelinde artış gösterdiği, endometriyal stromada ise kontrole oranla anlamlı olarak artış gösterdiği bulundu. TIMP-1 immünoaktiviteleri değerlendirildiğinde, deney grubunda yüzey epiteli, bez epiteli ve stromal hücrelerde TIMP-1 ekspresyonlarının kontrole oranla anlamlı derecede azalmış olduğu görüldü. **Sonuçlar:** Bulgularımız değerlendirildiğinde, endometriyozisli dokularda azalmış TIMP-1 ekspresyonu sebebi ile MMP'ler üzerindeki inhibisyon ortadan kalkmış olduğu ve bu durumun MMP-9, MMP-12 ekspresyonlarında artışa neden olabileceği, dolayısı ile MMP/TIMP dengesindeki bu bozukluğun endometriyozis patogenezinde rol oynayabileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Endometriyozis, immunohistokimya, MMP-9, MMP-12, TIMP-1

**P060****Over torsiyonundaki iskemi-reperfüzyon hasarına silymarinin etkisinin incelenmesi**

Özcan Üstün<sup>1</sup>, Cemre Ural<sup>2</sup>, Zahide Çavdar<sup>2</sup>, Bekir Uğur Ergür<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, İzmir

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp AD, İzmir

Amaç: Over torsiyonu, üreme çağıında sık görülen, overlerde iskemi-reperfüzyon hasarına neden olan, erken tanı ve müdahale gerektiren jinekolojik bir durumdur. Biz de, farklı çalışmalarda antioksidan etkisi gösterilmiş olan Silymarin'in, ovaryum iskemi-reperfüzyon hasarındaki koruyucu etkisini ortaya koymayı amaçladık.

Yöntem: Çalışmamızda; 35 adet dişi Wistar suşu sıçan (200-250g) 5 gruba ayrıldı (n=7).

Kontrol Grubu (K): Hiçbir müdahale yapılmaksızın ovaryum dokuları alınan grup.

Torsiyon+Detorsiyon Grubu (T+D): 3 saat torsiyon sonrası 3 saat detorsiyon uygulanan grup.

Torsiyon+Detorsiyon+Silymarin Grubu (T+D+SİL): 3 saat torsiyon sonrası, detorsiyondan 30 dakika önce 250mg/kg Silymarin verilen grup.

DMSO Grubu (DMSO): % 10 luk DMSO verilen grup.

Silymarin Grubu (SİL): Silymarin verilen grup.

Histolojik incelemeler için hematoksilen-eozin, masson-trikrom ve periyodik asit shiff, apoptozun belirlenmesi için TUNEL, Aktif Kaspaz-3 boyamaları yapıldı. Doku homojenatlarında, glutatyon peroksidaz (GPx) ve malondialdehit (MDA) düzeylerine, kanda, iskemi modifiye albümin (İMA) düzeylerine bakıldı. Ayrıca dokular ultrastrüktürel olarak incelendi. Gruplar arası farklılıklar için Kruskal Wallis ve Man Whitney U testi kullanıldı.

P< 0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Hasar skorlaması sonucunda; T+D grubu ve T+D+SİL gruplarında, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasarda anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi.

Bağ dokusu artışının değerlendirilmesi sonucunda; Kontrol grubu, T+D grubu ile karşılaştırıldığında T+D grubunda bağ dokusunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi.

Zona pellusida kalınlıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı.

TUNEL boyamaları sonucunda; T+D grubu Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında apoptotik hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu, T+D+SİL grubu, T+D grubu ile karşılaştırıldığında ise apoptotik hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi.

Aktif Kaspaz-3 boyaması sonucunda; Kontrol grubu, T+D grubu karşılaştırıldığında, T+D grubunda, aktif kaspaz-3 pozitif hücre yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu, T+D grubu, T+D+SİL, DMSO, SİL gruplarıyla karşılaştırıldığında, her üç grupta da aktif kaspaz-3 pozitif hücre yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi.

Biyokimyasal değerlendirmelerde; T+D grubu, T+D+SİL ve SİL grupları ile karşılaştırıldığında MDA seviyelerinin her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlendi.

Antioksidan savunma mekanizması ölçümleri sonucunda; Kontrol grubu, T+D grubu ile karşılaştırıldığında T+D grubunda GPx seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi.

İMA ölçümleri sonrasında T+D grubu; T+D+SİL, DMSO ve SİL gruplarıyla karşılaştırıldığında her üç grupta da İMA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Yaptığımız çalışmada, iskemi-reperfüzyon sonucunda; hasarda, apoptotik hücrelerde, bağ dokusunda, MDA ve İMA seviyelerinde artış meydana geldiğini ve bu hasarın, reperfüzyon öncesi silymarin verilerek azaldığını gözlemledik.

Anahtar kelimeler: Ovaryum, İskemi- Reperfüzyon, Silymarin.

**Anahtar Kelimeler:** Ovaryum, İskemi- Reperfüzyon, Silymarin

**P061**

**Sisplatin ile Oluşturulan Ovaryum Toksisitesine Karşı N-Asetil Sisteinin Tedavi Edici Etkisi**

Gözde Özge Önder<sup>1</sup>, Esra Balcioğlu<sup>1</sup>, Gülay Sezer<sup>2</sup>, Emel Öztürk<sup>1</sup>, Mehmet Akif Somdaş<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>3</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Kayseri

**Amaç:** Sisplatin; birçok kanser tiplerinde kullanılan alkilleyici kemoterapötik bir ajandır. N-asetil sistein (NAC), aktif merkaptto gruba ait L-sistein'in bir asetil bileşiğidir. Yapılan çalışmalarda NAC'ın kan damarlarını genişlettiği, oksidatif hasarı önlediği, apoptozu ve enflamatuvar cevabı engellediği gösterilmiştir. Bu çalışmada sisplatinin ovaryum dokusunda oluşturduğu hasar üzerine NAC'ın tedavi edici etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmamızda 18 adet 150-250 gr ağırlığında Wistar Albino cinsi dişi sıçan kontrol, sisplatin ve sisplatin+NAC grubu olarak ayrıldı. Kontrol grubuna ait sıçanlara deney süresince i.p. olarak serum fizyolojik enjekte edildi. Sisplatin grubuna 5 hafta boyunca haftada 2 kez 2 mg/kg sisplatin uygulaması yapıldı. Sisplatin+NAC grubuna sisplatin uygulaması tamamlandıktan sonra 5 hafta boyunca haftada 2 kez 200 mg/kg NAC i.p. verildi. Sıçanlar anestezi altında dekapite edilerek ovaryum dokuları çıkarıldı. Dokular rutin histolojik doku takibi aşamalarından geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. 5 µm kalınlığındaki kesitlerde histopatolojik yapıyı incelemek için H&E ve MT ile boyandı. Ovaryum dokularında Anti Mülleriyan Hormon (AMH) lokalizasyonu için immünohistokimyasal boyamalar yapılarak incelendi.

**Bulgular:** Tüm gruplarda ovaryum dıştan ince fibröz bağ dokudan oluşan bir kapsül ile çevrelenmişti. Germinal epitel kübik şekilli hücrelerden oluşmaktaydı ve bazal membranı düzenli olarak gözlemlendi. Kontrol grubunda normal siklusta, gelişimi farklı aşamalarda olan foliküller ile daha önceki siklusa ait atrezik foliküller korteks tabakasında görüldü. Granüloza hücreleri aralarındaki bağlantılar bozulmamış olarak izlenmekteydi, folikül içinde döküntü hücre bulunmuyordu. Sisplatin uygulanan grupların ovaryum dokusunda meydana gelen hasar miktarı hem kontrol grubuna göre hem de Sisplatin+NAC gruplarına göre oldukça şiddetliydi. Foliküllerde dejenerasyon, atretik foliküller sayısında artış, gelişmekte olan folliküllerin sayısında azalma, hemoraji ve az sayıda vasküler tıkanıklık bölgeleri gözlemlendi. Sisplatin+NAC grubunda ise dejenerasyon ve hemoraji alanlarında azalmalar mevcuttu.

AMH ekspresyonuna bakıldığında; kontrol gruplarında foliküllerin granüloza hücrelerinde AMH protein ekspresyonu immünohistokimyasal boyamalarda tüm folliküllerde izlendi. Sisplatin uygulanan gruplarda özellikle sekonder ve tersiyer folliküllerde AMH ekspresyonunda ciddi şekilde azalma vardı. Sisplatin+NAC uygulanan gruplarda ise sisplatin gruba kıyasla özellikle sekonder ve tersiyer folliküllerin granüloza hücrelerinde AMH ekspresyonunda artış gözlemlendi.

**Sonuç:** Kemoterapötik bir ajan olan Sisplatinin ovaryum hasarına, artan foliküler apoptozise ve azalan AMH sekresyonuna sebep olduğu gösterilmiştir. Mevcut çalışmada da sisplatinin ovaryum dokusuna ciddi hasar verdiği ve NAC'ın sisplatinin verdiği hasarı azalttığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** N-asetil sistein, Ovaryum, Sisplatin



**P062**

**Tekrarlanan kontrollü ovaryan hiperstimülasyon'un (KOH) Over rezervi üzerine etkisinin Pten yolağı üzerinden araştırılması. "Ovaryum morfolojisi kontrollü ovaryan hiperstimülasyon'dan etkilenir mi?"**

Perihan Yalçınkaya<sup>1</sup>, Canan Yılmaz<sup>2</sup>, Çiğdem Elmas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Okan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

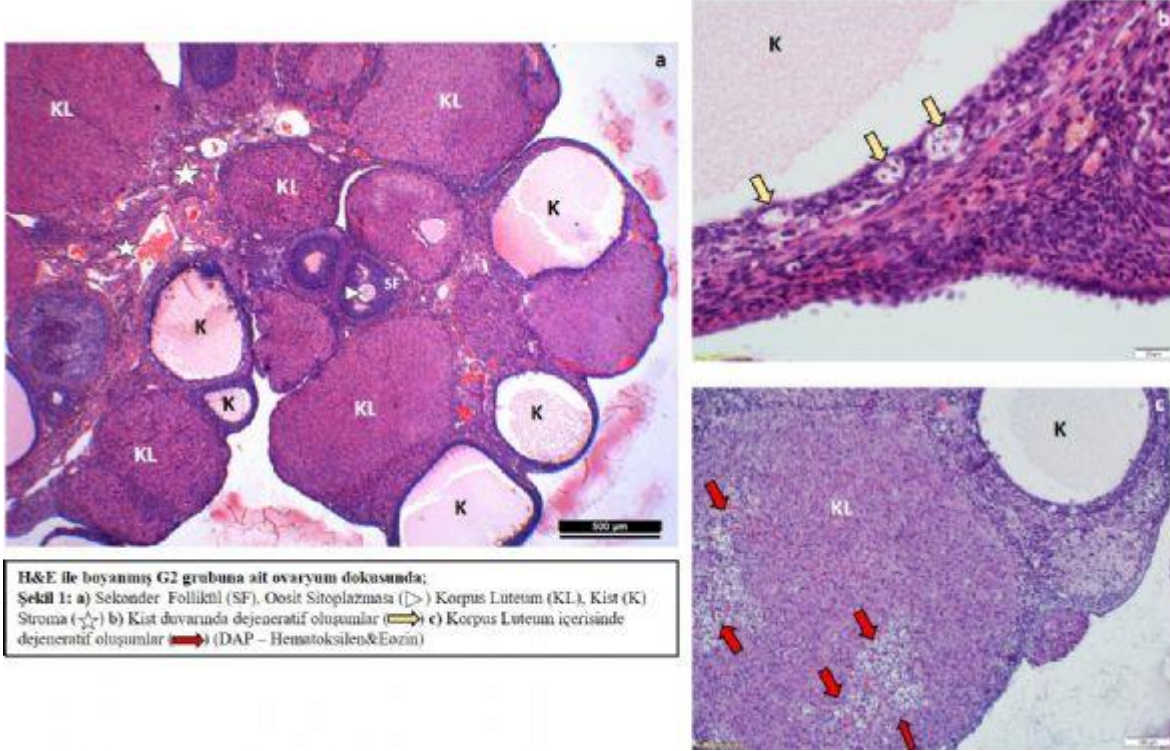
**Amaç:** Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon(KOH), yardımla üreme tekniklerinde ovaryumlardan en ideal sayı ve kalitede oosit elde etmek amacıyla aynı siklusta çok sayıda follikülün geliştirilmesi tekniğidir. Fakat bu yöntem normal ovulasyona sahip kadınlarda fizyolojik olan, tek baskın follikül seçimi ve olgunlaşması mekanizmasına ters düşmektedir. Bu nedenle çalışmamızda, hiperstimülasyon uygulamalarının ovaryumların yapı ve fonksiyonu, farklı gelişim evresindeki foliküllerin sayısı ve foliküllerin histolojisi üzerindeki olası etkilerini ışık mikroskopik yöntemlerle göstermeyi amaçladık.

**Yöntem-gereç:** Çalışmamızda kullanılan 8 haftalık 18 adet Wistar albino cinsi dişi sıçan, rastgele üç farklı gruba ayrıldı (n=6). 1.gün deney gruplarındaki (Grup2, Grup3) sıçanlarda follikülogenezi stimüle etmek için, 10 IU/0,1ml PMSG (Pregnant Mare's Serum Gonadotropin) ve 48 saat sonra ovulasyonu indüklemek için 10 IU/0,1ml hCG (Human Chorionic Gonadotropin) kas içi enjeksiyonla uygulandı. Hiperstimülasyon işlemi, 1'er hafta arayla toplamda sırasıyla 3 ve 5 kez tekrarlandı.Kontrol grubundaki(Grup1) sıçanlara aynı stresi oluşturmak üzere, 0.1ml 0.9% NaCl solüsyonu verildi. Son uygulamayı takip eden 7.günde sakrifiye edilen tüm deneklerden alınan ovaryum dokuları, alışımlı ışık mikroskop izleme yöntemlerinden geçirilerek H&E boyama ve LH-R primer antikoru ile immünohistokimyasal boyama yapıldı.

**Bulgular-sonuç;**Primordiyal follikül sayıları karşılaştırıldığında, G2 ve G3 gruplarında bu sayının G1 grubuna kıyasla anlamlı ölçüde azalmış olduğu, G2 ve G3 grupları arasında ise anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Sağlıklı sekonder ve sağlıklı antral follikül sayıları karşılaştırıldığında, benzer şekilde deney gruplarında bu sayıların, kontrole kıyasla azaldığı ancak G2 ve G3 grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi. H&E ile boyanan kesitlerde, kontrol gurubuna ait ovaryum dokusu normal görünümüne sahipti. Germinal epitel genellikle yassı, yer yer ise kübik hücrelerden oluşuyordu. Kortekste, gelişimin farklı evrelerinde olan foliküller ve korpus luteum yapısı normal görünümdeydi. G2 grubunda; ovaryum korteksinde çok sayıda kistik yapı gözlemlendi. Korpus luteum içerisinde dejeneratif yapılar görüldü. Bağ dokuda kontrole kıyasla artmış lenfosit infiltrasyonu dikkat çekiciydi. G3 grubunda; oosit sitoplazmasında ve foliküler granüloza hücrelerinde hidropik dejenerasyon görüldü. Bağ dokuda hemosiderin birikimi dikkat çekiciydi. Damar çevresinde, çok sayıda lenfosit hücresine rastlandı. IHC analizlerinde, gelişen sağlıklı foliküllerin teka interna tabakasında ekprese edildiği bilen LH-R immunoreaktivitesinin G2 ve G3 gruplarında kontrole kıyasla önemli ölçüde azaldığı, G2 ve G3 grupları karşılaştırıldığında ise LH-R ekspresyonunun G3 gurubunda daha da azaldığı görüldü. Bu bulgu sözü geçen gruplarda kontrole kıyasla azalan serum E2 seviyesi ile tutarlıdır. Sonuç olarak; tekrarlanan KOHprotokollerinin primordiyal follikül sayısını azalttığını ve ovaryumda hasar yarattığı görülmüştür. Elde edilen histopatolojik bulgular doğrultusunda, çalışmamızın klinik açıdan önemli olacağı ve kaynaklardaki eksikliği büyük ölçüde gidereceği kanısındayız.

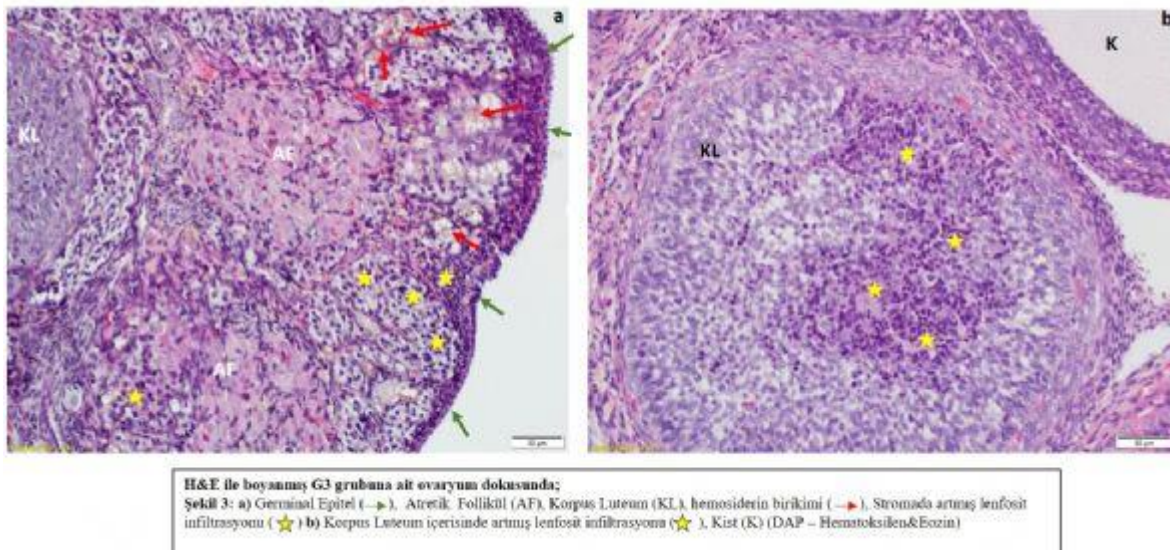
**Anahtar Kelimeler:** Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon, ovaryum, primordiyal follikül, LH-R

**RESİM 1:**



H&E ile boyanmış G2 grubuna (3 TEKRAR KOH UYGULANAN GRUP) ait ovaryum dokusu.

**RESİM2**



H&E ile boyanmış G3 grubuna (5 TEKRAR KOH UYGULANAN GRUP) ait ovaryum dokusu.

**P063****Polikistik Over Sendromu Oluşturulmuş Sıçanların Uteruslarında Rho A/Rho-kinaz Ekspresyonu ve Spontan Kontraksiyon Değişiklikleri**

Savaş Aktaş<sup>1</sup>, İsmail Ün<sup>2</sup>, İbrahim Ömer Barlas<sup>3</sup>, Ayla Batu Öztürk<sup>1</sup>, Meryem İlkey Karagül<sup>1</sup>, Mert Ünvan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Mersin

<sup>2</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Mersin

<sup>3</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Mersin

**Amaç:**

Polikistik over sendromu (PKOS) doğurganlık çağındaki kadınların %8,7-%17,8'ini etkilemekte ve bu kadınlarda artmış subfertilite-infertilite riski ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan çalışmalarda, PKOS'da normal popülasyona göre spontan abortus ve infertilite oranlarının yüksek olması, hipotalamus-hipofiz-over aksındaki değişikliklere bağlı olarak uterus endometriyumunun fonksiyonel ve yapısal patofizyolojisi ile açıklanmaya çalışılmıştır. Ancak bu klinik tablolarla uterus myometriyumunun olası moleküler ve fonksiyonel değişikliği arasındaki ilişkiyi açıklayan bilgilerin yetersiz olduğu görülmektedir. Uterusun myometriyal düz kas hücreleri tarafından oluşturulan spontan kontraksiyonlar, Ca<sup>2+</sup>-bağımlı ve Ca<sup>2+</sup>-bağımsız yollar ile düzenlenmektedir. Ca<sup>2+</sup>-bağımsız yolda, Rho/Rho kinaz sinyal yolağı aktivasyonunun etkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle sunulan çalışmada, PKOS modeli oluşturulmuş sıçanların uteruslarında, Rho A, Rock 1 ve Rock 2 ekspresyonu ve spontan kontraksiyonlarda olası değişikliklerin araştırılması planlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:**

Çalışmada 44 adet, 21 günlük Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlar randomize olarak 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara (n=14) deney süresince hiçbir işlem yapılmadı. Taşıyıcı grubundaki sıçanlara (n=14), 20 gün süresince, günde tek doz 0.2 ml susam yağı, subkutan (s.c.) olarak enjekte edildi. PKOS grubundaki deneklere (n=16) ise 20 gün süresince tek doz 6 mg/100 g/gün dehidroepiandrosteron (DHEA), 0.2 ml susam yağında çözülüp s.c. olarak enjekte edildi. Deney sonunda, uterus dokuları alındı ve hayvanlar sakrifiye edildi. Histolojik incelemeler için dokular %10'luk tamponlanmış nötral formaline alındı ve rutin ışık mikroskopik doku takibi yapılarak parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan kesitlerde indirek peroksidaz yöntemi ile Rho A, Rock 1 ve Rock 2 immün işaretlemesi yapıldı ve işaretlenmeler immunoreaktivite skoru kullanılarak değerlendirildi. Gerçek zamanlı-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) tekniği ile gen ekspresyon analizleri için dokular sıvı azotta dondurulduktan sonra -80°C derin dondurucuya konuldu. Spontan uterin kontraksiyonlarının değerlendirilmesi için Krebs solüsyonuna alınan dokularda izole organ banyosu deneyleri yapıldı. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında, One-Way ANOVA (post hoc; Bonferoni testi) ve Kruskal-Wallis (post hoc; Dunn testi) testleri kullanıldı. İstatistik anlamlılık seviyesi p<0.05 olarak alındı.

**Bulgular:**

PCOS grubunda, Rho A, ROCK 1 ve ROCK 2 mRNA ekspresyonlarında ve uterusun myometriyum düz kas hücrelerinde Rho A, ROCK 1 ve ROCK 2 proteinlerinin immunoreaktivite skorunda kontrol ve taşıyıcı gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (tüm karşılaştırmalar p>0.05). Spontan uterus kontraksiyonlarının frekans ve amplitüdlerinin PKOS grubunda kontrol ve taşıyıcı gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde azaldığı saptandı (tüm karşılaştırmalar p<0.05).

**Sonuç:**

PKOS'da görülen yüksek subfertilite ve infertilite oranlarının, bu hastalarda azalmış spontan uterus kontraksiyonları ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Ancak PKOS'da azalan spontan uterus kontraksiyonları ve Rho A/Rho-kinaz yolağı ilişkisinin gösterilmesinde, Rho A/Rho-kinaz protein aktivasyon çalışmaları gibi moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Polikistik over sendromu, Rho A, Rho-kinaz, spontan uterin kontraksiyonlar

**P064****Ovaryum kriyoprezervasyonu primordiyal foliküllerde p-4EBP1 protein ifadesini artırır**

Soner Çelik<sup>1</sup>, Ferda Topal Çelikkan<sup>2</sup>, Sinan Özkavukcu<sup>3</sup>, Alp Can<sup>2</sup>, Çiler Çelik Özenci<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya

<sup>2</sup>Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Ankara Üniversitesi, Ankara

<sup>3</sup>Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Ankara Üniversitesi, Ankara

**Giriş:** Ovaryum rezervi kaybı sebebiyle fertilitite korunmasında ovaryum parçalarının dondurulması yöntemiyle bugüne dek dünyada 80'den fazla canlı doğum bildirilmiştir. Ancak, dondurulup çözülen ovaryum dokularının retransplantasyonu sonrasında neredeyse yarıdan fazlası kaybedilen primordiyal folikül (PF) rezervinin korunma mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır.

Primordiyal folikülden primer foliküle geçişte aktivatör ve inhibitör moleküllerin dengeli çalışarak PF havuzu korudukları varsayılmaktadır. Önceki çalışmalarımızda, ovaryum kriyoprezervasyonunun PF'lerdeki ileri gelişimi baskılayan moleküllerin ifadesini değiştirmede; ancak taze ya da dondurulup çözüldükten sonra transplante edilen ovaryum parçalarında, folikül rezervini koruyan baskılayıcı moleküllerin azaldığı gösterilmiştir. mTORc (rapamisin protein kompleksinin mekanistik hedefi), folikülogenezde ve granüloza hücresi metabolizmasında önemli role sahiptir ve 4EBP1 proteini, mTORc sinyal yolağı aktivasyonunun belirteçlerinden birisidir. 4EBP1, büyümeye başlayan primordiyal foliküllerin pre-granüloza hücrelerinde ve ovositlerinde; ayrıca büyüyen foliküllerin granüloza hücrelerinde ifade edilmektedir ve PF aktivasyonunda rol alan protein kinazlardan birisidir. Bu çalışmanın amacı; PF aktivasyonunda rol alan p-4EBP1 proteininin ifadesini ovaryumun dondurma-çözme-transplantasyon döngüleriyle ilişkisini değerlendirilmiştir.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmada, beş haftalık dişi sıçanlar (n=6) kullanıldı. Ototransplantasyon modelini oluştururken hayvanların menstrüal sikluslarına bağlı değişkenleri gidermek için her ovaryum eşit dört parçaya bölünerek dört farklı grup oluşturuldu: Taze kontrol (TK), yavaş dondurma yöntemiyle dondurulup çözülen (DÇ), sırt kasına taze ototransplante edilen (TTr) ve dondurulup çözüldükten 2 hafta sonra sırt kasına ototransplante edilen (DÇTr). Tüm gruplardan elde edilen ovaryum kesitlerinde p-4EBP1 ifadesi ve doku içindeki yerleşimi immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiş, H-skoru uygulanarak karşılaştırmalı istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir.

**Sonuç-Tartışma:** Primordiyal foliküllerde, p-4EBP1 ifadesi DÇ grubunda taze kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış olarak bulundu (p<0.05). Her iki transplantasyon grubunda da (TTr ve DÇTr) p-4EBP ifadesi DÇ grubuna göre anlamlı olarak azalmıştı (p<0.05) ancak p-4EBP'in ifade düzeyi taze kontrol grubu ile benzerdi. Sadece dondurulup çözülen grupta artan p-4EBP1 ifadesi, kriyoprezervasyon işleminin kendisinin p-4EBP1 ifadesini artırarak PF'lerin aktivasyonunda, dolayısıyla ilerleyen günlerde tükenmesinde rolü olabileceğini düşünmekteyiz. On dört gün sonra taze ya da dondurulup çözülmüş transplantasyon gruplarında p-4EBP1 ifadesinin kontrol grubuyla benzer olması, geçen bu süreçte PF aktivasyonunun azaldığı anlamına gelebilir. Primordiyal folikül havuzunu düzenleyen mTOR sinyal yolağında yer alan moleküllerin bu modellerde araştırıldığı çalışmalarımız devam etmektedir. Deney hayvanlarından elde edilen bulgularımız, kadınlarda primordiyal havuzun korunmasıyla ilişkili moleküler süreçlerin aydınlatılması hakkında yeni bilgiler sağlayarak fertilitenin korunması açısından kliniğe katkıda bulunacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** fertilitenin korunması, ovaryum kriyoprezervasyonu, primordiyal folikül aktivasyonu, 4EBP1

**P065**

**Hipotiroidik Sıçanlarda Arı Sütü Takviyesinin Tuba Uterina Üzerindeki Olası Koruyucu Etkisi**

Burcu Karaman<sup>1</sup>, Cemile Merve Seymen<sup>1</sup>, Ayşe Çakır Gündoğdu<sup>1</sup>, Deniz İrem Bulut<sup>1</sup>, Canan Yılmaz Demirtaş<sup>2</sup>, Çiğdem Elmas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

**Giriş-Amaç:** Çalışmamızda, propyl-thio-uracil (PTU) ile indüklenen hipotiroidinin, sıçan tuba uterina dokularında meydana getirdiği olası hasarların ve bu hasarlar üzerinde bir antioksidan olan arı sütünün koruyucu etkilerinin histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemler ile incelenmesi amaçlandı.

**Metod:** 30 adet 6-8 haftalık Wistar albino cinsi dişi sıçan 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmazken, sham kontrol grubuna 10 mg/kg serum fizyolojik (SF), hipotiroidi grubuna SF içerisinde çözünmüş 10 mg/kg PTU intraperitoneal (i.p) uygulandı. Arı sütü grubuna 100 mg/kg arı sütü gavaj ile verildi ve Hipotiroidi+Arı sütü grubuna da 10 mg/kg PTU i.p olarak, 100 mg/kg arı sütü ise gavaj ile uygulandı. 30 günlük deney bitiminde alınan tuba uterina örnekleri Mallory Azan ile histokimyasal, SOD-1 ve 8-OHdG antikorları ile de immünohistokimyasal düzeyde incelendi. Mallory Azan boyamaları doğrultusunda dejenerasyon kriterleri oluşturuldu; hem bu kriterler, hem de immünohistokimyasal sonuçlar istatistiksel olarak analiz edildi.

**Bulgu:** Histokimyasal incelemeler sonucunda kontrol, sham kontrol ve arı sütü grupları normal tuba uterina yapıları ile izlendi. Hipotiroidi grubunda epitelde yoğun dejenerasyon görüldü, apikal yüzey farklanması olan kinosilyaların yer yer birleşerek küt bir görüntü sergilediği tespit edildi. Hipotiroidi ve arı sütünün birlikte uygulandığı grupta ise epitelde izlenen dejeneratif değişimler büyük ölçüde düzelmiş olmasına karşın bazı hücrelerde vakuolizasyonun devam ettiği görüldü. Hipotiroidi grubunda bir oksidatif stres belirteci olan SOD-1'in, epitelin hemen hemen tamamında, tunika muskularis tabakasına ait düz kas hücrelerinde ve tunika serozaya ait mezotel hücrelerinde yüksek immünreaktivite gösterdiği tespit edildi. Aynı zamanda bu hücrelerde bir DNA hasar belirteci olan 8-OHdG immünreaktivitesinin de yüksek olduğu görülmekle birlikte stromal hücrelerde de oldukça yaygın immünreaktivite görüldü. Arı sütü uygulaması ile birlikte ise hem SOD-1, hem de 8-OHdG tutulumunun zayıfladığı saptandı. Tüm bulgular istatistiksel olarak da desteklendi.

**Sonuç:** Hipotiroidinin tuba uterina dokusunda dejeneratif hasara neden olduğu ve arı sütü uygulamasının bu değişimler üzerinde koruyucu etki gösterdiği kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** 8-OHdG, Arı sütü, Hipotiroidi, SOD-1, Tuba uterina

**P066**

### **Hipotiroidik Sıçanlarda Arı Sütü Takviyesinin Uterus Üzerindeki Olası Koruyucu Etkisi**

Hazal Seren Kayhan<sup>1</sup>, Cemile Merve Seymen<sup>1</sup>, Ayşe Çakır Gündoğdu<sup>1</sup>, Deniz İrem Bulut<sup>1</sup>, Canan Yılmaz Demirtaş<sup>2</sup>, Çiğdem Elmas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

**Giriş-Amaç:** Çalışmamızın amacı, propiltiourasil (PTU) ile hipotiroidi oluşturulan sıçanların uterus dokularında meydana gelen hasarın ve antioksidan özelliğe sahip olan arı sütünün hipotiroidi kaynaklı hasara karşı koruyucu etkilerinin histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak incelenmesidir.

**Metod:** Çalışmada 30 adet 6-8 haftalık Wistar albino cinsi dişi sıçan 5 eşit gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmamış, sham kontrol grubuna PTU çözücüsü olan 10 mg/kg/gün serum fizyolojik (SF) ve hipotiroidi grubuna 10 mg/kg/gün PTU intraperitoneal (i.p) yolla uygulanmıştır. Arı sütü grubuna gavaj ile 100 mg/kg/gün arı sütü verilmiş, arı sütü + hipotiroidi grubuna ise 10 mg/kg/gün PTU yanında 100 mg/kg/gün arı sütü uygulanmıştır. 30 günlük deney süresinin tamamlanmasının ardından sıçanların uterus dokuları alınarak Mallory Azan yöntemiyle histokimyasal, SOD-1 ve 8-OHdG antikorları ile immunohistokimyasal düzeyde incelenmiştir.

**Bulgular:** Mallory Azan boyama sonucunda, PTU ile hipotiroidi oluşturulan grubun uterus epitelinde yoğun dejenerasyon ve vakualizasyon görülürken, uterus bezlerinin duvarını oluşturan hücrelerde ödem ve hipertrofi izlenmiştir. Myometrium tabakasındaki düz kasların üç yönde seyreden görünümünün tamamen bozulduğu ve perimetriyumun normal yapıda kaldığı gözlenmiştir. PTU ile birlikte uygulanan arı sütünün dokunun genelinde dejenerasyonu ortadan kaldırarak koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir. Hipotiroidi grubunda endometriyum epitel hücrelerinde ve bez duvarını döşeyen hücrelerde çoğunlukla kuvvetli düzeyde, myometriyuma ait kas hücrelerinde ve perimetriyuma ait mezotel hücrelerinde orta düzeyde oksidatif stres belirteci olan SOD-1 ve DNA hasarı belirteci olan 8-OhdG immünreaktivitesi ayırt edilmiştir. Arı sütü + hipotiroidi grubunda ise zayıftan ortaya değişen düzeylerde SOD-1 ve 8-OhdG immünreaktivitesi görülmüştür.

**Sonuç:** Hipotiroidinin rat uterus dokusunda, özellikle yüzey epitel hücreleri, bez epitel hücreleri ve düz kas hücrelerinde dejenerasyona neden olduğu tespit edilmiş, arı sütü uygulamasının hipotiroidi kaynaklı strese karşı koruyucu etki gösterdiği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Uterus, Hipotiroidi, Arı Sütü, SOD-1, 8-OhdG

**P067**

**Hipotiroidik Sıçanlarda Arı Sütü Takviyesinin Ovaryum Üzerindeki Olası Koruyucu Etkisi**

Özüm Atlıtürk<sup>1</sup>, Ayşe Çakır Gündoğdu<sup>1</sup>, Cemile Merve Seymen<sup>1</sup>, Deniz İrem Bulut<sup>1</sup>, Canan Yılmaz Demirtaş<sup>2</sup>, Çiğdem Elmas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

**Giriş-Amaç:** Çalışmamızın amacı, propiltiourasil (PTU) ile hipotiroidi modeli oluşturulmuş sıçan ovaryum dokularında oluşan hasar üzerinde arı sütünün koruyucu etkilerini histomorfolojik ve immünohistokimyasal düzeyde inceleyerek ortaya koymaktır.

**Metod:** 30 adet 6-8 haftalık Wistar albino cinsi dişi sıçan 5 gruba ayrılmıştır. 30 gün süren deney boyunca kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmazken, sham kontrol grubuna PTU çözücüsü olan 10 mg/kg/gün serum fizyolojik (SF), hipotiroidi grubuna intraperitoneal (i.p) yolla 10 mg/kg/gün PTU, arı sütü grubuna gavaj ile 100 mg/kg/gün arı sütü ve arı sütü + hipotiroidi grubuna 10 mg/kg/gün PTU + 100 mg/kg/gün arı sütü uygulanmıştır. Süre sonunda sıçanlardan alınan ovaryum dokularını histolojik olarak incelemek üzere Mallory Azan yöntemi kullanılmıştır. Dokular ayrıca immunohistokimyasal yöntem ile SOD-1 ve 8-OHdG antikorlarının immünreaktivitesi bakımından incelenmiştir.

**Bulgu:** Histokimyasal incelemeler sonucunda kontrol, sham ve arı sütü gruplarında ovaryum dokusu ve ovaryum folliküllerinin normal histolojik yapılarında olduğu izlenmiştir. Hipotiroidi oluşturulan grupta, ovaryum folliküllerinin birbirleri ile follikül tipleri ayırt edilemeyecek şekilde birleştikleri ve granüloza hücreleri ile teka yapılarının da normal düzenlenimlerinin bozulduğu gözlenmiştir. Hipotiroidi ve arı sütünün birlikte uygulandığı grupta ise follikül ayrımı yapılabilmiş, primordial ve unilaminar primer folliküllerin normal yapısını koruduğu, multilaminar primer ve sekonder folliküllere ait granüloza hücrelerinde hipertrofi ve ödem, çekirdek ve sitoplazma kaybı olduğu gözlenmiştir. Bir oksidatif stres belirteci olan SOD-1 ve bir DNA hasar belirteci olan 8-OHdG immünohistokimyasal olarak incelendiğinde, kontrol, sham kontrol ve arı sütü gruplarında germinal epitelde, teka yapılarında ve medulla stromasında zayıf immünreaktivite gözlenirken, hipotiroidi grubunda özellikle granüloza hücreleri ve teka yapılarında şiddetli reaktivite belirlenmiştir. Arı sütü uygulaması ile birlikte ise her iki antikorun tutulumunun azaldığı saptanmıştır.

**Sonuç:** Hipotiroidinin ovaryum dokusunda yaygın dejenerasyona yol açtığı ve arı sütünün bu dejeneratif değişimler üzerinde koruyucu etki gösterdiği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Ovaryum, Hipotiroidi, Arı sütü, SOD-1, 8-OHdG

**P068**

**Farede DMBA ile indüklenmiş ovotoksisitede c-Abl ve mTERT ekspresyonlarının belirlenmesi**

Aylin Yaba Uçar, Ecem Yıldırım, Tuğçe Önel, Hatice Kübra Parlaktaş  
Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**Amaç:**

Memelilerde prenatal hayatta oluşan oosit rezervi, postnatal hayat boyunca sürekli azalarak tükenmektedir. Bu tükeniş sürecinde oositlerin çok az bir bölümü fonksiyonel gelişimini tamamlayarak ovule olurken, binlercesi ovulasyona gitmeden ortadan kaldırılmaktadır. Foliküler atrezi olarak adlandırılan bu mekanizma ile ovariyal yaşlanma meydana gelmekte ve primordiyal folikül havuzu tükenmektedir. Polisiklik aromatik hidrokarbon 7, 12-dimetilbenz (7,12-dimethylbenz-aanthracene (DMBA)), ovaryum da dahil olmak üzere pek çok tümörü tetikleyen ve kemirgenlerde kanser modeli olarak kullanılan çevresel bir karsinojendir. Bir ribonükleoprotein kompleksi olan telomeraz, hücrenin bölünmesi esnasında kromozomların kararlı yapılarının korunmasını sağlar ve fare telomeraz ters transkriptaz (mTERT), telomeraz kompleksinin gerekli bir alt bileşenidir. Abelson Tirozin Kinaz (c-Abl), DNA çift sarmalında kırıkların oluşması ile aktive olan ve telomer kontrolü esnasında bu kırıkların tamir edilmesine katılan bir proteindir. Telomer kısalması, hücre bölünmesini zamanla durduran bir işlemdir. Bu nedenle çalışmamızda DMBA ile indüklenen ovotoksisitede c-Abl ve mTERT'in görev alabileceğini hipotez ettik. Buradan yola çıkarak günlük yaşamda sürekli olarak maruz kalınan DMBA'nın ovaryumdaki oosit rezervi ve oosit kalitesi üzerindeki etkisini c-Abl ve mTERT belirteçleri ile açıklamayı hedefledik. Gereç ve Yöntemler: Çalışmamızda postnatal 28 günlük toplam 21 adet BalbC türü dişi fare kullanıldı. Kontrol grubuna hiçbir işlem uygulanmazken, DMBA grubuna 7 gün boyunca susam yağı içerisinde çözölen 1mg/kg DMBA i.p. olarak uygulandı. Çözgen grubuna ise 7 gün boyunca i.p. olarak susam yağı verildi.

**Bulgular:**

Çalışmamız sonucunda izole edilen ovaryumlara rutin parafin doku takibi uygulandı, alınan kesitlere hematoksilen-eozin boyaması yapılarak morfolojik değerlendirme yapıldı. Elisa yöntemiyle tüm gruplarda Anti-müllerian Hormon (AMH) seviyeleri belirlendi. Ayrıca immünofloresan yöntemi ile c-Abl ve mTERT lokalizasyonları konfokal mikroskop yardımıyla görüntüldü. Morfolojik değerlendirmede DMBA uygulanan farelerin ovaryumlarında primordiyal foliküllerin sayısının anlamlı olarak azaldığı belirlendi. Buna ek olarak oosit kalitesinin bozulduğu ve folikül içerisinde yer alan apoptotik foliküller hücre sayısının arttığı gösterildi. Elisa bulgularımız ile AMH seviyesinin DMBA grubunda anlamlı olarak arttığı belirlendi. Bu sonuç DMBA indüklü ovotoksisite ile erken primordiyal folikül aktivasyonunun gerçekleştiğini doğrulamaktadır. İmmünofloresan boyanmalar sonucunda c-Abl ve mTERT'in, oosit ve granuloza hücrelerinde sitoplazmik olarak lokalize olduğu gösterildi. Ovotoksisitenin meydana geldiği DMBA grubunda, özellikle bölünen ve apoptoza giden hücrelerde yoğun bir c-Abl immünoreaktivitesi belirlendi. Atreziye giden foliküllerde ise c-Abl ve mTERT immünoreaktivitesinin azaldığını gösterildi.

**Sonuç:**

Çalışmamızda DMBA indüklü ovotoksisitede c-Abl ve mTERT ekspresyonları ilk defa gösterilmiştir ve elde edilen bulguların erken over yaşlanması ve kadın infertilitesine ilişkin sinyal mekanizmalarına ışık tutacağı düşünülmektedir. (TÜBİTAK#215S867)

**Anahtar Kelimeler:** c-Abl, DMBA (7, 12-dimethylbenz-aanthracene), mTERT, ovotoksisite



P069

### **Melatonin Polikistik Over Sendromuna Bağlı İnfertilitede Yeni Bir Umut Olabilir mi? Deneysel Bir Çalışma**

Gökçe Nur Yücel<sup>1</sup>, Cemile Merve Seymen<sup>1</sup>, Zübeyir Elmazoğlu<sup>2</sup>, Atiye Seda Yar Sağlam<sup>3</sup>, Aylin Sepici Dinçel<sup>4</sup>, Gülnur Take Kaplanoğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD, Ankara

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD, Ankara

<sup>3</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, Ankara

<sup>4</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Ankara

**Amaç:** Deneysel olarak indüklenen polikistik over sendromunda (PKOS) melatoninin antioksidan aktivitesinin ovaryum dokusu üzerindeki olası etkisinin histokimyasal düzeyde belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** 32 adet 6-8 haftalık Sprague Dawley cinsi dişi sıçan 4 eşit gruba ayrıldı. 1.Grup: Sham Grubu (%1 CMC/gün/3hafta) (n=8), 2.Grup: Melatonin Grubu (2 mg/kg Melatonin/gün/3 hafta) (n=8). 3.Grup: Deneysel PKOS Grubu (1 mg/kg Letrozol/gün/3 hafta) (n=8), 4.Grup: Deneysel PKOS+ Melatonin Grubu (1mg/kg Letrozol/gün/3 hafta + 2mg/kg Melatonin/gün/3 hafta) (n=8). 21 günlük süre bitiminde ovaryum dokuları %10'luk nötral formalinde 72 saat tespit edilerek, rutin ışık mikroskopik takip protokünden sonra, parafin bloklar oluşturuldu. Parafin bloklardan 4-5 µ kalınlığında kesitler alınarak, Hematoksilen Eozin boyama uygulandı. Tüm deneklere ait serum örneklerinde PKOS tayininin yapılabilmesi için LH/FSH ölçümleri ELISA ile yapılarak, oranlar belirlendi.

**Histolojik Bulgu:** Sham grubu ovaryum kesitlerinde epitelyum germinativum kübik hücreleriyle normal yapıda izlenirken, kortekste gelişimin çeşitli evrelerindeki folliküller olağan yapılarıyla gözlemlendi. Medulla bol vaskülarize bağ dokusuyla karakterizydi. Melatonin grubunda da epitelyum germinativum normal yapıda izlendi. Kortekste gelişim evrelerindeki çok sayıdaki follikül dikkati çekti. Medulla vaskülarize bağ dokusu yapısındaydı. PKOS grubunda epitelyum germinativum sham grubuna benzer olarak normal şekilde izlenirken, kortekste diğer gruplardan farklı olarak çok sayıda antral follikül varlığı dikkati çekti. Yine diğer gruplardan ayrıcalık olarak, korpus luteumda vaskularizasyon belirgin olarak izlendi. Medullada ise vasküler dilatasyon oldukça yaygındı. Hilar hücreleri olduğu düşünülen hücrelerin diğer gruplara karşın görece artarak gruplar oluşturduğu, dolayısıyla bu hücre tipinin hipertrofiye uğradığı dikkati çekti. PKOS+Melatonin grubunda epitelyum germinativum normal yapısıyla izlenirken, antral follikül sayısının PKOS grubuna karşın göreceli olarak azaldığı ancak halen kortekste çok sayıda antral follikül olduğu gözlemlendi. Korpus luteum vaskülarizasyonu kontrol grubuna benzer özellikler sergiliyordu. Medulladaki hücre kompozisyonu ve damar yapıları kontrol grubuna benzerdi. Hilar hücrelerinin medullada gruplar oluşturmaya devam ettiği dikkati çekti.

**Sonuç:** Deneysel PKOS modelinde ovaryumda antral follikül sayısının belirgin şekilde arttığı bununla beraber medullada vasküler dilatasyon ve korpus luteum vaskülarizasyonunda artışın olaylandığı ve hilar hücrelerinde hiperplazinin varlığı izlenirken, melatonin uygulamasının özellikle antral follikül sayısını göreceli olarak azalttığı, korpus luteum vaskülarizasyonunda düzleme sağladığı ancak medullar vasküler yapı ve hilar hücrelerinin hipertrofi açısından etkili olmadığı sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Polikistik Over, Ovaryum, Melatonin

**P070****Tekrarlanan Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon'un (KOH) Endometriyum Reseptivitesi Üzerine Etkilerinin Moleküler Düzeyde İncelenmesi**

Latife Sakiner<sup>1</sup>, Perihan Yalçınkaya<sup>2</sup>, Deniz İrem Bulut<sup>1</sup>, Canan Yılmaz<sup>3</sup>, Çiğdem Elmas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Okan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

<sup>3</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Amaç:** Çalışmada tekrarlanan kontrollü ovaryan hiperstimülasyonun endometriyum reseptivitesinin önemli belirteçleri olan integrin  $\beta 1$  ve E-kaderin üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

**Gereç-Yöntem:** 18 adet 8 haftalık Wistar albino cinsi dişi sıçan Kontrol, Deney-1 Grubu (3 tekrar KOH) ve Deney-2 Grubu (5 tekrar KOH) olmak üzere üç eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubuna intraperitoneal (i.p) serum fizyolojik, Deney-1 grubuna PMSG ve hCG ile 3 kez tekrarlanan hiperstimülasyon ve Deney-2 grubuna ise PMSG ve hCG ile 5 kez tekrarlanan hiperstimülasyon uygulandı. Her uygulama 1 hafta ara ile gerçekleştirildi. Denekler son uygulamanın ardından sakrifiye edildi ve uterus dokuları alındı. Dokular Hematoksilen-Eozin ile histokimyasal, Integrin- $\beta 1$  ve E-kaderin antikorları ile immünohistokimyasal düzeyde incelendi.

**Bulgular:** Histokimyasal incelemeler sonucunda proöstrus evresinin sonu östrus evresinin başlangıcında sakrifiye edildiği belirlenen deneklerin uterus dokularının kontrol grubunda normal yapıda oldukları izlendi. Epitel Deney-1 grubunda alçak kübik ve yer yer prizmatik izlenirken, Deney-2 grubunda alçak boylu kübik veya yer yer yassı olarak görüldü. Deney gruplarında tüm duvar ve endometriyum kalınlıklarında artış saptandı. Ayrıca deney gruplarında miyometriyumun iç sirküler ve dış longitudinal düz kas katmanları arasında bağ doku artışı izlendi. Lenfosit infiltrasyonunun deney gruplarında kontrole göre belirgin olarak artış gösterdiği, bez yapılarının ise kontrole kıyasla deney gruplarında dilate görünümü olduğu ve sayıca azaldıkları belirlendi. Deney-2 grubunda bez epitelinde hiperplazi, şiddetli vakuolizasyon, nekroz ve apoptotik hücreler izlendi. Kontrol grubuna ait kesitlerde E-kaderin'in, integrin  $\beta 1$ 'e göre daha yaygın tutulum sergilediği görüldü. Deney gruplarındaki E-kaderin immün reaktivitesinin kontrol ile karşılaştırıldığında yüzey ve bez epitelindeki tutulumlarında azaldığı oldukça belirgin olarak izlendi. Kontrol ile kıyaslandığında Deney-1 grubunda stromal hücreler, damar endotelileri ve perimetriyum tabakasında E-kaderin tutulumu orta dereceliyken, Deney-2 grubunda arkuat arterlerin endotelileri, stromal hücreler ve perimetriyumda negatif E-kaderin immün reaktivitesi görüldü. Kontrol ve Deney-1 gruplarında integrin  $\beta 1$ 'in immün reaktivitesi orta dereceli, Deney-2 grubunda zayıf olarak izlendi. Kontrol grubunda stromadaki integrin  $\beta 1$  tutulumu ortadan kuvvetliye değişim gösterirken, deney gruplarında tutulumun zayıftan orta dereceliye değişim gösterdiği tespit edildi. Perimetriyum ve damar yapılarına ait endotel hücrelerinde kontrol ve Deney-1 gruplarında integrin  $\beta 1$ 'in zayıftan ortaya değişen düzeyde tutulum gösterdiği belirlendi. Deney-2 grubunda ise perimetriyumdaki integrin  $\beta 1$  tutulumu zayıftan ortaya değişen immün tutulum sergilerken, endotel hücrelerinde negatif olduğu tespit edildi. Miyometriyumun iç sirküler ve dış longitudinal düz kas katmanlarında ise E-kaderin ve integrin  $\beta 1$  antikorlarına ait immün reaktiviteye rastlanmadı.

**Sonuç:** KOH uygulamasının endometriyum dokusu üzerinde özellikle endometriyumda daha yoğun olacak şekilde dejenerasyona ve endometriyum reseptivitesinde azalmaya neden olduğu, bu değişimlerin özellikle 5 tekrar KOH uygulaması ile daha şiddetli olarak izlendiği kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Endometriyum, Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon, E-Kaderin, Integrin- $\beta 1$

**P071**

**Anneden Ayrılma Stresinin ve Antidepresan Kullanımının Sıçan Ovaryumları Üzerindeki Etkisinin Gösterilmesi**

Hatice Kübra Parlaktaş<sup>1</sup>, Ecem Yıldırım<sup>1</sup>, Tuğçe Önel<sup>1</sup>, Hacer Zortul<sup>2</sup>, Feyza Arıcıoğlu<sup>2</sup>, Aylin Yaba Uçar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı

**Amaç:**

Prematüre ovaryum yetmezliği (POY), dişilerde primordiyal folikül havuzunun üreme hayatının erken dönemlerinde tükenmesiyle birlikte fertilité ve menstrual döngünün sona ermesidir. Primordiyal foliküller genetik sebepler, ilaç kullanımı veya zararlı maddelere maruz kalma gibi birçok nedenden dolayı vaktinden önce aktive olabilirler. Bu durum ovaryumdaki oosit rezervinin erken tükenmesine neden olabilir. Yapılan çalışmada depresyon modeli oluşturulan dişi sıçanlarda, antidepresan tedavisi ile ovaryum rezervinin erken tükenmesinin engellenmesi arasında bir ilişki olabileceği hipotezi test edildi.

**Gereç ve Yöntemler:**

Bu sebeple, sıçanlarda anneden ayrılma ile oluşturulan depresyon modelinde, uygulanan antidepresan tedavisinin ovaryumda folikül rezervi üzerindeki etkisinin gösterilmesi amaçlandı. Çalışmada toplam 28 adet Wistar albino türü dişi sıçan kullanıldı ve 4 deney grubu oluşturuldu (n=7). Kontrol grubuna hiçbir işlem uygulanmazken depresyon grubunda yavrular postnatal 2. günden itibaren 15 gün boyunca her gün anneden 4 saat ayrılarak depresyon modeli oluşturuldu. 45 gün hiçbir tedavi uygulanmayan sıçanlarda ilaç gruplarına, 60. gün itibari ile 15 gün boyunca bir gruba Agmatin (40 mg/kg/gün i.p) diğer gruba İmipramin (30 mg/kg/gün i.p) tedavisi uygulandı. Deney sonucunda diseke edilen ovaryumlara parafin doku takibi yapılarak alınan kesitlere morfolojik analiz ve folikül sayımı için hematoksilen ve eozin boyaması yapıldı. Ardından mTOR ve P-mTOR lokalizasyonu immunoflorasan boyama ile gösterildi.

**Bulgular:**

qRT-PCR yöntemi ile mTOR ve P70S6K ekspresyonu mRNA düzeyinde belirlendi. Annelerinden ayrı tutulup antidepresan tedavisi uygulanmayan sıçanların, kontrol grubuna göre ovaryum boyutlarının daha küçük olduğu ve ovaryumlarda daha fazla sayıda korpus luteum olduğu tespit edildi. Buna ek olarak, tedavi amacıyla kullanılan antidepresan ilaçlar Agmatin ve İmipramin'in de farklı etkilere sahip olduğu, Agmatin tedavisinin folikül rezervinin korunmasında İmipramin'den daha etkili olduğu folikül sayımı ile gösterildi. Tüm deney gruplarından izole edilen ovaryum dokularında mTOR ekspresyonu oosit ve granuloza hücrelerinde, P-mTOR ekspresyonu ise özellikle oositin çekirdeğinde ve bölünmekte olan granuloza hücrelerinde gösterildi. qRT-PCR sonuçlarına göre ise kontrol grubuna kıyasla bütün gruplarda mTOR ve P70S6K ekspresyonunun azaldığı belirlendi. Model, İmipramin ve Agmatin gruplarında mTOR'a kıyasla P70S6K'nın daha az eksprese olduğu tespit edildi.

**Sonuç:**

Çalışmanın sonucunda elde edilen verilere dayanarak, annelerinden ayrı tutulan yavruların over rezervlerinin hızla azaldığını ve uygulanan antidepresan tedavileri ovaryumdaki folikül sayısının korunması açısından değerlendirildiğinde, Agmatin'in İmipramin'den daha etkili olduğu ileri sürülebilir. Bu sonuçlardan yola çıkarak yapılacak çalışmalar, oluşturulan modelin ovaryumda mTOR sinyal yolağı üzerindeki etkisini ve buna ek olarak İmipramin ve Agmatin tedavisi ile ilişkisini, fonksiyonel olarak ortaya koyacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Agmatin, depresyon, imipramin, mTOR, ovaryum rezervi

**P072**

**MMTV-TGF- $\alpha$  Farelerde Ovariyal Yaşlanma Sürecinde mTOR Ekspresyonunun Belirlenmesi**

Tuğçe Önel<sup>1</sup>, Ecem Yıldırım<sup>1</sup>, Soner Doğan<sup>2</sup>, Aylin Yaba Uçar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç: Epidermal Growth Factor (EGF) ailesi üyelerinden biri olan Transforming Growth Factor Alpha (TGF- $\alpha$ ); foliküler gelişim ve kanser oluşumunda rol alan önemli bir büyüme faktörüdür. TGF- $\alpha$ , primer foliküllerin granüloza hücreleri ile pre-antral, antral ve pre-ovulator foliküllerin teka hücrelerinde lokalize olmaktadır. The Mammalian Target of Rapamycin (mTOR); hücre gelişimi ve çoğalması gibi birçok olayda düzenleyici rol oynayan, PI3K bağımlı bir serin/trionin kinazdır. Farklı hayvan modellerinde yapılan çalışmalar ile, mTOR sinyal yolağı inhibisyonunun yaşa bağlı olarak görülen kanser ve çeşitli patolojileri azalttığı bildirilmiştir. Çalışmamızda, TGF- $\alpha$ 'yı yüksek düzeyde eksprese eden MMTV-TGF- $\alpha$  transgenik farelerde TGF- $\alpha$ 'nın mTOR sinyal yolağı ile ilişkide olabileceği hipotez edilmiştir. Bu nedenle MMTV-TGF- $\alpha$  transgenik farelerde ovariyal yaşlanma sürecinde mTOR ekspresyonunun belirlenmesi amaçlandı.

GEREÇ ve Yöntemler: Çalışmada 10, 18, 50 ve 82 haftalık MMTV-TGF- $\alpha$  farelerin ovaryumları diseke edildi ve % 4'lük paraformaldehitte fikse edildikten sonra parafin doku takibi yapıldı.

Bloklardan alınan 5  $\mu$ m'lik kesitlere morfolojik değerlendirme yapmak ve folikül saymak üzere hematoksilen ve eozin boyaması yapıldı. mTOR, P-mTOR ve P70S6K protein ve mRNA seviyeleri tüm deney grupları için sırasıyla western blot ve q-RT-PCR yöntemleri kullanılarak belirlendi.

Bulgular: 10 haftalık MMTV-TGF- $\alpha$  farelerin ovaryumunda, foliküler gelişimin farklı aşamalarında çok sayıda gelişmekte olan folikül belirlendi. Bu gruptaki ovaryum dokusunda bulunan sekonder foliküllerin antrum boşluğunun kontrole oranla daha küçük olduğu ve bu foliküllerin sağlıklı bir folikül yapısı göstermedikleri gözlemlendi. 18 haftalık ovaryumlarda gelişmekte olan foliküllerin sayısı düşük iken, lüteinize hücrelerin infiltrasyonunun bu grupta daha yüksek olduğu belirlendi. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında (10, 18 ve 82 hafta), 50 haftalık ovaryumda gelişmekte olan folikül ve atretik folikül sayısında artış bulundu. Ayrıca 82 haftalık fare ovaryumlarında folikül sayısının azaldığı ve atretik folikül sayısının ise arttığı belirlendi. m-TOR ve P70S6K mRNA seviyelerinin, 10. haftadan 18. haftaya kadar kademeli olarak azaldığı, ancak 50. haftada tekrar artış gösterdiği ve 82 haftalık ovaryumlarda yeniden azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca p70S6K protein seviyesi, mTOR ile korelasyon göstererek yaşa bağlı olarak azalmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak, ovariyal yaşlanma sürecinde TGF- $\alpha$  ve mTOR sinyal proteinlerinin görev olabileceğini ve TGF- $\alpha$ 'nın yüksek düzeydeki ekspresyonunun, ovaryum rezervinin erken tüketilmesi ile prematüre over yetmezliğine neden olabileceğini önermekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** mTOR, ovariyal yaşlanma, TGF- $\alpha$

**P073**

**Melatoninin Sıçan Ovaryumunda VEGF Ve Reseptörlerinin Ekspresyonları Üzerine Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi**

Yasemin Behram Kandemir<sup>1</sup>, Esmâ Konuk<sup>2</sup>, Ertan Katırcı<sup>2</sup>, Feride Quliyeva (xxx)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Ana Bilim Dalı, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya

Giriş: Ovaryum; oosit üretimi ve steroid hormon sentezinden sorumlu olan dişi üreme sisteminin en önemli organıdır. Ovaryumda görülen anjiyogenez, folikül gelişimi ve gerekli hormonların sentezlenmesi için oldukça önemlidir. Anjiyogenez faktörlerinden biri olan Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VegF), ovaryumda teka interna ve granuloza hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Dişi üreme sisteminde yapısal fonksiyonların devamlılığı için gerekli olan korpus luteumun damarlanması Vegf faktörüne bağlıdır.

Melatonin; sirkadian ritim ile salgılanan ve salgısı gece artan pek çok sistemde olduğu gibi üreme sisteminde de etkili olan bir hormondur. Yapılan araştırmalar sonucu melatoninin dişi üreme sisteminde, lüteinizan hormon reseptörlerini (LHR), gonadotropin salınım hormonu (GnRH) ve GnRH reseptörünü de olumlu yönde düzenlediği bilinmektedir. Ayrıca melatonin, oosit olgunlaşması sırasında intrafollikülerde oksidatif stresi azaltarak koruyucu bir etki sunduğu gözlemlenmiştir. Dişi üreme sisteminde, melatoninin yeteri miktarda salınımı fertilizasyon öncesi hazırlıkta ve sonrasında gebeliğin devamlılığı için oldukça önemli bir göreve sahiptir.

Materyal-Metod: Çalışmamızda 12 haftalık Sprague Dawley 45 adet sıçan kullanıldı. Deney grupları; Kontrol grubu, Melatonin grubu, Çözgen grubu. Kontrol grubu hayvanlarına hiçbir müdahalede bulunulmadı. Melatonin grubuna 30 gün boyunca 50mg/kg olacak şekilde intraperitoneal olarak melatonin enjeksiyonu yapıldı. 30. günün ardından hayvanlar sakrifiye edilerek ovaryumları alındı. Takip işleminin ardından VEGF, VEGFR1 ve VEGFR2 proteinlerinin lokalizasyon ve ekspresyonlarını gözlemek için immüno floresan yöntemi kullanıldı.

Sonuçlar ve Tartışma: immüno floresan sonuçlarına göre, VEGF proteininin ekspresyonu kontrole kıyasla melatonin uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. VEGF reseptörü stromal ve endotel hücrelerine ek olarak aktif folikül ve teka hücrelerinde de lokalize olduğu belirlendi. Kan damarları ve aktif folikülde VEGF için pozitif boyanmalar izlendi. VEGFR1 ekspresyonu kontrole kıyasla melatonin uygulanan gruplar arasında Vegf1'de anlamlı fark görülürken, gruplar arasında Vegf2'de anlamlı bir fark görülmedi. VEGFR1 ve VEGFR2, primordial folikül hücrelerinde eksprese edilmedi, melatonin gruplarında yüksek seviyelerde Vegfr1 proteini tespit edildi, ancak kontrol, vehicle ve melatonin grupları arasında vegfr2 ekspresyonunda anlamlı bir fark yoktu.

VEGF inhibisyon yoluyla endotel hücrelerinin hayatta kalmasını sağlamaktadır. Damarlaşma ve foliküllerin oksijen taşınımı ile ilişkili VEGF ekspresyonu primerden antral evreye doğru artmaktadır. Çalışmalar, VEGF'nin, örneğin, progesteron gibi bazı steroid hormonların salgılanmasının uyarılması ile birlikte, hücre yaşamı, proliferasyonu ve foliküler gelişmeyi olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. Çalışmamızda VEGFR1 melatonin grubu ile kontrol arasında anlamlı fark bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Melatonin, Ovaryum, Sıçan, VEGF

**P074**

**Farelerde İn Vitro Embriyo Kültürü Ve Embriyo Transferinin Yetişkin Akciğer Dokusunda Toll-Benzeri Reseptör (TLR)-9 Ekspresyonu Üzerine Etkisi**

Murat Öztürk, Didar Tuğçe Balgir, Göksel Doğan, Levent Karagenc  
Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Aydın

**Amaç:** Sunulan çalışma, in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi işlemlerinin yetişkin farelerde akciğer dokusunda TLR-9 ekspresyonu üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığını test etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

**Maeryal-Yöntem:** Çalışmada, bir adet Kontrol grubu ve bir adet Deneme grubuna yer verilmiştir. Deneme grubu, in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi aracılığı ile elde edilen farelerden oluşturulmuştur. Kontrol ve Deneme gruplarına ait yetişkin akciğer dokularında dokunun genel histolojik yapısını incelemek amacıyla Crossman'ın üçlü boyama yöntemi kullanılmıştır. TLR-9'un akciğer dokusunda eksprese edildiği hücreleri belirlemek amacıyla immunohistokimya ve immunofloresan analizleri gerçekleştirilmiştir. TLR-9 ekspresyonunun transkripsiyonel ve translasyonel düzeylerde ekspresyonunu belirlemek amacıyla kantitatif real-time PCR (qRT-PCR) ve western blot tekniklerinden yararlanılmıştır.

**Sonuçlar:** İmmunohistokimya/immunofloresan analiz sonuçları, TLR-9 ekspresyon profilinin her iki grupta da benzer olduğunu; TLR-9'un hava yollarında, alveol duvarında, alveol lümeninde, damar çevresinde ve damar lümeninde eksprese edildiğini göstermiştir. Western blot analizlerinden elde edilen sonuçlar, Kontrol grubu ile kıyaslandığında Deneme grubunda TLR-9 proteinine ait ekspresyon düzeyinin 1,25 kat arttığını göstermiştir ( $p=0,015$ ). qRT-PCR analizlerinden elde edilen sonuçlar, Kontrol grubu ile kıyaslandığında Deneme grubunda TLR-9'a ait mRNA düzeyinin 1,38 kat azaldığını göstermiştir ( $p>0,05$ ).

**Tartışma:** Elde edilen veriler, TLR-9'un yetişkin farelerde akciğer dokusunda Tip II pnömositler ve makrofajlar da dahil olmak üzere belirli hücreler tarafından eksprese edildiğini göstermekte; in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi işlemlerinin TLR-9 ekspresyonunun değişmesine neden olarak akciğer dokusunda immun yanıtı etkileyebileceğini düşündürmektedir.

*"Sunulan çalışma ADÜ-BAP, VTF-17018 numaralı proje tarafından desteklenmiştir."*

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer dokusu, toll benzeri reseptör 9, fare, in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi, ÜYTE

**P075**

**Farelerde İn Vitro Embriyo Kültürü ve Embriyo Transferinin Yetişkin Akciğer Dokusunda Toll-Benzeri Reseptör (TLR)-5 Ekspresyonu Üzerine Etkisi**

Didar Tuğçe Balgir, Murat Öztürk, Göksel Doğan, Levent Karagenc  
Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Aydın

**Amaç:** Sunulan çalışma, in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi işlemlerinin yetişkin akciğer dokusunda TLR-5 ekspresyonu üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığını test etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

**Materyal-Yöntem:** Çalışmada, bir adet Kontrol grubu ve bir adet Deneme grubuna yer verilmiştir. Deneme grubu, in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi aracılığı ile elde edilen farelerden oluşturulmuştur. Kontrol ve Deneme gruplarına ait yetişkin akciğer dokularında dokunun genel histolojik yapısını incelemek amacıyla Crossman'ın üçlü boyama yöntemi kullanılmıştır. TLR-5'in akciğer dokusunda eksprese edildiği hücreleri belirlemek amacıyla immunohistokimya ve immunofloresan analizleri gerçekleştirilmiştir. TLR-5 ekspresyonunun transkripsiyonel ve translasyonel düzeylerde ekspresyonunu belirlemek amacıyla kantitatif real-time PCR (qRT-PCR) ve western blot tekniklerinden yararlanılmıştır.

**Sonuçlar:** Elde edilen sonuçlar, Kontrol ve Deneme gruplarında TLR-5 ekspresyon profilinin benzer olduğunu ve TLR 5'in hava yollarında, alveol duvarında, damar çevresinde, damar lümeninde eksprese edildiğini göstermiştir. Akciğer doku kesitlerinin ardışık kesitlerde TLR-5 ve hücre-spesifik belirteçler ile boyanması sonucunda, TLR-5'in makrofaj, Clara ve Tip 2 pnömosit hücreleri tarafından eksprese edildiği saptanmıştır. qRT-PCR ve western blot analizlerinden elde edilen sonuçlar, Kontrol grubu ile kıyaslandığında, Deneme grubunda TLR 5 mRNA düzeyinin 1,03 kat arttığını ( $p>0,05$ ), TLR 5 proteinine ait ekspresyon düzeyinin ise 1,30 kat azaldığını göstermiştir ( $p>0,05$ ).

**Tartışma:** Elde edilen sonuçlar, farelerde TLR-5'in yetişkin akciğer dokusunda Tip II pnömosit, makrofaj ve Clara hücreleri de dahil olmak üzere belirli hücreler tarafından eksprese edildiğini göstermekte; in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi işlemlerinin TLR-5 ekspresyonunu değiştirerek akciğer dokusunda immun yanıtı etkileyebileceğini düşündürmektedir.

*"Sunulan çalışma ADÜ-BAP, VTF-17019 numaralı proje tarafından desteklenmiştir."*

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer dokusu, toll benzeri reseptör 5, fare, in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi, ÜYTE

**P076****Polikistik Over Sendromlu (PKOS) Hastalarda Hormonal Parametrelere Bağlı Olarak Embriyo Gelişiminin İncelenmesi**

Tuğba Elgün<sup>1</sup>, Asiye İzem Sandal<sup>2</sup>, Meriç Karacan<sup>3</sup>, Hatice Şenlikçi<sup>2</sup>, Nazlı Ece Güngör Ordueri<sup>1</sup>, Tülay İrez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biruni Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme Ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Ota Jinemed Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum, İstanbul, Türkiye

**GİRİŞ**

Overde folikül gelişimi hipotalamus-hipofiz-gonadal aksın senkronize ve koordineli çalışması sonucu gerçekleşmektedir. Hipotalamustan pulsatil olarak salınan Gonadotropin-Releasing Hormon (GnRH), Hipofizi uyarır ve Hipofiz bezinden FSH ve LH salınması gerçekleşir. Bu dinamik süreçte çeşitli nedenlerle bozulma/aksama farklı klinik tablolara yol açmaktadır. Polikistik over sendromu (PKOS) da bu klinik tablolardan birisidir. PKOS, doğurganlık çağındaki kadınlarda en sık görülen (%6-8) endokrin bozukluktur. PKOS'lu bireylerde serum AMH (Anti-Müllerian Hormon) düzeyi, testosteron ve LH düzeyi ile orantılı olarak artmaktadır. AMH günümüzde yumurtalık cevabını öngörmede belirteç olarak sıkça kullanılmaktadır. Farklı serum AMH konsantrasyonları, oosit maturasyonu ve kalitesi, embriyo gelişimi ve IVF-ICSI sonuçları ile yakından ilişkili olduğu yapılan çalışmalar ile göstermiştir. Çalışmada 2016 ile 2017 yılları arasında Ota Jinemed Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'nde açıklanamamış infertilite (kontrol grubu) (115) ve PKOS (31) tanısı almış ICSI ile IVF tedavisi gören 146 hastanın embriyolarının kalitesi ve gelişiminin hormonal parametrelere bağlı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**YÖNTEM**

Retrospektif bir çalışmadır. Açıklanamamış infertilite (115) ve PKOS (31) tanısı koyulmuş, ICSI ile IVF tedavisi gören 146 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 20 yaş üstündeki ve 40 yaş altındaki ve eşlerinde erkek faktörü bulunmayan kadınlar çalışmada değerlendirilmiştir. Kadın ve erkek yaşı, Vücut Kitle İndeksleri (VKI), total oosit sayısı, fertilize oosit sayısı, total embriyo sayısı, Antral Folikül Sayısı (AFS), hormon parametreleri (FSH, HCG günü E2, LH, inhibin B, AMH, LH/FSH), embriyo takibi (GV, Dejenere, MI, MII, erken bölünme), sperm parametreleri ve gebelik oranları değerlendirilmiştir. Çalışmadaki hastalara ait sayısal veriler Independent T, Kruskal Wallis Test, Anova ile değerlendirilmiştir.

**BULGULAR**

Erkek faktörünün bulunmadığı PKOS'lu hastaların kontrol grubuna göre VKI, AMH, LH/FSH ve AFS verileri anlamlı düzeyde yüksek bulunmakla birlikte, Gonadotropin düzeyleri düşük bulunmuştur. AMH ve LH/FSH düzeyi gebe olan PKOS'lu hastalarda gebe olmayan PKOS'lu hastalara göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. PKOS ve kontrol grubuna ait embriyo parametreleri incelendiğinde PKOS'lu hastalarda kontrole göre total oosit sayısı, GV ve dejenere oosit sayısı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (P<0,05).

**TARTIŞMA**

AMH son zamanlarda over rezervinin bir belirteci olarak ortaya çıkmıştır. AMH seviyesinin PKOS olgularında normal olgulara göre 2-3 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Farklı serum AMH konsantrasyonlarının; oosit maturasyonu ve kalitesi, embriyo gelişimi ve IVF-ICSI sonuçları ile yakından ilişkili olduğu araştırmalarla gösterilmiştir. PKOS'un fizyopatolojisi ve başlangıcı henüz aydınlatılamamıştır. Yapmış olduğumuz çalışma PKOS'lu hastaları endokrin yönden değerlendirilmesinde yardımcı olması ve embriyolarının doğru takibi için iyi bir ön çalışma niteliğindedir. AMH parametresi ile birlikte LH/FSH oranının; PKOS tanı, tedavi ve embriyo takibinde birlikte değerlendirilmesinin önemi vurgulanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** PKOS, Açıklanamayan İnfertilite, ICSI, AMH, Embriyo Gelişimi

**Demografik ve Endokrin Verilerin Analiz Sonuçları**

Değişken	Kontrol Grubu	PKO Grubu	P Değeri
Kadın Yaşı	32,24 ± 4,89	31,42 ± 5,93	AD
VKI (BMI)	24,48 ± 4,35	28,50 ± 5,03	0,013
Toplam Ünite (Gonadotropin)	2629,13 ± 1168,51	1748,27 ± 613,82	0,002



HCG Günü E2	1173,43 ± 866,85	2264,83 ± 1794,5	AD
Inhibin B	79,69 ± 49,78	74,80 ± 47,83	AD
AMH	2,92 ± 2,14	5,76 ± 3,02	0,0002
FSH	6,56 ± 2,30	5,67 ± 2,93	AD
LH	2,91 ± 1,24	3,76 ± 1,07	AD
LH/FSH	0,55 ± 0,24	0,84 ± 0,22	0,032
AFS	6,98 ± 3,55	15,28 ± 6,76	0.0001

#### Embriyo Takip Verileri Analiz Sonuçları

Değişken	Kontrol Grubu	PKOS Grubu	P Değeri
Total Oosit	7,97 ± 4,27	11,22 ± 6,78	0,01
Granüllü Oosit	4,27 ± 2,76	4,03 ± 3,24	AD
Total Fertilize Oosit	4,39 ± 2,9	5 ± 3,17	AD
Total Embriyo	4,47 ± 2,80	4,93 ± 3,37	AD
GV	1,054 ± 1,422	2,263 ± 2,88	0,011
Dejenere	0,608 ± 0,962	1,31 ± 2,08	0,032
MI	0,123 ± 0,406	0,105 ± 0,315	AD
MII	6,13 ± 3,55	7,63 ± 4,42	AD
2. Gün 4 Hücre	3,16 ± 2,2	3,25 ± 2,21	AD
3. Gün 8 Hücre	2,79 ± 1,65	2,66 ± 1,68	AD
Gebelik Oranı (12 hafta)(%)	22	23,4	AD

#### PKOS Gebelik Verileri Analiz Sonuçları

Değişken	Gebelik durumunda	Gebelik Yokken	P Değeri
AMH	5,05 ± 3,40	2,97 ± 2,76	0, 03
LH/FSH	0,95 ± 0,94	0,64 ± 0,40	0,04

P077

### Nedeni Açıklanamayan İnfertilite Olgularında Sperm DNA Bütünlüğünün Fertilizasyon Başarısı ve Erken Embriyoner Gelişime Etkisi

Elçin Tezcan<sup>1</sup>, Cihan Çakır<sup>1</sup>, Işıl Kasapoğlu<sup>2</sup>, Gürkan Uncu<sup>2</sup>, Berrin Avcı<sup>1</sup><sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi, Bursa

#### Amaç

İnfertilite olgularının yaklaşık %15'inde infertilite sebebi olabilecek bir patoloji saptanmayıp, açıklanamayan başka faktörlerden dolayı konvansiyonel gebelik gerçekleşmemektedir. Araştırmalar, sperm DNA hasarının üremeye yardımcı tekniklerin (ÜYTE) sonucunu olumsuz etkilediğini ortaya koymuştur. Son yıllarda, nükleus bütünlüğü korunmuş olan spermleri seçmeye yönelik invaziv olmayan yöntemler geliştirilmeye başlanmış olmakla birlikte, bu yöntemlerin açıklanamayan infertilite olgularında ÜYTE başarısı üzerindeki etkisi henüz tartışmalıdır. Bu çalışmada rutin sperm hazırlama tekniği olan dansite gradient santrifüjü (DGS) yönteminin tek başına ve DNA'sı hasarlı spermlerin elenmesine yönelik olarak geliştirilen invaziv olmayan yöntemlerden olan manyetik aktivasyonla hücre ayırma (MACS) yöntemiyle birlikte kullanımı sonucu elde edilen spermlerin intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) başarısı üzerindeki etkisi karşılaştırılarak, en uygun semen hazırlama yönteminin saptanması hedeflenmiştir.

#### Gereç ve Yöntemler

Açıklanamayan infertilite tanısıyla ÜYTE programına alınan 17 olgu çalışmaya dahil edildi. ICSI uygulamasında kullanılmak üzere, alınan her bir ejakulat örneği ikiye bölündü. Grup 1 olarak değerlendirilen bir örnek dansite gradient yöntemi ile yıkandı. Grup 2 olarak değerlendirilen diğer örnek MACS yöntemi ile sperm eliminasyonunun ardından dansite-gradient yöntemi ile yıkandı. OPU sonrası elde edilen metafaz II aşamasındaki normal morfolojili oositler 2 gruba ayrıldı ve Grup 1-Grup 2 olarak tanımlanan spermler kullanılarak ICSI uygulandı. Her iki yıkama yöntemiyle elde edilmiş spermlerde TUNEL yöntemi ile DNA bütünlüğü açısından ve Hematoksilen Eosin boyamasıyla morfolojik açıdan, ICSI sonrası fertilizasyon ve embriyo gelişimsel potansiyeli klinik sonuçları açısından değerlendirildi.

#### Bulgular

MACS+DGS yöntemiyle yıkanan sperm örneklerinde sperm DNA fragmentasyon oranının ve vakuol (+) sperm oranının DGS yöntemiyle elde edilen spermlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görüldü ( $p=0,03$ ). DG yöntemiyle yıkama sonrası %50-96 aralığında olan sperm DNA fragmentasyon indeksi (DFI)'nin, MACS yönteminin yıkama protokolüne eklenmesiyle %39,12 oranında azaldığı görüldü.

DGS veya MACS+DGS ile yıkanan spermlerle mikroenjeksiyonu gerçekleştirilen oositler arasında fertilizasyon ve embriyo gelişimsel potansiyelinde bir farklılık oluşturmadı. (Fertilizasyon başarısı;  $p=0,54$ , 2. gün Grade 1 ve 2 embriyo sayısı; sırasıyla  $p=0,97$ ,  $p=0,19$ , 3. gün Grade 1 ve 2 embriyo sayısı; sırasıyla  $p=0,76$ ,  $p=0,27$  ve 1. ve 2. kalite blastosist gelişim oranı; sırasıyla  $p=0,59$ ,  $p=0,76$ ).

#### Sonuç

Rutin uygulamada sperm DNA bütünlüğünü değerlendiren testlerin kullanımı için data yetersiz ve tedavi sonuçlarını belirleyici nitelikte değildir. MACS yöntemi dansite-gradient yöntemi ile kombine edildiğinde sperm DNA fragmentasyon oranını ve DNA fragmentasyonu ile korelasyon gösteren nükleer vakuol içeren sperm oranını azaltmaktadır. Klinik sonuçlara bakıldığında anlamlı bir fark oluşturmamaktadır. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulamalarında spermin doğal seçiliminin söz konusu olmaması nedeniyle MACS tekniğinin ICSI protokollerinde etkin bir eliminasyon yöntemi olmadığı, spermin doğal seçiliminin gerçekleştiği IUI ve IVF uygulamalarında daha etkin olacağı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** ANAHTAR KELİMELER: Sperm DNA Fragmentasyonu, MACS, Dansite Gradient Santrifüjü

P078

**İnsan Sperm Hücrelerinin Küçük Volümler Halinde Bakır Gridler Üzerinde Vitrifikasyonu**Seda Sarıbal<sup>1</sup>, Gökten Kuşpınar<sup>2</sup>, Işıl Kasapoğlu<sup>1</sup>, Gürkan Uncu<sup>1</sup>, Berrin Avcı<sup>2</sup><sup>1</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı ÜYT Merkezi, Bursa.<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

**Amaç:** Bu çalışmada kriyoprotektan kullanılmadan ve kullanılarak vitrifikasyonu gerçekleştirilen sperm hücrelerinin bakır gridlere yüklenerek depolanması sonucunda, bu protokolün sperm motilitesi ve viabilitesi üzerine etkisinin değerlendirilerek, sperm dondurma ve saklama koşullarını optimize etmek amaçlanmıştır.

**GEREÇ VE Yöntemler:** Çalışma kapsamında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Üremeye Yardımcı Tedavi (ÜYT) Merkezi'ne spermiyogram analizi ve ÜYT uygulaması için başvuran 33 hastanın semen örneği çalışmaya dahil edildi. Bu 33 örnek yıkama öncesi ve sonrası, konsantrasyon ve motilite bakımından değerlendirildi. Semen örnekleri iki ana gruba ayrıldı ve Grup 1 yıkandıktan önce değerlendirilen semen örneği ve Grup 2 dansite gradient yöntemi ile yıkandıktan sonra değerlendirilen semen örneği olarak gruplandı. Her iki grup kendi içinde iki alt gruba ayrıldı. Grup 1a; yıkamamış semen örneklerinin kriyoprotektan kullanmadan vitrifikasyonu, Grup 1b; yıkamamış semen örneklerinin kriyoprotektan kullanarak vitrifikasyonu, Grup 2a; yıkamış semen örneklerinin kriyoprotektan kullanmadan vitrifikasyonu ve Grup 2b; yıkamış semen örneklerinin kriyoprotektan kullanarak vitrifikasyonu olacak şekilde oluşturuldu. Dondurulan tüm materyaller taşıyıcı olarak elektron mikroskopik preparasyonda kullanılan bakır gridler üzerine yüklendi. Kriyoprezervasyon sonrası çözülen örneklerin konsantrasyon ve motiliteleri makler kamerası kullanılarak değerlendirildi ve viabiliteleri ise HOS testi kullanılarak belirlendi.

**Bulgular:** Yıkama öncesi ve yıkama sonrası sperm numunelerinin konsantrasyon ve motilitelerinde, istatistiksel açıdan anlamlı bir kayıp görülmedi (sırası ile;  $p=0,87$  ve  $p=0,17$ ). Konsantrasyon ve motilitenin dondurma-çözme sonrası istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gösterdiği (sırası ile;  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,002$  ve  $p=0,002$ ), fakat vitrifikasyon alt grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında; kriyoprotektan kullanımının çözme sonrası konsantrasyon, motilite ve viabilite sonuçlarında anlamlı farklılık oluşturmadığı saptandı (sırası ile  $p=0,23$ ,  $p=0,61$  ve  $p=0,40$ ).

**Sonuç:** Çalışmamızda kullanılan bakır gridlerin de Grangade (2016) tarafından karşılaştırılan kriyoprezervasyon taşıyıcıları gibi düşük hacimde vitrifikasyona olanak sağladığı ortaya konmuştur. Önceki çalışmalarda, düşük hacimde spermlerin saklanmasına olanak sağlayan taşıyıcıların depolanmasının zorluğundan bahsedilmiştir (Endo ve ark., 2011; Gil-Saolm ve ark., 2000; Herrler ve ark., 2006; Isaev ve ark., 2007; Lane ve ark., 1999; Serini ve ark., 2008). Bu çalışmada ise bakır gridlerin taşıyıcı olarak depolanma zorluklarının diğer çalışmaların aksine kolay olduğu gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakır grid, oligoastenoteratospermi (OAT), sperm, vitrifikasyon

**P079**

### **D vitamini hormonu ve infertilite**

Ebru Çelik<sup>1</sup>, Emine Nazlı Hayırlı<sup>2</sup>, Oya Evirgen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Çorum

#### **Amaç:**

Yaklaşık yüz yıl önce raşitizmin önlenmesinde kullanılabilecek esansiyel bir vitamin olarak tanımlanan D vitamini klasik olarak böbrek, bağırsaklar ve paratiroid beze etki ederek vücutta kalsiyum/fosfor homeostazı ve kemik mineralizasyonunu sağlar.

D vitamini eksikliği günümüzde coğrafi bölge, mevsimsel değişimler, kültürel giyim, beslenme ve değişik yaş gruplarında dünya genelinde populasyonun %50'sinden fazlasında görülen yaygın bir halk sağlığı problemidir. Literatürde kemik mineralizasyonuna olumsuz etkileri dışında D vitamini eksikliği kanser, otoimmün hastalıklar, obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve fertilitate bozuklukları ile ilişkilendirilmektedir. D vitamini ve üremeyle ilgili son yıllarda yapılan çalışmaların özetlenmesi amaçlandı.

**Gereç-Yöntem:** D vitamini ve üreme ile ilgili son yıllardaki derleme ve çalışma yayınları incelenerek değerlendirildi.

Deride 7-dehidrokolesterolün güneş ışınlarından gelen ultraviyole B etkisiyle fotolitik dönüşümü ve termal izomerizasyonu sonucu nonenzimatik yolla prohormon olarak sentezlenen kolekalsiferol (vitamin D3) serumda D vitamini bağlayıcı protein (VDBP) ile taşınarak karaciğerde hepatik sitokrom P-450s (CYP2R1) ile 25(OH)kolekalsiferole daha sonra da böbrekte biyoaktif D vitamini hormonu olan 1,25(OH)<sub>2</sub> kolekalsiferole (kalsitriol) dönüşür.

Kalsitriol etkilerini bir transkripsiyon faktörü olan ve steroid hormonlar için nükleer reseptör süper ailesinin bir üyesi olan D vitamini reseptörüne (VDR) bağlanarak gösterir.

Kalsitriol neredeyse vücudun hemen her dokusundaki çok sayıda hücrenin çekirdeğinde ve membranında yerleşimli olan VDR'ler aracılığıyla hem nongenomik hem de genomik yollarla etki gösterir. Nongenomik etkileri protein kinaz aktivasyonu, iyon kanalları aktivasyonu ile hızla oluşurken, genomik etkileri ise nükleer D vitamini reseptörleri aracılığıyla gen ifadenmesinin başlatılması, mRNA üretimi ve protein sentezi ile daha uzun sürede gelişir.

VDR'nin pek çok doku ve organın yanı sıra erkekte testiste, kadında ovaryumda granüloza hücreleri ve oositte, tuba uterina epitel hücrelerinde, endometriyumda ve plasenta dokusunda bulunması son yıllarda D vitamini üremeyle ilgili moleküler mekanizmalarını açıklamaya yönelik yapılan çalışmalarını arttırmıştır.

D vitamini eksikliğinin spermatogenez, folikülogenez, fertilizasyon ve implantasyon süreçlerine olumsuz etkileri sonucunda infertiliteye, implantasyon başarısızlığına ve tekrarlayan düşüklerle neden olduğu, implantasyon sonrası gebelik sürecinde preeklampsi ve fetal gelişim geriliğine yol açtığı literatürde bildirilmiştir.

#### **Bulgular-Sonuç:**

Ülkemizde ve dünyada önemli bir sağlık problemi olan infertilitenin tedavisinde uygulanan yardımcı üreme teknikleri sikluslarının başarısı ile D vitamini düzeyi arasındaki korelasyonu araştıran çalışmaların sayısı son yıllarda artmıştır. Bu çalışmaların sonuçları çelişkili olmakla birlikte D vitamini eksikliği olanlarla kıyaslandığında D vitamini düzeyleri yeterli olan kadınlarda gebelik ve implantasyon oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalarda D vitamini IVF sonuçlarındaki olumlu etkisinin toplanan oosit sayısı, oosit kalitesi, dölleme oranı, embriyo kalitesi, transfer edilen embriyo sayısından ziyade endometriyumda büyüme faktörleri ve sitokinlerin ifadenmesini düzenleyerek reseptiviteyi artırıp implantasyonu kolaylaştırarak oluşturduğu öne sürülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** D vitamini, IVF, infertilite, VDR

**P080**

### **Desellülarize Kalp ve Akciğer Doku İskelelerinin Farklı Yöntemlerle Dondurulması**

Ahmet Öztürk<sup>1</sup>, Kamil Can Kılıç<sup>1</sup>, Gökhan Duruksu<sup>2</sup>, Zehra Seda Halbutoğulları<sup>2</sup>, Yusufhan Yazır<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, Kocaeli

<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kocaeli

**Amaç:** Son yıllarda gelişen doku mühendisliği tabanlı tedaviler, organ ve doku naklinin gerektiği durumlarda önemli tedavi alternatiflerinden biri olmuştur. Dokulardan hücrelerin uzaklaştırılmasına dayanan bir teknik olan desellülarizasyon, doku mühendisliği çalışmaları için yapı iskelesi elde etmenin en yaygın yöntemlerinden birisidir. Yapılan çalışmalarla hücrelerinden arındırılmış doğal yapı iskeleleri olan ekstrasellüler matrikslerin immünojenik olmayan ve dokuya özgü olan ideal yapı iskeleleri olduğuna ilişkin bulgular gittikçe artmaktadır. Yaygın kullanıma rağmen, bu yapı iskelelerinin dondurularak saklanma koşullarını araştıran çalışmalar oldukça azdır. Hem kadavralardan elde edilen organların hem de araştırmalar için deney hayvanlarından elde edilen organların desellülarize edildikten sonra dondurulması ve gerektiğinde kullanılmak üzere çözülmesi için saklanması, doku iskelelerine duyulan ihtiyaç göz önüne alındığında önemli bir basamaktır. Bu çalışmanın amacı, hücrelerinden arındırılmış kalp ve akciğer yapı iskeleleri için uygun ve ekonomik kriyojenik yöntemleri belirlemektir.

**Yöntem-Gereçler:** Bu amaçla, sıçan kalp ve akciğer dokuları 3B yapı iskelesi elde etmek amacıyla Triton X-100 ve SDS deterjanları kullanılarak hücrelerinden arındırıldı. Desellülarizasyon sürecinin doğrulanması için; matrikste DNA kalmadığını göstermek amacıyla PCR yapıldı. Kalp ve akciğer yapı iskeleleri farklı kriyojenik ortamda dondurulmuş ve 15 gün boyunca -152 °C'de saklandı. 15. günün sonunda tüm yapı iskelelere çözülerek matriks bütünlüğü immünofloresan yöntemlerle incelendi. Dondurma öncesi ve sonrası fonksiyonel işlevini değerlendirmek amacıyla desellülarize matriksler mezenkimal kök hücrelerle resellülarize edildi. Kriyojenik koşulların desellülarize matriks üzerinde hücre tutunması ve hücre canlılığına olan etkisi WST-1 analizleri ile incelendi.

**Bulgular:** Çalışmamızda matriks içinde DNA miktarını ölçmek için yapılan PCR analiziyle elde ettiğimiz bulgular matriksten hücrelerin tamamen uzaklaştırıldığını göstermiştir. Farklı dondurma sıvılarının matriks bütünlüğü ve hücre canlılığı üzerindeki etkileri immünofloresan yöntemlerle incelendiğinde matriks bütünlüğünün korunması açısından bazal medium (M) ve serum (S) ile dondurma işlemi ile M, S ve DMSO (D) ile dondurma işlemi arasında ciddi farklılıklar gözlenmezken ve hücre canlılığı analizi yapıldığında hem kalp hem de akciğer için M+S+D ile dondurulan doku iskeleleri çözüldükten sonra resellülarize edildiğinde hücre tutunması ve canlılığını daha iyi desteklediği gösterilmiştir.

**Sonuç:** Çalışmamızda, desellülarize dokuların etkili ve ekonomik bir şekilde dondurularak saklanma koşulları belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Doku Mühendisliği, Desellülarizasyon, Resellülarizasyon, Yapı İskelesi, Kriyoprezervasyon

**P081**

### **Hücrelerinden Arındırılmış Böbrek Dokusunun Saklanması İçin Uygun Yöntem Belirlenmesi**

Ahmet Öztürk<sup>1</sup>, Kamil Can Kılıç<sup>1</sup>, Gökhan Duruksu<sup>2</sup>, Zehra Seda Halbutoğulları<sup>2</sup>, Yusufhan Yazır<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, Kocaeli

<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kocaeli

**Amaç:** Renal hastalıklar, özellikle de böbrek yetmezlikleri, hastalıkların yaşan kalitesini ciddi oranda düşüren bazen de morbidite ile sonuçlanan ve günümüzde çözüm bekleyen önemli hastalıklardandır. Günümüzde organ transplantasyonu böbrek yetmezliği çeken hastalar için en önemli umut kaynağı olsa da hem organ bağışında bir türlü istenilen sayılara ulaşılamaması, hem doku uyumu sorunu hem de organ nakli yapılan hastaların immün baskılayıcı ilaç kullanımının gerekmesi araştırmacıları alternatif tedavi yöntemleri aramaya yönlendirmektedir. Son yıllarda hızlı bir gelişim kaydeden doku mühendisliği çalışmaları tüm bu sorunlara cevap verecek önemli bir potansiyel taşımaktadır. Özellikle organlardan hücrelerin uzaklaştırılmasına ve bu işlem sırasında organ matriksinin doğal yapısının korunmasına dayanan desellülarizasyon teknikleri hastalardan alınan hücreler kullanılarak kişiye özel doku ve organların üretilmesinde gelecek çalışmalarda önemli bir konumda yer alacaktır. Bu çalışmanın amacı, desellülarize edilmiş böbrek ekstrasellüler matiksi için uygun ve ekonomik kriyojenik yöntemleri belirlemektir.

**Yöntem--Gereçler:** Bunun için, sıçan böbrek dokuları 3 boyutlu yapı iskelesi elde etmek amacıyla Triton X-100 ve SDS deterjanları kullanılarak hücrelerinden arındırıldı. Desellülarizasyon etkinliğinin değerlendirilmek ve matrikste DNA kalmadığını göstermek amacıyla PCR yapıldı. Elde edilen böbrek yapı iskeleleri yalnızca bazal medium (M), bazal medium+serum (M+S) ve bazal medium+serum+DMSO (M+S+D) içeren üç farklı kriyojenik ortamında dondurulmuş ve 15 gün boyunca -152 °C'de saklandı. 15. günün sonunda immünofloresan yöntemlerle matriks bütünlüğünü incelemek için tüm yapı iskeleleri çözüldü. Dondurma işleminin desellülarize böbrek matriksinin işlevseliğine olan etkisini değerlendirmek amacıyla yapı iskelerine mezenkimal kök hücreler ekilerek resellülarize edildi. WST-1 analizleri ile dondurma koşullarının hücre canlılığına olan etkisi incelendi.

**Bulgular:** DNA miktarını ölçmek için yapılan PCR analizi etkin bir desellülarizasyon ile matriksten hücrelerin tamamen uzaklaştırıldığını göstermiştir. İmmünofloresan olarak yapılan kollajen 1a1 ve fibronektin boyamaları ile matriks bütünlüğünün korunduğu gözlemlendi. WST-1 ile yapılan hücre canlılığı analizleri ise dondurma sonrası yapılan resellülarizasyonun etkin bir hücre canlılığı ile sonuçlanmadığını göstermiştir.

**Sonuç:** Her ne kadar M+S ile dondurulan doku iskelelerinin diğer deney gruplarına göre daha iyi hücre canlılığı sağladığı gözlemlense de desellülarize böbrek doku iskelelerinin dondurularak saklanması için daha ayrıntılı kriyojenik ortamların araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Doku Mühendisliği, Desellülarizasyon, Resellülarizasyon, Yapı İskelesi, Kriyoprezervasyon

**P082****Akut lenfoblastik lösemi hastalarının (ALL) kemik iliğinden üretilen mezenkimal kök hücreler ile blastların ko-kültüründe hücreler arası iletişimde Tunneling Nanotüp (TNT) oluşumunun rolü**

Seyma Kipel<sup>1</sup>, Tuba Özdemir Sancı<sup>1</sup>, Yasin Köksal<sup>2</sup>, Hilal Nakkaş<sup>1</sup>, Meltem Özgüner<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Hematoloji-Onkoloji Eğitim Araştırma Hastanesi Kök Hücre İşleme Ve Saklama Laboratuvarı, Ankara

**Giriş/Amaç:** Tunneling Nanotüp (TNT), sinyal moleküllerinin salgılanmasından ve komşu hücreler arasındaki boşluk veya sinaptik bağlantılardan sinyal iletilmesinden farklı olan yeni bir tür hücreler arası iletişim mekanizmasıdır. Fonksiyonel özellikleri açısından, TNT sitoplazmik molekülleri bir hücreden diğerine transfer edebilir. Ancak TNT sadece fizyolojik koşullarda hücre-hücre iletişimine değil, aynı zamanda patojenik süreçlere de katkıda bulunur. TNT ile ilgili yapılan çalışmalar, hastalıkların transferinde TNT'nin önemini olduğunu göstermektedir.

ALL hücreleri, kemik iliği mikroçevresinde yer alır ve normal hematopoetik kök hücre nişini bozabilir. Bu bozulmuş niş, lökomogenezin başlamasına ve dolayısıyla lösemik niş oluşumuna neden olur. Ayrıca lösemik niş, lösemik hücrelerin immun yanıtta ve kemoterapötik ajanlardan kaçışına sebep olarak lösemik hücrelerin ilaç direnci geliştirmesini kolaylaştırır. Bu yüzden ALL-lösemik niş iletişiminin bozulması yeni bir terapötik strateji olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nişin en önemli hücrelerinden biri olan mezenkimal kök hücrelerin (MKH), lösemik hücreler ile TNT aracılığıyla etkileşim kurduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ancak MKH ve blast arasında oluşan TNT sinyalini inhibe edebilecek spesifik bir ajan literatürde yer almamaktadır. Yaptığımız bu çalışmanın amacı, ALL hastalarının kemik iliği örneklerinden üretilen MKH ve blastların ko-kültüründe lipofilik boyalarla olası TNT varlığını göstermek ve sonrasında ALL hastalığının tedavisinde kullanılan vinkristinin MKH ve blast arasında TNT oluşumuna etkisini araştırmaktır.

**Gereç/Yöntem:** Ankara Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji-Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kök hücre laboratuvarına tanı amacıyla tedavi öncesi alınan kemik iliği örneklerinden saklanan 5 örnek çalışmaya dahil edildi. Toplanan kemik iliği örneğinden blastlar izole edildi ve ayrıca MKH'ler hücre kültür ortamında üretildi. TNT varlığını göstermek için lipofilik boya olan DİO(3,3'-diocadecyloxycarbocyanine) ve Dil(1,1'-diocadecyl-3,3,3',3'-

tetramethylindocarbocyanine perchlorate) boyaları ile hücreler boyandı. Gruplar: 1) hasta kemik iliğine ait MKH'ler, 2) hasta kemik iliğine ait lösemik blastlar, 3) hasta kemik iliğine ait MKH ve blast ko-kültürü, 4) hasta kemik iliğine ait MKH ve blast ko-kültürü+vinkristin

**Bulgular:** Yapılan çalışmalar sonucu ALL blast hücreleri ve MKHler arasında yapılan ko-kültürde TNT varlığı gösterildi. TNT inhibisyonu için klinikte ALL tedavisinde kullanılan vinkristin ortama eklendi.

Vinkristinin etki mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen iğ şeklindeki mitotik cismin mikrotübüler proteinlerine bağlanarak uygun şekilde polimerize olmalarını engeller ve hücre bölünmesinin metafaz safhasında durmasına neden olur. İlacın etkilerinin hücre iskeleti üzerinden olması sebebiyle TNT oluşumuna bu yapılar üzerinden etki edebileceği öngörüldü.

**Sonuç:** Bu çalışmada TNT oluşumunun, ALL hücreleri ile kemik iliği nişleri arasındaki yeni bir etkileşim düzenleyicisi olabileceği ve lösemi hastalığının tedavisinde kullanılan vinkristininin TNT oluşumu üzerine olası etkileri incelenmiştir. Sonuçlar, TNT inhibisyonunun ALL tedavisinde, kullanılabileceği önermesini desteklemektedir. Bununla birlikte, yolaklar ve mekanizmalar üzerinde ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir ve bu çalışma onlara öncü niteliğindedir.

**Anahtar Kelimeler:** Tunneling Nanotüp (TNT), akut lenfoblastik lösemi (ALL), mezenkimal kök hücre (MKH)

**P083****Plasental Perisit İzolasyonunda Alternatif Bir Yöntem**Selen Polat<sup>1</sup>, Yusufhan Yazır<sup>2</sup>, Gülay Erman<sup>1</sup>, Leyla Kayış<sup>1</sup>, Gökhan Duruksu<sup>2</sup><sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, Kocaeli<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kocaeli

**Amaç:** Bu çalışmada plasentadan saf kültür olarak perisit elde edilmesi, perisitlerin karakterizasyonu ve ilerleyen pasajlarda kök hücre özelliklerini devam ettirebilmesi amaçlanmıştır. Perisitler küçük kan damarlarının çevresindeki perivasküler hücreler olup kapillerlerin etrafında endotel hücreler ile ortak bazal laminayı paylaşırlar. Bu bazal laminadaki endotel ve perisit etkileşimleri damarların yapısını ve anjiyogenezi düzenler. Perisitlerin abluminal endotel duvarını sarmak için uzantıları sayesinde damarların çeşitli uyarılara karşı kasılıp gevşemesi sağlanır. Bu uzantılar aracılığı ile perisitler damar üzerinde hareket edebilme özelliği sergileyebilir. Perisitler, PDGFR $\beta$ , NG2, CD146 ve  $\alpha$ -SMA belirteçlerine sahiptir. Perisitler, mezenkimal kök hücrelerde olduğu gibi osteojenik, kondrojenik ve adipojenik farklılaşma yeteneğine sahiptir. Ayrıca, perisitlerin kan akışı düzenlenmesi, yara iyileşmesi, damar gelişimi ve anjiyogenez gibi görevleri mevcuttur.

**Yöntem-Gereçler:** Perisitler hem mekanik hem de enzimatik yöntem ile insan plasenta dokusundan izole edildi. İnsan plasentasının göbek kordonu etrafındaki küçük damarların yoğun olduğu bölgeden alındı. Alınan doku örnekleri, bıçak yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. Literatürden farklı olarak Kollajenaz D enzimi yerine Kollajenaz/tripsin enzimleri ile doku parçaları 37°C de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda elde edilen doku karışımı, steril 100  $\mu$ m'lik filtreden geçirildi ve hücrelerce zengin kısım bir tüpte toplanmak suretiyle izolasyon gerçekleştirildi. Elde edilen bu karışım, DMEM-F12 besi ortamı ilave edilip santrifüjde çevrilerek bir kez yıkama işlemi gerçekleştirildi. Santrifüj sonucu oluşan hücre peleti %1 antibiyotik ve %10 FBS eklentileri içeren DMEM-F12 besi ortamına ekildi. Bu işlemin ardından üç gün sonra, besi ortamı değişimi yapılırken hücrelerin besi ortamına eritrosit patlatma solüsyonu eklendi. Hücreler pasaj 4'e geldiğinde ve %70-80 konfluensiye ulaştığı zaman akım sitometrisi ve immunohistokimyasal yöntemlerle karakterize edildi.

**Bulgular:** İzolasyondan sonra, üçüncü günde hücreler tabana yapışma özelliği gösterdiler. Elde edilen hücrelerin kültürde perisit morfolojisi gösterdikleri tespit edildi. Hücre heterojenitesinin ilerleyen pasajlarda azaldığı, P4'te ise tamamen saf kültür elde edildiği görüldü. Elde edilen hücreler NG2,  $\alpha$ -SMA, CD146 ve PDGFR $\beta$  antikorlarıyla immunohistokimyasal olarak işaretlendiğinde bu belirteçleri hücre yüzeylerinde taşıdığı görüldü. Elde edilen hücreler aynı zamanda akım sitometrisinde aynı antikorlarla karakterize edildi. P8'e kadar devam ettirilen perisitlerin bu pasajda da IHC ve akım sitometrisinde yapılan karakterizasyonlarının P4'tekilere benzer olduğu görüldü.

**Sonuçlar:** Hem plasentadan kolay ve yüksek verimde perisit elde edilebilecek hem de sekizinci pasaja kadar perisit özelliklerini kaybetmediği alternatif bir yöntem ortaya konuldu.

**Anahtar Kelimeler:** Perisit, Kök Hücre, Plasenta, PDGFR- $\beta$



**P084**

**Kondrosit ve Mezenkimal Kök Hücrelerde Transfeksiyon Oranlarının Karşılaştırılması**

Yasin Özkabadayı<sup>1</sup>, Kadriye Gizem İmraç<sup>2</sup>, Mustafa Türk<sup>2</sup>, Siyami Karahan<sup>1</sup>, Aytül Kürüm<sup>1</sup>, Barış Kürüm<sup>3</sup>, Mahmut Uğurlu<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale

<sup>2</sup>Kırıkkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Kırıkkale

<sup>3</sup>Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Kırıkkale

<sup>4</sup>Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Kıkırdak hasarlarında hücre temelli tedavi yaklaşımlarında kullanılan kıkırdak dokunun yerleşik hücreleri olan kondrositler ile kondrojenik fenotipe diferensiye olabilen mezenkimal kök hücrelerin transfeksiyon oranlarını karşılaştırmaktır.

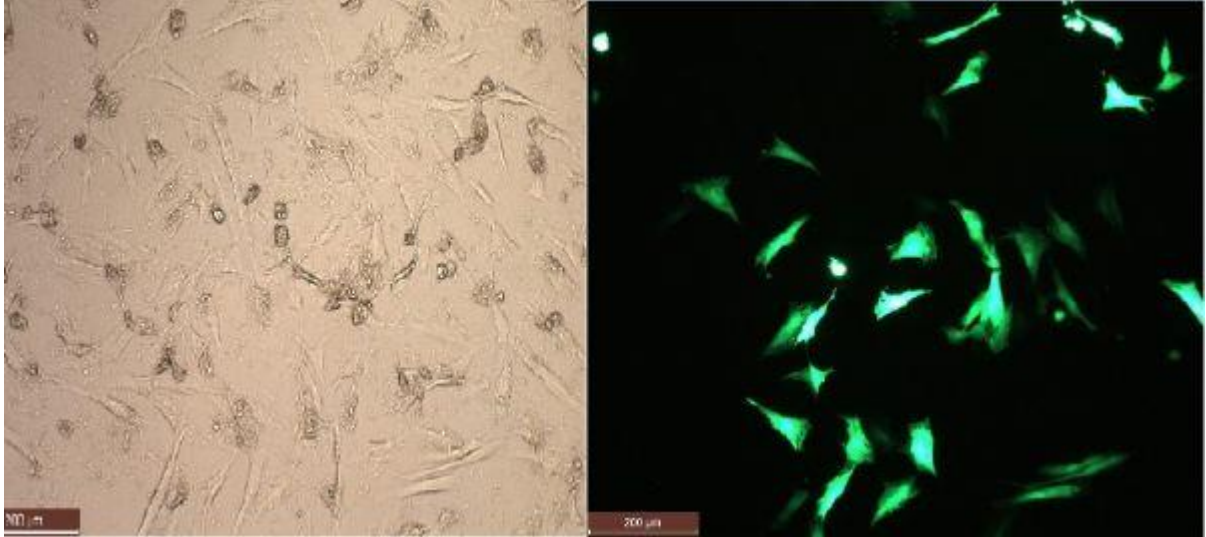
**Gereç ve Yöntemler:** Bu amaçla tavşan femoral eklem kıkırdağından alınan primer kondrositler ve tavşan interscapular adipöz dokudan elde edilen mezenkimal kök hücreler kullanıldı. Transfeksiyon için gerekli %70-90 konfluens sağlanana kadar hücreler kültüre edildi. Hücrelere aktarılmak üzere Green floresan protein (GFP) taşıyan plazmid DNA seçildi. GFP 450-490 nm'lik floresan ışık altında yeşil renk veren proteindir, yaydığı yeşil ışık stabildir ve kullanılan hücre hattının türüne bağlı değildir. Hücrelere GFP taşıyan plazmid DNA'sının transfeksiyonu için Lipofectamin Reagent (İnvitrogen, Ref 18324-012) transfeksiyon çözeltisi kullanıldı. Her iki hücre hattı için de 6'şar örnek üzerinde transfeksiyon uygulandı ve transfeksiyon oranları inverted mikroskopta floresan ışık altında takip edildi.

**Bulgular:** Kondrositlerin transfeksiyon oranı % 40,5 ±7,84 arasında bulunurken, mezenkimal kök hücrelerin transfeksiyon oranı % 45 ±10,41 bulundu.

**Sonuç:** TÜBİTAK 2140314 numaralı proje kapsamında ön veri olarak sunacağımız çalışmamızla ilgili GFP aktarılmış hücrelerde flowsitometri ve sorting çalışmalarımız devam etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** GFP, konfluens, lipofectamin, mezenkimal kök hücre, transfeksiyon

**Kondrositlerin transfeksiyondan sonraki floresan filtrede ve filtresiz inverted mikroskop görüntüsü**



P085

**İnsan Plasental Mezenkimal Kök Hücrelerinin Gebelikteki İmmün Tolerans Mekanizmalarındaki Etkisinin Araştırılması**

Tuba Özdemir Sancı<sup>1</sup>, Cansu Şahin<sup>1</sup>, Şeyma Kipel<sup>1</sup>, Yasin Köksal<sup>2</sup>, Raziye Desticioğlu<sup>3</sup>, Ayşe Filiz Avşar<sup>3</sup>, H. Meltem Özgüner<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Onkoloji Eğitim Araştırma Hastanesi, Kök Hücre İşleme ve Saklama Laboratuvarı, Ankara

<sup>3</sup>Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı, Ankara

**GİRİŞ:** Mezenkimal kök/stromal hücreler (MKH'ler), çoklu terapi ve immünmodulator özellikleri nedeniyle hücre terapilerinde umut verici hücrelerdir. İmmünmodulator özellikleri, onları multipl skleroz (MS) ve graft versus host hastalığı (GVHD) gibi bağışıklık sistemi hastalıklarının tedavisi için oldukça çekici hale getirir. MKH'ler, antijen sunan hücreler (APCler), T hücreleri, B hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücreleri de dahil olmak üzere, alloantijen tanıma ve eliminasyonunda yer alan önemli hücrelerin bağışıklık fonksiyonlarını modüle eder. Kemik iliği, MKH'lerin ana kaynağını temsil etse de, plasental MKH'ler (pMKH) invaziv bir işleme gerek duyulmadan kolaylıkla elde edilebilecek kök hücre kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır. Gebelik süresince immün toleransa kaynaklık eden plasentada ki pMKH'lerin immüntolerans mekanizmalarındaki rolü henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. pMKH'lerin T lenfositler üzerine immün-modulator özellikleri olduğu ve hücre tedavilerde kullanılabilirliklerine dair yayınlar mevcuttur. Bu çalışmada pMKH'lerin farklı kaynaklardan elde edilen T lenfositler üzerine etkileri incelenmiş ve pMKH'lerin T lenfositler aracılığıyla immüntolerans mekanizmalarında etkisi olup olmadığını araştırılmıştır.

**GEREÇ ve Yöntemler:** Çalışmamız için, normal gebelik süresini tamamlamış kadınların (n=5) sezeryan sonrası plasentaları toplanmıştır. Plasentalardan mekanik ve enzimatik parçalama yöntemleriyle pMKH'ler izole edilmiştir. Öte yandan kordon kanından ve periferik kandan mononükleer hücreler izole edilerek, T lenfositler fitohemaglutinin (PHA) ile 72 saat kültüre edilerek aktive edilmiştir. İn vitro kokültür sistemleri oluşturularak pMKH'lerle aktive T lenfositler kontakt olacak şekilde kültüre edilmişlerdir. 12 kuyucuklu kültür kaplarında %50-60 konfluent hale gelen pMKH'ler üzerine I) Annenin periferik kanından izole edilen aktive T lenfositler, II) kordon kanından izole edilen aktive T lenfositler ve III) ilişkili olmayan sağlıklı bireyden izole edilen aktive T lenfositler eklenerek 96 saat birlikte kültüre edilmişlerdir. Aktivasyon öncesi ve sonrası, kokültür sonrası T lenfositler aktivasyon belirteçleri (CD3, CD4, CD25, CD69, HLA-DR) açısından flow sitometri ile değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Kokültür sonrası pMKH'lerin özellikle bebeğe ait kordon kanında ve anneye ait periferik kanda immünsüpresör fonksiyonu olduğu bilinen CD4+/CD25+ T hücre popülasyonunu artırdığı saptandı. Ayrıca T hücre aktivasyonunda kostimulatör molekül olarak görev yapan CD3+/CD69+ T hücrelerin oranının özellikle anne kanında belirgin oranda azaldığı görüldü.

**Sonuç:** pMKH'lerin immün baskılayıcı özellik göstererek T hücrelerin aktivasyonunu etkilediği belirlenmiş olup, gebelik boyunca ve doğum sırasında immün toleransta rol aldığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** plasental mezenkimal kök hücreler, T lenfosit, immüntolerans

P086

**Deselülarize Kalp Matriksinin Mezenkimal Kök Hücrelerin Kardiyomiyojenik Farklılaşma Potansiyeli Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi**Kamil Can Kılıç<sup>1</sup>, Yusufhan Yazır<sup>2</sup>, Ahmet Öztürk<sup>1</sup>, Gökhan Duruksu<sup>2</sup>, Gülçin Gacar<sup>2</sup><sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, Kocaeli<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kocaeli

**Amaç:** Kardiyovasküler hastalıklar dünya çapında morbidite ve mortalite oranının en yüksek olduğu hastalıklardır. Günümüzde uygulanan geleneksel farmakolojik tedaviler ve allojenik kalp, kalp kapakçığı ve arter transplantasyonu gibi cerrahi girişimler akut ve kronik kardiyovasküler hastalıklar için başlıca tedavi seçenekleridir. Ancak donör kısıtlılığı ve yüksek tedavi masrafları nedeniyle, kök hücre ve doku mühendisliği tabanlı tedaviler cerrahi girişimlere alternatif olarak araştırılmaktadır. Doku mühendisliği teknikleriyle akut iskemik miyokard hasarı ve kronik miyokard yetmezliği gibi hastalıklar için tedavi geliştirmek üzere çalışılmaktadır. Doku mühendisliği çalışmalarında temel hedef fizyolojik hasarı giderecek ya da onaracak kök hücreler ile mekanik ve biyokimyasal destek sağlayacak yapı iskelelerini bir araya getirmektir. Son yıllarda rejeneratif tıpta kullanılmaya başlanan doku mühendisliği tekniklerinden biri olan deselülarizasyon tekniği ile organlar hücrelerinden arındırılarak doğal yapı iskeleleri elde edilmektedir. Bu yöntemle elde edilen doğal doku iskeleleriyle donör kısıtlılığına çözüm bulunmaya çalışılmaktadır. İmmün yanıtı neden olmayan ve dokuya özel deselülarize doğal yapı iskelelerinin sahip oldukları rejenerasyon potansiyeline ilişkin bilgiler henüz oldukça azdır. Bu çalışmanın amacı 3 boyutlu deselülarize kalp matriksinin mezenkimal kök hücrelerin kardiyomiyojenik farklılaşmasına olan etkilerini araştırmaktır.

**Yöntem-Gereçler:** Deselülarize yapı iskelesi elde etmek için sıçan kalp dokusu Tritonx-100 ve SDS deterjan uygulamalarıyla hücrelerinden arındırılmıştır. Deselülarizasyon etkinliği belirlemek amacıyla matriksteki DNA içeriği PCR ile tespit edilmiştir. Deselülarize kalp matriksinin bütünlüğü hematoksilen&eosin boyamasıyla histolojik olarak ve anti-fibronektin, anti-kollajen1A1 antikorları ile immünfloresan olarak gözlemlenmiştir. Deselülarize kalp matriksine sıçan kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücreler ekilerek reselülarizasyon yapılmıştır. Reselülarizasyon ile matrikse ekilen hücrelerin canlılığı WST-1 analiziyle belirlenmiştir. 3B deselülarize kalp matriksinde ve 2 boyutlu kültür kabında kimyasal uyarılarla kardiyomiyojenik farklılaştırma gerçekleştirilmiştir. Deselülarize matriks kaynaklı kardiyomiyojenik farklılaştırma 2B kültür kabında yapılan farklılaştırma ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Farklılaşma sürecinde hücrelerde meydana gelen değişimler protein düzeyinde immün floresan boyamalarla, gen düzeyinde ise kardiyomiyositlere özgü cTN3-I, TBX, GATA-4 ve Nkx2.5 primerleri kullanılarak RT-PCR ile ortaya koyulmuştur.

**Bulgular:** Çalışmamızda matriksteki DNA içeriğini tespit etmek amacıyla yapılan PCR analizi ile hücrelerin dokulardan tamamen uzaklaştırıldığını ortaya koymuştur. 3B ekstraselüler matriks ve 2B kültür kabında yapılan farklılaştırma verimi immünfloresan boyamalarda ve RT-PCR analizi ile incelendiğinde, 3B ekstraselüler matriksin daha etkin bir farklılaştırmayı tetiklemiştir.

**Sonuç:** Çalışmamızda, mezenkimal kök hücrelerin kalp rejenerasyon ve onarım potansiyellerine dair moleküler ve histolojik bilgiler elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Deselülarizasyon, Kalp, Ekstraselüler Matriks, Reselülarizasyon, Doku Mühendisliği

**P087**

**Zoledronik Asit Uygulamasının Meme Kanseri Hücre Hattı (MCF 7) Kanseri Kök Hücrelerinin Üzerine Otofaji Gen Seviyesindeki Etkilerinin Araştırılması**

Fatih Oltulu<sup>1</sup>, Ayşegül Uysal<sup>1</sup>, Hadi Rouhrazi<sup>2</sup>, Kubilay Doğan Kılıç<sup>1</sup>, Duygu Çalık Kocatürk<sup>1</sup>, Gülperi Öktem<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Giriş:** Kanseri kök hücreleri (KKH), tümör rezistansı, metastaz, anjiogenez ve ilaç direncinden sorumlu olduğu düşünülen hücrelerdir. Zoledronik asit (ZA), üçüncü jenerasyon bir bifosfanat olup çeşitli solid tümörler ve akciğer kanserinin kemik metastazının tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan son çalışmalar ile otofajinin kök hücre sağkalımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

**Amaçlar:** Kanseri kök hücrelerinin, zoledronik asit uygulanması sonrasında RNA düzeyindeki değişimlerinin tespit edilmesi ve bu bilgilerle tedavi direncine sebep olan ve muhtemel tedavi hedefi olabilecek olan genleri seçebilmektir.

**Çalışma Dizayını:** Bu çalışmada meme kanseri kök hücreleri model alınarak ZA uygulanmış kanseri kök hücrelerinin otofaji ile ilişkili genlerinin ekspresyon değişimleri incelenmiştir.

**Metotlar:** CD44yüksek/CD24yüksek yüzey markerları pozitif olan MCF-7 meme kanseri hücre hattından KKH'ler flow sitometri metodu izole edilmiştir. ZA tedavisi uygulanmış ve uygulanmamış olan KKH gruplarının total RNA izolasyonu için cDNA sentezlenmiştir. Son olarak 41 adet otofaji için başlıca ilişkili olabilecek genlerin ekspresyon seviyeleri qRT-PCR array analizi ile incelenmiştir.

**Sonuçlar:** ZA tedavisi uygulanan grup tedavi uygulanmayan grup ile karşılaştırıldığında TGM2, TNF, HSPA8 genlerinin upregüle olduğu ve HSP90AA1 geninin downregüle olduğu görülmüştür.

**Tartıma:** Otofaji ile ilişkili genlerin ekspresyon profillerinde ZA tedavisi uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında anlamlı farklar bulunmuştur. Bu bulgular, KKH'lerine karşı hedef olabilecek daha etkili tedavi ajanları geliştirilebilmesi için önemli katkılar sağlayabilir.

**Kısaltmalar:** Zoledronik Asit: ZA, Kanseri Kök Hücre: KKH, Embriyonik Kök Hücre: EKH, Isı Şok Proteini: HSP

**Anahtar Kelimeler:** Isı Şok Proteini, Kanseri Kök Hücre, Otofaji, Tümör Nekrozis Faktör, Zoledronik Asit

P088

**Ribozom Biyogenezi CD44+/CD24- Meme Kanseri Kök Hücrelerinde Flavopiridolün Antitümör Etkinliğine Aracılık Eder**Ayşe Erol<sup>1</sup>, Eda Açıkgöz<sup>2</sup>, Ümmü Güven<sup>3</sup>, Fahriye Düzağaç<sup>3</sup>, Ayten Türkkani<sup>4</sup>, Neşe Çölçimen<sup>5</sup>, Gülperi Öktem<sup>6</sup><sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 35100, İzmir, Türkiye<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, 35100, İzmir, Türkiye; <sup>3</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, 65000, Van, Türkiye<sup>3</sup>Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Ana Bilim Dalı, 35100, İzmir, Türkiye<sup>4</sup>TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, 06560, Ankara, Türkiye<sup>5</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, 65000, Van, Türkiye<sup>6</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, 35100, İzmir, Türkiye

**Amaç:** Kanseri morfoloji, fenotip ve fonksiyonel açıdan heterojen hücrelerin alt populasyonlarından oluşmaktadır. Heterojen populasyon içinde yüksek derecede tümör oluşturma yeteneği, kendini yenileme ve farklılaşma özelliklerine sahip olan küçük alt populasyon kanser kök hücreleri (KKH) olarak ifade edilmektedir. Kanseri tedavisi ile ilgili yapılan çalışmalar KKH'lerin kemoterapi, radyoterapi ve moleküler hedefleme terapisi dahil standart tedavilere dirençli olduğunu göstermektedir. Yeni tedavi yöntemlerindeki temel amaç KKH'leri hedefleyip ortadan kaldırmaktır. Son on yıllarda kanseri hedefli tedaviler için geliştirilen birçok yeni ilaç arasında, sikline bağımlı kinaz (CDK) inhibitörleri, çeşitli kanserlerin hedeflenmesinde benzersiz avantajlar göstermiştir. Çalışılan en iyi bileşiklerden biri olan flavopiridol, klinik çalışmalarda faz I / II değerlendirmesinin yapıldığı ilk CDK inhibitörüdür. Flavopiridol, hücre döngü aresti, apoptoz indüksiyonu ve transkripsiyonel düzenlemenin modülasyonu dahil olmak üzere birçok mekanizma yoluyla güçlü antitümör aktivitesi göstermektedir. Bu çalışmanın amacı, flavopiridolün CD44+/CD24- insan meme kanseri kök hücrelerindeki (MCKH) etkisini belirlemesidir.

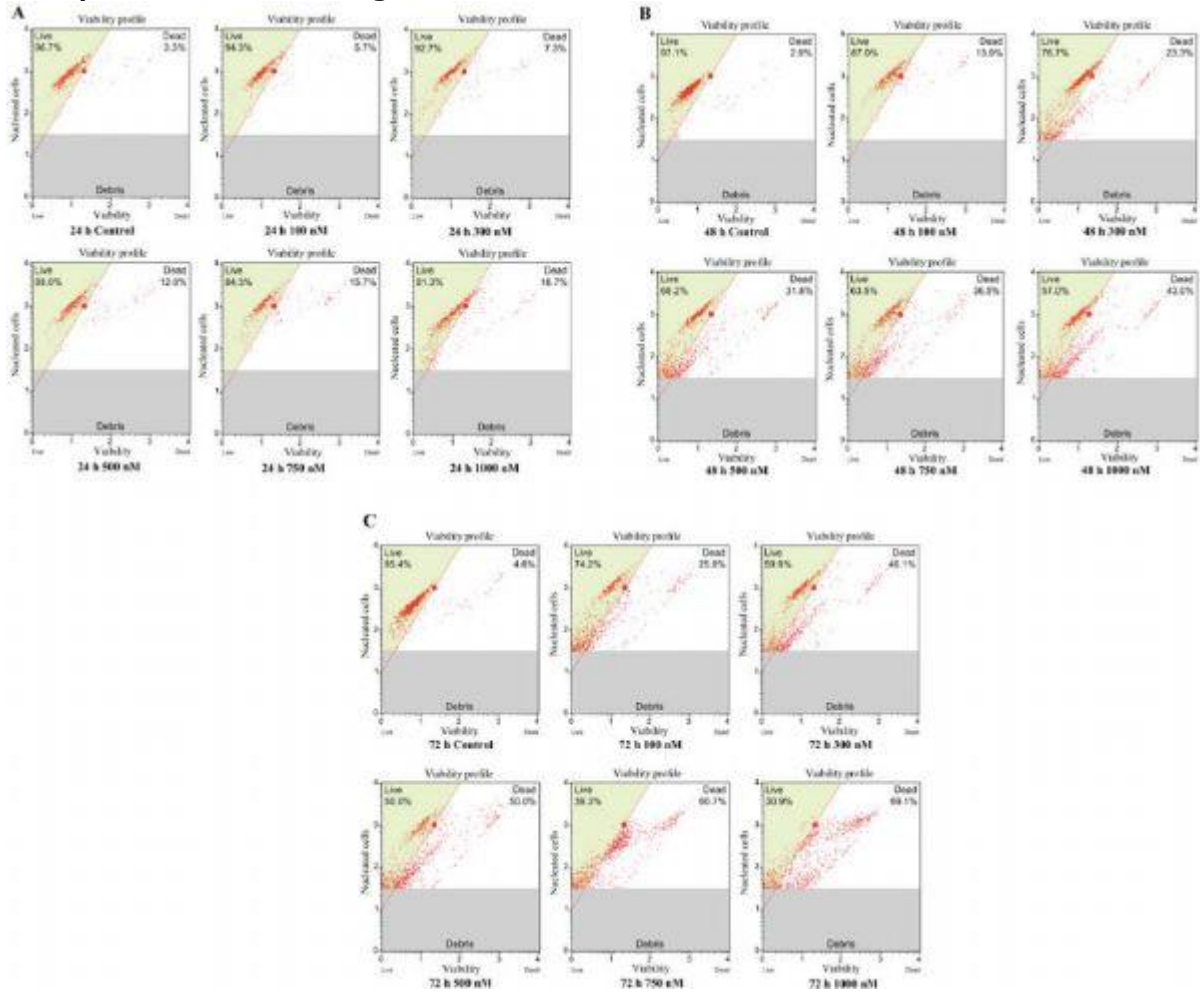
**Gereç ve Yöntemler:** MCKH'leri FACS-Aria akımsitometri cihazı kullanılarak izole edilmiştir. İzole edilen hücreler flavopiridolün değişik konsantrasyonları (100, 300, 500, 750 ve 1000 nM) ile 24, 48 ve 72 saat inkübe edilmiştir. Flavopiridolün hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi hücre canlılığı ve proliferasyon analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Apoptoz indüksiyonu Annexin-V assay ile incelenmiştir. Flavopiridolün hücre döngüsü üzerindeki etkisi IC50 dozuna bağlı olarak değerlendirilmiştir. Gen ekspresyon profili "Human HT-12 v4.0 Expression BeadChip" Kit ile mikroarray kullanılarak analiz edilmiştir. Yumuşak agar koloni oluşturma deneyleri ile ilacın etkisi üç boyutlu kültürde incelenmiştir.

**Bulgular:** Deney sonuçlarımız, flavopiridolün IC50 dozunun 500 nM olduğu göstermiştir. Flavopiridolün IC50 dozunun MCKH'lerinde hücre ölümü ve apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Mikroarray analizleri flavopiridol uygulanan ve uygulanmayan hücreler arasında çeşitli genlerde anlamlı farklılıkların olduğunu göstermiştir. Mikroarray sonuçlarından 65 genin önemli ölçüde flavopiridol uygulanmasından etkilendiğini; 57 gen ifadesinin azaldığı ve 8 gen ifadesinin artmış olduğunu tespit edilmiştir. WikiPathway veri tabanında yapılan taramalarda, özellikle ribozom biyogenez yolağı, translasyon, oksidatif fosforilasyon, elektron transport zinciri, karbon metabolizması ve hücre döngüsü ile ilgili genlerde önemli değişimlerin olduğunu tespit edilmiştir. Flavopiridolün özellikle ribozom ile ilişkili gen ifadelerini önemli ölçüde etkilediği sonucuna varılmıştır. Yumuşak agar koloni oluşturma çalışmaları, flavopiridolün MCKH'lerinin sferoid oluşturma yeteneğini azalttığını göstermektedir.

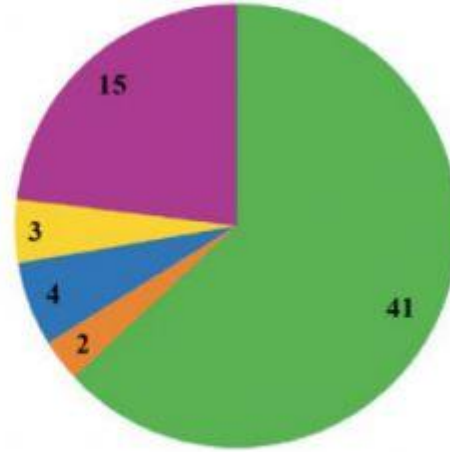
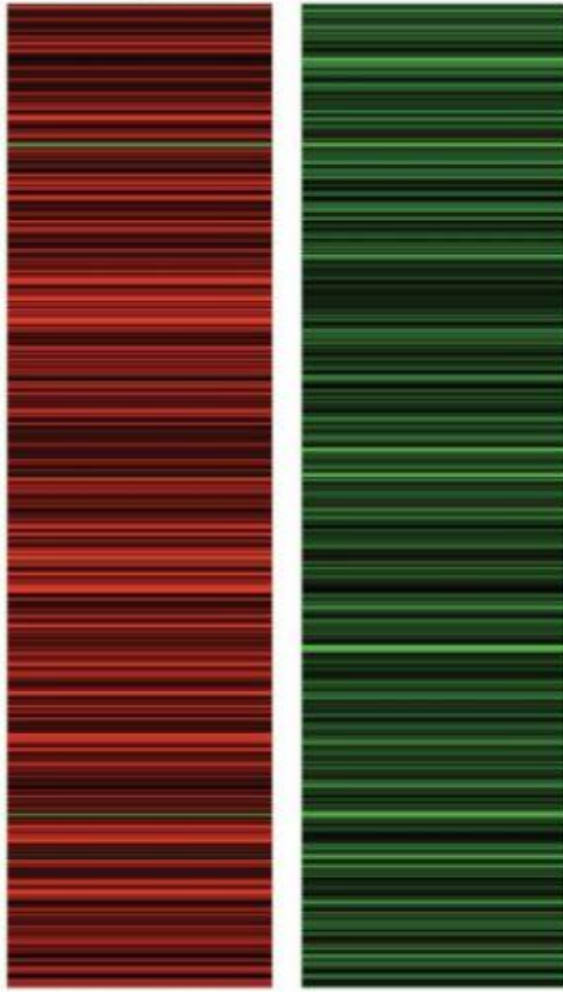
**Sonuç:** Çalışmanın verileri, flavopiridolün, esas olarak translasyonu ve ribozom biyogenez yolunu inhibe ederek farklı mekanizmalar yoluyla CD44 +/CD24- MCKH'lere karşı antitümör aktivite sergilediğini göstermektedir. Bu veriler, flavopiridolün MCKH'lerini hedefleyip öldürmek için etkili bir terapötik molekül olabileceğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Flavopiridol, Meme kanseri kök hücre, Mikroarray, Ribozom biyogenezi

### Flavopiridolün hücre canlılığı üzerine etkisi

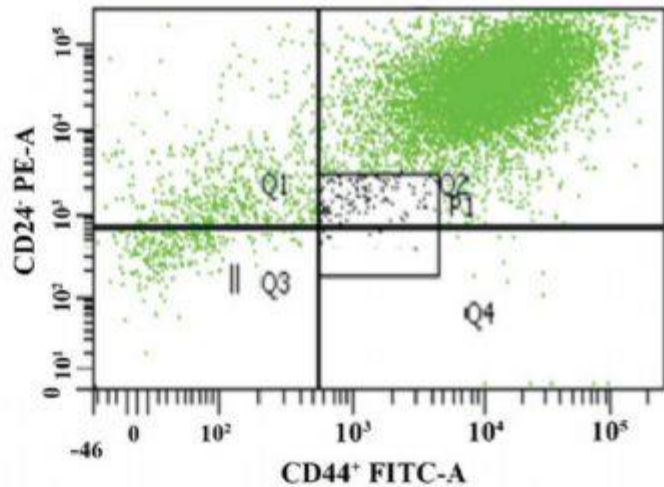
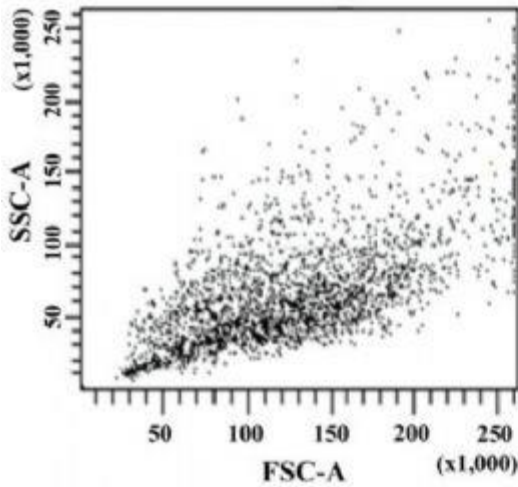


### Kümeleme analizi



- Traslasyon yolağı ve ribozom biyosentez yolağı
- Oksidatif fosforilasyon yolağı ve elektron transport zinciri
- Karbon metabolizması
- İmmunité
- Diğer yolaklar

Meme kanser kök hücre izolasyonu. Meme kanser hücre hattından izole edilen CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup> hücrelerin dağılımını gösteren akış sitometrisi.



**P089****Granüler Korneal Distrofinin Histolojik Olarak Değerlendirilmesi**

İsmail Seçkin<sup>1</sup>, Osman Şevki Arslan<sup>2</sup>, Başak Işıldar<sup>1</sup>, Cezmi Doğan<sup>2</sup>, Gülşah Tezcan<sup>2</sup>, Ümit Yaşar Güleser<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

**GİRİŞ**

Granüler korneal distrofi, insan transforme edici büyüme faktörü  $\beta$  1'e bağlı (TGF $\beta$ 1) gen mutasyonlarının neden olduğu otozomal dominant, bilateral, stromal korneal bir hastalıktır. Histopatolojik olarak merkezi ve periferik korneayı etkiler ve stromanın tüm katmanlarında eozinofilik materyal (hiyalin) birikintisi saptanır. Başlangıçta birikintiler anterior stromaya girer. Hastalık ilerledikçe, korneanın derin katmanları da etkilenmektedir. Birikintiler arasındaki kornea stroması berraktır 1.

**AMAÇ**

Bu çalışmada granüler distrofisi olan 3 hastanın kornealarının ışık mikroskopik olarak değerlendirilmesi amaçlandı.

**GEREÇ-YÖNTEM**

Işık mikroskopik değerlendirme için, korneaların bir parçası fiksasyon ve dehidrasyon adımlarından sonra parafine gömülerek bloklandı. Parafin bloklar 5  $\mu$  olacak şekilde kesildi ve hematoksilin ve eozin (H&E) ile boyandı. Kesitler ışık mikroskopik (Olympus: BX6) olarak analiz edildi ve fotoğraflandı. Yarı-kantitatif skorlama ile hiyalin birikimi, epitelyal hasar, inflamasyon ve ödem değerlendirildi.

**BULGULAR**

Işık mikroskopik incelemenin sonucunda her 3 olguda da, substantia propria korneada (SPK) farklı miktarlarda ve lokalizasyonda hiyalin birikintileri gözlemlendi. Bu birikintiler 2. olguda epitel altı bölgelerde daha yoğun olarak gözlenirken, 1. ve 3. olgularda stromanın derin kısımlarında göze çarpmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Granüler Korneal Distrofi, Histopatoloji, Kornea

**Tablo 1: Olgulara ait yarı-kantitatif histopatolojik değerlendirme**

	Hiyalin Birikintileri	Epitelyal Hasar	İnflamasyon	Birikinti Yoğunluğu	Ödem
1. Olgu	+4	+3	+2	+4	-
2. Olgu	+2	+3	-	+3	+2
3. Olgu	+2	+2	+1	+2	+2



P090

### Korelatif Mikroskopi ile Ekzozomların Görüntülenmesi

Seyda Demir, Alper Hüsnu Bağrıyanık

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

**Giriş:** Korelatif mikroskop floresan ile işaretli molekülleri görüntüleme özgünlüğüne sahip Floresan Mikroskop (FM) ile benzersiz yüksek çözünürlüğe sahip Elektron Mikroskobu (EM) nun birleştirilmesi ile oluşan bir sistemdir. Kısaca CLEM (Correlative Light- and Electron Microscopy) adı verilen sistem, biyolojik örneklerin yapı ve işlevini bir arada ve en yüksek çözünürlükte incelenmesini sağlar.

Korelatif mikroskobu sisteminin geliştirilmesi ile, yapı ve işlevin kanıtı olan protein ve/veya miRNA gibi moleküllerin, veziküllerin içinde veya üzerinde, yüksek çözünürlükte gösterilmesi mümkün olmuştur. Ancak halen bu sistemin metodolojik olarak geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Çünkü FM ile EM için örnek hazırlama işlemleri birbiri ile uyumlu olmadığı için özellikle örneğin hazırlanma süreci ile ilgili ciddi zorluklar barındırır. Günümüzde yapılmakta olan çalışmalarda da Korelatif Mikroskobide görüntüleme için protokol geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

Ekzozomlar çift lipid tabakalı membran ile çevrili 30-150 nm çapında veziküllerdir. Eritrositler, lenfositler, dendritik hücreler ayrıca kanser hücreleri gibi birçok farklı hücre tipinden salınırlar. Tükürük, plazma, idrar, amniyotik sıvı, bronşiyal lavaj sıvısı, sinovyal sıvı, anne sütü gibi vücut sıvılarında bulunur ve bu sıvılardan izole edilebilirler.

Hücreler arası haberleşmede yeni bir mekanizma olarak tarif edilen, yüksek biyobelirteç potansiyelleri nedeniyle özellikle hastalıkların tanısında ve yüklenebilir oldukları için tedavisinde kullanılabileceğine dair bir çok kanıt olan ekzozomların bilinmeyenleri de bir hayli fazladır. Bu nedenle, ekzozomların yüksek çözünürlükte işaretlenerek görüntülenmesi, morfolojilerini ve fonksiyonlarını anlamak için oldukça önemli bir yöntemdir. Bu şekilde görüntüleyebilmek indirekt yöntemlerin aksine varlıkları, lokasyonları ve davranışları için kesin bir kanıttır.

**Amaç:** Bu çalışmada, ekzozomlar kültür ortamındaki hücrelerden izole edilerek korelatif mikroskopi yöntemi ile gösterilecektir. Şu anki literatür bilgimize göre daha önce ekzozomlar bu method ile gösterilmemiştir.

**Yöntem-Gereçler:** Hücre kültüründen izole ettiğimiz nano-boyutta veziküller olan ekzozomları, yüzey belirteci olan CD63 proteinini floresan konjuge antikorlar ile işaretleyerek konfokal mikroskopta görüntülenip, görüntülenen alanın koordinasyonları özel bir tututucu sayesinde Zeiss Black programı kullanılarak kaydedildikten sonra aynı örnek tututucuda ki pozisyonu hiç değiştirilmeden, elektron mikroskobik görüntüleme için hazırlanarak görüntülenir. Daha sonra konfokalde işaretlenen alan bilgileri, ultra-detaylı elektron mikroskop görüntüsü üzerine, kaydedilen koordinasyonlar kullanılarak ve iki görüntü arasında spesifik noktalar belirlenerek, bire bir Zeiss Shuttle&Find programı ile yerleştirilir.

**Bulgular:** Ekzozomlar yüzey belirteci olan CD63 proteininden floresan konjuge antikorlar ile işaretlenerek Konfokal-SEM ve Konfokal-TEM kombinasyonundan oluşan Korelatif Mikroskopi yöntemi ile görüntülenmiştir. Elde edilen görüntüler poster sunumunda paylaşılacaktır.

**Sonuçlar:** Bu çalışma ile, hücrelerden izole edilen ekzozomlar ilk defa Korelatif Mikroskopi yöntemi ile görüntülenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Korelatif Mikroskopi, Ekzozom, Elektron Mikroskop, Konfokal Mikroskop

**P091****Periferik Sinir Çalışmalarında Işık ve Elektron Mikroskopik İncelemeler Sırasında Histopatolojik Bulguları Taklit Eden Artefaktlar (Görüntübozanlar)**Oya Evirgen<sup>1</sup>, E. Nazlı Hayırlı<sup>2</sup>, Ebru Çelik<sup>1</sup><sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara<sup>2</sup>Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Çorum**Amaç**

Periferik sinirler, hem doku örneklerinin alımı (1, 2) hem de sonrasındaki histolojik tespit (3, 4) ve takip süreçleri boyunca hasarlanmaya oldukça açıktır. Bu durum histopatolojik bulguları taklit eden ve yanlış yorumlamalara yol açabilecek yapay hasarlanma bulguları olan artefaktlara yol açmaktadır. Artefakt kelimesi mikroskopik, radyolojik ve ultrasonografik incelemelerde, insan eliyle oluşturulmuş, yapay yapı veya görünümü genel olarak isimlendirmek için kullanılan bir terimdir. Türk Dil Kurumu Tıp Terimleri Kılavuzundaki açıklaması olan "görüntübozan" sözcüğü artefakt teriminin anlamını tek kelimeyle özetlemektedir. Görüntübozanlar, periferik sinir örneklerinin alınışından başlayarak tespit için kullanılan çözeltilerin fiziksel özellikleri, tespit işleminin süresi, takip, bloklama, trimleme, kesit alımı ve boyanma süreçlerinde oluşabilecek uygun olmayan uygulamaların herhangi birinden kaynaklanabilir.

**Gereç ve Yöntemler**

Bu çalışmada, sıçanlarda yaptığımız farklı ilioinguinal ve siyatik sinir deneyleri esnasında çıkarılan kontrol (n:10) ve deney (n:40) gruplarına ait doku örnekleri kullanıldı. Dokular 0,1 M fosfat tamponlu %2,5 gluteraldehit ile immersiyon tespit sonrası % 1'lik OsO<sub>4</sub>'te ikinci tespite alındı ve rutin elektron mikroskopik takibin ardından araldit bloklara gömüldü. Toluidin mavisi-Azur II ile boyalı yarı ince kesitler (400-800nm) Leica DM500/ICC50HD ışık mikroskobuyla, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyalı ince kesitler ise LEO 906 E transmisyon elektron mikroskobu (Carl Zeiss, Germany) ile incelendi. Periferik sinirlerden elde edilen fotoğraflar artefaktlar (görüntübozanlar) açısından gözden geçirilerek değerlendirildi.

**Bulgular**

İncelediğimiz yarı ince ve ince kesitlerde siyatik sinir örneklerinin alımı ve takibi esnasında penset kullanımı nedeniyle oluştuğu düşünülen ezilmeye bağlı olarak perinöriumun parçalandığı ve endonöral içeriğin fıtıklaştığı görüldü. Tespit solüsyonunun hiperozmolaritesine bağlı büzüşmüş kresentik (yarım ay/hilal) şekilli fasiküler yapılar ve gene büzüşmeye bağlı miyelini sinir liflerinde yuvarlak görünüm kaybı ile azalmış aksonal alan izlendi. Optimum olmayan dehidratasyona bağlı miyelini kılıf içi (intramiyelini) fokal (odaksal) boşluklar, miyelini tabakalarında ayrılma, osmiyum penetrasyonundaki yetersizlik nedeniyle miyelini tabakalarında soluk boyanma ve vakuolizasyon görüldü. Elektron mikroskobu incelemesi sırasında da gömme materyali olan aralditin parçalanmasına ait değişiklikler gözlemlendi.

**Sonuç**

Sonuç olarak; örnek alınışı, tespit ve takip süreçlerinde hasarlanmaya oldukça açık olan periferik sinirlerle yapılan çalışmalarda incelemeye hazırlık süreçlerinde yapay olarak gelişebilecek artefaktlara aşına olmak histomorfometrik ve histopatolojik bulguların daha doğru değerlendirilmesinde oldukça önemlidir.

1.Y. Collan,J. Ylikoski,T. Palva & R.Selamaa,Artifacts in Eighth Cranial Nerve Biopsy,Acta Oto-Laryngologica(1980),89:1-2,71-75

2.Joachim Weis,Sebastian Brandner,Martin Lammens,Claudia Sommer and Jean-Michel Vallat,Processing of nerve biopsies:A practical guide for neuropathologists,Clinical Neuropathology,Vol.31-No.1/2012(7-23)

3.Rahul Kasukurthi,Michael J. Brenner,Amy M. Moore,Arash Moradzadeh,Wilson Z. Ray,Katherine B.Santosa,Susan E.Mackinnon,Daniel A.Hunter,Transcardial perfusion versus immersion fixation for assessment of peripheral nerve regeneration,Journal of Neuroscience Methods 184(2009) 303-309

4.Bilbao J.M.,Schmidt R.E.(2015) Examination of the Peripheral Nerve Biopsy.In:Biopsy Diagnosis of Peripheral Neuropathy

**Anahtar Kelimeler:** Periferik sinir, ışık mikroskopi, elektron mikroskopi, artefakt, görüntübozan

P092

**Radyosensitivitenin Glioblastoma multiforme ve Astrositik Hücre Hatlarının Hücre Sinyalizasyonlarına Etkisi**Duygu Çalık Kocatürk<sup>1</sup>, Berrin Özdil<sup>2</sup>, Yasemin Adalı<sup>1</sup>, Sinan Hoca<sup>3</sup>, Emine Serra Kamer<sup>3</sup>, Gülperi Öktem<sup>1</sup>, Çevik Gürel<sup>4</sup>, Ayşegül Uysal<sup>1</sup>, Hüseyin Aktuğ<sup>1</sup><sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Isparta<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, İzmir<sup>4</sup>Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa

**Giriş:** Glioblastoma multiforme (GBM), düşük sağkalım oranları olan, sıklıkla erişkinlerde görülen agresif ve en çok görülen primer malign beyin tümörüdür. Radyoterapi birincil tedavide, hem de cerrahi ve kemoterapiye adjuvanı olarak yaşamsal öneme sahip bir tedavi yöntemidir.

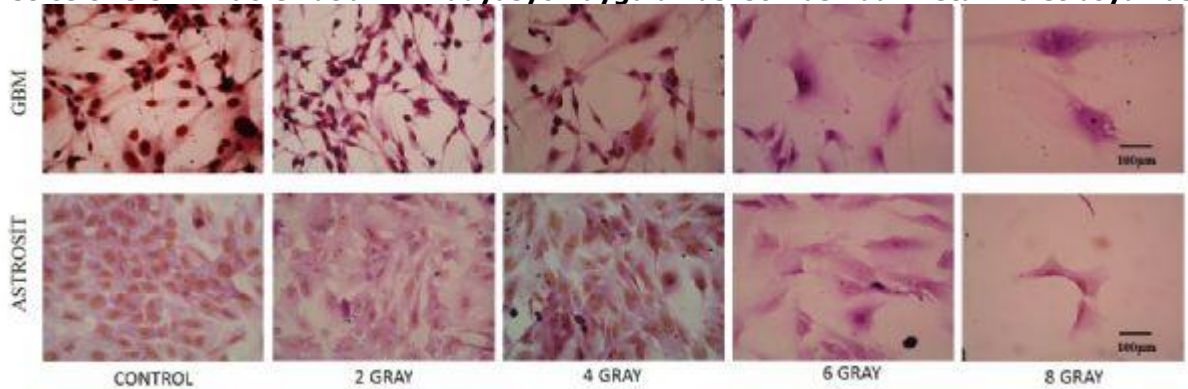
**Amaç:** Bu çalışmada GBM ve astrosit hücre hatlarının radyasyon duyarlılığını inflamasyon, sağkalım, apoptoz ve kök hücre benzeri karakterizasyonunun değişimleri ile belirlemeyi amaçladık.

**Yöntem:** GBM ve astrosit hücreleri, kademeli olarak artan iyonize radyasyona uğratılmış ve ardından klonojenik testler yapılmıştır. Etkili radyasyon dozu için 2 gray hesaplanmıştır. Tüm kontrol ve radyasyon uygulanan gruplar için, MIF, NFATc2, OPN, mTOR, SSEA-1, p53 protein ekspresyonları ve hücre döngüsü analizi gerçekleştirilmiştir.

**Bulgular:** 1. günde astrositik hücreler için MIF, OPN ve mTOR ekspresyonunda azalma ve test grubunda SSEA-1 ekspresyonunda artış gözlenmiştir. GBM hücreleri, NFATc2'nin ekspresyonunu arttırırken, p53 ve mTOR'un ekspresyonunda azalma göstermiştir. MIF ifadenmesi, 1. günde GBM'de astrositlere kıyasla daha yüksek olarak belirtilmiştir. 12. günde, SSEA-1, OPN ve p53'ün artmış ekspresyonu, her iki hücre hattının test gruplarında da gözlemlenmiştir. GBM ve astrosit hücrelerinin kontrol grupları S fazında önemli derecede birikme olduğu gösterilmiştir. Radyoterapi uygulamasından sonra, G0 / G1 ve özellikle G2 / M fazındaki GBM hücrelerinin yüzdesi artmış ve S fazı azalmıştır. Ayrıca, astrosit yüzdesi S fazında artmış, G0 / G1 ve G2 / M fazlarında azalmıştır.

**Sonuç:** Bu bulgular, radyoterapi sonrası kanser hücrelerindeki moleküler bu değişiklikler tümörögenезin haşamasında hedef moleküller yaratılmasını esansiyel kılmıştır. Radyasyon etkisine bir sonuç olarak GBM hücrelerinin kontrol noktalarında duraksamaya başlamış olduğunu düşündürmektedir. Radyoterapiden sonra kanser hücrelerindeki moleküler protein ekspresyonundaki değişiklikler, özellikle tümörögenезin anahtar sinyal yolları ve bu tür hastalıkların tedavisinde yeni olası bakış açısı oluşturmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Glioblastom multiforme, Hücre döngüsü, Radyosensitivite, Hücre Sinyalleri

**Astrosit ve GBM hücre hatlarının radyasyon uygulaması sonrasında kristal violet boyaması**

P093

**Deneyesel Diyabetik Sıçanların Beyin Dokularındaki Su Kanalı Proteinlerindeki Değişimlerin İncelenmesi ve Resveratrolun Etkisi**Gökhan Duruksu<sup>1</sup>, Yusufhan Yazır<sup>2</sup>, Selen Polat<sup>3</sup>, Selcen Göçmez<sup>4</sup>, Tijen Utkan<sup>4</sup><sup>1</sup>Kocaeli Üniversitesi, Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kocaeli<sup>2</sup>Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Embryoloji ve Histoloji Anabilim Dalı, Kocaeli<sup>3</sup>Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, Kocaeli<sup>4</sup>Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

**Amaç:** Diyabetin patogeneğinde gözlemlenen kronik yüksek kan şekerinin resveratrolle tedavisi sonrasında beyin dokusunda su kanalı proteinlerinin ekspresyonlarındaki değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Su kanalı proteinleri veya Aquaporinler (AQP) su moleküllerinin geçişini plazma membranından kontrol ederek hücrede su homeostazının düzenlenmesinde yer alan özel proteinler olarak tanımlanmaktadır. Merkezi sinir sisteminde, bu proteinlerin üç üyesi baskın olarak ifade edilmektedir: AQP1, AQP4 ve AQP9 (Hirt ve ark., 2018). Su kanallarının bazı üyeleri su molekülü dışında yapılarından dolayı diğer molekülleri de taşıyabilmektedir. AQP1 ve -4'ün sadece su taşıyabilmesine rağmen, AQP9'un gliserol, üre ve monokarboksilatlar için de geçirgen olduğu bulunmuştur (Arciénega ve ark., 2010). Diyabetik kemirgenlerle yapılan çalışmalar astrositler ve katekolaminjik nöronlardaki AQP9 ekspresyonunun kandaki insülin seviyesi ile negatif olarak düzenlendiği gösterilmiştir. Bu hayvanlarda pankreas beta hücrelerinin sayılarının streptozotosin (STZ) ile azaltılması sonrasında beyin dokusunda daha yüksek AQP9 ekspresyonlarının gözlemlendiği bildirilmiştir (Baudat ve ark., 2008). Öte yandan, nöroinflamasyon ve nörodejeneratif hastalıkların sonucunda beyin dokusunda AQP ifadesinin arttığı gözlemlenmiştir (Baudat ve ark., 2014).

**Yöntem-Gereçler:** STZ ile önce beta hücre sayısı azaltılmış ve kronik yüksek kan şekeri durumu hayvanlarda oluşturulmuştur. STZ ile elde edilmiş diyabet hayvan modellerine dört hafta boyunca resveratrol uygulanmış ve 13 farklı su kanalı proteinlerinin beyin dokusundaki değişimleri gen ekspresyonuyla incelenmiştir. AQP4 ve AQP9 ifadeleri, hiç işlem görmemiş sağlıklı Kontrol, yalnız STZ uygulanmış Sham ve Resveratrol uygulanmış Deney gruplarında karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** Yüksek kan glukoz seviyesinin gözlemlendiği hayvanların beyin dokularında normal hayvanlara göre AQP9 ifadesinin 46,5 kat arttı bulunmuştur. Diyabetik sıçanlarda resveratrol tedavisi sonrasında, AQP9'un normal fizyolojik seviyelerine inmesinde etkili olduğu ortaya konmuştur. Beyin dokusundaki katekolaminjik nöronlarda tirozin hidroksilaz (TH) ekspresyonunun azalması resveratrol ile önlenmiş olup AQP9 gibi BDNF ve TH'nin ifadelerinin de arttığı bulunmuştur.

**Sonuçlar:** Bu çalışma ile diyabetli sıçanların beyin dokularındaki (başlangıç aşamasındaki) hasarın resveratrol ile tedavisi ile geri çevrilebileceği ve bu noktada AQP9 ifadesinin kontrolünün önemi belirtilmiştir.

**Kaynaklar:**

- 1.Hirt L, Price M, Mastour N, Brunet JF, Barrière G, Friscourt F, Badaut J. Increase of aquaporin 9 expression in astrocytes participates in astrogliosis. *J Neurosci Res* 96, 194, 2018.
- 2.Arciénega II, Brunet JF, Bloch J, Badaut J. Cell locations for AQP1, AQP4 and 9 in the non-human primate brain. *Neuroscience* 167, 1103, 2010.
- 3.Badaut J, Brunet JF, Petit JM, Guérin CF, Magistretti PJ, Regli L. Induction of brain aquaporin 9 (AQP9) in catecholaminergic neurons in diabetic rats. *Brain Res* 1188, 17, 2008.
- 4.Badaut J, Fukuda AM, Jullienne A, Petry KG. Aquaporin and brain diseases. *Biochim Biophys Acta* 1840, 1554, 2014.

**Anahtar Kelimeler:** Diyabet, Gen Ekspresyonu, Nörodejeneratif Hastalıklar, Streptozotosin

**P094**

**Paklitaksel Ve Mirtazapinin A2780 Hücrelerine Etkilerinin Proliferasyon Ve Apoptozis Yönünden Değerlendirilmesi**

Tuğba Koç<sup>1</sup>, Gökhan Cüce<sup>1</sup>, Zafer Şahin<sup>2</sup>, İlknur Keskin<sup>3</sup>, Serpil Kalkan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Histoloji ve Embriyoloji AD, Meram Tıp Fakültesi, NE Üniversitesi, Konya

<sup>2</sup>Fizyoloji AD, Tıp Fakültesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon

<sup>3</sup>Histoloji ve Embriyoloji AD, Tıp Fakültesi, Medipol Üniversitesi, İstanbul

**Amaç:** Kemoterapötik olarak kullanılan Paklitaksel ve kanser hastalarında antidepresan olarak kullanılan Mirtazapinin A2780 yumurtalık kanseri hücre hattına olan etkilerinin araştırılması amaçlandı. **Gereç-Yöntem:** A2780 hücre hattına paklitaksel ve mirtazapinin değişik dozları tek tek ve kombine olarak uygulandı. 24 ve 48 saatlik ilaç uygulaması sonrası hücre canlılığı MTT testi ile değerlendirildi. 24 saatlik uygulamada akridin oranj ve etil bromid ile boyanan hücrelerde apoptotik ve nekrotik hücreler sayıldı. İstatistiksel olarak değerlendirildi. **Bulgular:** Çalışmamızda 24 saat süreyle uygulanan mirtazapin IC50 dozunda, AO/EB ile boyanan hücrelerde apoptozis ve nekrozisin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı ve mirtazapinin tek başına A2780 hücrelerinde apoptozise göre hücrelerde nekrozisi arttırdığı belirlendi.

24 saat süreyle uygulanan paklitaksel IC50 dozunda, AO/EB ile boyanan hücrelerde apoptozis ve nekrozisin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı ve paklitakselin tek başına A2780 hücrelerinde nekroze oranla hücrelerde apoptozisi arttırdığı belirlendi. **Sonuç:** 24 saat süreli mirtazapinin 1 mikromolar dozu, paklitakselin IC50 dozu olan 7,5 mikromolar dozu, 0,5 mikromolara düşürdü. Kemoterapinin yan etkilerini azaltabilecek ve daha güvenli bir doz aralığı sunan veriler elde edilmiş oldu. Bu veriler eşliğinde kemoterapinin yan etkilerini azaltabilecek bir tedavi yaklaşımı elde edilmiş olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** A2780, Apoptozis, Mirtazapin, Paklitaksel

**P095**

**İnsan primer menisküs fibrokondrosit kültürlerinde pasajlamanın SOX9 mRNA ekspresyon seviyesi ve fibrokondrositik karakter üzerine etkisi**

Selma Yılmaz<sup>1</sup>, Bedri Karaismailoğlu<sup>3</sup>, Merve Alaylıoğlu<sup>2</sup>, Büşra Şengül<sup>2</sup>, Ebru Keskin<sup>2</sup>, Esin Candaş<sup>2</sup>, Duygu Gezen Ak<sup>2</sup>, Erdinç Dursun<sup>2</sup>, Nuri Aydın<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Altınbaş Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Ünitesi, İstanbul

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**Amaç:** Eklem boşluğundaki yükün %50-90'ını taşıyan menisküsler diz ekleminin hareketlerinde kritik rol oynayan yapılardan biridir. Menisküs yaralanmaları çok sık görülmeleri nedeniyle günümüzde önemli sağlık problemlerinden birini oluşturmaktadır. Menisküsün iyileşme potansiyelinin sınırlı olması nedeniyle, biyolojik olarak dizayn edilen dokuların kullanılması çalışmaları menisküsün tamiri, menisküs fonksiyonlarının geri kazanılması ve osteoartrit oluşumunun önlenmesi için ümit verici bir yol olarak görülmektedir. Menisküsler hem fibroblastik hem de kondrositik özellikler taşıyan, fibrokondrositlerden oluşur ve medial ve lateral olmak üzere iki bölgesi bulunur. Fibrokondrositlerin fizyolojisi ve doku mühendisliğinde kullanılan hücre kültürü mikroçevresine verdikleri yanıt halen yeterli bilgi bulunmayan ve araştırılması gereken bir konudur. Yapılan çok az sayıdaki menisküs kökenli fibrokondrosit kültürü çalışmaları, fibrokondrositlerin tek tabakalı kültür ortamında kondrositik özelliklerinin azalarak fibroblastik özellik göstermeye başladığını bildirmiştir. Bu çalışmada, hücre kültürü mikroçevresinin ve pasajlamanın insan menisküs fibrokondrositlerin kondrositik karakterleri üzerine etkilerini araştırmak üzere bir kondrosit belirteci olan SOX9'un mRNA ekspresyon seviyesini araştırmayı amaçladık.

**GEREÇ VE Yöntemler:** Primer menisküs fibrokondrosit kültürü, parsiyel menisektomi veya total diz artroplastisi geçiren 50 yaş altındaki hastalardan elde edilen menisküslerden hazırlandı. mRNA ekspresyon seviyeleri qRT-PCR ile belirlendi. Ham veriler, pasaj sayısı ve menisküs bölgesi bakımından karşılaştırıldı. Kondrositik ve fibroblastik karakterler, her bir menisküs bölgesi ve her bir pasajda SOX9 kondrositik belirteci ve TE7 fibroblastik belirteciye karşı antikolar ile immünfloresans olarak işaretlenerek incelendi.

**Bulgular:** İnsan menisküs fibrokondrositlerinin hücre kültürü mikroçevresindeki SOX9 mRNA ekspresyon seviyesinin pasaj sayısı ve menisküs bölgesine bağlı olarak değiştiği saptandı. İmmünfloresans işaretleme sonuçlarımız fibrokondrositlerin hücre kültürü mikroçevresinde kondrosit karakterlerini koruduğunu gösterdi.

**Sonuç:** Bulgularımız, menisküslerin yapısal devamlılığında sorumlu hücreler olan fibrokondrositlerin hücre kültürü mikroçevresine verdikleri yanıt hakkında literatüre katkı sağlamıştır. Yapay menisküs üretmeye yönelik doku mühendisliği çalışmaları için temel oluşturma potansiyeline sahiptir. Bu çalışma İÜ BAP (proje numarası: 47186) tarafından desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Fibrokondrosit, Menisküs, Pasajlama, SOX9, qRT-PCR

P096

**Ovaryum Foliküllerinin Yapay Zekâ ile Sınıflandırılması**Ayşe Ceyhan<sup>1</sup>, Esra Balcıoğlu<sup>1</sup>, Özkan İnik<sup>2</sup>, Erkan Ülker<sup>3</sup><sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri<sup>2</sup>Gaziosmanpaşa Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Tokat<sup>3</sup>Selçuk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Yazılımı Anabilim Dalı, Konya

**Amaç:** Yapay Zekâ, canlı davranışlarının özellikle insanların davranış biçiminden esinlenerek geliştirilen sistemlerin genel adıdır. Sistemin amacı; insanlara özgü olan karar verme ve analiz etme gibi işlevleri yerine getirmektir. Yapay zekâ alanında yeni bir teknoloji olan "Derin Öğrenme Modelleri", medikal görüntülerin analizi, görüntü inceleme, ses tanımlama ve doğal dil işleme gibi birçok alanda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ovaryum, dişi üreme sisteminde tekrarlayan döngülere göre önemli yapısal ve işlevsel değişiklikler gösteren karmaşık bir organdır. Gelişmekte olan folikül sayısının belirlenmesi üreme sisteminin tekrarlayan döngülerinde önem arz eder. Literatürde sıklıkla stereolojik yöntemler kullanılarak fare ovaryumundaki erken ve büyüyen folikül sayılarının belirlenmesi, oositlerin sayı, hacim ve yüzey alanlarının değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde; ovaryumdaki foliküllerin sayım esnasında sınıflandırması uzman kişiler tarafından yapıldığı görülmektedir. Bu çalışmada ise, yapay zekâ alanında yeni bir teknoloji olan "Derin Öğrenme Modeli" kullanılarak bilgisayar ortamında ovaryum foliküllerinin ayırt edilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Derin öğrenme modellerinin sınıflandırma başarısını etkileyen faktörlerden birisi olan veri setini hazırlamak için, sıçan ovaryum dokusundan 5 µm'lık kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin ve Masson Trikrom ile boyandı, ışık mikroskobu ile 1400 görüntü elde edildi. Görüntüleme işlemi bittikten sonra primordiyal, primer, preantral, sekonder ve tersiyer foliküllere ait toplam 6500 adet görüntüye ulaşıldı. Başarı oranını artırmak için derin ağlarda kullanılan Data Augmented (Rotation, Translated, Reflection) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem ayrıca ağın eğitim esnasında ezberlemesini önlemek için kullanılmaktadır. Derin Öğrenmede model tasarımı süreci, modeli oluşturan parametrelerin ayarlanması ve katmanların belirlenmesi aşamalarından oluşmaktadır. Temel olarak derin ağlarda kullanılan katmanlar sırasıyla; konvolüsyon, havuzlama, doğrusal birim katmanı (ReLU), tam bağlantılı katman (TBK) ve sınıflandırma katmanıdır. Bu katmanlar kullanılarak; toplamda 15 katmandan oluşan bir derin ağ yapısı kurulmuştur. Oluşturulan derin ağ yapısı sırasıyla; Input - Convolution(Conv1) - ReLu() - Pooling (Max\_P1) - Convolution (Conv2) - ReLu() - Pooling(Max\_P2) - Convolution (Conv3) - ReLu() - Pooling(Max\_P3) - Full Connection(FC1) - ReLu - DropOut - Full Connection (FC2) - Classification toplam 15 katmandan meydana gelmektedir.

**Bulgular:** Data Augmentation ile ilk etapta her folikülden 4530 olacak şekilde toplamda 22650 adet görüntü elde edilerek bir veri seti oluşturuldu. Bu veri seti ile eğitilen derin öğrenme modelinde %86,90 sınıflandırma başarısı elde edildi. İlk oluşturulan derin öğrenme modelinde gerçekleşen hata preantral ve sekonder foliküllerin ayırımının gerçekleştirilememesi üzerineydi. Daha sonra veri seti artırılarak 90600'a çıkarıldı. Arttırılmış veri seti ile eğitilen modelde %97.61 doğruluk düzeyinde sınıflandırma başarısı elde edildi.

**Sonuç:** Elde edilen sonuçlar doğrultusunda yapay zekâ temelli derin öğrenme modellerinin geliştirilmesi ile histolojide yapılacak diğer hücresel sayım yöntemlerine katkı sağlayacağı kanısındayız.

**Anahtar Kelimeler:** Derin Öğrenme Modeli, Ovaryum, Yapay Zekâ

**P097**

**Kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin yapay zeka ile sınıflandırılması**

Simge Çelebi<sup>1</sup>, Cemile Özsürekci<sup>2</sup>, Nurgül Özcan<sup>3</sup>, Merih Kızıl Çakar<sup>4</sup>, Mert Burkay Çöteli<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Hastanesi İç hastalıkları Anabilim Dalı Sıhhiye/Ankara

<sup>3</sup>Ankara Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

<sup>4</sup>Ankara Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hematoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>5</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Elektrik-Elektronik Bölümü, Ankara

**Giriş:** Hücre tipi sınıflandırması güncel bir konu olup medikal hastalık tespiti konusunda çalışmakta olan bilim insanları tarafından da bir araştırma konusudur. Doktor başına düşen hasta sayıları ve uzman doktorun ilgili hastanelerde bulunamaması da bu durumu bir biyomühendislik problemi haline getirmiş ve medikal hastalık tespitinde bir adım oluşturmuştur.

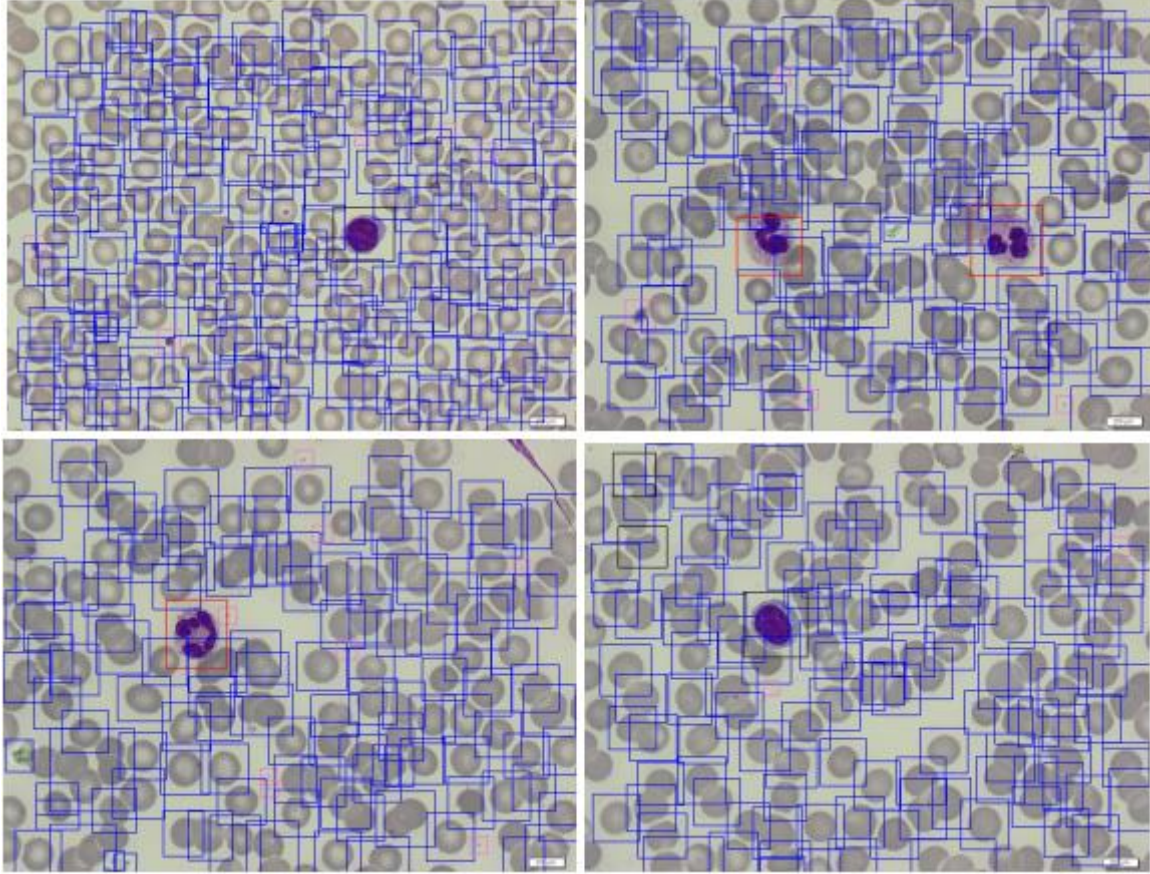
Periferik yayma lamaları üzerinden mikroskop yardımıyla alınmış ham görüntüler birden fazla hatta onlarca hücre tipini içerisinde bulundurmaktadır. Bu hücre tipleri beyaz ve kırmızı kan hücreleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Bu çalışma 7 temel hücre tipinin (Eritrosit, Bazofil, Eozonofil, Lenfosit, Nötrofil ve Monosit) bilgisayar yardımıyla sınıflandırması ve bu sınıflandırma için kullanılan yöntemden bahsetmektedir. Bu çalışmada farklı hücre tipleri tanımlanmasında yapay sinir ağları kullanılmakta olup, hücre tahmini algoritması girişine pencere tahmini yapmak için bir ön adım ayrıştırma algoritması yerleştirilmiştir. Sonuna da yapay sinir ağları çıktısını sağlamlaştırmak için bir son adım sonuç eleme algoritması geliştirilmiştir.

**Gereç ve Yöntemler:** Resim üzerinden hücre nesnelere ayrıştırılması için temel kullanılan özellik hücrelerin yuvarlak olması ve rengidir. Olası pencereler için bu 2 kriter değerlendirilmiş ve bu kriterlerin çevresinde çalışmalar yapılmıştır. Hücre renklerinin görüntü alınan sıvıdan farklılık göstermesi, resim üzerinde lokal maksimum noktaların bulunmasına fayda sağlamaktadır. Lokal maksimum noktalar resim üzerinde ikinci dereceden türev alınarak bulunabilir. Alınmış olan örnekler üzerinden hücre pencerelerinin ayrıştırılması sonrasında yapay sinir ağlarına bu veriler beslenmektedir. Yapay Sinir Ağları görüntüler üzerinden özellik çıkartarak öğrenme yöntemidir. Bu yöntemin girişi 3 değişkenli (satır, sütun, renk) iken çıktısı tek boyutlu, tanımlanmış hücre tiplerini gösteren veridir. Bu çalışma yürütülürken Google BVLC yapay sinir ağı kullanılmıştır.

**Bulgular-Sonuç:** Geliştirilmiş olan periferik yayma testi otomasyonu algoritması doğrulaması için rastgele olarak 50 farklı örnek içeren test seti seçilmiş ve bu örneklerdeki her bir hücre tipi için uzman görüşü ile yapay zekanın farklılıkları değerlendirilmiştir. Algoritma Değerlendirmeleri sonucunda %95'e varan doğruluk oranında veriler elde edildiği görülmüştür. %95'in altında alınan doğruluk oranlarını periferik yayma kalitesi etkilediği belirlenmiştir. Daha iyi bir sonuç elde etmek için iyileştirilmesi gereken noktalar tespit edilmiştir. Bunlar; preparatlar hazırlanırken kan hücrelerinin daha iyi yayılmasıyla hücre tipi tespit doğruluğunun arttırılması ve boyama yöntemlerinin standardize edilmesidir.

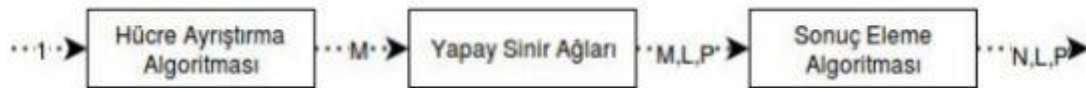
**Anahtar Kelimeler:** periferik yayma, hücre sınıflandırılması, yapay zeka, kırmızı ve beyaz kan hücreleri



**Farklı örneklerden elde edilmiş algoritma sonuçları****Periferik yayma testi otomasyonu algoritması doğrulaması için uzman görüşü ile yapay zekanın deperlendirilmesi**

Hücre Tipi	Uzman Görüşü	Makina Görüşü	Yüzde
Eritrosit	5800	5156	0.88
Lenfosit	22	21	0.95
Trombosit	156	142	0.91
Nötrofil	46	43	0.93
Monosit	8	7	0.87
Eozonofil	12	11	0.91

**Resim - 1: M ham görüntü üzerinden önerilen pencere sayısı, L her bir pencere için önerilen hücre tipi sonucu, P hücre tipi olasılığı, N Elenmiş pencere sayısı,  $M > N$**



P098

**Osteoporotik Omurga Füzyonu için Polilaktik asit-Polietilenglikol ve Nano-Hidroksiapatit (PEG-PLA/nHAp) İçeren rhBMP-2 Taşıyan Kompozitlerin Geliştirilmesi**

Petek Korkusuz<sup>1</sup>, Takashi Kaito<sup>2</sup>, Feza Korkusuz<sup>3</sup>, Eda Çiftci Dede<sup>4</sup>, Zeynep Bal<sup>2</sup>, Hiroyuki Ishiguro<sup>2</sup>, Merve Gizer<sup>4</sup>, Sevil Köse<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Abd., Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Osaka Üniversitesi, Ortopedik Cerrahi Departmanı, Osaka, Japonya

<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği Abd., Ankara, Türkiye

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Abd., Ankara, Türkiye

<sup>5</sup>Atılım Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Departmanı, Ankara, Türkiye

**Genel Bilgi:**

Osteoporoz, kemiğin mineral yoğunluğunun düşmesi ve mikro yapısının bozulması sonucu kırık riskinin artmasıyla karakterize morbidite ve mortalitesi yüksek metabolik bir kemik hastalığıdır(1). Osteoporozda proflaktik olarak kemik çatıyı destekleyecek bir sistem gerekmektedir.

**Amaç-Gerekçe:**

Rejenerasyonda etkili, kemik morfojenik proteini (*Bone Morphogenetic Protein- BMP*)<sup>2</sup>'nin uygun dozlarda, nano-hidroksiapatit(nHAp) ve polilaktik asit-polietilenglikol taşıyıcıdan kontrollü salımını sağlayarak kemik öncülü mezenkimal kök hücrelerin çoğalması ve osteojenik farklanması uyarılabilir, osteoindüktif yeni bir ürün geliştirilebilir ve bu ürünün in vivo ortamda osteoporotik omurga desteği olarak kullanılması sağlanabilir (2).

**Yöntem:**

Bu amaçla projemiz kapsamında doku temas yüzeyi geniş ve mikron boyutundaki eşdeğerlerine göre biyoyumluluğu daha yüksek olan nHAp ve BMP-2 için kontrollü salımı sağlayabilen, biyoyumlu PEG-PLA ile oluşturulan kompozitler üretilerek, kemik iliği kaynaklı MKH'lerin gerçek zamanlı çoğalması ve farklanmasına etkileri değerlendirilmiştir. İn vitro ortamda etkileri açısından geçerliliği test edilmiş kompozitler in vivo ortamda sıçan omurgasında füzyon malzemesi olarak osifikasyon potansiyeli açısından değerlendirilmiştir. Ticari insan kemik iliği MKH'leri (*StemPro®; Gibco*, ABD, Pasaj 7), 24 kuyucuklu plakalara ekilmiş ( $3 \times 10^4$  hücre/kuyucuk), kompozitler kuyucuklara yerleştirilmiş, proliferatif etki 1,3 ve 7. günlerde WST-1 ile inkübasyon sonrası ELISA okuyucu saptanmıştır. Gerçek zamanlı doz bağımlı etki 96 kuyucuklu, üzerlerine *insert* yerleştirilmiş plakalarda, impedans temelli *Xcelligence (Roche Applied Sciences, İsviçre)* cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Yirmi bir günlük osteojenik diferansiyasyon protokolü sonrası kompozitlerin osteonidüksiyon potansiyeli değerlendirilmiştir. Yetişkin *Sprague Dawley* sıçan omurgalarına yerleştirilen kompozitlerin osteojenik kapasitesi mikrotomografik olarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:**

Kompozitlerin BMP-2'yi uzun sürede saldıdığı, doz bağımlı olarak in vitro koşullarda MKH proliferasyonunu olumsuz etkilemediği, diferansiyasyonu artırdığı saptanmıştır. İn vivo hayvan modelinde 0.5-1µg BMP içeren kompozitlerin 6-8 haftada osifikasyonu artırdıkları tomografik kesitlerde saptanmıştır.

**Sonuç:**

Sonuç olarak BMP-2-PLA-PEG-nHAp taşıma sisteminin, kısa sürede daha etkili BMP-2 serbestleştirilmesi için çalışmalarımız devam etmektedir. Bu malzeme gelecekte yoğun kemik kaybının olduğu osteoporotik omurga füzyon modelinde kullanılmaya aday, patentlenebilir bir ürün prototipi olarak geliştirilmektedir.

Bu çalışma, TÜBİTAK Japonya-Türkiye uluslararası ikili işbirliği projesi olarak desteklenmektedir (Proje No: 215S834).

Bu çalışma, TÜBİTAK Japonya-Türkiye uluslararası ikili işbirliği projesi olarak desteklenmektedir (Proje No: 215S834).

**Anahtar Kelimeler:** Osteoporotik omurga füzyonu, kemik morfojenik protein-2, PLA-PEG, nano-hidroksiapatit, mezenkimal kök hücre

P099

**Bor Katkılı Nano-Hidroksiapatit (B-nHAp) Kompozitlerin Mezenkimal Kök Hücrelerinin ve Kemik Hücrelerinin Proliferasyonuna Etkisinin Salımla İlişkili Araştırılması**Merve Gizer<sup>1</sup>, Eda Çiftçi Dede<sup>1</sup>, Aysel Berkkan<sup>2</sup>, Feza Korkusuz<sup>3</sup>, Muharrem Timuçin<sup>4</sup>, Petek Korkusuz<sup>5</sup><sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Abd., Ankara, Türkiye<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Abd., Ankara, Türkiye<sup>3</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği Abd., Ankara, Türkiye<sup>4</sup>Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Emekli Öğretim Üyesi, Ankara, Türkiye<sup>5</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Abd., Ankara, Türkiye**Giriş:**

Kemiğin histolojik yapısını destekleyecek uygulamalar metabolik ve travmatik kemik hasarlarının neden olduğu yüksek mortalite ve morbiditenin engellenmesi için önemlidir. Borun (B), kemik yapısına olan olumlu etkileri bir çok araştırmacı ve grubumuz tarafından bildirilmiştir. Hidroksiapatit (HA) ise kemik dokusunun ekstraselüler matriksinde doğal olarak bulunur ve kalsiyum-fosfat deposu olarak işlev görmektedir<sup>2</sup>.

**Amaç-Gereke:**

Grubumuzca B ve HA'nın beraber kullanımının olumlu etkileri bildirildiyse de, B'un salım kinetikleriyle etki mekanizması ilişkilendirilmemiştir. Çalışmanın amacı, nano boyuttaki bor katkılı nano-hidroksiapatit (B-nHAp) kompozitin B salımıyla ilişkili olarak kemik hücrelerinin proliferasyonuna etkisinin araştırılmasıdır.

**Yöntem:**

B-nHAp kompozitlerden belirli zaman noktalarında salınan B miktarı inductively coupled plasma spectrometry (ICP) yöntemiyle araştırılmıştır. ICP için örnekler belirlenen dozlarda PBS'te (pH=7.4), oda sıcaklığında çalkalamalı ortamda bekletilmiştir. Salım çalışmasında belirlenen aralıkta 0,9, 9, 90 ve 900 µg/ml dozlarında kompozitler hazırlanmıştır. Kompozitlerin hücre proliferasyonuna etkisi primer kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler (MKH) ve ticari kemik hücre hattı SaOS-2 hücrelerine uygulanarak kantitatif proliferasyon profilleri WST-1 analiziyle değerlendirilmiştir. MKH'lerin ve SaOS-2 hücrelerinin kendilerine özgü besiyerlerinde %5 CO2 atmosferine sahip, 37°C sıcaklıkta inkübasyonu gerçekleştirilmiştir. WST-1 analizi 4 deney ve 1 kontrol grubu olmak üzere en az üç tekrarlı yapılmıştır. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Üç Yönlü Varyans analizi kullanılmıştır.

**Bulgular:**

Hazırlanan B-nHAp dozların MKH'leri ve SaOS-2 hücreleriyle kültürü ve proliferasyon analizi başarıyla gerçekleştirilmiştir. ICP sonucunda kullanılan tüm dozlarda B salımının 15 dakika ile 1 saat arasında burst salım gerçekleştiği gösterilmiştir. Kompozitin uygulanan 900 µg/ml dozu MKH'lerin proliferasyonu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 3. ve 5. günlerde (p=0.001); 90 µg/ml dozu MKH'lerinde ise sadece 5. günde (p=0.001) istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttırmıştır. SaOS-2 hücrelerinin proliferasyonunu ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kompozitin uygulanan 9 µg/ml dozunun 3. günde (p=0.001) ve 0,9 µg/ml dozunun 5. günde (p=0,001) proliferasyonu arttırmadığı gözlenmiştir.

**Sonuç:**

Yapılan çalışmada B-nHAp kompozitin kemik iliği kaynaklı MKH'lerin proliferasyonunu arttırdığı ve SaOS-2 hücrelerinin proliferasyonunu arttırmadığı gösterilmiştir. Sonraki aşamada osteojenik farklılaştırması gerçekleştirilecek olan MKH'lerde ve SaOS-2 hücrelerinde kompozitlerin kemik ekstraselüler matriksinin proteinlerinin ekspresyonlarında etkisi araştırılacaktır. Elde edilecek sonuçlar, B-nHAp kompozitlerle oluşturulacak faydalı modellerin validasyonunu sağlayarak, dejeneratif kemik hastalıklarındaki potansiyel kullanımları için bir adım olacaktır.

\*Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinasyon Birimi tarafından TBB-2017-13-312 numaralı projeye desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bor katkılı nano-hidroksiapatit, mezenkimal kök hücre, SaOS-2, proliferasyon, ICP

**P100****Sisplatin'in Oluşturduğu Testis Hasarı Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in Koruyucu Etkisinin İncelenmesi**

Tayfun Ceylan<sup>1</sup>, Emin Kaymak<sup>2</sup>, Betül Yalçın<sup>2</sup>, Fazile Cantürk Tan<sup>3</sup>, Birkan Yakan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kapadokya Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Nevşehir

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>3</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Kayseri

**Amaç:** Testisler, erkek üreme hücrelerinin üretilmesi evresi olan spermatogenezin gerçekleştiği ve testosteron başta olmak üzere erkek cinsiyet hormonlarının üretildiği yerlerdir. Antikanserojen bir ilaç olan Sisplatin (SP); sıçan testislerindeki spermatogenik seri hücrelerinde, destek hücreleri olan Sertoli hücrelerinde ve interstisyel alandaki Leydig hücrelerinde hasara yol açmaktadır. Bu hasarın ortadan kaldırılmasında koruyucu etkisiyle propolisin etken maddelerinden biri olan Kafeik Asit Fenetil Ester'in (KAFE) etkisini gözlemlemeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmayla ilgili tüm prosedürler etik kurallara uygun olacak şekilde gerçekleştirildi. Grup 1'e (kontrol grubu) (n=8) deney boyunca diğer gruplara uygulanan KAFE ve SP miktarı kadar izotonik salin solüsyonu intraperitoneal (ip.), Grup 2'ye (n=10) deneyin 7. günü tek doz SP (7 mg/kg) ip. olarak verildi. Grup 3'e (n=10) deneyin başlangıcından itibaren 12 gün boyunca KAFE (10 µmol/kg/gün) ip. olarak ve aynı gruba 7. günde SP (7 mg/kg) tek doz ip. olarak verildi. Grup 4'e (n=10) ise deneyin başlangıcından itibaren 12 gün boyunca KAFE (10 µmol/kg/gün) ip. olarak verildi. Sıçanlar deneyin 14. gününde ksilazin ve ketamin anestezisi altında dekapite edildi ve testisleri alındı. Testislerden alınan kesitler hematoksilin ve eozin boyaları ile boyanarak histolojik hasar incelendi. Sıçanlardan elde edilen testis dokusunda Malondialdehit (MDA), Katalaz (KAT) ve Süperoksit Dismutaz (SOD) parametrelerine bakılarak, lipid peroksidasyon ürünü ve antioksidan enzim aktiviteleri tayin edildi. Ayrıca kan serumunda testosteron (TES) parametreleri tayin edildi. Comet Assay tekniğiyle de duktus epididimisten alınan sperm örneklerinde hücre düzeyinde DNA hasarı saptandı ve hasarın miktarı belirlendi.

**Bulgular:** SP uygulanan gruplardan alınan testis dokularında kontrol grubu testis dokularına göre hasar görüldü. Bu hasar spermatogenik seri hücrelerinde artan şekilde bozulma, tubuli seminiferi kontortillerin bazal membranlarında bozulma, interstisyel alandaki Leydig hücrelerinde kısmen hasarlanma ve testis tübülleri içerisinde ödem şeklindeydi. Testis dokusunda bakılan MDA, SOD ve KAT ölçümleri ile kan serum TES ölçümleri de bu hasarlanmaları destekler niteliktedir. Comet Assay bulguları ise spermdeki hasarın DNA parçalanmalarından kaynaklı olduğunu gösterdi. Sadece SP uygulaması, sperm DNA parçalanma oranını kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artırdı (p<0.001). SP ile birlikte KAFE uygulanan gruplardan alınan doku örneklerindeki hasarlar yalnızca SP uygulanan gruplardaki doku ve hücre hasarına göre azalmış olarak gözlemlendi. Biyokimyasal analizlerde (MDA, SOD, CAT ve TES analizleri) bu bulguları destekler nitelikteydi. Ayrıca Comet Assay tekniği de sperm hücresi DNA'sındaki parçalanmaların azaldığını gösterdi. Sperm DNA parçalanma oranı SP+KAFE grubunda SP grubuna göre anlamlı olarak azaldı (p<0.001).

**Sonuç:** Sonuç olarak tek doz SP uygulanması daha önceki çalışmalarda olduğu gibi sıçan testis dokusunda hasar oluşturmuştur. Çalışmamızda sıçan testis dokusunda oluşan bu hasara karşı KAFE'nin koruyucu etkisi gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Comet Assay, Kafeik Asit Fenetil Ester, Sıçan, Sisplatin, Testis

**P101****Paklitaksel İle Oluşturulan Testis Hasarı Üzerine Resveratrol'ün Koruyucu Etkisinin İncelenmesi**Pınar Bilgici<sup>1</sup>, Esra Balcıoğlu<sup>2</sup>, Birkan Yakan<sup>2</sup>, Emin Kaymak<sup>2</sup>, Emel Öztürk<sup>2</sup>, Betül Yalçın<sup>2</sup><sup>1</sup>Kapadokya Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Nevşehir<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

**Amaç:** Kanser, vücuttaki hücrenin normal özellikleri dışında değişim göstererek kontrolsüzce çoğalması ile meydana gelen çağımızın en önemli hastalıklarından biridir. Günümüzde çeşitli tedaviler bulunmakla birlikte tedaviye yönelik olarak kanser hücrelerini öldürücü kemoterapötik ajanlar kullanılmaktadır. Bu kemoterapi ilaçlarının; spermatogenez, sperm kalitesi ve kan-testis bariyerine verdiği zararlar sonucu infertiliteye neden olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Günümüzde kemoterapötiklerin kullanımı sırasında oluşan doku hasarının azaltılabilmesi için en yaygın kullanılan alternatif tedavi yöntemi antioksidan maddelerin kullanımudur. Bu çalışmada da deney hayvanlarında Paklitaksel uygulanması ile ortaya çıkabilecek testis hasarının belirlenmesi ve buna karşıpatojenik mikroorganizmalara karşı bitkilerce sentezlenen polifenolik bir fitoaleksinin olan Resveratrol'ün olası koruyucu etkilerinin histolojik yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** Çalışmada Wistar albino cinsi erkek sıçanlar her grupta 10'ar hayvan olacak şekilde kontrol, Paklitaksel (PAC) (10mg/kg), Resveratrol (RES) (10mg/kg) ve Paklitaksel+Resveratrol (PAC+RES) (10mg/kg -10 mg/kg) olarak 4 gruba ayrıldı. Deney bitiminde anestezi altında testis dokuları alındıktan sonra dekapite edildi, 4% Formaldehit solüsyonunda tespit edilip, rutin doku takibi basamaklarından geçirildi. Parafin bloklara gömülerek testis dokusundan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Histolojik yapıyı değerlendirmek için Hematoksilin-Eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Histopatolojik olarak değerlendirme için Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru (JTBS) kullanıldı. Gruplar arasındaki apoptotik hücre sayısı TUNEL metodu kullanılarak belirlendi. Biyokimyasal parametre olarak testis dokusunda Malondialdehide (MDA), Katalaz (CAT) ve SüperoksitDismutaz (SOD) değerlerine bakıldı. Tüm istatistiksel analizler SPSS yazılım programında yapıldı ve p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** Kontrol grubuna ait spermatojenik hücrelerin bazalden lümene doğru düzenli yapı sergilediği gözlemlendi. Gelişmekte olan spermatozoonlar klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümende, baştübül duvarına yönelik ve Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuştu. PAC grubunda ise çok sayıda dejeneratifseminiferitübül, germinalepitelde düzensizlik, intersitisyel bağ dokusu alanlarında genişleme ve hemoraji gözlemlendi. Antioksidan özellikte olan RES grubunda da PAC grubunda olduğu kadar şiddetli olmasa da Sertoli hücreleri arasında oluşturulan kompartman yapısında bozulmalar mevcuttu. PAC+RES grubunda ise dejeneratifitübül sayısında, tübülepitel hasarında ve intersitisyel alandaki hemorajide azalma gözlemlendi. JTBS istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; kontrol grubu ile PAC, PAC+RES grupları arasında anlamlı farklılık olduğu belirlendi (p<0,05). TUNEL yöntemi sonuçlarına göre; PAC grubundaki apoptotik hücre sayısında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu belirlendi (p<0,05). Biyokimyasal açıdan MDA, CAT ve SOD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05).

**Sonuç:** Antioksidanların ve anti-kanser ilaçlarının eş zamanlı kullanımı ile ilgili bazı kaygılar olmasına rağmen, yeni çalışmalar koruyucu kimyasal ajanlarla kombinasyon tedavisinin meydana gelecek toksik etkileri azaltmada yararlı olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Paklitaksel, Resveratrol, Sıçan, Testis

**P102**

**Sıçanlarda Paklitaksel'in Neden Olduğu Böbrek Hasarına Karşı Resveratrol'ün Koruyucu Etkisi**

Ayça Lekesizcan<sup>1</sup>, Pınar Bilgici<sup>2</sup>, Esra Balcıoğlu<sup>1</sup>, Birkan Yakan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

<sup>2</sup>Kapadokya Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler Ve Teknikler Bölümü, Nevşehir

**Amaç:** Kansere, çevresel veya genetik faktörler sonucunda hücrenin genetik materyalindeki bir hasar veya mutasyon sonucunda ortaya çıkan, kardiyovasküler hastalıklardan sonra dünyada en fazla ölüme neden olan ikinci hastalıktır. Kansere tedavisinde kullanılan antineoplastik ilaçlar vücutta patolojik biçimde çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, çoğalmakta olan normal hücreleri de yok ederler. Taxol grubu gibi birçok sitotoksik ilaç doğrudan doğruya DNA veya onun öncülleriyle etkileşime girerek yeni genetik materyalin sentezini inhibe eder veya DNA'da onarılamayan hasara neden olur.

Kemoterapi ilaçlarının kullanımı sırasında meydana gelebilecek hasarların azaltılabilmesi için alternatif tedavi yöntemi olarak günümüzde antioksidanlar kullanılmaktadır. Çalışmamızda da, Paklitaksel kullanımına bağlı ortaya çıkabilecek böbrek hasarının belirlenmesi ve buna karşı patojenik mikroorganizmalara karşı bitkilerce sentezlenen polifenolik bir fitoaleksinin olan Resveratrol'ün koruyucu etkisinin histolojik yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** Çalışmada Wistar albino cinsi sıçanlar her grupta 10'ar hayvan olacak şekilde Kontrol, Paklitaksel (PAC) (10mg/kg), Resveratrol (RES) (10mg/kg) ve Paklitaksel+Resveratrol (PAC+RES) (10mg/kg -10 mg/kg) olarak rastgele 4 gruba ayrıldı. Anestezi altında böbrek dokuları alındıktan sonra, 4% Formaldehit solüsyonunda tespit edilip, rutin doku takibi basamaklarından geçirildi. Parafin bloklara gömülen böbrek dokularından 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve histolojik yapıyı değerlendirmek için Hematoksilin-Eozin ve Periyodik Asit Schiff ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

**Bulgular:** Kontrol grubuna ait ışık mikroskopik görüntülerde böbrek glomerüllerinin normal yapıda olduğu gözlemlendi. Renal korteksteki böbrek cisimciklerinin Bowman boşluğu ve pariyetal hücre yaprağında hasara rastlanmadı. Proksimal tübül hücreleri normal görünümde çekirdek ve mikrovilluslara sahipti. Distal tübül hücrelerinde de anormal bir görünüm tespit edilmedi. PAC uygulamasına maruz kalan grupta; kontrol grubuna göre Bowman kapsül aralığında genişleme, proksimal ve distal tübül duvarında incelleme ve köpüksü görünüme rastlandı. Yer yer tübül lümeninde epitelyal hücre döküntüleri ve fırçamsı kenar kayıpları tespit edildi. Aynı zamanda renal kortekste serbest hemorajik alanlar ve kapiller hemorajiye rastlandı. Antioksidan özellikte olan RES grubuna ait ışık mikroskopik görüntülerde PAC grubunda olduğu kadar belirgin olmasa da yer yer proksimal ve distal tübüllerde hasara rastlandı. PAC+RES uygulanan grupta PAC grubuna göre böbrek cisimciklerinin, proksimal ve distal tübül epitelinin daha düzenli yapı sergilediği gözlemlendi. PAC verilen grupta gözlenen hemorajik alanların PAC+RES grubunda azaldığı saptandı.

**Sonuç:** Meydana gelen pek çok karmaşık olayın daha iyi anlaşılması ve antioksidanların paklitaksel ile kullanımının hasta sağlığı açısından faydalarının daha iyi anlaşılabilmesi için, elde edilen bulgulara ek olarak; immunofluoresan çalışmalar ve Western blot analizlerinden elde edilecek verilerle birlikte ele alınmasının literatür bilgilerine daha çok katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Böbrek, Paklitaksel, Resveratrol, Sıçan

**P104**

**Deneyisel diyabet oluşturulmuş sıçan böbrek dokusunda apoptozis ve proliferasyon üzerine quercetin etkisi**

Emine Ceyda Sözüer, Yeter Topçu Tarladaçalısır

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Edirne

**Amaç:**

Diabetes mellitus, sıklığı ve komplikasyonları nedeniyle dünyada önemi her geçen gün artan bir sağlık sorunudur. Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile oluşturulan deneysel diyabetin erken dönemlerinde, sıçan böbrek dokusunda meydana gelen değişiklikler üzerine, quercetin koruyucu etkisi değerlendirildi.

**Gereç-Yöntem:**

Bu amaçla 24 adet Wistar Albino erkek sıçanlardan rastgele 3 grup oluşturuldu; Kontrol, diyabet ve diyabet + quercetin grubu. Diyabet ve diyabet + quercetin gruplarına tek doz 50 mg/kg STZ i.p olarak uygulandı. STZ uygulamasından 48 saat sonra kan glukoz değeri 250 mg/dl'nin üzerinde olan denekler diyabetik kabul edilerek deneye alındı. Quercetin tedavili gruba, diyabetin başlangıcından itibaren 15 gün boyunca günde bir kez, i.p. 30 mg/kg quercetin verildi. Quercetin tedavisinin bitiminde, anestezi altında deneklerden alınan kardiyak kan örneklerinden elde edilen serumlarda üre ve kreatinin düzeyleri ile böbrek dokularında in situ DNA uç işaretleme metodu (TUNEL) ile renal hücre apoptozisi, proliferere nükleer antijen (PCNA) immünoreaktivitesi ile renal hücre proliferasyonu ve ayrıca renal histopatoloji değerlendirildi.

**Bulgular:**

Deneklerde STZ aracılığı ile diyabetin indüksiyonu, böbrek dokusunda histopatolojik skor ile glomerüloskleroz indeksinde, serum üre düzeyinde, TUNEL pozitif apoptotik tübüler ve glomerüller hücre sayısında anlamlı derecede artışa neden olurken, renal tübüler PCNA immünoreaktivitesinde azalmaya, glomerüllerde ise artışa neden oldu. Quercetin desteği böbrek dokusunda ortaya çıkan histopatolojik değişiklikleri, renal hücrelerin apoptosis aracılı ölümünü ve PCNA immünoreaktivitesindeki değişiklikleri önemli ölçüde engelledi.

**Sonuçlar:**

Bu çalışmanın bulguları, quercetin STZ ile indüklenen diyabetin erken dönemlerinde, sıçan böbrek dokusunda açığa çıkan fonksiyonel ve histopatolojik değişiklikleri, renal hücre apoptozisini baskılamak, hücre proliferasyonunu düzenlemek suretiyle diyabetik nefropatinin tedavisinde faydalı olabileceğini ileri sürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** apoptozis, nefropati, sıçan, streptozotosin, quercetin

**P105****Vildagliptin, yenidoğan STZ-diyabetik sıçan karaciğerinde dejenerasyonu engeller ve oval hücre aracılı rejenerasyonu uyandır**

Melek Ozturk<sup>1</sup>, Fatma Kaya Dağıstanlı<sup>1</sup>, Gamze Argün Kürüm<sup>1</sup>, Ayşe Seda Akdemir<sup>1</sup>, Merve Anapalı<sup>1</sup>, Gamze Tanrıverdi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**Amaç:** Karaciğer hastalıklarının başlıca nedenlerinden birisi Tip-2 diyabettir. Karaciğer hasarında myeloperoksidaz (MPO) ve TGF- $\beta$  artışı gözlenir. Kronik karaciğer hastalıkları ve glikoz intoleransının gelişimi ile dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) arasında ilişkili bulunmuştur. Bir DPP-4 inhibitörü olan Vildagliptin (VG), insülin sekresyonunu ve plazma glukoz seviyelerini düzenler. Hem hepatositlerin hem de safra kanalı hücrelerinin öncülleri olarak hepatik oval (Ov) hücreler karaciğer rejenerasyonunun göstergesidir. Bu çalışmada yenidoğan STZ-diyabetik ( $\gamma$ -STZ) sıçanlarda, diyabetik karaciğer hasarından sonra uzun süreli VG tedavisinin karaciğer hasarı ve rejenerasyonu üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada Wistar albino sıçanlardan dört grup oluşturuldu; (1) kontrol, (2) diyabetik ( $\gamma$ 2-STZ) (STZ; 100mg/kg, ip doğumun sonra ikinci günü enjekte edildi), (3) VG uygulanan diyabetik ( $\gamma$ 2-STZ+VG) (VG; 60mg/kg/gün, oral 28 gün) ve (4) sadece VG (VG; 60 mg/kg/gün, 28 gün boyunca oral). Tüm grupların vücut ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri ölçüldü. Parafine gömülü karaciğer doku kesitlerine H&E, Sirius-kırmızısı ve PAS boyamaları yapıldı. Ayrıca Ov-6 (hepatik öncül hücreler için), PCNA (proliferasyon indeksi için), MPO ve TGF- $\beta$  (doku hasarını saptamak için) antikorları ile immün histokimyasal boyama yapıldı.

**Bulgular:** Kan glukoz seviyeleri  $\gamma$ 2-STZ grupta diğer gruplara göre anlamlı olarak artmıştı. Diyabetik grupta lenfositik infiltrasyon ve artmış kollajen lifleri, ayrıca çoğu hepatositte sitoplazmik vakuolizasyon, azalmış glikojen ve binükleer morfoloji saptandı. Diyabetik sıçanlarda TGF- $\beta$  ve MPO ekspresyonlarının belirgin olarak arttığı, VG tedavisi yapılan diyabetiklerde azaldığı saptandı.  $\gamma$ 2-STZ grubunda, Ov-6 immun-pozitif hücrelerin periportal bölgede ve septalarda yerleştikleri gözlemlendi.  $\gamma$ 2-STZ+VG grubunda ise Ov-6 immun-pozitif hücreler yoğun olarak safra kanalı epitel hücreleri arasında, safra kanallarının periferinde ve karaciğer parankiması içinde tek tek dağılmış olarak saptandı. PCNA indeksi  $\gamma$ 2STZ+VG ve sadece VG gruplarında  $\gamma$ 2-STZ grubuna kıyasla belirgin olarak artmıştı.

**Sonuç:** Sonuçlarımız, uzun süreli VG tedavisinin yenidoğan STZ diyabetik sıçanlarda hiperglisemiyi, MPO ve TGF- $\beta$  ekspresyonunu azaltarak karaciğer dejenerasyonlarını ve fibrozisi önlediğini, DPP4 inhibisyonunun hepatosit proliferasyonunu artırdığını ve oval hücreler aracılığı ile karaciğer rejenerasyonuna katkıda bulunduğunu göstermiştir. DPP-4 inhibisyonu, diyabetik karaciğer hasarının tedavisi ve rejenerasyonunda yeni bir terapötik yaklaşım olarak düşünülebilir.

**Anahtar Kelimeler:** yenidoğan-STZ-diyabeti, Karaciğer, TGF- $\beta$ , Ov-6, rejenerasyon



**P106****Hirudinin otolog yağ grefti yaşayabilirliği üzerine etkisi**

Polat Yiğit<sup>1</sup>, Deniz Billur<sup>2</sup>, Pınar Bayram<sup>3</sup>, Hilal Nakkaş<sup>4</sup>, Şule Kızıl<sup>2</sup>, Belgin Can<sup>2</sup>, Zeki Can<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Yenimahalle Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>3</sup>Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars

<sup>4</sup>Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>5</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Otolog yağ grefti uygulaması kişinin kendinden alınan yağ dokusunun tekrar vücutta belli bir bölgeye enjekte edilmesi prensibine dayanan bir dolgu yöntemidir. Öncelikle rekonstrüktif amaçlı olarak yaygınlaşmış olan otolog yağ grefti uygulaması, günümüzde yaygın olarak estetik amaçlı kullanılmaktadır. Uygulama diğer dolgu teknikleriyle karşılaştırıldığında yabancı cisim reaksiyonu, kimyasal yan etkiler, alerjik reaksiyonlar gibi komplikasyonların az görülmesiyle üstünlük sağlar. Ancak otolog yağ greftleri optimal koşullar sağlansa bile ön görülemeyen tutunma oranlarına sahiptir. Otolog yağ grefti üzerinde yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu tutunma oranını arttırmaya yönelik olup çalışmalarda alıcı sahanın damarlanmasındaki artışın yağ grefti yaşayabilirliğini arttırdığı gösterilmiştir. Hirudin, sülükten elde edilen ve enjekte edildiği bölgede VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) artışıyla çevre dokunun kanlanmasını arttıran bir maddedir. Biz de çalışmamızda hirudin ile ön muamele edilen alıcı sahanın kanlanmasını arttırmayı ve bu yolla yağ grefti yaşayabilirliği üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu amaçla 20 adet Wistar Albino erkek rat kontrol ve deney olarak 2 gruba ayrıldı. Donör saha olarak sağ inguinal yağ yastıkçığı, alıcı saha olarak da skalp derisi kullanıldı. Deney grubunda alıcı sahaya gün aşırı olacak şekilde 3 kez 2 anti-trombin ünite hirudin enjeksiyonu uygulanırken kontrol grubuna aynı miktar serum fizyolojik verildi. Alıcı sahanın hazırlanmasından bir hafta sonra, donör sahadan alınan yağ grefti bölgeye yerleştirildi. Yerleştirilen yağ greftleri 8 hafta sonra eksizye edilerek rutin histolojik doku takip aşamalarından geçirildi. Elde edilen kesitler hematoksilin-eozin ile boyanarak adiposit yaşayabilirliği, yağ nekrozu, kist oluşumu, fibrozis, inflamasyon ve doku bütünlüğü bakımından skorlandı. Skorum için değerler %0; (-) yok, %1-20; (+1) az, %21-40; (+2) azdan ortaya, %41-60; (+3) orta, %61-80; (+4) ortadan şiddetliye ve %81-100; (+5) şiddetli olarak belirlendi. Vaskülarizasyon değerlendirmesi için nokta sayım tekniği kullanılarak her bir örnek için P nokta değeri elde edildi.

**Bulgular:** Histolojik incelemede yağ greftlerinde periferik alanda yaşayan yağ hücre sayısının deney grubunda yüksek olduğu gözlemlendi. Değerlendirme sonucunda adiposit yaşayabilirliği, yağ dokusu bütünlüğü ve vaskülarizasyon skorlarının deney grubunda yüksek olarak saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Hirudin uygulanmasının deney grubunda nekroz ve kist oluşumu skorlarını istatistiksel olarak kontrol grubuna göre önemli derecede düşürdüğü saptandı.

**Sonuç:** Alıcı sahanın hirudin ile ön muamelesinin yağ grefti yaşayabilirliğini arttırabileceği ve daha fazla denek sayısı ile istatistiksel olarak anlamlı sonuçların ortaya konulabileceği söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** hirudin, yağ dokusu yaşayabilirliği, vaskülarizasyon

**P107**

**Yaşlı sıçanlarda metilgliksal ile oluşturulan endotel hasarına resveratrolün etkisi**

Ecem Türkmen<sup>1</sup>, Ayşe Barutçigil<sup>2</sup>, Asiye Kübra Göksu<sup>1</sup>, Arda Taşatargil<sup>2</sup>, Gamze Tanrıöver<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**Amaç:** Metilgliksal (MGO); hiperglisemik koşullarda ileri glikasyon, ileri lipit peroksidasyonu, glikolitik uçuşu nlerden enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla ortaya çıkan reaktif bir karbonil bileşiktir. MGO'nun diyabetes mellitus, arteroskleroz, yaşlanma ve Alzheimer gibi pek çok hastalığın etiyopatogenezinde sorumlu olduğu bilinmektedir.

Resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene); uçuşu m, şarap, yer fıstığı ve yabanmersininde bulunan, güçlü antioksidan özelliğe sahip polifenolik bir bileşiktir. Anti-oksidan, anti-inflamatuvar, anti-apoptotik etkilerinin yanısıra, endotel ve damar fonksiyonundaki hasarı düzelterek kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yararlı olabileceği gösterilmiştir.

Çalışmamız, vasküler komplikasyonların gelişimiyle ilişkili bir glukoz metaboliti olan MGO'nun endotel fonksiyonları üzerine olumsuz etkilerinden yola çıkarak planlandı. Bu doğrultuda; sıçan aortunda MGO ile indüklenen endotel disfonksiyonuna resveratrolün koruyucu etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmamızda 15 adet 80 haftalık yaşlı wistar sıçanlar kullanıldı. Organ kültürü yapılan aortlar; kontrol grubu için çözücü, MGO grubu için 420 µM MGO ve MGO+Resveratrol grubu için 420 µM MGO ve 30 µM resveratrol ile 24 saat süreyle inkübe edildi. Sonrasında sıçan torasik aortları izole organ banyosuna yerleştirilerek endotel bağımlı gevşeme yanıtları asetil kolin ile ve endotel bağımsız gevşeme yanıtları sodyum nitroprussid ile değerlendirildi. Organ banyosundan alınan aortlar parafin takibe alınıp gömüldü ve eNOS ve fosfo-eNOS proteinlerinin ekspresyonları immunohistokimyasal olarak değerlendirildi. Sonuçlar image J analizi ile tüm gruplar için değerlendirilerek istatistiksel olarak yorumlandı.

**Bulgular:** 24 saat süreyle MGO inkübasyonu aort halkalarında endotele bağımlı gevşeme yanıtlarını bozarken; endotel bağımsız gevşeme yanıtları üzerine anlamlı bir etkisi bulunmadı. Bununla paralel olarak, MGO ile inkübe edilen damar endotellerinde eNOS ve fosfo-eNOS ekspresyonlarının azaldığı görüldü. Resveratrol ile inkübe edilen aort endotellerinde MGO ile indüklenen endotel bağımlı gevşeme yanıtlarındaki bozulmanın kısmen düzeldiği ve eNOS ve fosfo-eNOS ekspresyonlarını kontrole yaklaştırdığı saptandı.

**Sonuç:** İzole organ banyosu sonuçlarından elde ettiğimiz yanıtlar; resveratrol uygulamasının MGO'ya bağlı gelişen endotel disfonksiyonunu önlemede etkili olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, immunohistokimyasal sonuçlarımız da, resveratrolün eNOS ve fosfo-eNOS ekspresyonlarına etkisiyle endotel fonksiyonlarını düzeltebileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, yaşlılarda MGO ile ilişkili kardiyovasküler hasarın önlenmesinde resveratrolün yeni bir terapötik yaklaşım olarak değerlendirilebileceği kanaatindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Metilgliksal, resveratrol, aort, eNOS, fosfo-eNOS

**P108****Temporomandibular eklem dislokasyonunda farklı tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesi**

Pinar Bayram<sup>1</sup>, Uğur Gülşen<sup>3</sup>, Derya Özdemir<sup>2</sup>, Emre Yurttutan<sup>4</sup>, Mehmet Fatih Şentürk<sup>5</sup>, Esra Erdemli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>3</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Zonguldak

<sup>4</sup>Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara

<sup>5</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Isparta

**Giriş:** Temporomandibular eklem (TME) dislokasyonu, kendini sınırlayan kondilin fizyolojik konumundan dışarıya yer değiştirmesiyle gerçekleşmektedir. En yaygın sınıflandırma; akut, kronik ve kronik tekrarlayan dislokasyonlar şeklinde yapılır. Kronik tekrarlayan TME dislokasyonunun etiyolojik faktörleri arasında TME ligamentindeki gevşeklik, TME kapsülünün zayıflığı, kasların spazm veya hiperaktivitesi, travma ve kondilin normal pozisyonuna dönmesini engelleyen anormal çığneme hareketleri sayılabilir. Kronik tekrarlayan eklem dislokasyonları ağrılı olmasından dolayı hastanın hayatını ve yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir. Tekrarlayan TME dislokasyonlarının cerrahi olmayan tedavisinde TME'ye otolog kan enjeksiyonu yapılmakta, fakat rutinde kullanılmamaktadır. Platelet zengin plazma (PRP)'nin platelet konsantrasyonu kandan yüksektir ve büyüme faktörleri içermektedir. Çalışmamızda TME dislokasyonunda; otolog kan ve PRP uygulamasının histopatolojik yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** 12 adet Yeni Zelanda ırkı albino tavşan, PRP ve otolog kan enjeksiyonu yapılmak üzere 2 gruba ayrıldı. Otolog kan enjeksiyonu yapılacak tavşanların femoral arterinden 1.5 ml kan alındı. Alınan kanın 1 ml'si TME'nin üst alanına, 0.5 ml'si ise perikapsüler dokulara enjekte edildi.

PRP gruplarından alınan 6 ml kandan elde edilen PRP'nin 1 ml'si TME'nin üst alanına, 0.5 ml'si ise perikapsüler alana enjekte edildi. Kontrol grubu olarak TME'lerin kontralateral eklemlerine aynı miktarlarda izotonik salin enjekte edildi. Sakrifikasyondan sonra TME diseke edildi, rutin doku fiksasyonu ve dekalsifikasyon işlemlerini takiben parafin bloklara gömüldü. Bloklardan 6 µm kalınlığında kesitler alınarak; kollajen lifleri için Mallory Azan, elastik lifleri için orsein ve retiküler lifler için gümüşleme boyamaları yapılarak fibrozis ve doku reaksiyonları bakımından incelendi.

**Bulgular:** Temporal ve mandibular kemikler arasındaki artiküler fibröz disk ve devamında bulunan retrodiskal ligament incelendiğinde PRP grubunda, özellikle ligamentin hemen altında, muhtemel enjeksiyon bölgesinde ileri derecede inflamasyon artışı izlendi. Bu alanda artmış yağ hücreleri beraberinde inflamatuvar hücreler yaygın olarak alanı istila etmişti. Temporal bölgeye doğru diskin üst kısmında fibrin birikimi gözlemlendi. Fibrozisin, diski bağlayan retrodiskal ligamentin dış yüzeyinden başlayacak şekilde fazlaştığı, buna ilaveten inflamatuvar alan ve yağ hücreleri arasında ondüler şekilde ince kollajen liflerin yayıldığı gözlemlendi.

Otolog kan enjekte edilen grupta yağ hücresi artışı, inflamasyon ve ince kollajen demetler görüldü. Disk altında ona yapışık olarak organize olmuş kollajen demetler ve fibrinin oluştuğu bir bölge dikkat çekti.

İzotonik salin uygulanan grupta diskin bağlandığı bölgeler incelendiğinde, demetler halinde ince kollajen liflerin diskin kemik komşuluklarına bağlandığı görüldü. Bu bölgede yağ hücreleri, az fibrin birikimi gözlenirken, inflamasyon tespit edilmedi. Bağlayıcı kollajen demetlerin ince yapıda olduğu izlendi.

**Sonuç:** Kronik TME dislokasyon tedavisinde, başarı oranını arttırmak amacıyla PRP uygulamasının, otolog kan enjeksiyonuna alternatif bir seçenek olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Otolog kan, PRP, TME

**P110**

**Levetirasetam Uygulanan Gebe Sıçanların Yavrularında Karaciğer Toksisitesi**

Cansu Kaya<sup>1</sup>, Birgül Gür<sup>1</sup>, Esin Yuluğ<sup>1</sup>, Ferhat Uzun<sup>1</sup>, Nezaha Senem Arı<sup>1</sup>, Mine Kadioğlu Duman<sup>2</sup>, İrem Çavuşoğlu<sup>2</sup>, Engin Yenilmez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Trabzon

<sup>2</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Trabzon

**Amaç:** Bu çalışmada, epilepsi tedavisinde yaygın olarak kullanılan ikinci nesil antikonvülsan Levetirasetam'ın (LEV) gebe sıçanlara uygulanması sonucu, sıçan yavrularının karaciğerinde oluşabilecek hasarın histolojik yöntemler ile incelenmesi amaçlandı.

**Yöntem:** Çalışmada ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 15 adet yetişkin düzenli siklus gösteren Sprague Dawley türü dişi sıçan çiftleşmeye bırakıldı. Gebelik tayini yapıldı. Gebe olan sağlıklı 15 adet dişi sıçan 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir işlem uygulanmadı. LEV-A grubu (gebeliğin 1. trimesteri; 0.-7.gün), LEV-B grubu (gebeliğin 2. trimesteri; 8.-14. gün), LEV-C grubu (gebeliğin 3. trimesteri; 15.-21. gün) ve LEV-D grubuna tüm gebelik süresince gavaj yolu ile 1ml levetirasetam (100 mg/kg= 1 ml) uygulandı. Deney sürecinin sonunda yenidoğan sıçanlar servikal dislokasyon yöntemi ile dekapite edildi. Abdominal bölgenin altından sternuma kadar olan orta hat kesilerek karaciğer örnekleri çıkarıldı. Hematoksilen-Eozin boyaması ve TUNEL teknikleri ile hazırlanan örnekler KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Stereoloji laboratuvarında bulunan ışık mikroskopunda değerlendirildi.

**Bulgular:** Kontrol grubuna ait yavru sıçanların karaciğerleri incelendiğinde hepatositlerin diziliminin, sinüzoidal boşlukların, periasiner ve portal bölgenin normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi.

LEV-A grubunda portal bölgeden vena sentralisin çevresine kadar ilerleyen bölgede az miktarda mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlandı. LEV-B grubunda mononükleer hücre infiltrasyonu ve hepatositlerde vakuolar hidropik dejenerasyon görüldü. LEV-C grubunda, LEV-A ve LEV-B gruplarına nazaran portal bölgede yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu görüldü. LEV-D grubundaki hepatositlerde ise vakuolar hidropik dejenerasyon, mikroveziküler yağlanma, eozinofili artışı ile portal bölgede mononükleer hücre infiltrasyonuna izlendi.

Karaciğer hücre apoptozunu değerlendirmek için TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) tekniği ile boyanan dokularda apoptotik indeks (AI) hesaplandı. AI sonuçları One-Way ANOVA testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. AI'nın kontrol grubuna göre tüm gruplarda arttığı görüldü. Bu artış LEV-C ve LEV-D gruplarında anlamlı iken ( $p < 0.05$ ), LEV-A ve LEV-B gruplarındaki artış anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ).

**Sonuç:** Çalışma sonucunda elde edilen veriler, gebeliğin 3. trimesteri ve tüm gebelik boyunca uygulanan levetirasetamın karaciğer üzerine toksik etkisi olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Toksikite, levetirasetam, trimester, karaciğer, apoptoz

**P111**

**Levetirasetama maruz kalan gebe sıçan yavrularının midelerindeki histolojik değişiklikler**

Birgöl Gür<sup>1</sup>, Cansu Kaya<sup>1</sup>, Ferhat Uzun<sup>1</sup>, Gökşen Derya Reis<sup>1</sup>, İrem Çavuşoğlu<sup>2</sup>, Nuri İhsan Kalyoncu<sup>2</sup>, Engin Yenilmez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Trabzon

<sup>2</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Trabzon

**Amaç:** Bu çalışmada, epilepsi tedavisinde kullanılan Levetirasetam'ın (LEV) gebe sıçanlara uygulanması sonucu, sıçan yavrularının midelerinde oluşabilecek toksik etkilerin histopatolojik incelenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmada ağırlıkları 200-250 gr olan 15 adet yetişkin Sprague Dawley türü dişi sıçan çiftleşmeye bırakıldı. Gebelik tayini yapıldı. Gebe olan sağlıklı dişi sıçanlar 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir işlem uygulanmadı. LEV-A (gebeliğin 1. Trimesteri; 0.-7.gün), LEV-B (gebeliğin 2. trimesteri; 8.-14. gün), LEV-C (gebeliğin 3. trimesteri; 15.-21. gün) ve LEV-D (tüm gebelik süresince) gruplarına gavaj yolu ile levetirasetam 100 mg/kg= 1 ml uygulandı. Deney sürecinin sonunda yenidoğan sıçanlar servikal dislokasyon yöntemi ile dekapite edildi. Abdominal bölgenin altından sternuma kadar olan orta hat kesilerek mide örnekleri çıkartıldı. Örnekler hematoksilen-eozin boyama ve TUNEL teknikleri ile hazırlanarak ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Apoptotik indeksi (AI), One-Way ANOVA testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi ve p< 0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

**Bulgular:** Hematoksilen-eozin ile boyanan midelerde; kontrol grubu sıçanların mide mukozası ve normaldi. LEV-A ve LEV-B grubuna ait dokularda kontrol grubundan farklı herhangi bir histolojik bulguya rastlanmadı. LEV-C grubuna ait mide epitelinde vakuolizasyon ve mide bezlerinde dilatasyon izlendi. LEV-D grubuna ait sıçanlarda, LEV-C grubuna karşı mide mukozasında kalınlaşma ve epitel hücre nükleuslarında piknozis izlendi. Ayrıca LEV-C grubuna göre daha yaygın epitel hücrelerinde vakuolizasyonlar ve yer yer eozinofili gözlemlendi.

Mide hücre apoptozunu değerlendirmek için TUNEL tekniği ile boyanan dokularda apoptotik indeks (AI) hesaplandı. Apoptotik indeksin kontrol grubuna göre tüm gruplarda arttığı görüldü. Bu artış LEV-B, LEV-C ve LEV-D grubunda anlamlı bulunurken (p<0.05), LEV-A grubundaki artış anlamlı bulunmadı (p>0.05).

**Sonuç:** Çalışma sonucunda elde edilen veriler, gebelik boyunca levetirasetama maruz kalan sıçan yavrularının mide epitel hücrelerinde apoptoz artışı olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Toksikite, mide, levetirasetam, trimester, apoptoz

**P112****Yüksek Yağlı Diyetle İndüklenmiş Böbrek ve Mesane Hasarı Üzerine Egzersizin Koruyucu Etkileri**

Merve Açikel Elmas<sup>1</sup>, Yeşim Gezer<sup>2</sup>, Yeşim Özbabalık<sup>2</sup>, Sevde Arıkan<sup>2</sup>, Alperen Akbaba<sup>2</sup>, Özlem Bingöl Özakpınar<sup>3</sup>, Meltem Kolgazi<sup>4</sup>, Göksel Şener<sup>5</sup>, Feriha Ercan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AbD, İstanbul, Türkiye; Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AbD, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dönem III Öğrencileri

<sup>3</sup>Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya AbD, İstanbul, Türkiye

<sup>4</sup>Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AbD, İstanbul, Türkiye

<sup>5</sup>Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji AbD, İstanbul, Türkiye

**Giriş:** Obezite, özellikle batı ülkelerinde artış gösteren majör epidemik sorunlardan biridir. Obezite, diyabet ve metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, alkole bağlı olmayan karaciğer hastalıkları, erektil disfonksiyon, glomerulopati ve aşırı aktif mesane sendromu gibi ürogenital sistem patogenezinin neden olan önemli bir risk faktörleridir. Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı ile gözlenir. ROS'un obez bireylerde arttığı ve üriner sistem hastalıklarında öne çıkan bir bulgu olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmalar egzersizin obeziteden kaynaklanan sağlık problemlerinin azaltılmasında etkili olduğunu göstermektedir. Egzersiz obezite kaynaklı hastalıkların oluşturduğu semptomları engellemek veya tedavi etmek amacı ile uygulanan farmakolojik olmayan bir müdahaledir.

**Amaç:** Bu çalışmada yüksek yağlı diyetle indüklenmiş böbrek ve mesane hasarı üzerine yüzme egzersizinin koruyucu etkilerini araştırmak amaçlandı.

**Materyal-Metod:** Sprague Dawley cinsi erkek sıçanlar 18 hafta boyunca standart (STD grubu; %6 yağ içeren yem) veya yüksek yağlı diyet (YYD grubu; %45 yağ içeren yem) ile beslendiler. Her iki gruptaki sıçanların yarısına son 6 hafta boyunca yüzme egzersizi (EGZ grubu; günde 1 saat, haftada 5 gün) uygulandı. 18 haftanın sonunda anestezi altında kalpten alınan kan örneklerinin serumlarında total kolesterol ve trigliserit değerlerine bakıldı. Böbrek ve mesane dokuları rutin ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için hazırlandı. Ayrıca dokularda malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), Interlökin-6 (IL-6) ve Tümör Nekrozis Faktör alfa (TNF-alfa) seviyeleri biyokimyasal olarak değerlendirildi. Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** STD grubunda böbrek doku örneklerinde normal morfoloji gözlenirken, STD+EGZ grubunda hafif düzeyde vasküler konjesyon görüldü. YYD grubunda; Bowman kapsülü epitelyumunda hasar ve genişleme, yer yer glomerül hasarı ve bazı tübüllerin lümeninde hücre artıkları görüldü. YYD+EGZ grubunda ise hafif düzeyde vasküler konjesyon, glomerul ve tübül hasarı gözlemlendi. Mesane örneklerinde ise; STD ve STD+Egz gruplarında normal morfoloji gözlenirken, YYD grubunda; yüzey epitelyumunda yer yer açılma ve dökülme, vasküler konjesyon ve mast hücrelerinde artış ve degranülasyon görüldü. YYD+EGZ grubunda ise hafif düzeyde yüzey epitelyumunda dökülme, vasküler konjesyon ve daha az sayıda degranüle olmuş mast hücreleri gözlemlendi. Total kolesterol ve trigliserid seviyelerinin STD grubuna göre YYD grubunda yükseldiği gözlenirken, YYD+EGZ grubunda ise STD grubuna yakın bulundu. YYD grubunda STD grubuna göre MDA, IL-6 ve TNF-alfa seviyelerinin yükseldiği, GSH seviyesinin düştüğü, YYD+EGZ grubunda ise STD grubuna benzer olduğu gözlemlendi.

**Sonuç:** Yüksek yağlı diyet ile indüklenmiş böbrek ve mesane hasarı oksidatif hasarın yükselmesine bağlı olarak gelişmiş olabilir. Yüzme egzersizi ile histolojik hasarın ve oksidatif stres parametrelerinin geriye dönmüş olduğu gözlemlendiğinden orta düzeyde uygulanan yüzme egzersizi oksidan hasar değerlerinin düzenlenmesinde rol oynayabilir.

Bu çalışma, Marmara Ü. BAP biriminden (SAG-B-110117-0003) desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Obezite, egzersiz, mesane, böbrek, oksidatif stres

**P113****Kronik Deltametrin uygulaması sonrasında karaciğerde Sirinjik asitin koruyucu etkisinin araştırılması**

Gizem Gamze Taş<sup>1</sup>, Leyla Satı<sup>1</sup>, Özlem Babacan<sup>1</sup>, Eren Öğüt<sup>2</sup>, Rahime Şekerci<sup>2</sup>, Fatoş Belgin Yıldırım<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Antalya

**Amaç:** Alfa siyano tip 2 sentetik piretiroidlerinden olan deltametrin (DTM) memelilerde oksidatif stres yoluyla patolojik etkilere yol açabilen, ülkemizde de yaygın bir şekilde kullanılan bir insektisittir. Yapılan çalışmalarda DTM'ye maruziyetin karaciğerde histopatolojik değişikliklerle birlikte hepatotoksositeye yol açtığı rapor edilmiştir. Sirinjik asit (SA) ise özellikle antioksidatif, antimikrobiyal, immünomodülatör ve antiendotoksik özellikleri ile bilinen bir ajandır. Farklı hayvan modellerinde oluşturulan karaciğer hasarı modellerinde, koruyucu özellik gösterdiği de ifade edilmektedir. Bu noktadan hareketle mevcut çalışmada, SA'nın, DTM kaynaklı hepatotoksositeye karşı koruyucu etkisinin olup olmadığının araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla, karaciğerdeki hepatosellüler proliferasyon indeksleri kullanılmıştır.

**Yöntem-Gereçler:** Deneylerde Wistar albino Rattus norvegicus cinsi erişkin erkek ratlar kullanılmıştır. Kontrol grubundaki ratlara 0.5 ml mısır yağı oral gavaj yoluyla 2 ay boyunca her gün verilirken; DTM grubundaki ratlara 0.5 ml mısır yağı ve 1.28 mg/kg DTM; SA grubundaki ratlara ise 0.5 ml mısır yağı ve 25 mg/kg SA; DTM+SA grubundaki sıçanlara ise 0.5 ml mısır yağı ile DTM (1.28 mg/kg) ve SA (25 mg/kg) birlikte 2 ay boyunca her gün aynı saatlerde gavaj yoluyla uygulanmıştır (n=6/grup). Deney süreleri tamamlanınca karaciğer doku örnekleri 10%'luk formalin ile fikse edilerek, rutin doku takibi işlemlerine tabi tutulmuştur. İmmünohistokimya için parafin kesitler alınarak, kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer kesitlerinde Ki67 proteininin ekspresyon ve lokalizasyonu değerlendirilmiştir. Kesitler üzerinde Ki67 pozitif hücreler sayılarak, hepatosellüler proliferasyon indeksleri çıkarılmış ve gruplar arasında kantitatif karşılaştırmalar yapılmıştır.

**Bulgular:** Ki67 pozitif hücre sayıları esas alınarak elde edilen hepatosellüler proliferasyon indeksleri karşılaştırıldığında; kontrol grubuna göre (%32±1.15), DTM grubunda (%4.0±0.52) ciddi düzeyde azalma olduğu tespit edilmiştir. Sadece SA uygulaması sonrasında %11±1.05 olan proliferasyon indeksi, DTM+SA grubunda %10±0.93 olarak belirlenmiştir. Kontrol gruplarına göre DTM, SA ve DTM+SA grupları arasında ve SA ile DTM grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmüştür (P = <0.001). Bununla birlikte SA ve DTM+SA grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir farklılık izlenmemiştir (P = 0.221).

**Sonuçlar:** Elde ettiğimiz bulgularımıza göre, bir antioksidan olarak SA uygulamasının, DTM etkisiyle görülen hepatosellüler proliferasyondaki bozulmayı iyileştirmede ve koruyucu etkisinin sınırlı olduğu ortaya konulmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Karaciğer, sirinjik asid, deltametrin, ki67, proliferasyon

**Anahtar Kelimeler:** Karaciğer, sirinjik asid, deltametrin, ki67, proliferasyon

**P114****Siçanlarda Metotreksat İle İndüklenen Hepatotoksisiteye Karşı N -Asetilsistein'in Koruyucu Etkisi**

Tuba Demirci<sup>1</sup>, Semin Gedikli<sup>2</sup>, Nurinnisa Öztürk<sup>3</sup>, Nevra Aydemir Celep<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Erzurum

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Erzurum

<sup>3</sup>Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum

**Amaç:** Bu çalışmada, metotreksat (MTX) ile indüklenen karaciğer hasarı üzerine N-asetilsistein (NAC)'in olası tedavi edici etkisinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılması amaçlandı. **Gereç ve Yöntemler:** Bu amaçla 24 erkek siçan; kontrol, MTX, NAC+MTX ve NAC şeklinde rastgele 4 gruba ayrıldı. Kontrol ve MTX grubundaki siçanlara 7 gün %0,09'luk NaCl solüsyonu i.p olarak verildi ve MTX grubuna 4. gün tek doz MTX (20 mg/kg) i.m uygulandı. NAC+MTX ve NAC gruplarına ise 7 gün gavaj yoluyla NAC (50 mg/kg) verildi ve NAC+MTX grubuna 4. gün tek doz MTX (20 mg/kg) uygulandı. Sekizinci gün siçanlar genel anestezi altında sakrifiye edilerek kan örnekleri ve karaciğer dokuları alındı. Kan örneklerinde, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve gama-glutamil transferaz (GGT) enzim seviyeleri biyokimyasal olarak belirlendi. Taze karaciğer dokularından alınan frozen kesitler lipid birikimini belirlemek amacıyla Oil Red O boyasıyla boyandı. Rutin histolojik takip prosedürünün ardından parafin bloklara gömülen karaciğer dokularından alınan kesitlere Crossman'ın modifiye Mallory üçlü boyası uygulandı ve hepatik hasarı değerlendirmek için bir skorlama sistemi kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyama ile Bax ve Bcl-2 immünreaktivitesi semikantitatif olarak değerlendirildi, her grup için immünreaktif skor (IRS) belirlendi. Apoptozisin tespit edilebilmesi için de TUNEL yöntemi kullanıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar Kruskal-Wallis Test ve Mann-Whitney-U Test kullanılarak gerçekleştirildi.  $p < 0,05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi.

**Bulgular:** MTX grubunda AST, ALT ve GGT enzim seviyeleri diğer gruplara göre anlamlı derecede artmıştı ( $p < 0,05$ ) ve NAC'ın, artmış enzim seviyelerinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu görüldü ( $p < 0,05$ ). Histolojik incelemede, kontrol grubuna ait karaciğer kesitlerinde hepatositler, portal alan ve sinüzoidler normal histolojik görünüm sergiliyordu. MTX grubunda hepatositlerde sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon, sinüzoidal alanda ise dilatasyon ve konjesyon izlendi. Yine MTX ile birlikte NAC uygulanması ile bu hasarın azaldığı tespit edildi. Histopatolojik hasar skoru MTX grubunda, diğer gruplardan anlamlı derecede fazlaydı ( $p < 0,05$ ) ve NAC+MTX grubunda skor MTX grubuna kıyasla belirgin bir şekilde düşüktü ( $p < 0,05$ ). Kontrol ve NAC gruplarına ait Oil Red O ile boyanan kesitlerde belirgin bir lipid birikimi görülmezken, MTX grubunda bol miktarda lipid damlacığının varlığı açıkça görüldü. NAC kullanımının ise bu durumu minimum düzeye indirdiği tespit edildi. İmmünohistokimyasal olarak, MTX grubunda hem Bax hem de Bcl-2 için immünreaktif skor (IRS) diğer üç gruptan anlamlı derecede farklıydı ve MTX ile birlikte verilen NAC, Bax immünopozitivitesini azaltırken, Bcl-2 immünopozitivitesini arttırdı. Ayrıca TUNEL pozitif hücreler, MTX grubuna göre NAC+MTX grubunda daha azdı. NAC grubunda ise hem biyokimyasal hem de histopatolojik ve immünohistokimyasal değerler kontrol grubu ile benzerlik gösteriyordu. **Sonuç:** Elde edilen bulgular, NAC'ın MTX ile indüklenen karaciğer hasarını azaltıcı etkisi olabileceği görüşünü desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** hepatotoksisite, histopatoloji, metotreksat, N-asetilsistein, TUNEL



**P115**

**Kardeş Kromatid Değişiminin = KKD (Sister Chromatid Exchange = SCE) Oksidatif Strese Bağlı Doku Hasarının Belirlenmesinde Kullanımı**

Özgür Eroğlu<sup>1</sup>, İsmail Mert<sup>2</sup>, Serdar Yüksel<sup>3</sup>

<sup>1</sup>SBÜ. Van Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Androloji Ana Bilim Dalı, Van

<sup>2</sup>Wayne State University, Department of Obstetrics and Gynecology, Detroit, United States

<sup>3</sup>T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Kiraz MTAL, İzmir

Giriş: Kardeş kromatid değişimi (KKD) herhangi bir kromozomun kardeş kromatidleri arasındaki resiprokal değişimlerdir. Değişimler aynı lokuslarda meydana geldiği için kromozom morfolojisinde bir değişiklik olmaz. Değişimlerin sebebi DNA'daki kırılmalardır ve bu kırılmalar karşılıklı kardeş kromatid değişimleri ile giderilir. KKD, ya bazı maddelerin DNA'ya kovalent bağlanması ile ya da DNA tamir mekanizmalarına müdahale olması ile indüklenir. Oksidatif stresin ve toplam oksidant miktarının ve yüksek oksidant seviyesine bağlı olarak artan serbest radikalleri, malondialdehit ve F2 isoprostan gibi lipid peroksidasyonu ürünleri nin DNA tamir mekanizmalarına bir şekilde etki ettiği, KKD frekansını artırdığı düşünülmektedir.

Amaç: KKD belirlemek için doku kültürü ve sitolojik preparat hazırlanması ve boyama aşamalarını optimize etmek, İntrauterin gelişme geriliği ve preeklampsili hastalarda oluşan oksidatif strese bağlı DNA hasarını KKD yöntemi ile göstermek.

Materyal-Metod: Bu çalışmada kan dokusundan sağlanan lenfositler bir timin analogu olan Bromo Deoksi Üridin (BRDU) ve normal timin içeren ortamda kültüre edilerek sitolojik preparatları hazırlandı. Yayma preparatları floresan bir boya olan Bisbenzimid ve Giemsa ile boyandı ve mikroskopik analizleri gerçekleştirildi. İntra uterin gelişim geriliği (IUGG) ile preeklampsili gebe hastaların kan örnekleri hasta grubu olarak belirlendi, kontrol grubu olarak normal gebeler seçildi. Optimize edilen hücre kültürü ve boyama yöntemi: Gereklî çözeltiler: Brdu Stok: 15,37 mg. BRDU + 10 ml distile su (filtre edilir), 32258 Hoechst stok solusyonu: 0,5 mg/ml (50mikrogr/ml) bisbenzimid distile su ile hazırlanır (+4 °C'de karanlıkta 2 hafta dayanır), 32258 Hoechst çalışma solusyonu: 1 ml hoechst stok solusyonu + 99 ml PBS solüsyonu. İlk önce 10 ml kültür ortamına (PB MAX Gibco. USA) 0,1 ml BRDU + 1 ml heparinli kan eklenir. 70 saat 37 °C'de inkübe edilir. Boyama aşamaları: 1. PBS de 5 dk. (oda ısısı) karanlık ortamda bekletilir, 2.PBS Hoechst solusyonunda 20 dk. (oda ısısı) karanlık ortamda bekletilir, 3. UV ışığında 13 cm yükseklikte PBS solusyonunda 25 dk. bekletilir Distile sudan geçirilir, 4. 65 °C de 2x SSC solusyonunda 15 dk. su banyosunda bekletilir, 5. distile sudan geçirilir, 6. %5 giemsa da 20 dk. boyanır, 7.distile sudan geçirilir. Preparat kurutulur 10x100 büyütmede ışık mikroskopunda incelenerek preparat fotoğrafları çekilir.

Bulgular-Sonuç: IUGG gösteren hastalarda KKD frekansının anlamlı biçimde arttığı (7,5 e karşı 8,81, p = 0,02, n = 57) tespit edildi. Yukarıda belirtilen optimize edilmiş kültür ve boyama protokolünün başarılı ve pratik olduğu belirlendi (Şekil 1. ve Sekil 2.). Ayrıca kemik iliği gibi üretilebilen dokularda da DNA hasarının belirlenebilmesinde KKD yönteminin kullanılmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

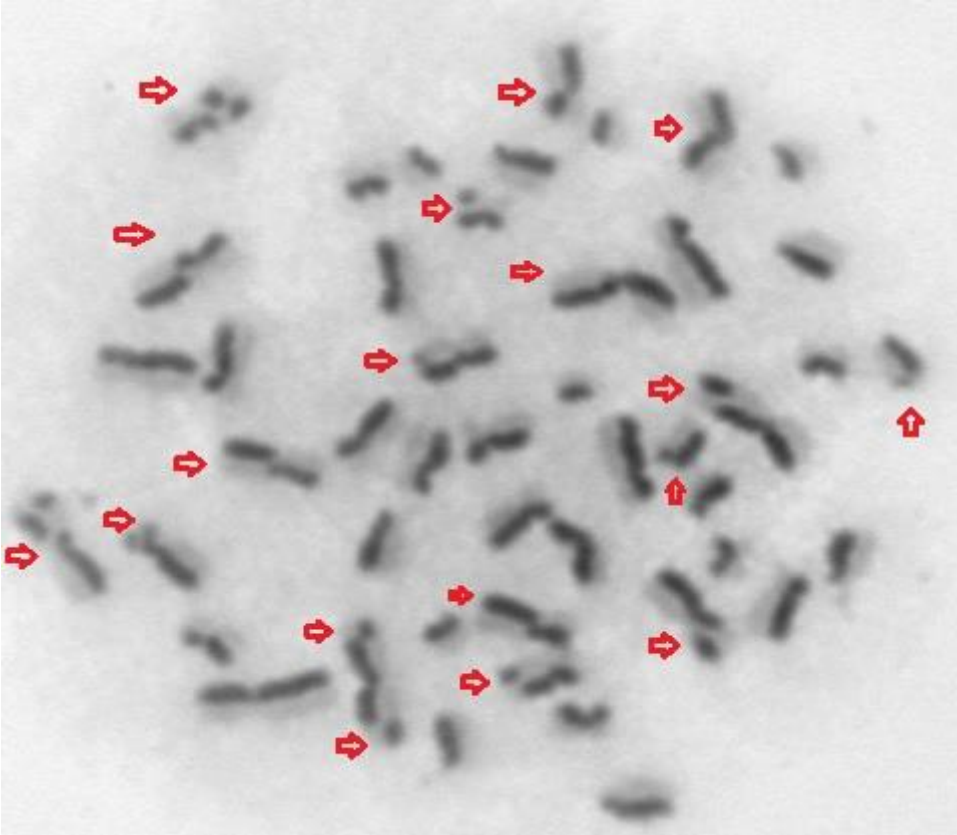
**Anahtar Kelimeler:** Sitoloji, Oksidatif Stres, Kardeş Kromatid Değişimi

**Şekil 1.**



*Kontrol grubu hastalarından birinde kromatit kırık sayısı 5 olan bir metafaz alanı*

**Şekil 2.**



*IUGG hastalarından birinde kromatit kırık sayısı 21 olan bir metafaz alanı*

**P116**

**Eş zamanlı yağ grefti uygulamasının insizyonel skar oluşumuna etkisi**

Bilgen Katipoğlu Erenoğlu<sup>1</sup>, Şule Kızıl<sup>2</sup>, Pınar Bayram<sup>3</sup>, Hilal Nakkaş<sup>4</sup>, Deniz Billur<sup>2</sup>, Çağıl Meriç Erenoğlu<sup>1</sup>, Belgin Can<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi, Kahramanmaraş

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>3</sup>Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars

<sup>4</sup>Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**Giriş:** Yara iyileşmesi; inflamasyon, anjiyogenez, doku gelişimi ve yeniden şekillenme süreçlerini kapsar. Yara iyileşmesi genellikle onarım ile sonuçlanmaktadır. Onarım sürecinin son hali ise skar oluşumdur. Skar dokusunun kalitesi hem işlevsel hem de kozmetik açıdan önemlidir. Yağ grefti kolay elde edilebilir ve oldukça fazla donör alana sahip bir mezensimal kök hücre kaynağı olup kompleks yaralar, yanıklar ve skarlarda anjiyogenez tetiklemesi ve sitokinler ile büyüme faktörleri salgılatması sonucu yara iyileşmesini tetiklediği için kullanılmaktadır. Bu çalışmada, yara iyileşmesinin erken dönemlerinde yağ enjeksiyonu yapılarak yara iyileşme sürecinin hem kozmetik açıdan kabul edilebilir hem de işlevsel sorun yaratmayacak şekilde sonuçlandırılması hedeflenmiştir.

**Gereç-Yöntem:** Bu çalışmada 16 adet Wistar Albino erkek sıçan kontrol ve deney grupları olarak 2 gruba ayrıldı. Deney grubundaki 8 sıçanın inguinal yağ yastıkçığından alınan yağ greftleri, skalp üzerinde insizyonla açılan 1 cm'lik cebe yerleştirildi. Kontrol grubunda ise sadece skalp üzerinde insizyonla oluşturulan 1 cm'lik cep sonrasında sütür ile kapatıldı. Deneyden 3 hafta sonra skar yüzey alanları ölçülerek bölgeden alınan örnekler rutin histolojik takip işlemlerinden geçirildi. Hematoksilin-Eozin ve Masson trikrom boyaları ile boyanarak epidermis-dermis kalınlıkları ölçülen kesitler kollajen düzeni, fibroblast yoğunluğu ve anjiyogenez açısından değerlendirildi. İmmünohistokimyasal inceleme için vimentin, kollajen 1 ve kollajen 3 antikorları kullanıldı. Kesitlerden alınan görüntüler, ImageJ programı kullanılarak sayısallaştırıldı ve istatistiksel olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Skar alanlarının ölçümü sonucunda yağ grefti uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı ölçüde küçülme belirlendi. Ölçümlerde özellikle dermis kalınlığının deney grubunda arttığı ancak istatistiksel olarak kontrol grubu ile arasında fark olmadığı görüldü. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla birlikte kollajen demetlerinin düzeni ve anjiyogenez skorları deney grubunda daha yüksek gözlemlendi. İmmünohistokimya analiz sonuçları açısından değerlendirildiğinde ise kollajen 1 ifadesinin deney grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı.

**Sonuç:** İnsizyonla eş zamanlı uygulanan yağ greftinin kollajen tip I sentezini arttırdığı ve görünür skar alanını azalttığı sonucuna varıldı. Kollajen sentezinin artması dermisin daha erken dönemde insizyon öncesi dayanıklılığına yakın düzeye ulaştığı anlamına gelmektedir. Skar alanları arasındaki anlamlı fark da kozmetik açıdan daha iyi sonuçlar elde edildiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** kollajen, skar dokusu, yağ grefti, yara iyileşmesi

**P117****Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi 1., 2. ve 3. Sınıf Öğrencilerinin Histoloji ve Embriyoloji Disiplinine Yaklaşımları**

Zekiye Gülfem Ataç, Özlem Delen, Deniz Muratoğlu, Zeynep Mercan, Efecan Aygül, Melike Sapmaz Metin, Yeter Topçu Tarladaçalışır, Gülnur Kızılay Özfidan  
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Edirne

**Amaç**

Günümüzde tıp eğitiminin; yeterliliği ve etkinliğinin değerlendirilmesinin, veriye ve kanıta dayalı yapılması giderek önem kazanmaktadır. Bu amaçla; öğrencilerden ve öğretim elemanlarından geri bildirim alınması yaygın bir uygulamadır.

Bu çalışmanın amacı, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesinde uygulanan Histoloji ve Embriyoloji eğitimi hakkında, ilk üç sınıftaki öğrenci görüşlerinin belirlenmesi aracılığıyla, daha etkin bir eğitimin yapılabilmesi için gerekenleri saptamaktır.

**Materyal ve Metod**

Bu çalışmada katılımcılar, 2017-2018 eğitim-öğretim yılında 1., 2. ve 3. sınıflarda, öğrenimine devam eden Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğrencileri arasından gönüllülük esasına göre ve rastgele seçilmiştir. Araştırmamıza; çalışmanın gücü %80 hesaplanarak, 463 öğrencinin katılımı sağlanmıştır. Her öğrenciye 3'lü Likert tipinde 10'u ortak olmak üzere; birinci sınıflara 16, ikinci sınıflara 15, üçüncü sınıflara 14 sorudan oluşan anketler uygulanmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak frekans ve yüzde verilmiştir. Kategorik verilerin analizinde, Pearson ki-kare analizi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılık değeri  $p \leq 0,05$  olarak alınmış ve istatistiksel değerlendirme, IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Armonk, NY: IBM Corp. Paket programı ile gerçekleştirilmiştir.

**Bulgular**

Ankete katılan öğrencilerin % 52.2'si (n=242) kız iken, %47.8'i (n=222) erkek öğrencilerden oluşmaktadır. İlk üç sınıf öğrencileri Histoloji-Embriyoloji derslerinin tıp eğitimi açısından önemli olduğunu (%88.1) düşünmelerine rağmen ( $p=0.003$ ), bu derslerin anlaşılır olduğunu düşünenlerin oranının, öğrencinin bulunduğu sınıfa göre değişkenlik gösterdiği (sırasıyla %87.1, %58.6, %65.0) tespit edilmiştir ( $p=0.000$ ). Mikroskop kullanımının, hekimler için gerekli olduğu (%87.9), yapılan uygulamaların ise teorik derslerin anlaşılmasını kolaylaştırdığı saptanmıştır (%83.3). Çalışmamızda özellikle 2. sınıfta, öğrencilerin %33.1'nin Histoloji ve Embriyoloji derslerine olan bakış açısında olumsuz yönde değişikliğin olduğu dikkati çekmiştir. Üçüncü sınıf öğrencilerinin, Histoloji ve Embriyoloji derslerinin hekimlik mesleği için temel oluşturduğunu (%80) ve bu bilginin sağlıklı ve hasta hücre/dokuların görünüm ve farklarını, mikroskopik düzeyde ayırt edebilecek farkındalık kazanmalarına yardımcı olduğunu (%56.4) düşündükleri belirlenmiştir. Ankete katılan öğrencilerin %60.7'sinin, Histoloji ve Embriyoloji bilim dalının araştırma faaliyetleri hakkında bilgi sahibi olduğu ve bu anabilim dalında araştırma yapmaya istekli olan öğrencilerin %52.2'sinin kız, %47.8'nin ise erkek olduğu, bu sonuçla birlikte, cinsiyetin Histoloji ve Embriyoloji bilim dalına olan ilgi açısından fark yaratmadığı tespit edilmiştir ( $p=0.998$ ).

**Sonuç**

Bu anket çalışması fakültemizde uygulanan Histoloji ve Embriyoloji eğitiminin; hekimlik mesleği açısından, bu alanda temel bilgi oluşturma ve bu bilginin klinikte kullanılabilir olmasının yanı sıra, bir bilim insanı olarak yetiştirmeyi amaçladığımız öğrencilerimize Histoloji ve Embriyoloji bilim dalını tanıtmak hedeflerine ulaştığımızı göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Geri bildirim, Histoloji ve Embriyoloji, öğrenci, tıp eğitimi

**P118****Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi 4., 5. ve 6. Sınıf Öğrencilerinin Histoloji ve Embriyoloji Disiplinine Yaklaşımları**

Duygu Uzun Gören<sup>1</sup>, Zekiye Gülfem Ataç<sup>1</sup>, Selim Demirtaş<sup>1</sup>, Onur Ersoy<sup>1</sup>, Emine Ceyda Sözüer<sup>1</sup>, Yeşim Hülya Uz<sup>1</sup>, Fatma Nesrin Turan<sup>2</sup>, Gülnur Kızılay Özfidan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne

<sup>2</sup>Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı, Edirne

**Giriş:** Histoloji ve Embriyoloji; organizmayı oluşturan hücre, doku, organ ve sistemlerin yapılarını mikroskopik düzeyde inceleyen bir bilim dalıdır, ayrıca, bir hekimin klinik bilgileri öğrenmeden önce, hastalıkların temel biyolojik mekanizmalarını, insan gelişimini ve gelişimsel bozukluklarını anlayabilmesi için gereken kavramları içerir ve öğretir. Son yıllarda hızla gelişen tıp eğitimi, temel bilimlerin klinikle bağlantısını daha belirgin hale getirmiştir. Ek olarak, bazı hastalıkların klinik ve patolojik tanıları, histolojik ve elektron mikroskopik bulgularla önemli ölçüde desteklenmektedir.

**Amaç:** Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi 4., 5. ve 6. sınıf öğrencilerinin, eğitimleri süresince Histoloji ve Embriyoloji disiplinine bakışını, etkinlik düzeyini, öğrenim hayatlarına katkısını ve öğrenimlerine yönelik memnuniyet düzeylerini belirlemek ve böylece, Histoloji ve Embriyoloji eğitiminin daha iyi ve etkin hale getirilmesi amacıyla yapılmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmamızda katılımcılar, 2017-2018 eğitim-öğretim döneminde öğrenimine devam eden Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi 4., 5., ve 6. sınıf öğrencileri arasından gönüllülük esasına göre ve rastgele seçilmiştir. Çalışmanın gücü %80 hesaplanarak 333 öğrencinin katılımı sağlanmıştır. Her öğrenciye tüm sınıflara ortak hazırlanan ve kendi sınıfına uygun 3'lü Likert tipinde sorulardan oluşan anketler uygulanmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak frekans ve yüzde verilmiştir. Kategorik verilerin analizinde Pearson ki-kare analizi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılık değeri  $p < 0,05$  olarak alınmıştır. İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0.

Armonk, NY: IBM Corp. Paket programı ile yapılmıştır.

**Bulgular:** Araştırmaya katılan 333 öğrencinin %54.1'ini kız (n=180), %45.9'unu erkek (n=153) öğrenciler oluşturmuştur. Öğrenciler, her 3 sınıf için sorulan ortak sorularda, Histoloji ve Embriyoloji derslerinin tıp eğitiminde önemli olduğunu düşünürken (%76.3), bu derslerin anlaşılabilirliği öğrencinin bulunduğu sınıfa göre değişkenlik göstermiştir (sırası ile %44.5, %74, %79.3) ( $p=0.000$ ). Yine, çoğunluk Histoloji ve Embriyoloji pratik ve teorik derslerin birbirini tamamlayıcı olduğunu belirtirken (%68.4) bir kısmı da kararsız kalmıştır (%18.1). Çalışmamızda öğrencilerin %48.6'sı derslerin amaç ve hedeflerinin tam olarak yansıtıldığı konusunda görüş bildirirken, %34.7'sinin bu konuda kararsız kaldıkları tespit edilmiştir. Mikroskop kullanımının ise, tıp hekimi için gerekli olduğu %88.9 oranında kabul edilmiştir. Sınıflara özgü sorulan sorularda, 4. ve 5. sınıf öğrencileri, Histoloji ve Embriyoloji eğitiminin, klinik derslere katkı sağladığı (sırasıyla %49.6, %57.7), hastalıkların yapı ve mekanizmasının anlaşılmasında yardımcı olduğu konusunda (sırasıyla %50.4, %71.2) olumlu görüş bildirmişlerdir. Çalışmamıza katılan 6. sınıf öğrencileri, Histoloji ve Embriyoloji eğitiminin Tıpta Uzmanlık sınavına hazırlanmada önemli bir temel oluşturduğu (%62.4) ve bilimsel çalışmalarda aktif rol alan bir branş olarak bilim dünyasına katkıda bulunduğu yönünde (%68.8) geri bildirim vermişlerdir.

**Sonuç:** Bu çalışmadan elde edilen veriler ışığında, öğrenciler tarafından Histoloji ve Embriyoloji eğitiminin değerlendirilmesinin, bu eğitimin geliştirilmesinde yol gösterici olarak katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Anket, eğitim, Histoloji ve Embriyoloji, öğrenci

**YAZAR İNDEKSİ**

**Abidin İsmail**  
S04

**Abu Issa Radwan**  
S61

**Acar Aydemir Nuray**  
P029P030

**Açikel Elmas Merve**  
S38P009P112

**Açıkgöz Burcu**  
P050

**Açıkgöz Eda**  
S01S11P088

**Adalı Yasemin**  
P092

**Adıgüzel Dileyra**  
S76S80P028P049

**Ağaçayak Elif**  
P026

**Ahışhalı Bülent**  
S23

**Aka Ebru**  
S47

**Akbaba Alperen**  
P112

**Akcan Gülben**  
S61

**Akçay Güven**  
S76

**Akçay N. İlke**  
S24

**Akdemir Ayşe Seda**  
P105

**Akgüner Zeynep Püren**  
S78

**Akin Ali Tuğrul**  
P055

**Akıncı Ahmet Tolgay**  
P021

**Akkaya Gökmen**  
P002

**Akkoyunlu Gökhan**  
P043

**Akman Levent**  
P057

**Akokay Pınar**  
P002

**Aköz Mehmet**  
S88

**Akpolat Meryem**  
S50S67S75

**Aksoy Betül**  
P007P008

**Aksu İlkay**  
P012

**Aksu Kübra**  
P029P030

**Aksun Saliha**  
S02

**Aktaş Savaş**  
P063

**Aktuğ Hüseyin**  
S01S11P092

**Akyıldız Dr. İlker**  
S58

**Al Özge**  
S44

**Alaca Nuray**  
P006

**Alaylıoğlu Merve**  
P095

**Alimoğulları Ebru**  
S61S69

**Alisinanoğlu Begüm**  
P059

**Altındağ Fikret**  
S71

**Anadol Elvan**  
S05

**Anapalı Merve**  
P105

**Arabacı Tamer Sevil**  
P011

**Arbak Serap**  
S38P009



**Argün Kürüm Gamze**  
P105

**Arı Neziha Senem**  
P110

**Arıcan Nadir**  
S23

**Arıcioğlu Feyza**  
P071

**Arıdoğan Atilla**  
S08

**Arıkan Sevde**  
P112

**Arora Ripla**  
S62

**Arslan Doç. Dr. Necmi**  
S58

**Arslan Osman Şevki**  
P089

**Arsoy Edanur**  
P009

**Aşır Fırat**  
S37P026P027

**Aslan Esra**  
S45S51

**Aslan Necmi**  
P005

**Aslan Sabahaddin**  
P026

**Ata Barış**  
S27

**Ataç Zekiye Gülfem**  
P117P118

**Atay Nilsu**  
P009

**Atilla Huban**  
P022

**Atıltürk Özüm**  
P067

**Avcı Berrin**  
S17S18S27S64P077P078

**Avcı Meltem**  
P054

**Avşar Ayşe Filiz**  
P085

**Ay Dereli Nuran**  
P002

**Aydemir Selma**  
P012P007P008P050

**Aydemir Celep Nevra**  
P114

**Aydın Nuri**  
P095

**Aydın Abidin Selcen**  
S04

**Aygül Efecan**  
P117

**Ayla Şule**  
S28

**Babacan Özlem**  
P113

**Babayev Hayyam**  
P011

**Bağrıyanık Alper**  
P054

**Bağrıyanık Alper Hüsnü**  
P090

**Bahadır Anzel**  
S41

**Bahador Zırh Elham**  
S74P005

**Bahar Leyla**  
S52

**Bahçeci Selen**  
P001

**Bakırarar Batuhan**  
S05

**Bal Zeynep**  
P098

**Bal Öztürk Ayça**  
S78

**Balcıoğlu Esra**  
P040P101P102P096P061P047

**Balgir Didar Tuğçe**  
P074P075

**Balgir Tuğçe Didar**  
S14

**Balık Zeynep**  
P010

**Barlas İbrahim Ömer**  
P063

**Barutcigil Ayşe**  
P107

**Baş Orhan**  
P016

**Başpınar Sibel**  
S06

**Batu Öztürk Ayla**  
P063

**Baykal Barış**  
S06

**Baykara Başak**  
P042P012P007P008P050

**Bayraktaroğlu Alev Gürol**  
S30

**Bayram Pınar**  
P116P106P108

**Baysal Işıl**  
P003

**Behram Kandemir Yasemin**  
P073

**Bektaş Nayçe İlayda**  
S76P028

**Belgin Yıldırım Fatoş**  
P113

**Berkkan Aysel**  
P099

**Beyazal Çeliker Fatma**  
S22

**Biçer Çiğdem**  
S54

**Bilen Çağatay**  
P002

**Bilgiç Elif**  
S82

**Bilgici Pınar**  
P101P102

**Bilici Gökçen**  
P024

**Billur Deniz**  
P116P106

**Bingöl Kızıltunç Pınar**  
P022

**Bingöl Özakpınar Özlem**  
S38P112

**Boyras Gökhan**  
S32

**Buhur Aylin**  
S13P057P046

**Bülbül Muhammet Volkan**  
S43

**Bulut Deniz İrem**  
P065P066P067P070

**Çakar Merih Kızıl**  
P097

**Çakır Cihan**  
S27P077

**Çakır Gündoğdu Ayşe**  
P065P066P067

**Çakıroğlu Ahmet Yiğit**  
S65

**Çalık Kocatürk Duygu**  
P087

**Çamlar Mahmut**  
S11

**Can Alp**  
S57S79S81P064

**Can Belgin**  
P116P106P022

**Can Zeki**  
P106

**Canbaz Halime Tuba**  
S88P020

**Candaş Esin**  
P095

**Cantürk Fazile Tan**  
P040

**Cantürk Tan Fazile**  
P100

**Çavdar Zahide**  
P024P041P060P054

**Çavuşoğlu İlkin**  
S40

**Çavuşoğlu İrem**  
P110P111

**Çayan Dicle**  
S44

**Çaylı Sevil**  
S61S69S72

**Çelebi Simge**  
P097

**Çelik Aslı**  
P054

**Çelik Ebru**  
P091P079

**Çelik Hatice**  
P005

**Çelik Soner**  
P064

**Çelik Özenci Çiler**  
S53S76P028P049P064P056

**Cengiz Ceyhun**  
P005

**Cengiz Seval Güldane**  
P049

**Çetinbaş Sibel**  
S51

**Çetinkaya Büşra**  
S50S67S75

**Çetinkaya Seda**  
S21P020

**Ceyhan Ayşe**  
S41P096P047P048

**Ceyhan Seyit Temel**  
S06

**Ceylan Süreyya**  
S31

**Ceylan Tayfun**  
P100

**Çiftci Dede Eda**  
P098

**Çiftçi Dede Eda**  
P099

**Çilingir Sümeyye**  
P009

**Çınar Özgür**  
S81

**Çınar Seda**  
S22P016

**Çölçimen Neşe**  
S09P088

**Coşkun Gülfidan**  
S08

**Çöteli Mert Burkay**  
P097

**Cüce Gökhan**  
S88P094P020

**Dağlı Ertuğrul Gazi**  
S44

**Darıcı Hakan**  
S78

**Delen Emre**  
P021

**Delen Özlem**  
P117P021

**Demir Hülya**  
P010

**Demir Necdet**  
S49S62S83S84S85S87P018

**Demir Şeyda**  
P090

**Demir Yarar Hazal**  
S08

**Demirci Buket**  
S02S03

**Demirci Tuba**  
P114

**Demirciler Yavaş Betül**  
S45

**Demirdelen Umut**  
P042

**Demiroğlu Zergeroğlu Asuman**  
S55

**Demirtaş Abdullah**  
P039

**Demirtaş Selim**  
P118

**Deprem Turgay**  
P058

**Derin Narin**  
S76

**Desticioğlu Raziye**  
P085

**Deveci Engin**  
P025P026P027

**Deveci Nazlı**  
P007P008

**Deveci Şenay**  
P027

**Dilmaç Sayra**  
S80

**Doğan Cezmi**  
P089

**Doğan Göksel**  
S14P074P075

**Doğan Soner**  
P072

**Doğanyigit Züleyha**  
P039

**Doğer Emek**  
S73

**Dursun Erdinç**  
P095

**Duruksu Gökhan**  
P080P081P086P083P093

**Düzağaç Fahriye**  
P088

**Ebrahimi Ayyub**  
S86

**Ekinci Aysun**  
P004

**Ekizceli Gülçin**  
P015

**Ekmekçioğlu Oğuz**  
S20

**Elgün Tuğba**  
S35P076

**Elmas Çiğdem**  
S05S60P062P065P066P067P070

**Elmas İmdat**  
S23

**Elmazoğlu Zübeyir**  
P069

**Er Hakan**  
P052

**Eraldemir Ceyla**  
S31

**Erbil Güven**  
P024

**Ercan Feriha**  
S38P112P011

**Erdem Erkan**  
S35P045P051

**Erdem Altun Ceren**  
S36

**Erdemir Fikret**  
S54

**Erdemli Esra**  
P108

**Erdoğan Şeyda**  
S08

**Eren Ülker**  
S47

**Eren Gözel Hilal**  
S36

**Erenoğlu Çağıl Meriç**  
P116

**Ergür Bekir Uğur**  
P041P042P060P054

**Erimşah Mehmet Emre**  
S59

**Erimşah Sevilay**  
S59

**Erin Nuray**  
S77S80

**Erman Gülay**  
P083



**Eroğlu Özgür**  
P017P115

**Erol Ayşe**  
P088

**Ersoy Onur**  
P118

**Ersoy Semiha**  
P014

**Ertekin Tolga**  
S44S45

**Esendağlı Güneş**  
S34

**Evirgen Oya**  
S24P091P079

**Evsen Sıddık**  
P025

**Eyigör Özhan**  
S25P014P015

**Fidan Ulaş**  
S06

**Fries Adam**  
S62

**Furat Rençber Selenay**  
S31

**Gacar Gülçin**  
P086

**Gedikli Semin**  
P114

**Gelenli Dolanbay Elif**  
S65S73

**Genç Hanife**  
P059

**Genç Yavuz**  
P050

**Gençoğlu Celal**  
P012

**Gençpınar Tuğra**  
P002

**Gevrek Fikret**  
S54S68

**Gezen Ak Duygu**  
P095

**Gezer Yeşim**  
P112

**Gizer Merve**  
P099P098

**Göç Rümeyşa**  
S46P047

**Göçmez Selcen**  
P093

**Gök Yurtseven Duygu**  
S25

**Gökalp Esra**  
S51

**Gökçimen Alpaslan**  
S02S03

**Göksu Asiye Kübra**  
S77P107

**Göksülük Dinçer**  
S32

**Göktepe Özge**  
P040

**Golal Ezgi**  
P029P030

**Gönen Zeynep Burçin**  
S46S66P048

**Gönüldaş Şeyma Sultan**  
S83

**Gül Mehmet**  
S52

**Gül Semir**  
S52P003

**Güler Günnur**  
S01S11

**Güleryüz Nurten**  
S50S67

**Güleş Özay**  
S47

**Gülezer Ümit Yaşar**  
P089

**Gülle Kanat**  
S50

**Gülşen Uğur**  
P108

**Gültekin Burcu** P020

**Gümürdülü Derya**  
P059

**Gümüş Ersin**  
P010

**Gungor Ordueri Nazlı Ece**  
P045

**Güngör Ordueri Nazlı Ece**  
S35

**Güngör Ordueri Nazlı Ece**  
P076P051

**Gür Birgül**  
P110P111

**Gürel Çevik**  
S13P092P057P046

**Gürkan Timur**  
S05

**Gürgül Serkan**  
S68

**Gürsoy Duygu**  
S42

**Güven Ümmü**  
P088

**Güzel Meydanlı Elif**  
S31

**Hacıoğlu Gülay**  
S04

**Halbutoğulları Zehra Seda**  
P080P081

**Halk Kıymet Zülal**  
S40P015

**Hasanoğlu Akbulut Nursel**  
S10

**Hayırlı E. Nazlı**  
S24P091

**Hayırlı Emine Nazlı**  
P079

**Hidişoğlu Enis**  
S85

**Hoca Sinan**  
P092

**Horzum Utku**  
S34

**Hoşal Melek Banu**  
S70

**İbiş Esra**

P045

**İmrak Kadriye Gizem**

P084

**İnanç İrem**

P022

**İnik Özkan**

P096

**İrez Tülay**

P076

**Ishiguro Hiroyuki**

P098

**Işıldar Başak**

P089

**İzol Volkan**

S08

**Kabu Mustafa**

S51

**Kadioğlu Duman Mine**

P110

**Kahveci Selda**

S79S81

**Kahveci Zeynep**

S40

**Kahyaoglu Fadime**

S02S03

**Kaito Takashi**

P098

**Kalem Ziya**

S05

**Kalkan Sabiha Serpil**

S88P020

**Kalkan Serpil**

P094

**Kalyoncu Nuri İhsan**

P111

**Kamer Emine Serra**

P092

**Kaplan Oktay**

P045

**Kaplanoğlu İskender**

S60

**Kar Sırrı**  
S86

**Kara Mikail**  
S54

**Kara Sinem**  
P001

**Karabay Yavaşoğlu Nefise Ülkü**  
S13P057P046

**Karabulut Derya**  
P053P055

**Karabulut Seda**  
S36S39S42S43S48S55

**Karacan Meriç**  
P076P051

**Karaçetin Serkan**  
S67

**Karagenç Levent**  
S14P074P075

**Karagül Meryem İlkay**  
P063

**Karahan Nida**  
S19P044

**Karahan Siyami**  
P058P084

**Karahüseyinoğlu Serçin**  
S19P044

**Karaismailoğlu Bedri**  
P095

**Karaman Burcu**  
P065

**Karaman Evren**  
P038

**Karaoğlan Özdem**  
S08

**Karaosmanoğlu Beren**  
S82

**Karaöz Erdal**  
S78

**Kasap Murat**  
S65S73

**Kasapoğlu Işıl**  
S17S18S27P077P078

**Katipoğlu Erenoğlu Bilgen**  
P116

**Katırcı Ertan**  
S85S87P073

**Kaya Cansu**  
P110P111

**Kaya Ergi**  
P018

**Kaya Ertuğrul**  
P039

**Kaya Mehmet**  
S23

**Kaya Zeynep Bengisu**  
S70

**Kaya Dağıstanlı Fatma**  
P105

**Kayalı Damla**  
P011

**Kayhan Hazal Seren**  
P066

**Kayış Leyla**  
P083

**Kaymak Emin**  
P100P039P101P053P055

**Kendirlinan Özge**  
S08

**Keskin Ebru**  
P095

**Keskin İlknur**  
S28S36S39S42S43S48S55P094

**Keskin Seda**  
S09

**Khiavi İman Rezazadeh**  
S32

**Kııç Kamil Can**  
P086

**Kılıç Kamil Can**  
P080P081

**Kılıç Kubilay Doğan**  
P006P087

**Kipel Şeyma**  
S72P085P082

**Kiray Müge**  
P042P012P050

**Kızıl Şule**  
P116P106

**Kızılay Özfidan Gülnur**  
P117P118

**Koç Tuğba**  
P094

**Kocabay Ahmet**  
S86

**Kocamış Hakan**  
P058

**Kocatürk Duygu Çalık**  
S01P092

**Köksal Yasin**  
P085P082

**Köksoy Sadi**  
S75

**Kolbaşı Bircan**  
S39

**Kolgazi Meltem**  
S38P009P112

**Konuk Esmâ**  
S83S84S85S87P073P018

**Korgun Emin Türkay**  
S75

**Korkmaz Cem**  
S06

**Korkmaz Oya**  
S39S48

**Körkoca Ayfer**  
S26

**Korkusuz Feza**  
S82P099P098

**Korkusuz Petek**  
S34S70S82P099P098

**Köse Sevil**  
S34P098

**Köşebent Esra Gözde**  
S63

**Küçük Mutlu**  
S23

**Kükner Aysel**  
S59

**Kuloğlu Nurhan**  
P055

**Kum Şadiye**  
S47

**Kum Tuğba**  
S31

**Kurnaz Özbek Sema**  
S31

**Kurtel Hızır**  
P006

**Kürüm Aytül**  
P058P084

**Kürüm Barış**  
P084

**Kuşcu Nilay**  
S76S80P028P049

**Kuşcu Gökçe Ceren**  
S13P057P046

**Kuşpınar Gökten**  
S17S18P078

**Kutlu Pelin**  
S36S42S48

**Kuyucu Yurdun**  
S08

**Laird Diana J**  
S62

**Lekesizcan Ayça**  
S66P102

**Mercan Zeynep**  
P117

**Mercantepe Tolga**  
S22P016

**Mert İsmail**  
P115

**Metin Kıvanç**  
P002

**Minbay Zehra**  
S25S40P014P015

**Müftüoğlu Sevda**  
P010



**Mungan Ceren**  
S57S79S81

**Muratoğlu Deniz**  
S07P117

**Nakkaş Hilal**  
S72P116P106P082

**Nalcı Hilal**  
S70

**Namlı Kalem Müberra**  
S05

**Nazlıgöl Ahmet**  
S47

**Nergiz Yusuf**  
S37P038P025P004

**Nisari Mehtap**  
S44

**Ocaklı Seda**  
S69

**Öcal Aslı**  
S60

**Öğüt Eren**  
P113

**Okan Oflamaz Aslı**  
S49S85S87

**Öktem Gülperi**  
S11P092P088P087

**Oltulu Fatih**  
S13P057P046P087

**Önder Gözde Özge**  
S20S46P061P048

**Önel Tuğçe**  
P068P071P072

**Oral Simge**  
P009

**Orhan Diclehan**  
P010

**Orhan Eda**  
S84S87

**Orhan Nurcan**  
S23

**Orwig Kyle**  
S53

**Oturmaz Sanem Ege**  
S35

**Oy Ceren**  
P014

**Öz Gergin Özlem**  
S41

**Özalper Büşranur**  
S29

**Özarслан Çiğdem**  
S50S67

**Özbabalık Yeşim**  
P112

**Özbal Seda**  
P041P054

**Özbay Aysun**  
S64

**Özbek Mehmet**  
S30

**Özcan Nurgül**  
P097

**Özdamar Saim**  
S66P040P053

**Özdemir Derya**  
P108

**Özdemir Havva İmran**  
S59

**Özdemir Semih**  
P005

**Özdemir Sancı Tuba**  
S69S72P085P082

**Özdil Berrin**  
S01P092

**Özevren Hüseyin**  
S56

**Özgörgülü Aydan**  
S21

**Özgül Nejat**  
S32

**Özgüner H. Meltem**  
P085

**Özgüner Meltem**  
S72P082

**Özgür Abdulkadir**  
P016

**Özgür Emrah Gökay**  
S57

**Özgür Hülya**  
S08

**Özgürses Emir Mete**  
S35

**Özhan Onural**  
P003

**Özkabadayı Yasin**  
P084

**Özkavukcu Sinan**  
S34P049P064

**Özkoçer Süheyla Esra**  
S60

**Özkol Halil**  
S09

**Özsoy Asker Zeki**  
S69

**Özsürekci Cemile**  
P097

**Öztosun Gülşen**  
P009

**Ozturk Melek**  
P105

**Öztürk Ahmet**  
P080P081P086

**Öztürk Emel**  
P101P061P055

**Öztürk Murat**  
S14P074P075

**Öztürk Nurinnisa**  
P114

**Öztürk Saffet**  
S33S63P043

**Öztürk Yeşim**  
P007P008

**Özyazgan Tuğçe Merve**  
S41P047

**Pala Ayşegül**  
P026P027

**Parlakpınar Hakan**  
P003

**Parlaktaş Hatice Kübra**  
P068P071

**Parlayan Cüneyd**  
S28

**Patat Dilara**  
S44

**Pektaş Mehmet Bilgehan**  
S45

**Polat Sait**  
S08S15P059

**Polat Selen**  
P083P093

**Quliyeva Feride**  
S87

**Quliyeva (xxx) Feride**  
P073

**Rağbetli Murat Çetin**  
S09S26S29S71

**Reis Gökşen Derya**  
P111

**Rouhrazi Hadi**  
P087

**Ruso Halil**  
S05

**Saçkes Mesut**  
S10S12

**Safi Öz Zehra**  
S50S67

**Sağıroğlu Yusuf**  
S39S55

**Sahin Pınar**  
S53

**Şahin Cansu**  
S69P085

**Şahin Gizem Nur**  
P044

**Şahin Pınar**  
P028P056

**Şahin Şebnem**  
S82

**Şahin Zafer**  
P094

**Sak Erdal**  
P025

**Şaker Dilek**  
S15

**Sakiner Latife**  
P070

**Salabas Emre**  
P045

**Salimi Kouroush**  
S82

**Salkın Hasan**  
S66

**Sandal Asiye İzem**  
P076

**Sapmaz Tuğçe**  
P059

**Sapmaz Metin Melike**  
S07P117

**Sarı Kübra**  
P044

**Sarıbal Seda**  
S17P078

**Satı Leyla**  
P052P113

**Şatır Başaran Güzide**  
S20

**Seçkin İsmail**  
P089

**Seferbay Senem**  
S06

**Şeker Uğur**  
P025P004

**Şekerci Rahime**  
P113

**Selçuk Tunik**  
P025

**Selvi Hüseyin**  
S52

**Şen Esra**  
S27

**Sencar Leman**  
S15P059

**Şener Göksel**  
S38P112

**Şenes Dr. Mehmet**  
S58

**Şengül Büşra**  
P095

**Şenlikçi Hatice**  
P076

**Şentürk Mehmet Fatih**  
P108

**Sepici Dinçel Aylin**  
P069

**Seymen Cemile Merve**  
S60P065P066P067P069

**Seymenoğlu Vahide Cansu**  
S20

**Sezer Gülay**  
S46P061P048

**Sezer Zehra**  
S31

**Silici Sibel**  
P039

**Şimşek Mehmet**  
S84

**Sırmalı Şahin Abdullah**  
S40

**Somdaş Mehmet Akif**  
P061

**Soyer Sarıca Zeynep**  
S46P048

**Soygür Bikem**  
S62P052

**Sözen Berna**  
S49

**Sözen Mehmet Enes**  
S88P020

**Sözür Emine Ceyda**  
P104P118

**Sucu Merve**  
S79S81

**Sucu Nehir**  
S52

**Sukhwani Meena**  
S53

**Sunay Fatma Bahar**  
S10S12

**Susar Hatice**  
S44

**Take Kaplanoğlu Gülnur**  
P069

**Tanrıöver Derya**  
S12

**Tanrıöver Gamze**  
S77S80P107

**Tanrıverdi Gamze**  
P105

**Tanyeli Dr. Talip Talha**  
S58

**Taş Gizem Gamze**  
P052P113

**Taşar Gözde Elif**  
S32

**Taşatargil Arda**  
P107

**Taşcı Nurten**  
S67

**Taşer Elif**  
S74

**Taşkın Ali Cihan**  
S86

**Taşkıran Ekim**  
S82

**Tatlı Merve**  
P041

**Tekin Betül**  
S66

**Tezcan Berna**  
S04

**Tezcan Elçin**  
P077

**Tezcan Gülşah**  
P089

**Timuçin Muharrem**  
P099

**Tirpan Mehmet Borga**  
S16

**Topal Çelikkan Ferda**  
S79S81P064

**Topal Suzan Zehra**  
S22P016

**Topçu Tarladaçalısır Yeter**  
P117P104

**Topuz Ruhan Deniz**  
S07

**Toru Havva Serap**  
S84

**Tosun Gamze**  
P028P056

**Tosun Murat**  
S45S51

**Tümkiye Levent**  
S22P016

**Tuncel Süleyman Ali**  
S82

**Turan Fatma Nesrin**  
P118

**Türk Mustafa**  
P084

**Türkkani Ayten**  
P088

**Türkmen Ecem**  
P107

**Türkoğlu İneyet**  
P047

**Uğur Yılmaz Canan**  
S23

**Uğurlu Mahmut**  
P084

**Uğurlu Ümit Mustafa**  
P011

**Ulaş Aytürk Nilüfer**  
S23

**Ülger Harun**  
S44



**Ülger Menekşe**  
S41S46

**Ülker Erkan**  
P096

**Umay Cenk**  
P041

**Ün İsmail**  
P063

**Ünal Işık**  
S32P010

**Ünan Neslişah Z**  
P009

**Uncu Gürkan**  
S17S18S27P077P078

**Ünsal Murat**  
P055

**Ünvan Mert**  
P063

**Ural Cemre**  
P024P041P060P054

**Ürünsak İbrahim Ferhat**  
S08P059

**Uslu Serap**  
P006

**Usta Akın**  
P051

**Üstün Özcan**  
P060

**Üstünel İsmail**  
P029P030

**Usubütün Alp**  
S32S74

**Utkan Tijen**  
P093

**Uyar Emre**  
P004

**Uysal Ayşegül**  
P006P092P046P087

**Uysal Fatma**  
S33S63P043

**Uysal Nazan**  
P012

**Uz Yeşim Hülya**  
P118P019

**Uzun Ferhat**  
P110P111

**Uzun Gören Duygu**  
P118P019

**Uzunkaya Barışcan**  
S35

**Vardı Nigar**  
P003

**Vatandaşlar Emre**  
S43

**Vural Birol**  
S65S73

**Yaba Uçar Aylin**  
P068P023P071P072

**Yakan Birkan**  
P100P040P101P102P055

**Yalçın Betül**  
S41P100P101

**Yalçın Müge**  
P009

**Yalçinkaya Perihan**  
S05P062P070

**Yar Sağlam Atiye Seda**  
P069

**Yardımoğlu Yılmaz Melda**  
S65S73

**Yargıçoğlu Piraye**  
S85

**Yargıçoğlu Akkiraz Piraye**  
P052

**Yavaş İlknur**  
S18

**Yavaşoğlu Altuğ**  
S13P057P046

**Yay Arzu**  
S20S41S46P047P048

**Yazıcı Cevat**  
P047

**Yazıcıoğlu Kaya Güzde**  
S73

**Yazır Yusufhan**

P080P081P086P083P093

**Yeğen Berrak**

P011

**Yeğen Cumhur**

P011

**Yelli Serkan**

S68

**Yenilmez Engin**

P110P111

**Yersal Nilgün**

S34

**Yiğit Polat**

P106

**Yiğittürk Gürkan**

S13P057P046

**Yıldırım Alper**

P011

**Yıldırım Ayşegül Burçin**

P053

**Yıldırım Ecem**

P068P023P071P072

**Yıldırım Sendegül**

S80

**Yıldız A.kadir**

P004

**Yıldız Azibe**

P003

**Yıldız Mustafa**

S47

**Yılmaz Canan**

S05P062P070

**Yılmaz Derviş Mansuri**

S15

**Yılmaz Elif**

S43

**Yılmaz Erdal Reşit**

S24

**Yılmaz Meral**

S78

**Yılmaz Osman**

P002

**Yılmaz Seçil**

S46P048

**Yılmaz Demirtaş Canan**  
P065P066P067

**Yılmazer Selma**  
P095

**Yoldaş Şükran Burçak**  
S80

**Yüce Aysel**  
P010

**Yücel Gökçe Nur**  
P069

**Yüksel Serdar**  
P017P115

**Yuluğ Esin**  
P110

**Yurttutan Emre**  
P108

**Yürüker A. C. Sinan**  
S32

**Zayman Emrah**  
S52

**Zeybek Doç. Dr. Naciye Dilara**  
S58

**Zeybek N. Dilara**  
S32

**Zeybek Naciye Dilara**  
S74P005

**Zırh Dr. Selim**  
S58

**Zorlu Seçil**  
S47

**Zortul Hacer**  
P071

## **KONGREYE DESTEK VEREN KURUM VE KURULUŞLAR**

14. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi'nin gerçekleşmesinde desteği ve katkısı olan resmi kurumlar, firmalar aşağıda listelenmiştir.

Tüm destekleyen ve katkı verenlere teşekkür ederiz.

### **Kongre Düzenleme Kurulu**

#### **Destek Veren Kurumlar**

- Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği
- TÜBİTAK – Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu

#### **Destek Veren Kuruluşlar**

- Becton Dickinson
- İncekara
- Carl Zeiss
- Leica
- Biogen
- Nic Medikal
- Beckman
- Ser-Med
- İnitro
- Nobel Yayıncılık

**Not:** Firma sıralaması kongreye vermiş oldukları destek oranlarına göre sıralanmıştır.