

Official Publication of the Turkish Histology and Embryology Society

Cell & Tissue Biology Research

Turkish Histology and Embryology Society

www.ctbiol.com

Volume 5 / 2016 Supplement

Special Issue

Includes abstracts of the

13th National Histology and Embryology Congress with International Participation

April 30- May 3, 2016

Ilica Hotel

İzmir / Turkey



TÜRKİYE BİLİMLER AKADEMİSİ

Cell & Tissue Biology Research

Turkish Histology and Embryology Association

Official Publication of the Turkish Histology and Embryology Society

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.

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 lettraset) 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 (for this issue)**Editors-in-Chief:**

Petek KORKUSUZ, M.D. Ph.D.

Ayşegül UYSAL, Ph.D.

Gülperi ÖKTEM, M.D. Ph.D.

Managing Editors:

A. Çevik TUFAN

Çiğdem ELMAS

Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU

Özhan EYİGÖR

Çiler ÇELİK ÖZENCİ

Ayten TÜRKKANI

Özgür ÇINAR

Scientific Advisory Board

Prof. Dr. Gülçin Abban Mete
Prof. Dr. Hüseyin Aslan
Prof. Dr. Sevim Aydın
Prof. Dr. Ayhan Bilir
Prof. Dr. Belgin Can
Prof. Dr. İlhami Çelik
Prof. Dr. Suzan Dağlıoğlu
Prof. Dr. Necdet Demir
Prof. Dr. Güven Erbil
Prof. Dr. Feriha Ercan
Prof. Dr. Esra Erdemli
Prof. Dr. Ender Erdoğan
Prof. Dr. Hatice Erdost
Prof. Dr. Oya Evirgen
Prof. Dr. Berrin Gençer Tarakçı
Prof. Dr. Aydın Girgin
Prof. Dr. Alpaslan Gökçimen
Prof. Dr. Mehmet Gül
Prof. Dr. Ranan Gülhan Aktaş
Prof. Dr. Aysel Güven Bağla
Prof. Dr. Hasan Herken
Prof. Dr. Sevinç İnan
Prof. Dr. Tülay İrez
Prof. Dr. Zeynep Kahveci
Prof. Dr. Sabiha Serpil Kalkan
Prof. Dr. Turan Karaca
Prof. Dr. Erdal Karaöz
Prof. Dr. M. Aydın Ketani
Prof. Dr. Ahmet Koç
Prof. Dr. Emel Koptagel
Prof. Dr. Emin Türkay Korgun
Prof. Dr. Meral Koyutürk
Prof. Dr. Şadiye Kum
Prof. Dr. Aysel Kükner
Prof. Dr. Sevda Müftüoğlu
Prof. Dr. Yusuf Nergiz
Prof. Dr. Ersan Odacı
Prof. Dr. Asuman Özen
Prof. Dr. Nesrin Özfiliz
Prof. Dr. Meltem Özgüner
Prof. Dr. Candan Özoğul
Prof. Dr. Sait Polat
Prof. Dr. Bizden Sabuncuoğlu
Prof. Dr. Yavuz Tekelioğlu
Prof. Dr. İbrahim Tuğlu
Yrd. Doç. Dr. Hayrunnisa Yeşil

Prof. Dr. Serpil Ünver Saraydın
Prof. Dr. Birkan Yakan
Prof. Dr. Melda Yardımoğlu Yılmaz
Prof. Dr. Altuğ Yavaşoğlu
Prof. Dr. Engin Yenilmez
Prof. Dr. Selma Yilmazer
Prof. Dr. Serap Arbak
Prof. Dr. Utku Ateş
Prof. Dr. Banu Coşkun Yılmaz
Prof. Dr. Figen Kaymaz
Prof. Dr. Özgül Tap
Prof. Dr. Sema Girgin Timurkaan
Prof. Dr. H. Seda Vatanserver
Doç. Dr. Nuray Acar
Doç. Dr. Cevat Aktaş
Doç. Dr. Selen Bahçeci
Doç. Dr. Ebru Ballı
Doç. Dr. Sevil Çaylı
Doç. Dr. Kemal Ergin
Doç. Dr. Süheyla Gonca
Doç. Dr. Emine Elif Güzel
Doç. Dr. Yıldırım Kalkan
Doç. Dr. Sibel Serin Kılıçoğlu
Doç. Dr. Cem Korkmaz
Doç. Dr. Meltem Kuruş
Doç. Dr. Emin Oğuzhan Oğuz
Doç. Dr. Hakan Sağsöz
Doç. Dr. Leyla Satı
Doç. Dr. Nejdet Şimşek
Doç. Dr. Gamze Tanrıöver
Doç. Dr. Şehime Gülsün Temel
Doç. Dr. Yeter Topçu Tarladaçalışır
Doç. Dr. Selçuk Tunik
Doç. Dr. Elgin Türköz Uluer
Doç. Dr. Yiğit Uyanıkgil
Doç. Dr. Yusufhan Yazır
Yrd. Doç. Dr. Seyit Ali Bingöl
Yrd. Doç. Dr. Alev Cumbul
Yrd. Doç. Dr. Gökhan Cüce
Yrd. Doç. Dr. Hakan Darıcı
Yrd. Doç. Dr. Mustafa Erboğa
Yrd. Doç. Dr. Pınar Naile Gürgör
Yrd. Doç. Dr. İlknur Keskin
Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar Sunay

COPYRIGHT RELEASE FORM

Turkish Histology and Embryology Society
Hürriyet Caddesi, No:10/6 Dikmen-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.



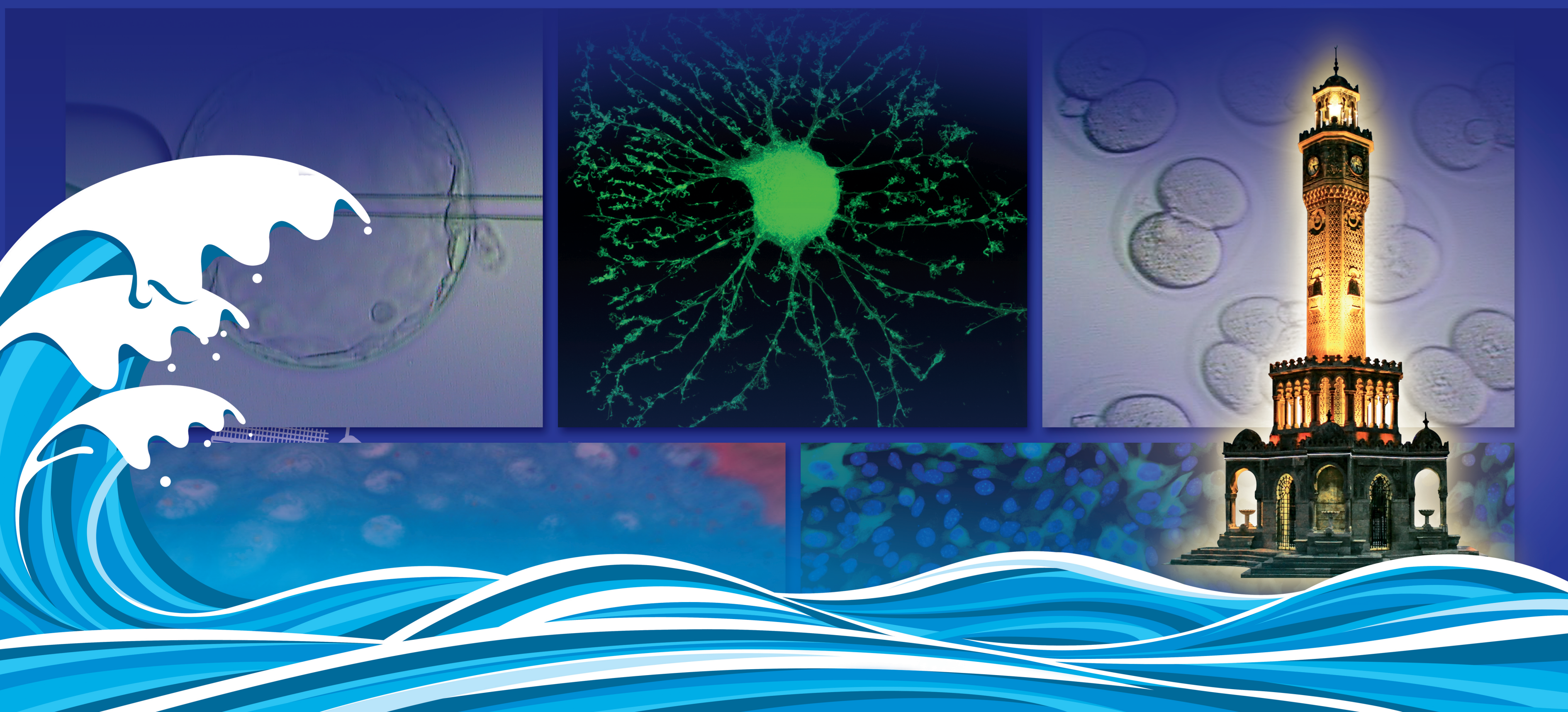
KONGRE PROGRAM & ÖZET KİTABI
CONGRESS PROGRAM & ABSTRACT BOOK

Uluslararası katılımlı
XIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi
30 Nisan - 03 Mayıs 2016 / Çeşme - İzmir

XIII. National Congress of Histology and Embryology with International Participation
30 April - 03 May 2016 / Cesme - Izmir

www.thed2016.org

TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.



ÖNSÖZ

Sayın Meslektaşlarımız,

XIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nın ev sahipliği ve Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği'nin işbirliğinde 30 Nisan-3 Mayıs 2016 tarihinde Çeşme Ilıca Otelinde gerçekleştirilmektedir. Alanlarında uzman 14 uluslararası ve 17 ulusal davetli konuşmacının yer aldığı bu yıl ki kongremiz, "her hücre bir hücreden doğar" anlamına gelen, "omnis cellula e cellula" mottosuyla gerçekleştirilmektedir.

Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği, 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 25. Yıl dönümünü de kutladığımız bu yıl ki kongremizde, histoloji ve embriyoloji araştırma alanının güncel konuları olan kök hücre ve rejeneratif tıp, üreme ve gamet biyolojisi, tümör biyolojisi ve hücresel tedaviler gibi başlıklar yer almaktadır. Kongre kapsamında 8 konferans oturumu, Türkiye Bilimler Akademisi'nin desteklediği bir kök hücre oturumu, bir minipanel, 10 çalışma grubu oturumu, 5 eğitim ve eşgüdüm oturumu ile 3 sözlü ve 3 poster sunusu oturumu gerçekleştirilmektedir.

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

Hem bilimsel, hem de sosyal anlamda değerli katılımlarınızla zenginleştirdiğiniz Uluslararası katılımlı XIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi'nde sizleri İzmir'in ve Ege'nin güzelliği ve sıcaklığında buluşturmanın mutluluğuyla hepimize en iyi dilekelerimizi sunarız.

Saygı ve sevgilerimizle.

Kongre Eş Başkanları

Prof. Dr. Ayşegül UYSAL
Ege Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim
Dalı Başkanı

Prof. Dr. Petek KORKUSUZ
Türk Histoloji ve Embriyoloji
Derneği
13. Dönem
Yönetim Kurulu Başkanı

Kongre Genel Sekreteri

Prof. Dr. Gülperi ÖKTEM
Ege Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı

KURULLAR / COMMITTEES

Onur Kurulu / Honorary Board

Ege Üniversitesi Rektörü / Rector of Ege University
Prof. Dr. Candeğer YILMAZ

Ege Üniversitesi Rektör Yardımcısı / Vice-chancellor of Ege University
Prof. Dr. Yeşim KİRAZLI

Dekan / Deputy Dean of Ege University Faculty of Medicine
Prof. Dr. Cemil GÜRGÜN

Kongre Eş-Başkanları / Co- Chairs

Prof. Dr. Ayşegül UYSAL, EÜTF Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı / Ege University Faculty of Medicine, Head of Department of Histology & Embryology

Prof. Dr. Petek KORKUSUZ, THED Yönetim Kurulu Başkanı / President of Turkish Society of Histology & Embryology

Kongre Genel Sekreteri / Congress Secretariat

Prof. Dr. Gülperi ÖKTEM, EÜTF Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı / Ege University Faculty of Medicine, Department of Histology & Embryology

Kongre Düzenleme Kurulu / Congress Organizing Committee

Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği / Turkish Histology & Embryology Society

Prof. Dr. Petek KORKUSUZ (Başkan)

Prof. Dr. A. Çevik TUFAN (Başkan Yardımcısı)

Prof. Dr. Çiğdem ELMAS (Genel Sekreter)

Doç. Dr. Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU (Sayman)

Prof. Dr. Özhan EYİĞÖR

Prof. Dr. Gülperi ÖKTEM (Kongre Genel Sekreteri)

Prof. Dr. Çiler ÇELİK ÖZENCİ

Doç. Dr. Ayten TÜRKKANI

Doç. Dr. Özgür ÇINAR

Yerel Düzenleme Kurulu / Local Organizing Committee

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı / Ege University Faculty of Medicine, Department of Histology & Embryology

Prof. Dr. Ayşegül UYSAL (Başkan)

Prof. Dr. Meral BAKA

Prof. Dr. Hüseyin AKTUĞ

Prof. Dr. Gülperi ÖKTEM

Prof. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU

Doç. Dr. Yiğit UYANIKGİL

Doç. Dr. Özlem YILMAZ

Uzm. Dr. Türker ÇAVUŞOĞLU

Uzm. Dr. Fatih OLTULU

Ar. Gör. Eda AÇIKGÖZ

Ar. Gör. Gürkan YİĞİTTÜRK

Dr. Kenan DEMİR

Dr. Aylin GÖKHAN

Dr. Duygu KOCATÜRK

Ar. Gör. Kubilay Doğan KILIÇ

Ar. Gör. Çevik GÜREL

Ar. Gör. Berrin ÖZDİL

Dok. Öğr. Dr. Gurur GARİP

Yük. Lis. Öğr. Aylin BUHUR

Yük. Lis. Öğr. Yasemin ADALI

Yük. Lis. Öğr. Ceren KUŞÇU

Bilimsel Kurul / Scientific Committee

Prof. Dr. Gülçin Abban Mete
Prof. Dr. Hüseyin Aslan
Prof. Dr. Sevim Aydın
Prof. Dr. Ayhan Bilir
Prof. Dr. Belgin Can
Prof. Dr. İlhami Çelik
Prof. Dr. Suzan Dağlıoğlu
Prof. Dr. Necdet Demir
Prof. Dr. Güven Erbil
Prof. Dr. Feriha Ercan
Prof. Dr. Esra Erdemli
Prof. Dr. Ender Erdoğan
Prof. Dr. Hatice Erdost
Prof. Dr. Oya Evirgen
Prof. Dr. Berrin Gençer Tarakçı
Prof. Dr. Aydın Girgin
Prof. Dr. Alpaslan Gökçimen
Prof. Dr. Mehmet Gül
Prof. Dr. Ranan Gülhan Aktaş
Prof. Dr. Aysel Güven Bağla
Prof. Dr. Hasan Herken
Prof. Dr. Sevinç İnan
Prof. Dr. Tülay İrez
Prof. Dr. Zeynep Kahveci
Prof. Dr. Sabiha Serpil Kalkan
Prof. Dr. Turan Karaca
Prof. Dr. Erdal Karaöz
Prof. Dr. M. Aydın Ketani
Prof. Dr. Ahmet Koç
Prof. Dr. Emel Koptagel
Prof. Dr. Emin Türkay Korgun
Prof. Dr. Meral Koyutürk
Prof. Dr. Şadiye Kum
Prof. Dr. Aysel Kükner
Prof. Dr. Sevda Müftüoğlu
Prof. Dr. Yusuf Nergiz
Prof. Dr. Ersan Odacı
Prof. Dr. Asuman Özen
Prof. Dr. Nesrin Özfiliz
Prof. Dr. Meltem Özgüner
Prof. Dr. Candan Özoğul
Prof. Dr. Sait Polat
Prof. Dr. Bizden Sabuncuoğlu
Prof. Dr. Yavuz Tekelioğlu
Prof. Dr. İbrahim Tuğlu
Yrd. Doç. Dr. Hayrunnisa Yeşil

Prof. Dr. Serpil Ünver Saraydın
Prof. Dr. Birkan Yakan
Prof. Dr. Melda Yardımoğlu Yılmaz
Prof. Dr. Altuğ Yavaşoğlu
Prof. Dr. Engin Yenilmez
Prof. Dr. Selma Yilmazer
Prof. Dr. Serap Arbak
Prof. Dr. Utku Ateş
Prof. Dr. Banu Coşkun Yılmaz
Prof. Dr. Figen Kaymaz
Prof. Dr. Özgül Tap
Prof. Dr. Sema Girgin Timurkaan
Prof. Dr. H. Seda Vatansever
Doç. Dr. Nuray Acar
Doç. Dr. Cevat Aktaş
Doç. Dr. Selen Bahçeci
Doç. Dr. Ebru Ballı
Doç. Dr. Sevil Çaylı
Doç. Dr. Kemal Ergin
Doç. Dr. Süheyla Gonca
Doç. Dr. Emine Elif Güzel
Doç. Dr. Yıldırım Kalkan
Doç. Dr. Sibel Serin Kılıçoğlu
Doç. Dr. Cem Korkmaz
Doç. Dr. Meltem Kuruş
Doç. Dr. Emin Oğuzhan Oğuz
Doç. Dr. Hakan Sağsöz
Doç. Dr. Leyla Satı
Doç. Dr. Nejdet Şimşek
Doç. Dr. Gamze Tanrıöver
Doç. Dr. Şehime Gülsün Temel
Doç. Dr. Yeter Topçu Tarladaçalısır
Doç. Dr. Selçuk Tunik
Doç. Dr. Elgin Türköz Uluer
Doç. Dr. Yiğit Uyanıkgil
Doç. Dr. Yusufhan Yazır
Yrd. Doç. Dr. Seyit Ali Bingöl
Yrd. Doç. Dr. Alev Cumbul
Yrd. Doç. Dr. Gökhan Cüce
Yrd. Doç. Dr. Hakan Darıcı
Yrd. Doç. Dr. Mustafa Erboğa
Yrd. Doç. Dr. Pınar Naile Gürgör
Yrd. Doç. Dr. İlknur Keskin
Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar Sunay

PROGRAM - PROGRAM SCHEDULE		
30 Nisan 2016, Cumartesi - Saturday, 30 April 2016		
ANA SALON - MAIN HALL		
10:00-17:30	Kayıt - <i>Registration</i>	
12:30-13:30	Açılış töreni - <i>Opening ceremony</i>	
13:30-14:10	Açılış konuşmaları <i>Welcome remarks</i>	Ayşegül Uysal Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı <i>Head of Histology and Embryology Department Ege University Faculty of Medicine</i> Petek Korkusuz THED Başkanı <i>President of Turkish Histology and Embryology Society</i> Cemil Gürgün Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekani <i>Dean of Ege University Faculty of Medicine</i> Yeşim Kirazlı Ege Üniversitesi Rektör Yardımcısı <i>Vice President of Ege University</i>
14:10-14:40	Açılış konferansı - <i>Keynote lecture</i>	Oturum Başkanları: Petek Korkusuz, A. Çevik Tufan
	Developmental and regenerative skeletogenesis: Principles, strategies, promises, and challenges	Rocky S. Tuan K1 <i>University of Pittsburgh School of Medicine</i>
14:45-15:45	Açılış oturumu: Yeniden programlama <i>Opening lectures: Reprograming</i>	Oturum Başkanları: Ayşegül Uysal, Serap Arbak
14:45-15:15	Uniting major constituents of the genome: A novel function of the Piwi-piRNA pathway in the germline	<i>Haifan Lin K2 Yale Stem Cell Center</i>
15:15-15:45	Regulation of somatic cell reprogramming and its application	<i>In-Hyun Park K3 Yale Stem Cell Center</i>
15:45-16:00	Kahve arası - <i>Coffee break</i>	
16:00-17:30	Sözlü bildiri oturumu 1 - Oral presentations 1 Üreme ve gamet biyolojisi - <i>Reproductive and gamete biology</i>	Oturum Başkanları: Suzan Dağlıoğlu, Şahin Sırmalı, Candan Özoğul, İsmail Seçkin
16:00-16:10	Prostat Kanseri Kök Hücre ve Embriyo Ortak Kültürlerinde Yeniden Programlanmanın Epitelial Mezenseşimal Değişim Yönüyle Araştırılması <i>Investigating reprogramming in co-cultures of prostate cancer stem cell and embryo in terms of epithelial mesenchymal transition</i>	Fatih Oltulu Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
16:10-16:20	Fare Oositi ve Preimplantasyon Dönemi Embriyolarında mTERT Telomeraz Katalitik Alt ünitesinin c-Abl Protein Tirozin Kinaz Tarafından Düzenlenmesi <i>Regulation of The mTERT Telomerase Catalytic Subunit by The c-Abl Protein Tyrosine Kinase during Oocyte and Preimplantation Mouse Embryos</i>	Aylin Yaba Uçar Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

16:20-16:30	Endokannabinoid agonistleri, endometriyotik hücrelerde hücre çoğalma indeksini düşürmektedir <i>Endocannabinoid agonists decrease cell proliferation indexes on endometriotic cells</i>	Elif Bilgiç Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
16:30-16:40	Embriyonik Poli(A)-Bağlanma Proteinine Özgü Poliklonal Antikor Üretimi <i>Producing a Polyclonal Antibody Specific to Embryonic Poly(A)-binding Protein</i>	Fatma Uysal Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
16:40-16:50	Testiküler İskemi Reperfüzyon Hasarında Ubikülin Proteazom Yolağının Rolü <i>Role of the Ubiquitin proteasome pathway proteins in testicular ischaemia reperfusion injury</i>	Seda Ocaklı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi
16:50-17:00	Tetrasiklin-indüklenebilir Ctcfl transgenik farelerde H19 DMD metilasyon paterni <i>H19 DMD methylation pattern in tetracycline-inducible Ctcfl transgenic mice</i>	Leyla Satı Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
17:00-17:10	FoxO transkripsiyon faktörlerinin peri-implantasyon sürecindeki rolleri: Endometriyal reseptivitenin olası yeni belirteci <i>The roles of FoxO transcription factors in endometrium during peri-implantation period: Possible new marker of endometrial receptivity</i>	Dileyra Adıgüzel Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
17:10-17:20	Frajil X Primer Ovaryum Yetmezliği Fare Modelinde Folikül Atrezisinin ve Oosit Kalitesinin Değişimi <i>Follicle Atresia and Oocyte Quality are Altered in a Mouse Model of Fragile X Primary Ovarian Insufficiency</i>	Bahar Uslu Yale Tıp Fakültesi, Kadın Doğum ve Üreme Bilimleri Departmanı
17:20-17:30	In Vitro Elde Edilmiş Dört-Hücre Evresindeki Sığır Embriyolarında Kontrollü Yavaş Dondurma veya Vitrifikasyon Sonrası Ultra-Strüktürel Değişiklikler <i>Ultra-Structural Alterations in In Vitro Produced Four-Cell Bovine Embryos Following Controlled Slow Freezing or Vitrification</i>	Türker Çavuşoğlu Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
17:30-18:30	Poster bildirileri - <i>Poster presentations</i> <i>Sistemler, Kök hücre, Kanser</i>	Oturum Başkanları: Murat Tosun, Yiğit Uyanıkgil, Özgür Çınar, Pergin Atilla, Cem Korkmaz, Alev Gürol Bayraktaroğlu
19:30	Açılış etkinliği - <i>Opening reception</i>	

01 Mayıs 2016, Pazar - Sunday, 01 May 2016

ANA SALON - MAIN HALL

08:30-17:30	Kayıt - <i>Registration</i>	
08.30-09:40	Konferans: Üreme biyolojisi 1 <i>Conference: Reproductive biology 1</i>	Oturum Başkanları: Alp Can, Sevda Müftüoğlu, Mukaddes Eşrefoğlu
08:30-08:55	Progesterone signaling and pregnancy complications: Implications of cellular and molecular mechanisms for therapeutic management of prematurity	Charles J. Lockwood K4 <i>University of South Florida Health Morsani College of Medicine</i>
08:55-09:20	Cellular and molecular regulators of progestin-induced abnormal uterine bleeding: from bench discoveries to novel clinical treatment options	Ümit Kayışlı K5 <i>University of South Florida College Of Medicine</i>

09:20-09:40	Zaman meselesi: İmplantasyon ve sirkadyan saat <i>A matter of time: Implantation and circadian clock</i>	Çiler Çelik Özenci K6 Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Akdeniz University Faculty of Medicine</i>
09:40-09:55	Ara - Break	
09:55-11:10	Konferans: Rejeneratif tıp <i>Conference: Regenerative medicine</i>	Oturum Başkanları: Selma Yılmaz, Özhan Eyigör, İbrahim Tuğlu
09:55-10:20	Adult stem cells and biomimetic matrices for tissue engineering and modeling: Repair, restore, and re-create	Rocky S. Tuan K7 <i>University of Pittsburgh School of Medicine</i>
10:20-10:45	Claudin 6 and epidermal differentiation: Use of animal models	Kursad Turksen K8 <i>Editor in Chief, Stem Cell Reviews and Reports</i>
10:45-11:10	Macrophage-osteoprogenitor cell crosstalk in osteogenesis	Stuart B. Goodman K9 <i>Stanford University School of Medicine</i>
11:10-11:20	Kahve arası - Coffee break	
11:20-12:35	Türkiye Bilimler Akademisi -TÜBA oturumu: Türkiye'de kök hücre çalışmaları <i>Turkish Academy of Sciences session: Stem cell studies in Turkey</i>	Oturum başkanı: Gülperi Öktem
11:20-11:35	Ege Üniversitesi Kök Hücre Anabilim Dalı lisansüstü eğitim deneyimi <i>Ege University Department of Stem Cell graduate education experience</i>	Gülperi Öktem K10 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Ege University Faculty of Medicine</i>
11:35-11:55	Türkiye'de klinik kök hücre uygulamaları <i>Implementation of clinical stem cell therapies in Turkey</i>	Taner Demirel K11 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Ankara University Faculty of Medicine</i>
11:55-12:15	İskemik kardiyomyopatide kök hücre yaklaşımları <i>Stem Cell Therapy Approaches to Ischemic Cardiomyopathy</i>	Alp Can K12 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Ankara University Faculty of Medicine</i>
12:15-12:35	Nöromusküler dejeneratif hastalıklarda kök hücre uygulamaları: Laboratuvardan kliniğe <i>Stem Cell Applications on neuro-muscular degenerative disorders: Bench to bedside</i>	Erdal Karaöz K13 Liv Hospital Rejeneratif Tıp ve Kök Hücre Üretim Merkezi Hastanesi <i>Liv Hospital Regenerative Medicine Stem Cell Production Center</i>
12:35-13:30	Öğle yemeği - Lunch	
14:00-15:30	Konferans: Hücresel tedaviler ve klinik yaklaşımlar <i>Conference: Cell therapies and approaching clinics</i>	Oturum Başkanları: Zeynep Kahveci, Esra Erdemli, Hüseyin Aktuğ, Sevim Aydın
14:00-14:25	Osteonecrosis: Etiology to stem cell therapy	Stuart B. Goodman K14 <i>Stanford University School of Medicine</i>
14:25-14:50	Hematopoietic specification of embryonic and induced pluripotent stem cells and their potential use in cell-based therapies	Annelise Bennaceur Griscelli K15 <i>University Paris Sud XI School of Medicine</i>
14:50-15:15	Modelling cancer stem cells using iPSC	Ali Turhan K16 <i>University Paris Sud XI School of Medicine</i>
15:15-15:35	p300 ve CBP kromatin düzenleyicilerinin yeniden programlamadaki rolleri <i>A chromatin modifier-based chemical screen identifies a role for p300 and CBP in reprogramming</i>	Tamer Önder K17 Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Koc University Faculty of Medicine</i>

15:35-15:50	Kahve arası - <i>Coffee break</i>	
15:50-16:30	Minipanel: Makale yazımı <i>Minipanel: Writing a manuscript</i>	Oturum Başkanları: Oya Evirgen, Ahmet Nacar
15:50-16:10	What journals are looking for: One editor's perspective	Kursad Turksen K18 <i>Editor in Chief, Stem Cell Reviews and Reports</i>
16:10-16:30	İyi bir sözel sunum için basit kurallar <i>Simple rules for making good oral presentation</i>	Şahin Sırmalı K19 Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Uludağ University Faculty of Medicine</i>
16:30-17:50	Sözlü bildiri oturumu 2 - <i>Oral presentations 2</i> Hücre doku hasarı - <i>Cell and tissue injury</i>	Oturum Başkanları: Yusuf Nergiz, Sait Polat, Meral Baka, Engin Yenilmez
16:30-16:40	Koroner arter hastalığında epikardiyal yağ dokusunda makrofaj infiltrasyonu ve polarizasyonu üzerine netrin-1'in etkisi <i>Netrin-1 modulates macrophage infiltration and polarization in human epicardial adipose tissue in coronary artery disease</i>	Kadri Murat Gürses Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
16:40-16:50	Neonatal farede kardiyak rejenerasyon mekanizmalarının araştırılması <i>Analysis of underlying molecular mechanisms of neonatal cardiac regeneration</i>	Doğacan Yücel Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
16:50-17:00	Gebelik Sürecinde Diyabetik Sıçan Plasentalarında mTOR Sinyal Yolağının Anjiyogenez Mekanizmasına Etkisi <i>Effect of mTOR Signalling Pathway on Angiogenesis Mechanisms in Diabetic Rat Placenta During Pregnancy</i>	Aslı Özmen Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi
17:00-17:10	Nazal polipozis' de apoptozla ilişkili yollar: MAPK/JNK ve PI3K/mTOR Yolaklarının önemi <i>Apoptosis related pathways in the nasal polyposis: Importance of MAPK/JNK and PI3K/mTOR Pathways</i>	Fatma Şimşek İzmir Katip Çelebi Üniversitesi
17:10-17:20	Sjögren Sendromu Tanılı Hastalarda, Tükrük Bezinde Mast Hücreleri ve Notch Sinyalizasyonu İlişkinin Araştırılması <i>The Relation Between Mast Cells and Notch Signalization In The Salivary Glands of Patients Diagnosed With Sjogren's Syndrome</i>	Sema Avcı Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi
17:20-17:30	DeneySEL olarak oluşturulmuş hipotiroid, hipertiroid ve ötroid modellerinde miyokardiyal yağ asidi metabolizması ile inflamasyon arasındaki ilişkinin incelenmesi <i>Investigate the relationship between myocardial fatty acid metabolism and inflammation at experimentally induced hypothyroidism, hyperthyroidism, and euthyroid models</i>	Ezgi Nuriye Bektur Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi
17:30-17:40	Eritropoietin'nin DeneySEL Parkinson Sıçan Modelinde Nöroprotektif Etkisi <i>The neuroprotective effect of erythropoietin on experimental Parkinson model in rats</i>	Kubilay Doğan Kılıç Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
17:40-17:50	Nesfatin Nöronlarında Glutamat Reseptörlerinin Varlığının Agonist Etkileri ve Reseptör Ekspresyonu Düzeyinde Araştırılması <i>Assessment of the Presence of Glutamate Receptors in Nesfatin Neurons through the Agonist Effects and Receptor Expression</i>	Duygu Gök Yurtseven Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

17:50-18:50	Poster bildirimleri - <i>Poster presentations</i> <i>Üreme ve gamet, Güncel biyomedikal yaklaşımlar, Embriyoloji</i>	Oturum Başkanları: Feral Öztürk, Nesrin Özfiliz, Güven Erbil, Gamze Tanrıöver, Ayten Türkkan, Barış Baykal
19:00	Akşam yemeği - <i>Dinner</i>	
02 Mayıs 2016, Pazartesi - Monday, 02 May 2016		
ANA SALON - MAIN HALL		
08:30-17:30	Kayıt - <i>Registration</i>	
08.30-10:00	Konferans: Tümör biyolojisi 1 <i>Conference: Tumour biology 1</i>	Oturum Başkanları: Ayhan Bilir, Rüçhan Uslu, Sevinç İnan, Seda Vatansever
08:30-08:55	Role of TGF-superfamily during different stages of prostate cancer	Shafiq A. Khan K20 <i>Clark Atlanta University NIH/RCMI Program</i>
08:55-09:20	Microenvironmental regulation of exosomal-ncRNAs in cancer	Gabriel Lopez-Berestein K21 <i>MD Anderson Cancer Center</i>
09:20-09:45	Development of novel targeted therapies for cancer: Targeting EF2-kinase	Bülent Özpolat K22 <i>MD Anderson Cancer Center</i>
09:45-10:00	Regulation of anoikis in ovarian cancer	Burcu Aslan K23 <i>MD Anderson Cancer Center</i>
10:00-10:15	Kahve arası - <i>Coffee break</i>	
10:15-12:35	Sözlü bildiri oturumu 3 - <i>Oral presentations 3</i> Kök hücreler, hücrel tedavi ve rejeneratif tıp <i>Stem cell, cell therapies and regenerative medicine</i>	Oturum Başkanları: İsmail Üstünel, Emel Koptagel, Birkan Yakan, Aysel Kükner, Bünyami Ünal
10:15-10:25	Fare fibroblast, fare akciğer kanseri ve fare embriyonik kök hücrelerinde flavopiridol ve geldanamisinin terapötik etkilerinin ve hücre döngüsü bileşenleri, apoptozis, hücre iskeleti ilişkili moleküllerin karşılaştırılması <i>Comparison of cell cycle components, apoptosis and cytoskeleton related molecules and therapeutic effects of flavopiridol and geldanamycin in mouse fibroblast, mouse lung cancer and mouse embryonic stem cells</i>	Hüseyin Aktuğ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
10:25-10:35	Genoma entegre olmayan RNA virüsü aracılığı ile sağlıklı ve osteopetrotik insan mezenkimal kök hücrelerinin feeder-free şartlarda yeniden programlanması <i>Reprogramming of donor and osteopetrotic human mesenchymal stem cells with non-integrating RNA virus on feeder-free conditions</i>	İnci Cevher Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
10:35-10:45	Deneyel hasarlı sıçan testislerinde yağ doku kökenli kök hücre etkilerinin oksidatif stres ile ilişkisinin histolojik ve biyokimyasal parametreler ile karşılaştırılması <i>Effects adipocyte derived stem cell in the experimentally damaged rat testis with evaluation of histologic and biochemical parameters together relation of oxidative stress</i>	Dila Hatun Sal Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Celal Bayar University Faculty of Medicine
10:45-10:55	Hücrel dormansinin küçük moleküllerle engellenmesi hematopoetik kök hücrelerinin ex vivo çoğaltılmasını sağlamaktadır <i>Targeting cellular quiescence by small molecules enables ex vivo hematopoietic stem cell expansion</i>	Fatih Kocabaş Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi

10:55-11:05	Fare vitiligo modelinde in vitro çoğaltılan dermis kökenli hücrelerin tedaviye yönelik kullanımının ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde araştırılması <i>Investigation of in vitro cultured dermis derived cells for treatmental purpose in a mouse vitiligo model using light and electron microscopy</i>	Aslı Erdoğan İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi
11:05-11:15	Mezenkimal Kök Hücreler Hematopoetik Kök Hücrelerin Mobilizasyonunu Endokannabinoidler Aracılığı İle Düzenlemektedir <i>Mesenchymal Stem Cells Regulate The Hematopoietic Stem Cell Mobilization Through The Endocannabinoids</i>	Sevil Köse Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
11:15-11:25	Kordon kanı kök hücrelerinin diyabetik ayak yaralarında iyileşmeyi sağlayan faktörler üzerine etkisinin immünohistokimyasal yöntemle gösterilmesi <i>The Indication of the Influence of Cordon Blood Stem Cells on the Factors that Provide Healing on Diabetic Foot Scars Using Immunohistochemical Method</i>	Nazlı Çil Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
11:25-11:35	Dişoluşturmak için yeni bir umut: öncül hücrelerle harmanlanmış hidroksi apatit grefti <i>A new hope for a tooth generation: hydroxy apatite scaffold combined with progenitor cells</i>	Pakize Neslihan Taşlı Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
11:35-11:45	Erişkin fare ovaryum kök hücreleri ve yeniden oogeneze olasılığı <i>Adult mouse ovarian stem cells and possibility of neo-oogenesis</i>	Yashar Esmailian Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü
11:45-11:55	Ubikitin Aktifleştirici E1 Gen Ailesinin Hematopoetik Kök Hücre Dormansisi ve Kardiyomiyosit Tutuklanmasındaki Rolü <i>Ubiquitin Activating E1 Family at the Crossroads between Stem Cells Quiescence and Cardiomyocyte Cell Cycle Arrest</i>	Merve Aksöz Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
11:55-12:05	Çocukluk çağı akut miyeloid lösemilerinde kemik iliğinden köken alan mezenkimal stromal hücrelerin biyolojik ve immünolojik özellikleri <i>The biological and immunological properties of mesenchymal stromal cells derived from bone marrow in childhood acute myeloid leukemia</i>	İlkay Pişkin Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi
12:05-12:15	Kemik iliği ve plasenta dokusu Mezenkimal Kök Hücrelerinin immünomodülatuar ve farklılaşma kapasitelerinin karşılaştırılması <i>Comparison of immunomodulatory and differentiation capacities of Mesenchymal Stem Cells derived from bone marrow and placental tissue</i>	Aysun Sarıkaya Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
12:15-12:25	Dermis kökenli hücrelerin diyabetik yara modeli iyileşmesi üzerine etkisinin ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde araştırılması <i>Light and electron microscopic investigation of the effects of dermis derived cells of diabetic wound healing model</i>	Hasan Serdar Mutlu İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi
12:25-12:35	Yeni bir multi duvarlı karbon nanotüp tabanlı yapı iskelesinin insan meme kanseri hücre hattı (mcf-7) üzerine biyoyumluluğunun incelenmesi <i>A novel multi walled carbon nanotube based scaffold and its biocompatibility in human breast adenocarcinoma cells</i>	Pınar Kılıçaslan Sönmez Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi
12:35-13:30	Öğle yemeği - Lunch	

14:00-14:30	Uydu sempozyumu: Cytation 5 mikroskopi görüntüleme ve ölçüm sistemleri <i>Satellite symposium: Cytation 5 microscopy imaging and measurement systems</i>	Orhan Korkmaz, Biotek
14:30-14:40	Ara - Break	
14:40-15:45	Konferans: Tümör biyolojisi 2 <i>Conference: Tumour biology 2</i>	Oturum Başkanları: İlkin Çavuşoğlu, Alper Bağrıyanık, Altuğ Yavaşoğlu, Çiğdem Elmas
14:40-15:00	Lityum klorür ve antineoplastik ajanların farklı tümör hücre kültürleri üzerine etkilerinin ototfajik ve ultrastrüktürel olarak incelenmesi <i>The autophagic activity of LiCl and antineoplastic agents on different tumor cell lines using electron microscopy</i>	Ayhan Bilir K24 Zirve Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Zirve University Faculty of Medicine</i>
15:00-15:15	Tedaviye direnç mekanizması olarak fenotipik plastisite <i>Phenotypic plasticity as a mechanism of therapy resistance</i>	Zeynep Yüce K25 Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Dokuz Eylul University Faculty of Medicine</i>
15:15-15:30	Klinik pratikte kök hücre nakli: Laboratuvardan hastaya <i>Stem cell transplantation in clinical practice: From the laboratory to the patient</i>	Güray Saydam K26 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Ege University Faculty of Medicine</i>
15:30-15:45	Laboratuvar - pilot ölçeklerde monoklonal antikor üretimine çeşitli örnekler ve sorunlar <i>Some laboratory & pilot scale monoclonal antibody production techniques and milestones</i>	İsmet Deliloğlu Gürhan K27 Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi <i>Ege University Faculty of Engineering</i>
15:45-16:00	Kahve arası - Coffee break	
16:00-17:30	THED genel kurul toplantısı <i>Turkish Histology and Embryology Society general assembly</i>	
17:30-18:30	Poster bildirimleri - Poster presentations <i>Hücre ve doku hasarı, Histoloji ve embriyoloji'de bilimsel yaklaşımlar ve eğitim</i>	Oturum Başkanları: Aydan Özgörgülü, Gülnur Kızılay Özfidan, Narin Liman, Dilara Zeybek, Özlem Yılmaz, Meltem Kuruş
20:00	Gala yemeği - Gala dinner	
03 Mayıs 2016, Salı - Tuesday, 03 May 2016		
ANA SALON - MAIN HALL		
08:50-10:10	Konferans: Üreme biyolojisi 2, teknikler <i>Conference: Reproductive biology 2, techniques</i>	Oturum Başkanları: Nejdett Demir, Semiha Ersoy, Saim Özdamar, Artay Yağcı, Hatice Erdost
08:50-09:10	Transcriptomics analysis and bioinformatics approaches for histology and embryology studies	Ümit Kayışlı K28 <i>University of South Florida College Of Medicine</i>
09:10-09:25	IVF sikluslarında elde edilen germinal vezikül (GV) evresindeki oositler hasta yararına kullanılabilir mi? <i>Can germinal vesicle (gv) stage oocytes acquired in ivf cycles be used to the benefit of the patient?</i>	Barış Baykal K29 Gülhane Askeri Tıp Akademisi <i>Gulhane Military Medical Academy School of Medicine</i>
09:25-09:40	A new rapid non-arbitrary histomorphometric method of quantifying ovarian follicle atresia in the mouse	Bahar Uslu K30 Yale Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Yale University School of Medicine</i>

09:40-09:55	Prenatal tanıya genetik yaklaşım <i>Genetic tests in prenatal screening</i>	Özgür Çoğulu K31 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi <i>Ege University Faculty of Medicine</i>
09:55-10:10	Tüp bebek ünitesinin kuruluşu ve işleyişindeki deneyimlerimiz <i>Our experiences during set up and operating IVF unit</i>	Tahsin Murad Aktan K32 Necmettin Erbakan Üni. Tıp Fakültesi <i>Necmettin Erbakan University Faculty of Medicine</i>
10:10-10:25	Kahve arası - <i>Coffee break</i>	
10:25-10:55	Konferans: Kök hücre uygulamaları <i>Conference: Stem cell applications</i>	Oturum Başkanları: Berrin Zık, Işıl Tekmen
10:25-10:40	Veteriner hekimlikte kök hücre kullanımı <i>Stem cell therapy in veterinary medicine</i>	Asuman Özen K33 Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi <i>Ankara University Faculty of Veterinary Medicine</i>
10:40-10:55	PRP'nin klinik kullanımındaki deneyimlerimiz <i>Our Clinical Usage Experiences For PRP</i>	Selçuk Duman K34 Necmettin Erbakan Üni. Tıp Fakültesi <i>Necmettin Erbakan University Faculty of Medicine</i>
10:55-11:30	Kapanış konuşmaları - <i>Closing remarks</i>	

Davetli Konuşma ve Konferanslar

Invited Lectures and Conferences

(K01-K34)

K1

Rocky S. Tuan - University of Pittsburgh School of Medicine

Developmental and regenerative skeletogenesis: Principles, strategies, promises, and challenges

Rocky S. Tuan

Center for Cellular and Molecular Engineering

Department of Orthopaedic Surgery

University of Pittsburgh School of Medicine

Formation of the skeletal system gives the organism form and structure, and is a key event of embryonic development. Skeletogenesis is a culmination of patterning, cellular condensation and differentiation, extracellular matrix production, morphogenesis of structural elements, and mechanical activation. Scientific investigations in the last many decades have provided a large body of information on the cellular origin and activities and molecular signaling events that are responsible skeletal development, a truly 3-dimensional morphogenetic event of development. Diseases, traumatic injuries, and aging are known to cause structural damages to the adult skeleton. Regenerative medicine is being touted as a promising approach to address these medical needs, utilizing the principles of tissue development, involving progenitor cells, enabling matrix scaffolds, and appropriate biological signals. Focusing on skeletal tissues in various in vitro and in vivo experimental models, this lecture will address the concepts guiding this approach, the technical strategies being employed, and the promises and the challenges ahead to realize the potential of regenerative medicine.

K2

Haifan Lin - Yale Stem Cell Center

Uniting major constituents of the genome: A novel function of the Piwi-piRNA pathway in the germline

Toshiaki Watanabe, Ee-chun Cheng, and Mei Zhong, and Haifan Lin
Yale Stem Cell Center and Department of Cell Biology,
Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut 06519, USA

The eukaryotic genome has vast intergenic regions containing transposons, pseudogenes, repetitive sequences, and noncoding genes that produce numerous long non-coding RNAs (lncRNAs) and PIWI-interacting RNAs (piRNAs). Yet the functions of the intergenic regions remain largely unknown. In mammals, a unique set of piRNAs, pachytene piRNAs, is abundantly expressed in the germline in late spermatocytes and early spermatids. Recently, we showed that piRNAs derived from transposons and pseudogenes mediate the degradation of a large number of mRNAs and lncRNAs in mouse late spermatocytes. In particular, they have a large impact on the lncRNA transcriptome, as a quarter of lncRNAs expressed in late spermatocytes are upregulated in mice deficient in piRNA pathway. Furthermore, our genomic and in vivo functional analyses revealed that retrotransposon sequences are frequently found in the 3' UTR of mRNAs that are targeted by piRNAs for degradation. Similarly, the degradation of spermatogenic cell-specific lncRNAs by piRNAs is mediated by retrotransposon sequences. Moreover, we have shown that pseudogenes regulate mRNA stability via the piRNA pathway. The degradation of mRNAs and lncRNAs by piRNAs requires MIWI and, at least in part, depends on its slicer activity. Together, these findings reveal a highly complex and global RNA regulatory network through which transposons and pseudogenes regulate target mRNA and lncRNA stability via the piRNA pathway to promote meiosis-spermiogenesis transition.

K3

In-Hyun Park - Yale Stem Cell Center

Regulation of somatic cell reprogramming and its application

My research foci include investigating the epigenetic regulation of cell fate to understand the human somatic cell reprogramming and to develop cellular therapeutics for human neurodevelopmental disorders. Recently, my lab has worked on dissecting the cellular and molecular progresses of human somatic cell reprogramming. An analysis of transcriptome transition from somatic to pluripotent cells demonstrated the bimodal change in signaling pathways and identified novel primate specific reprogramming factors. In addition, I have led the research on defining the function of MeCP2 on Rett syndrome (RTT) and developing therapeutics for RTT. We have established in vitro RTT model using human iPSCs and found that metabolic genes are abnormally regulated in human RTT neurons.

K4

Charles J. Lockwood - University of South Florida Health Morsani College of Medicine

Progesterone signaling and pregnancy complications: Implications of cellular and molecular mechanisms for therapeutic management of prematurity

Prof. Charles J. Lockwood, MD. Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, University of South Florida, Tampa, FL.

Human term labor is triggered by sequential molecular modifications that involve activation of inflammation and inhibition of progesterone-progesterone receptor (P4-PR) function in the reproductive tract. Infection, placental abruption, maternal/fetal stress, genetic and environmental factors cause spontaneous preterm birth (PTB). Worldwide over 15 million PTBs occur each year. Only in the USA, more than 12% of live births occur prematurely, constituting a major public health burden due to attendant perinatal mortality and morbidity costing \$26 billion/year. Decidual Inflammation is an essential feature of both chorioamnionitis (CAM) and abruption-induced PTBs. In all viviparous species, inhibition of P4 production and/or function elicits labor (i.e., activates decidual inflammation, remodels the cervix, promotes fetal membrane rupture and increases myometrial contractility). P4 signaling in target cells is achieved by binding to two P4 receptor (PR) isoforms: PR-A (92 kDa) and PR-B (116 kDa), which belong to a ligand-activated nuclear transcription factor superfamily. Both PR isoforms bind P4 and progestins such as MPA and R5020 with equal affinity. Ligand binding induces PR dimerization, phosphorylation and binding to cis-acting response elements on DNA to modulate activity of target gene promoters. In several cell lines, PR-B is a transcriptional activator, whereas PR-A is a transcriptional repressor of P4-responsive promoters. Unlike most mammals in which parturition is initiated by declining maternal plasma P4 levels, this systemic decline does not occur during primate and guinea pig (GP) parturition. In these mammals, elevated P4 levels are sustained until after delivery of the placenta suggesting that a physiologic block of P4 signaling in target cells elicits functional P4 withdrawal. Treatment of women with PR antagonists (e.g. RU486) induces labor at any stage of pregnancy indicating that PR is responsible for functional P4 withdrawal. This talk will involve discussions on potential mechanisms that contribute to functional P4 withdrawal include decreased PR gene transcription, increased ubiquitin-mediated PR degradation, PR phosphorylation changes, PR isoform switching (PR-A vs. PR-B), changes in PR co-regulators, and/or indirect antagonism by other transcription factors. We will also discuss the inhibitory effects of proinflammatory cytokines and immunophilin FKBP51 on PR expression and function in decidual cells and how these inhibitions of PR expression and function mediate functional P4 withdrawal at the maternal-fetal interface triggering inflammation and stress induced PTB.

K5

Ümit Kayışlı - University of South Florida College Of Medicine

Cellular and molecular regulators of progestin-induced abnormal uterine bleeding; from bench discoveries to novel clinical treatment options

Assoc. Prof. Umit A Kayisli, PhD Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, University of South Florida, Tampa, FL.

The US has an extremely high rate of unintended pregnancies. Non-adherence to contraceptives accounts for nearly half of these unintended pregnancies, over a million pregnancies annually. Unintended pregnancies result in excess preterm birth, low birth weight and are significant contributors for perinatal and maternal morbidity and mortality. The total public costs for unintended pregnancies is around \$21 billion/year. Abnormal uterine bleeding (AUB) is irregular uterine bleeding that occurs in the absence of recognizable pelvic pathology, general medical disease, or pregnancy. Long term progestin use is one of the main causes of AUB. Albeit progestin only long acting reversible contraceptives (pLARCs) are safely used worldwide, they are most often discontinued due to AUB. This talk will include our results that uncovered basic mechanisms underlying such AUB. Progestins markedly reduces endometrial perfusions resulting in hypoxia (HX) and reperfusion-induced ROS generation. HX/ROS may cause AUB directly by damaging endometrial microvessels and indirectly by inducing aberrant angiogenesis. The latter reflects HX/ROS effects on: human endometrial stromal cells (HESCs) to decrease expression of the vascular stabilizing protein, angiopoietin-1 (Ang-1) and increase levels of VEGF, the primary initiator of angiogenesis; and endometrial endothelium to increase expression of Ang-2, a vessel branching and elongation factor. Unlike menstrual bleeding originating from spiral arterioles in response to P4 withdrawal, pLARCs-associated AUB occurs intermittently and focally from irregularly distributed superficial, abnormally enlarged, fragile microvessels. This talk will further discuss molecular and cellular mechanisms generating these damages in microvessels. Progestin-induced microvascular damage contributes to excess thrombin generation by increasing delivery of circulating factor VII to HESC-derived TF. While thrombin prevents bleeding by activating platelets and generating fibrin, it promotes focal hemorrhage by binding to HEEC-expressed protease activated receptors (PARs) to increases endothelial permeability and aberrant angiogenesis and inflammation by increasing VEGF and IL-8 expression and degrades endometrial matrix by inducing HESC-derived MMP-1 and MMP-3. We will discuss our recent discoveries on endothelial cells and vascular smooth muscle cells (VSMCs). Our microarray and proteomics analyses reveal that progestin-treated HESCs secrete inducers of endothelial apoptosis. Moreover, progestin-treated superficial endometria and pLARC-treated guinea pigs display reduced numbers of VSMCs, which prevents envelopment of new vessels and contributes to the hyperdilated, thin-walled fragile microvessels. Ingenuity pathway analysis identifies progestins-reduced CCL2 levels are responsible for this suppression of VSMC proliferation. The concerted actions of HX-induced HESC-mediated HEEC apoptosis and progestin-inhibited VSMC proliferation via CCL2 suppression provides several novel therapeutic approaches to prevent AUB.

K6

Çiler Çelik Özenci - Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi/Akdeniz University Faculty of Medicine

Zaman meselesi: İmplantasyon ve sirkadyan saat

A matter of time: Implantation and circadian clock

İmplantasyon penceresi; pre-implantif gelişimini tamamlamış olan blastosistin reseptif uterus ile karşılaştığı kısıtla bir zaman dilimini ifade eder. Embriyo implantasyonu blastosist ve endometriyum arasında, karmaşık mekanizmalar tarafından düzenlenen, karşılıklı bir ilişki gerektirir. Endometriyal epitel hücreleri, endometriyal bez hücreleri ve endometriyal stroma hücrelerinin uterus reseptivitesine katkıları hakkında bilgiler henüz yeterli değildir. Sadece implante olan embriyo değil, bu hücre kompartımanları da birbirleriyle özgün gen ekspresyonları ile karşılıklı olarak konuşurlar. Son yıllarda, sirkadyan ritim düzenleyicilerinin üreme ve fertilité ile ilişkili olduğu ve zaman sistemlerinde meydana gelen bozuklukların insanlarda ve farelerde üreme kapasitesini olumsuz etkileyebildiği bildirilmektedir. Sirkadyan saat ile ilişkili genlerin tekli delesyonu veya mutasyonu sadece sirkadyan ritmin bozulmasına değil üreme fonksiyonunun da etkilenmesine sebep olmaktadır. CLOCK proteininin bir paraloğu olan (bir tek genomda gen ikilenmesi ile oluşmuş ve işlevleri farklılaşmış, benzer gen) ve sirkadyan saati kontrol eden NPAS2, hücrelerde CLOCK eksikliğinde meydana gelen düzensizlikleri kompanse edebilir. NPAS2 ekspresyonunu, normal gebelik sürecine ek olarak yalancı gebelik ve yapay desidualizasyon oluşturulmuş fare modellerinde araştırdık. Ayrıca, fertilizasyon sonrasında 6 saatlik ileri faz zaman dilimine gidiş modellenerek sirkadyan saatleri bozulan farelerde implantasyon ve sonraki gebelik dönemi değerlendirildi. Konuşmanın içeriğinde fare peri-implantasyon sürecinde NPAS2'nun varlığı ve olası rolü hakkındaki bulgularımızı tartışılacaktır. Gece vardiyasında çalışanların ve uluslararası seyahat edenlerin artışıyla ve bu süreçlerin insan sirkadyan ritmini bozduğu bilgisine dayanarak, fertilitéde sirkadyan ritmin olası rolünü değerlendirmek üreme biyolojisi alanında çalışanlar açısından güncel bir konudur.

The window of implantation is a limited time span when blastocyst competency is superimposed on the receptive state of the uterus. Embryo implantation requires a reciprocal interaction between the blastocyst and endometrium and is associated with complex regulatory mechanisms. Contribution of endometrial epithelial, glandular, and stromal cell types to uterine receptivity is poorly understood. Not only the implanting embryo is in crosstalk with these cellular compartments but also these compartments are in crosstalk between each other with specific gene expression and mouse models with compartment-specific gene deletion became informative. In recent years, circadian rhythm regulators have been linked to the regulation of reproduction and fertility such that disruptions to timing systems can adversely influence reproductive capacity. Deletion or mutation of single genes results not only in disrupted circadian rhythmicity, but also compromised reproductive function. NPAS2, a paralogue of CLOCK protein, can compensate for loss of CLOCK in cells. We have studied NPAS2 expression during peri-implantation period and in various mouse models including pseudo-pregnancy, and artificial decidualization. We evaluated implantation and onwards in phase-advance group that was subjected to 6-hour advances of the light cycle. This talk will focus on our findings regarding the presence and possible regulation of NPAS2 during peri-implantation period in mice. Given the increased incidence of shiftwork and international travel which disrupt circadian rhythmicity in humans it is important for reproductive medicine scientists to consider the role of circadian rhythms in fertility.

K7

Rocky S. Tuan - University of Pittsburgh School of Medicine

Adult stem cells and biomimetic matrices for tissue engineering and modeling: Repair, restore, and re-create

Rocky S. Tuan

Center for Cellular and Molecular Engineering, Department of Orthopaedic Surgery University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA 15219, USA

Degenerative joint diseases, the most prevalent cause of physical disabilities, affect up to 15% of the population, particularly the elderly. In osteoarthritis, the low, intrinsic reparative capacity of cartilage is a clinical challenge to effective treatment. Current treatments, such as anti-inflammatory drugs, are only able to provide short-term pain relief. Total joint arthroplasty remains the only effective procedure, but is ultimately limited by the finite life expectancy of the implant. Tissue engineering and regenerative medicine, an emerging scientific discipline encompassing translational application of cells, scaffolds, and biological signals, is a potentially promising approach to repair damaged/diseased tissues to restore joint function and mobility. Adult mesenchymal stem cells (MSCs), from tissue sources such as bone marrow, adipose, and skeletal muscle, exhibit multi-lineage mesenchymal differentiation potential, including chondrogenesis, and are considered a promising candidate cell type for cartilage repair. A critical component to successful cell-based cartilage tissue engineering is a biocompatible biomaterial cell-carrier scaffold that ideally also enhances proliferation and differentiation of the seeded cells. We have previously shown that electrospun biomimetic scaffolds that simulate the structure of native extracellular matrix, e.g., the nanoscale fibrous nature of collagen, are effective in MSC-based skeletal tissue engineering, both in vitro and in vivo. We have recently custom-designed photocrosslinked hydrogel scaffolds derived from natural and synthetic polymers, to achieve live cell encapsulation during fabrication, with high fidelity tissue infrastructure reproduction and excellent cell retention, viability, and differentiation, and generated robust cartilage and bone tissue constructs. Bioactivation of these biomimetic scaffolds by incorporating biologically targeted gene constructs results in transduction of both exogenous and endogenous host cells. These constructs may also be formed in situ, serving to both deliver cells and create custom-designed shapes for joint cartilage re-surfacing, potentially amenable to minimally invasive, arthroscopic procedures. Most recently, we have applied 3D-printing approach and a custom-designed microbio-reactor to fabricate an MSC-derived microtissue analogue of the biphasic osteochondral junction of the articular joint, demonstrating functional biological crosstalk between the chondral/osseous components. This osteochondral microphysiological system is currently being used to model the pathogenesis of osteoarthritis, e.g., exposure to pro-inflammatory agents, and to study biological, hormonal, pharmacological, and mechanical influences on osteochondral health. Adult stem cells, with their multi-differentiation potential and their recently discovered trophic activities, in combination with biomimetic scaffolds, present a powerful platform for regenerative, therapeutic, and disease modeling applications in biomedicine. [Support: Pennsylvania Department of Health, NIH, Dept Defense, EPA]

K8

Kursad Turksen - Editor in Chief, Stem Cell Reviews and Reports

Claudin 6 and epidermal differentiation: Use of animal models

Skin is one of the largest organs of the body, and is formed during development through a highly orchestrated process involving mesenchymal-epithelial interactions, cell commitment, and terminal differentiation. It protects against microorganism invasion and UV irradiation, inhibits water loss, regulates body temperature, and is an important part of the immune system. Using transgenic mouse technology, we have demonstrated that Claudin (Cldn)-containing tight junctions (TJs) are intricately involved in cell signaling during epidermal differentiation and that an epidermal suprabasal overexpression of Cldn6 results in a perturbed epidermal terminal differentiation program with distinct phenotypic abnormalities. To delineate the role of the Cldn cytoplasmic tail domain in epidermal differentiation, we engineered transgenic mice targeting the overexpression of a Cldn6 cytoplasmic tail-truncation mutant in the epidermis. Transgenic mice were characterized by a lethal barrier dysfunction in addition to the existence of hyperproliferative squamous invaginations/cysts replacing hair follicles. Immunohistochemical analysis revealed an epidermal cytoplasmic accumulation of Cldn6, Cldn11, Cldn12, and Cldn18, downregulation of Cldn1 and aberrant expression of various classical markers of epidermal differentiation; namely the basal keratins as well as K1, involucrin, loricrin, and filaggrin. Collectively these studies suggest an important role for Cldns in epidermal/hair follicle differentiation programs likely involving cross talk to signaling pathways (e.g., Notch) directing cell fate selection and differentiation

K9

Stuart B. Goodman - Stanford University School of Medicine

Macrophage-osteoprogenitor cell crosstalk in osteogenesis

Florence Loi, Luis A. Córdova, Ruth Zhang, Jukka Pajarinen, Tzu-hua Lin, Zhenyu Yao, Stuart B. Goodman

Stuart B. Goodman MD PhD
Professor of Orthopaedic Surgery and Bioengineering,
Stanford University, Stanford, CA, USA

Macrophages are important components of the inflammatory cascade, and therefore modulate virtually all cell functions in diverse organ systems throughout the body. Inflammation is also the first stage of bone healing. Despite the fact that macrophages are key immunomodulatory cells that determine in part the delicate balance between bone formation and bone resorption, little is known about the interactions between cells of the monocyte/macrophage lineage and cells of the mesenchymal stem cell (MSC)/osteoblast lineage. Indeed crosstalk between these two cell lineages is critical for homeostasis of the musculoskeletal system and in particular, normal bone healing and remodeling. This subject is highly relevant to the healing of traumatic injuries and defects of bone, fracture nonunions, osteoporosis, osteomyelitis, tumor associated bone lysis, peri-prosthetic particle-associated osteolysis and other bone conditions.

Macrophage populations are highly heterogeneous and plastic, and can be classified into 3 general subtypes including non-activated (M0) macrophages, classically activated pro-inflammatory (M1) macrophages, and anti-inflammatory pro-tissue repair and neovascularization (M2) macrophage phenotypes. We have performed extensive in vitro cellular and molecular experiments to determine the effects of different macrophage phenotypes on osteogenesis.

Different macrophage phenotypes were co-cultured with pre-osteoblastic MC3T3 to investigate the effects of non-activated M0, pro-inflammatory M1, and tissue-regenerative M2 macrophages on markers of inflammation and bone physiology.

In order to simulate the transition in bone healing from inflammation to tissue regeneration, M1-MC3T3 co-cultures were treated with interleukin-4 (IL-4) at different time points to change the M1 pro-inflammatory phenotype to the M2 phenotype. The techniques of flow cytometry, PCR, ELISA and alizarin red staining of the cultures were used.

Interestingly, co-culture with any of the macrophage phenotypes increased the osteogenic ability of MC3T3 cells, and resulted in increased alkaline phosphatase (ALP) activity and matrix mineralization. Time course co-culture experiments showed that when macrophage phenotype was changed from an M1 to an M2 phenotype by addition of IL-4 72 hours after cell seeding, the result was increased ALP activity, osteocalcin concentration, and matrix mineralization by the MC3T3 cells.

It would appear that a transient inflammatory phase, prior to transition to the repair phase, is critical for enhanced bone formation using our in vitro model. Novel strategies for modulating the local inflammatory microenvironment have the potential for enhancing bone repair.

K10

Gülperi Öktem - Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi/Ege University Faculty of Medicine
Ege Üniversitesi Kök Hücre Anabilim Dalı lisansüstü eğitim deneyimi
Ege University Department of Stem Cell graduate education experience

Kök Hücre Anabilim Dalı, Sağlık Bilimler Enstitüsü'ne bağlı olarak 05.05.2011 tarihinde kurulmuştur. Türkiye'nin ilk Kök Hücre Anabilim Dalı olarak faaliyet gösteren bölümümüz 43 öğretim üyesi, 6 mezunu, 20 doktora öğrencisi ve 17 yüksek lisans öğrencisi ile eğitim vermeye devam etmektedir.

Tıp Fakültesi ve Temel Bilimler alanlarının ortak çalışmalarıyla hayata geçirilen Kök Hücre Anabilim Dalı, bilimde son zamanların en önemli konusunda eğitim verebilecek öğretim üyesi eksikliğini giderebilecek ve kök hücre alanındaki özgün dersler ile bu alanın uzmanlarını yetiştirerek etik değerlere uygun şekilde kök hücre ve hücresel tedaviler alanındaki araştırma ve tedavilerde öncü olmayı misyon olarak belirlemiştir. Araştırmalar sonucunda elde edilecek olan bilgilerin yeni tedavi ve ilaç geliştirmelerine olanak sağlaması ve dünyadaki bilimsel çalışmalar arasında ülkemizin de üst düzeyde temsil edilmesi amaçlanmaktadır.

Kök hücrelerin iyileştirme potansiyellerinin uygulamada kullanılabilir hale getirilmesi, yeni kök hücre tedavilerinin geliştirilmesi, ortaya çıkan etik ve hukuksal durumların anlaşılması, uygulamada yeni stratejilerin belirlenmesi amacıyla oluşturulan dersler bölümdeki hocaların uzmanlık alanlarına göre verilmektedir.

ARAŞTIRMA OLANAKLARI

Kök Hücre Anabilim dalının kullanıma açılmış olan laboratuvarlar:

- AREL (Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Laboratuvarı)
- FABAL (Eczacılık Fakültesi Farmasötik Bilimler Araştırma Laboratuvarı)
- Ege Üniversitesi Pediatrik Hematoloji Kök Hücre Nakil Ünitesi,
- Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Terapötik Aferez Merkezi ,
- Nevvar – Salih İşgören İç Hastalıkları Kliniği (Kök Hücre İşleme ve Saklama Bölümleri, Bilgi İşlem, Hasta Kabul ve Muayene Odası),
- Doku Tipi laboratuvarı,
- Analitik Kimya Abd.,
- Fizyoloji Anabilim Dalı,
- Nükleer Bilimler Enstitüsü ,
- Mühendislik Fak., Biyomühendislik Böl,
- E.Ü. Mühendislik Fak., Biyomühendislik Böl.,
- Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği laboratuvarı,
- Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
- Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı,
- Histoloji ve Embriyoloji AD.

K11

Taner Demirer - Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi/Ankara University Faculty of Medicine
Türkiye'de klinik kök hücre uygulamaları
Implementation of clinical stem cell therapies in Turkey

Bu konuşmamızda Ülkemizde kök hücre transplantasyon uygulamaları gözden geçirilecektir. Sunumda hem Türk Hematoloji Derneği, hem Sağlık Bakanlığımız, ve hem de EBMT verilerine değinilecektir.

Son 10 yılda Ülkemizde transplantasyon ünitelerinin sayısı 70 e yıllık nakil sayıları ise 3000 lere ulaşmıştır. Ülkemizde kök hücre tedavilerinin kullanımı özellikle son dekatta yaygınlaşmış olup sonuçları ve başarı oranları Avrupa ve Kuzey Amerika ile kıyaslanabilir durumdadır.

Özellikle kordon kanı kök hücresi kullanımı, GVHD tedavisi için mezankimal kök hücrelerinin kullanımı, haploidentik nakillerin artan şekilde kullanımı ve TÜRKÖK Projesi gibi uygulamalar adeta Ülkemizi kök hücre tedavilerinde bölgesinde lider ülke konumuna getirmiştir. Konuşmamızda bu topikler kısaca gözden geçirilecektir.

In this talk, we will review the clinical applications of stem cell therapies in Turkey. For this purpose, we will use the data of Turkish Hematology Society, Ministry of Health and European Group for Blood and marrow Transplantation (EBMT).

During the last 10 years, especially number of transplant units reached to 70 and annual transplants approximately to 3000. It is clear that stem cell transplant therapies are being increasingly used as times goes by and both success rate and results are comparable with centers in the Europe and USA.

Implementations such as use of cord blood stem cells, mesenchymal stem cells for treatment of graft-versus-host-disease, haploidentical transplants and TÜRKÖK Project in order to establish a donor bank made Turkey a leader country for stem cell therapies in this region. We will review these issues, shortly, in our talk.

K12

Alp Can - Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi / Ankara University Faculty of Medicine
İskemik kardiyomiyopatide kök hücre yaklaşımları
Stem Cell Therapy Approaches to Ischemic Cardiomyopathy

Son 15 yılda iskemik kardiyomiyopatide (İKM) gerek otolog gerekse allojeneik olmak üzere çok sayıda kök hücre tedavisi denemesi gerçekleştirilmiştir. Çoğunlukla faz 1 ve 2 düzeyinde ve az sayıda hasta üzerinde yürütülen bu çalışmalardan bir kısmında ümit verici sonuçlar alınmıştır. Dolayısıyla elde edilen sonuçların "klasik bir tedavi yöntemi" olarak kabul edilmeden önce bir "ön bulgu" olarak değerlendirilmesi daha yerinde olur. Yakın zamanda yayınlanan ve akut miyokard enfarktüsü (AMİ) sonrası kök hücre tedavilerinin ele alındığı bir meta analize göre sol ventrikül (SV) ejeksiyon fraksiyonundaki (EF) bir miktar artışın ötesinde daha fazla bir yararın maalesef elde edilemediği görülmektedir. Bu amaçla kök hücrelerin iskemik kardiyopati olgularında kullanım gerekçelerinin tekrar değerlendirilmesi gerekliliği söz konusudur. Öncelikle İKM olan birçok hastada aşikar AMİ'den önce klinik olarak saptanmış veya saptanamamış (subklinik) bir miyokard enfarktüsü öyküsü bulunmakta ve dolayısıyla bu hastalarda progresif bir ventrikül doku değişikliği ve bir miktar sol ventrikül yetmezliği varlığından söz edilmelidir. Bu durumda her hastanın kök hücre tedavisine vereceği yanıt birbirinden farklı olacaktır. Bunun yanı sıra İKM'de hemen her hastada belli oranda disfonksiyonel canlı miyokard (DCM) dokusunun varlığı hücrel tedavi yanıtını etkilemektedir. AMİ geçiren hastaların bir çoğunda görülen bu doku kök hücre tedavisinin ana hedefinde yer almaktadır ve kardiyak MR ile ayrıntılı olarak saptanmaktadır. Eğer DCM dokusu canlı olmak yerine daha çok skar dokusundan oluşuyorsa kök hücre tedavisi sonrası SVEF'deki artış daha anlamlı olmaktadır. İKM'de ilerleyici SV disfonksiyonuna eşlik eden mekanizmalar düşünüldüğünde temelde dört etkenin bunda yer aldığı görülmektedir; i) inflamatuvar ve immün doku yanıtları, ii) mikrovasküler disfonksiyon, iii) oksidatif stres, ve iv) ekstraselüler matriks üretimi ve artmış apoptoz. Bu konuşmada bu dört temel hücre ve doku yanıtının İKM'deki rolü tartışılacaktır. (Proje no: 0741-STZ-2014)

Over the past 15 years, numerous stem cell trials have been performed in patients with ischemic cardiomyopathy (ICM), using both autologous and allogeneic stem cells. Although many individual studies reported encouraging signals, these were all phase 1 or 2 studies with appropriately small numbers of patients, and their conclusions must therefore be considered preliminary. In an attempt to increase statistical robustness, a recent meta-analysis assessing the results of all randomized clinical trials of stem cell therapy for patients with acute myocardial infarction (AMI) was performed, demonstrating no net beneficial effects on outcomes, except for a small improvement in ejection fraction. Given these results, a reassessment of the rationale for the use of stem cells in cardiovascular disease is timely. Patients with ICM invariably have usually extensive areas of myocardial scar. ICM patients had areas of myocardial dysfunction due not to scar, but to dysfunctional viable myocardium (DVM). DVM provides a potential target for therapeutic interventions in ICM. If the dysfunctional tissue consists of viable rather than scarred myocardium, LV function can presumably be improved. The concept of DVM may also help direct which patients may benefit most from stem cell therapy. As the stage of HF that may be considered too late for stem cell therapy is unclear, the presence of DVM may help guide the identification of those patients with the most potential to benefit. The potential of any therapy, including stem cells, to improve outcomes in ICM is related not only to its effects on restoring function to DVM, but also to its capacity to improve processes that contribute to progressive deterioration of LV structure and function. On the basis of this conceptual framework, my aim is to explore the potential of stem cells to exert beneficial effects in ICM by considering the overlap between pathways believed to contribute to disease progression (other than atherosclerotic disease of the large coronary arteries) and the known activities of stem cells that could favorably influence these pathways. (Project No: 0741-STZ-2014)

K13

Erdal Karaöz - Liv Hospital Rejeneratif Tıp ve Kök Hücre Üretim Merkezi Hastanesi / Liv Hospital Regenerative Medicine Stem Cell Production Center

Nöromusküler dejeneratif hastalıklarda kök hücre uygulamaları: Laboratuvardan kliniğe
Stem Cell Applications on neuro-muscular degenerative disorders: Bench to bedside

Kök hücreler çoğalma, farklılaşma ve kendini yenileyebilme (self-renewal) özellikleri ile embriyonik dönemde gelişimde önemli bir rol oynamakla birlikte erişkin dönemde de dokularda yenilenmeyi sağlar. Kök hücreleri esas itibarıyla embriyonik ve embriyonik olmayan olmak üzere iki ana başlıkta incelemek olmakla birlikte günümüzde klinikte kullanım potansiyelini dikkate aldığımızda mezenkimal kök hücre (MKH) olarak adlandırılan gerek fetal gerekse post-natal dönemde birçok doku ve organlardan elde edilebilen hücreler giderek önem kazanmaktadır. MKH'ler embriyonik dönemde gelişimde önemli bir rol oynamakla birlikte erişkin dönemde de dokularda yenilenmeyi sağlar. Hasarlı dokulardaki hücrelerin yerine geçmenin yanı sıra salgıladıkları sinyal moleküller (sitokinler, büyüme faktörleri, anti-apoptotik faktörler ve hücre yapışma molekülleri) aracılığı ile hasarlı bölgedeki hücreleri apoptozdan koruyabilir, dokularda var olan kök hücre potansiyelini uyarabilir, immün düzenlemeyi uyarabilir ve enflamasyonu engelleyici olarak görev alabilir. Bu sunuda erişkin kök hücrelerin pre-klinik ve klinik uygulamalarına ilişkin deneyimlerimizin yanı sıra geleceğe ilişkin projeksiyonlar tartışılacaktır.

Stem cells have the capability of self-renewal and differentiation into a wide range of cell types with various potential clinical and therapeutic applications. Stem cells are providing hope for many diseases that are currently in need of effective therapeutic methods, including neurodegenerative disorders like; stroke, amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer's disease, Parkinson's disease and as well as muscular dystrophy disorders like Duchenne Muscular Dystrophy and Facio-scapulo-humeral Muscular Dystrophy.

For this aim, numerous pre-clinical studies have been achieved and/or in progress on different types of stem cells including, induced pluripotent stem cell (IPS), embryonic stem cell (ESC) and neural stem cells. But there are some complications on the clinical utilization of these cells, due to the reason of ethical issues and especially because of the potential of formation of teratomas via IPSs and ESCs. For this reason, as we glance to the clinical trials ongoing nowadays, we see that MSCs are studied intensely on clinical applications.

Due to the ideal characteristics of these cells for regenerative medicine, clinical interest in the use of MSCs has increased significantly over the past few years. Therapies with MSCs have shown promising results on neurodegenerative and muscular degenerative diseases. In addition to their capability of regulating inflammation, they can promote other beneficial effects, such as neuronal growth, decreasing free radicals, reducing apoptosis and releasing different neurotrophic factors which can assist the endogenous regeneration of the injured region.

The results of clinical trials carried out for the treatment of various diseases, especially including neuro-muscular degenerative disorders, via application of MSCs derived from different tissues and manufactured in our own GMP facility, will be introduced in this presentation.

K14

Stuart B. Goodman - Stanford University School of Medicine

Osteonecrosis: Etiology to stem cell therapy

Stuart B. Goodman MD PhD
Professor of Orthopaedic Surgery and Bioengineering,
Stanford University, Stanford, CA, USA

Osteonecrosis (ON) is a disorder of bone in which the cellular components of the affected bone, including both hematopoietic and mesenchymal cells, die. Some of the conditions/agents associated with ON include trauma, inflammatory arthritis (such as lupus erythematosus, rheumatoid arthritis etc.), coagulation disorders, altered lipid metabolism (as seen with excessive alcohol intake or genetic disorders of fat metabolism), radiation, drugs (such as corticosteroids), vascular (venous or arterial) insult, and other causes. In load bearing areas, ON leads to progressive collapse of bone, secondary loss of support of the overlying articular cartilage and resultant degenerative arthritis. When considering the hip or knee joint, progressive arthritis with pain and disability unresponsive to conservative management will necessitate total joint replacement. As joint replacement is a “joint sacrificing” procedure, increasing interest has been focused on methods and interventions to regenerate the bone and save the original natural joint (“joint saving procedures”).

One of the current techniques that attempts to save the host’s natural joint afflicted with ON is core decompression, in which the osteonecrotic area is drilled, supposedly to facilitate an inflammatory response and promote neovascularization and ingrowth of osteoprogenitor cells. More recently, the technique has been expanded to include debridement of the osteonecrotic segment, and the addition of cells harvested from the iliac crest and subsequently concentrated, to enhance bone healing. In the experience of the author and other researchers in this area, this new technique has improved the clinical and radiological outcome of patients with the earlier stages of ON without collapse or arthritis, at intermediate follow-up.

However many questions concerning “joint preserving” operations still remain unanswered. These questions relate to optimal patient selection, preferred cell harvesting, concentrating and delivery techniques, the quantity and quality of cells necessary for a successful outcome, how best to prepare the ON lesion, whether biomechanical stabilization with scaffold or internal fixation is necessary, and appropriate patient rehabilitation protocols.

These questions will only be addressed in the future by hypothesis driven basic science experiments, and continued reporting of well-designed evidence-based outcome studies.

K15

Annelise Bennaceur Griscelli - University Paris Sud XI School of Medicine

Hematopoietic specification of embryonic and induced pluripotent stem cells and their potential use in cell-based therapies

Prof. A Bennaceur Griscelli, MD,PhD. University Paris Sud, Inserm U935, Ingestem Infrastructure.

Hematopoiesis consists of two developmental programs, a primitive and a definitive wave generating hematopoietic multipotent stem cells with long-term engraftment. Understanding how the definitive program develops is essential to design efficient strategies for the generation of mature hematopoietic lineages and for clinical applications.

Human induced pluripotent stem cells (iPSC) by reprogramming adult cells are very close to human embryonic stem cells (ESC) but some inherent differences exist. Description of hematopoietic hierarchy has allowed to identify in ES and iPSC, the hemangioblast, from which both primitive and definitive programs occur in vitro, induced by distinct signaling pathways such as, Activin/Nodal for the primitive wave and Wnt, or tenascin C for the definitive hematopoiesis. The induction of long-term hematopoietic potential has been shown to require either a specific micro-environment such as teratoma injection or inhibition of pathways such as Activin A and notch signaling activation.

We characterized early lymphoid progenitors, CD34+CD45RA+CD7+ cells restricted to NK and TCR $\alpha\beta$ + T lymphocyte and CD34+CD45RA+CD7- cells restricted to myeloid, dendritic and B lymphocytes. Many differentiation protocols have been described to produce hematopoietic cells from PSC with a variable potential between the PSC sources. However, the generation of mature and adult cells still remains challenging and highly inefficient. Moreover, one of the major hurdles to solve is the genomic stress and instability of the hiPSCs with the risk of cancer. We have shown that the reprogramming process is a source of mutagenesis and culture conditions select genetically abnormal cell clones conferring growth advantage. By using infrared microspectroscopy (Synchrotron, Saclay), we could track the spectral modification of somatic cells during the reprogramming process. iPSCs adopt a metabolic profile entirely different from that of the original somatic cells, and fully programmed iPSC clones were well distinct from the partially programmed clones.

We explored the potential use of iPSC to produce red blood cells in sickle cell disease. A common therapeutic strategy in SCD is the induction of HbF synthesis in order to attenuate the severity of the disease. We generated iPSC from amniotic fluid cells of a SCD HbS-/S-. Erythroid cells, 20-26% of RBC and 74-80% of orthochromatic erythroblasts were produced in vitro, in 25 days. We provided evidence that iPSC can lead to the production of significant numbers of fetal erythrocytes. In the future, it might be possible using this strategy, to design new autologous fetal blood transfusion products or allogenic fetal RBC transfusion from an universal donor.

K16

Ali Turhan^{1,2} - University Paris Sud XI School of Medicine

Modelling cancer stem cells using iPSC

¹Inserm UMR 935 ; « ESTeam Paris Sud » INGESTEM National Infrastructure Institut André Lwoff ; University Paris Sud 11 ;

²Department of Hematology, University Paris Sud 11, AP---HP Hôpital Paul Brousse, Villejuif , France

Our ability to reprogram differentiated cells into a pluripotent state has revolutionized our concepts of cell biology and opened major perspectives in regenerative medicine and disease modeling. In the latter context, comparison of primitive “cancer stem cells ” and gene expression patterns of either embryonic stem cells or the reprogrammed cells using iPSC technology revealed similar pattern of expression of pluripotency genes such as Sox2, Lin28 and Oct4. Cell reprogramming also requires a step of EMT (Epithelial-Mesenchymal Transition) followed by MET (Mesenchymal Epithelial Transition), a phenomenon which also takes place during metastatic dissemination of solid tumors. These findings suggest that iPSC technology could be used to model “cancer stem cells” at least in some tumors.

One of the goals in this context is to use this technology to generate a “cancer stem cell in a dish” allowing a large scale drug screening in order to find novel compounds able to target these cells felt to be at the origin of relapses after therapy. The second goal is to use iPSC technology to understand signalling pathways involved in tumor progression. We will describe strategies that have been designed to model primitive malignant stem cells in haematological malignancies and in solid tumors using iPSC methodology. Two types of malignancies are explored in our center using iPSC: 1- Chronic myeloid leukemia 2- Hereditary cancer syndromes, essentially BRCA1-mutated breast cancers. The results that will be presented suggest that iPSC modeling could be a valuable tool for the study of genomic landscape inherent to several diseases and for future cancer drug screening strategies targeting tumor initiating cells.

K17

Tamer Önder - Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi / Koc University Faculty of Medicine

p300 ve CBP kromatin düzenleyicilerinin yeniden programlamadaki rolleri

A chromatin modifier-based chemical screen identifies a role for p300 and CBP in reprogramming

Fare somatik hücreleri birtakım kimyasallar kullanılarak yeniden programlanıp kimyasal uyarılmış pluripotent kök hücrelere (kUPKH) dönüştürülebilmektedir. Ancak kUPKH'lerin insan somatik hücrelerinden üretilip üretilmeyeceği henüz belli değildir. Fare kUPKH üretiminde kullanılan kimyasalların en önemlilerinden biri H3K9 metil transferazı Dot1L'nin inhibitörleridir. Daha evvelki çalışmalarımızda Dot1L inhibisyonunun yeniden programlamanın verimini artırdığını ve Klf4 ve cMyc'nin yerine geçebildiğini göstermiştik. Bu çalışmada Dot1L inhibitörleri ile beraber kullandıklarında insan somatik hücrelerinin uPKH'lere dönüşmesini kolaylaştıracak kimyasallar taranmış ve p300/CBP'nin bromodomain hedefli iki inhibitörü tespit edilmiştir. Bu inhibitörler yeniden programlamanın verimini artırmakta ve süreci hızlandırmaktadırlar. P300 ve CBP'nin shRNA kullanılarak susturulmaları da aynı etkiyi göstermektedir. RNA sekanslama sonucunda söz konusu inhibitörlerin epitel-mezenkimal geçişte rol alan ve pluripotent kök hücrelerde baskılanacak pek çok genin ifadesini azalttığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar p300 ve CBP'nin somatik hücre kimliğinin devamını sağlayan iki kromatin düzenleyicisi olduğu ortaya çıkarmaktadır.

A combination of chemical compounds has been shown to induce pluripotency in mouse somatic cells. Whether chemically induced pluripotent stem cells (ciPSCs) can be generated from human somatic cells remains unknown. One of the key factors that facilitate ciPSC generation is the inhibition of H3K79 methyl-transferase Dot1L, which we had previously shown to increase reprogramming efficiency and substitute for Klf4 and cMyc in reprogramming of human somatic cells. To uncover additional chromatin-related pathways that work in parallel with Dot1L in suppressing reprogramming, we carried out a screen of small molecule inhibitors of chromatin modifiers on human fibroblasts in combination with Dot1L inhibition. Through this screen, we identified two independent acetyl-lysine competitive inhibitors targeting the bromodomains of co-activators P300 and CBP as potent enhancers of reprogramming. These inhibitors significantly increase reprogramming efficiency and substitute for Klf4 and cMyc in conjunction with Dot1L inhibitors as well as the combination of chemicals used in the generation of ciPSCs. Time-course experiments indicate that inhibition of acetylation-dependent p300/CBP bromodomain-mediated interactions has the most effect during early stages of reprogramming and significantly accelerates the emergence of Tra-1-60-positive iPSCs. Simultaneous shRNA-mediated knock-down of P300 and CBP can phenocopy this effect. RNA-sequencing reveals that treatment of fibroblasts with p300/CBP bromodomain inhibitors results in the downregulation of a large number of genes, among which epithelial-to-mesenchymal transition related genes are highly enriched. A majority of these p300/CBP-regulated genes in fibroblasts are fated to be repressed in pluripotent stem cells. These results suggest that p300 and CBP serve to maintain somatic cell identity by perpetuating cell type-specific enhancer activity.

K18

Kursad Turksen - Editor in Chief, Stem Cell Reviews and Reports

What journals are looking for: One editor's perspective

EDITORIAL REFLECTIONS

Kursad Turksen, Ph.D., Editor in Chief, Stem Cell Reviews and Reports

The role of electronic communications and the internet are revolutionizing the dissemination and publishing of information of all sorts. Science and scientific writing and publishing have also been profoundly affected. While the internet has "democratized" the publication field, it has also created a huge responsibility for scientists to sort out what to read, what not to read and how to judge the validity and rigour of what is reported. In this noisy confusion of the published word, editors of scientific journals are also trying to sort out what to select and publish from amongst the huge number of so-called publishable materials. The discussion will address these issues from multiple perspectives.

K19

Şahin Sırmalı - Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi / Uludağ University Faculty of Medicine

İyi bir sözel sunum için basit kurallar

Simple rules for making good oral presentation

Fikirlerinizi ve bilimsel sonuçlarınızı açık ve mantıksal bir şekilde sunmanız, başarılı bir bilimsel kariyerin önemli bir bileşenidir. Sunum, çalışmanızın daha geniş kitlelere ulaşmasını sağlar. Sunumun yapısı

Giriş (araştırmanın sorusu/amacı), yöntem, sonuçlar ve tartışma bölümlerinin özeti verilir. "Genel bilgi" verilmez. Çünkü dinleyicileriniz zaten sizin camianızdandır; bu nedenle, ders kitaplarında bile bulunan genel bilgiye gereksinimleri yoktur. Başkalarının yaptıklarını değil, sizin yaptıklarınızı dinlemek için oraya gelmişlerdir. Gerekiyorsa, tartışmak istediğiniz konuları ucu açık sorular şeklinde yerleştirebilirsiniz.

Dinleyicilere konuşun

Bu yalnızca "dinleyicinin yüzüne bakın, onunla göz teması kurun" anlamında değil, hedef dinleyiciye "hitap" edin anlamındadır. Hedef kitlenizi çok iyi tanıyın. Anlatılacaklarınız konusunda bilgi düzeyleri ve sizden beklentileri nedir? Sizden ne duymak istiyorlar? Konu dışı konuşmalar genellikle can sıkıcıdır ve dinleyicinin ilgisini dağıtır. Notlara ya da slaytlara değil, dinleyiciye bakın. Notları ve slaytları okumak genellikle can sıkıcıdır ve izlenmesi zordur, anlatın. Kısa ve basit cümlelerle; yavaş, ama yüksek sesle konuşun. Yapabiliyorsanız mizah ya da örnekler kullanın. Anlatım tarzınız ders verir gibi olmasın. Dinleyiciler meslektaşınız ya da arkadaşınız gibi konuşun. Dinleyicilere; dinlemesi, okuması, düşünmesi ve tepki vermesi için zaman tanıyın.

Az ama öz konuşun

Az zamanda çok şey söylemeye çalışmayın. Bu, sizi anlaşılabilir yapar. Deneyimsiz konuşmacıların yaygın olarak yaptığı hata, gereksiz yere çok şey söylemeye çalışmalarıdır. Bunun altında yatan neden de, çok şey bildiklerini kanıtlama çabasıdır. Sonuçta, verilmek istenen asıl mesaj arada kaybolur ve çok değerli olan "sorular" bölümüne zaman kalmaz. Konuyla ilgili bilginizi kanıtlamanın en iyi yolu; açık, kısa ve öz olarak yapacağınız sunumdur ve bu sunum dinleyicilerin "sorular" bölümüne aktif olarak katılmasını sağlayacak bir zemin hazırlamalıdır.

Mesajınızın akılda kalıcı olmasını sağlayın

Bir hafta sonra dinleyicilerden birisine ya da birkaçına konuşmanızla ilgili ne hatırladığını sorun. Üç şey hatırlarlarsa ve bu üç şey de vermek istediğiniz mesajlarsa, iyi bir iş çıkartmışsınız demektir. Hatırladıkları üç şey vermek istediğiniz mesajlar değilse, yanlış şeyleri vurgulamışsınızdır.

Mantıksal akış

Sunumu bir hikâye gibi düşünün. Hikâyelerde mantıksal bir akış vardır. Giriş, gelişme ve son.

Giriş'te, sonrakiler için zemin hazırlayın. Gelişme'de hikâyeyi anlatın. Son'da kalıcı olmasını istediğiniz mesajları vurgulayın.

Sahnedeymiş gibi davranın

Sunu eğlenceli olmalıdır; ancak, abartmayın ve sınırlarınızı bilin. Doğal olarak nüktedan değilseniz, esprili olmaya çalışmayın. Anekdote anlatmada iyi değilseniz, bu işe hiç kalkışmayın.

Görselleri abartmadan ama etkili kullanın

Bazı sunumlarda görsel kullanılmadan da dinleyici cezbedilebilir. Ancak, bazılarını görsel (şekil, grafik, tablo) kullanmadan anlatmanız olası değildir. Temel kural konuşmanızın her dakikası için bir slayt kullanmanızdır. Slayt sayısı bundan çoksa konuşma sürenizi aşabilirsiniz. Vurgulamak istediğiniz şeyin dışında, cümleyi slayttan okumayın. Görseller, vurgulamak istediğiniz şeyleri ya da verileri desteklemelidir.

Görselleri hazırlamak (PowerPoint ya da slayt)

Slaytlar, yalnızca konuştuğunuzun göstermelidir. Konuşmanız kapsamında olmayan ek bilgiler vermeyin. Üst üste binen animasyonlarla ya da gereğinden çok slayt kullanarak göz boyamaktan kaçının. Bunlar anlatmak istediğinizden daha çok dikkat çekebilir. Renkleri ve animasyonları sunumunuzu canlı tutabilmek için kullanın; ancak, abartıya kaçmayın. Çekiciliği artırmak amacıyla kullanılan gereksiz animasyonlar, resimler ya da filmler dikkat dağıtır. Dinleyicinin dikkatini mesajınıza yoğunlaştırın, şovunuza değil.

Clear and logical delivery of your ideas and scientific results is an important component of a successful scientific career. Presentations encourage broader dissemination of your work and highlight work that may not receive attention in written form.

Structure of presentation

Structure your presentation according to your abstract Background, research question/aim, methods, results, conclusion except common knowledge. Because, they want to know what is your made not the others. If appropriate: open questions or points you would like to discuss.

Speak to your audience

We do not mean face the audience, although gaining eye contact with as many people as possible when you present is important since it adds a level of intimacy and comfort to the presentation. We mean prepare presentations that address the target audience. Be sure you know who your audience is—what are their backgrounds and knowledge level of the material you are presenting and what they are hoping to get out of the presentation? Off-topic presentations are usually boring and will not endear you to the audience. Deliver what the audience wants to hear. Avoid reading a text from extensive notes. Reading always sounds boring and is difficult to follow! Speak slowly and loudly, use short and simple sentences. If you feel comfortable, use humour or examples. Look at your audience, not at your notes or slides. Explain your message to the audience like to a colleague or friend. Avoid lec-turing. Allow the audience time to listen, read, think and react.

Less is More

Avoid trying to tell too much in a short time! It makes you incomprehensible. A common mistake of inexperienced presenters is to try to say too much. They feel the need to prove themselves by proving to the audience that they know a lot. As a result, the main message is often lost, and valuable question time is usually curtailed. Your knowledge of the subject is best expressed through a clear and concise presentation that is provocative and leads to a dialog during the question-and-answer session when the audience becomes active participants.

Make the Take-Home Message Persistent

A good rule of thumb would seem to be that if you ask a member of the audience a week later about your presentation, they should be able to remember three points. If these are the key points you were trying to get across, you have done a good job. If they can remember any three points, but not the key points, then your emphasis was wrong.

Be Logical

Think of the presentation as a story. There is a logical flow—a clear beginning, middle, and an end. You set the stage (beginning), you tell the story (middle), and you have a big finish (the end) where the take-home message is clearly understood.

Treat the Floor as a Stage

Presentations should be entertaining, but do not overdo it and do know your limits. If you are not humorous by nature, do not try and be humorous. If you are not good at telling anecdotes, do not try and tell anecdotes, and so on.

Use Visuals Sparingly but Effectively

Some Presentations can captivate the audience with no visuals (rare); others may not be able to present a particular topic well without the appropriate visuals such as graphs and charts. But, what is the right number of visuals for a particular presentation. A useful rule of thumb for us is if you have more than one visual for each minute you are talking, you have too many and you will run over time. Obviously some visuals are quick, others take time to get the message across; again Rule 7 will help. Avoid reading the visual unless you wish to emphasize the point explicitly, the audience can read, too! The visual should support what you are saying either for emphasis or with data to prove the verbal point.

Preparing your visual support (PowerPoint presentation or slides)

Remember that your slides should just illustrate what you say. Avoid adding extra information which is not addressed in your speech. Limit the number of slides to a maximum of one per minute. Avoid “cheating” with overlapping animations or showing too many slides - people won't have the time to read them and will not be able to listen to you. Use colour and animations to make your presentation lively, but use them sparingly. Too many animations, pictures or moving “gimmicks” distract from your speech. You want the audience to concentrate on your message, not in your “show”. Show blocks of text, not one line at a time. Otherwise people tend to concentrate on reading and are distracted from listening.

Prof. Dr. Şahin A. Sirmalı

Bourne PE (2007) Ten simple rules for making good oral presentations. PLoS Comput Biol 3(4):

e77. doi:10.1371/journal.pcbi.0030077

<http://meeting.egprn.org/oral-presentations>

Day RA. How to write & publish a scientific paper. 5th ed. Oryx Press; 1998.

Zeiger M. Essentials of writing biomedical research papers. McGraw-Hill Companies; 1991

Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publications [Internet]. International Committee of Medical Journal Editors; [cited 2012 Jan 22]. Available from: <http://www.icmje.org/>

K20

Shafiq A. Khan - Clark Atlanta University NIH/RCMI Program

Role of TGF-superfamily during different stages of prostate cancer

Transforming growth factor- β (TGF- β) exhibits both tumor suppressor and tumor promoting activities in prostate cancer progression. The intracellular mechanisms involved in mediating the effects of TGF- β in prostate cancer during various stages of the disease are largely unknown. Our recent studies show that TGF- β inhibits proliferation in normal epithelial and early stage prostate cancer cells and these inhibitory effects of TGF- β on cell proliferation require the down regulation of JunD and Id1 proteins. On the other hand, the prostate cancer cells in later stages of the disease become resistant to TGF- β dependent down regulation of JunD and Id1 and inhibition of cell proliferation. Instead, TGF- β induces migratory and invasive behavior in these cells. Our studies have also shown that TGF- β increase the levels of COX-2 and PGE2 secretion by advanced stages of prostate cancer cells. PGE2, in turn, acting through EP4 receptors activates PI3K/AKT/mTOR pathway which is required for TGF- β and PGE2 effects on cell migration and invasive behavior. We have also demonstrated that Nodal, another member of the TGF- β superfamily and its receptors are expressed in prostate cancer cells. Nodal and TGF- β exerted similar biological effects on prostate cells. TGF- β induced predominantly phosphorylation of Smad3, while Nodal induced phosphorylation of only Smad2. We also determined the expression and differential role of Ski, a co-repressor of Smad2/3, in Nodal and TGF- β signaling in prostate cancer cells. Similar levels of Ski mRNA were found in several established prostate cell lines; however, high levels of Ski protein were only detected in prostate cancer cells and prostate cancer tissue samples. TGF- β induced a rapid degradation of Ski protein mediated by the proteasomal pathway while Nodal had no effect. We concluded that high levels of Ski expression in prostate cancer cells may be responsible for repression of TGF- β and Smad3 signaling, but Ski protein levels do not influence Nodal and Smad2 signaling. Previous studies have indicated that the ubiquitin-proteasome pathway regulates TGF- β signaling through E3 ubiquitin ligases. Protein levels of Smurf1, Smurf2 and CHIP were ubiquitously expressed in both normal and cancerous cells; however, the Arkadia protein was expressed higher in normal cells than in cancer cells. Furthermore, knockdown of endogenous Arkadia abolished TGF- β induced degradation of Ski, indicating that Arkadia is specifically responsible for degrading Ski protein. These studies provide a better understanding on the intracellular mechanisms regulated by TGF- β in the prostate cells.

K21

Gabriel Lopez-Berestein - MD Anderson Cancer Center

Microenvironmental regulation of exosomal-ncRNAs in cancer

Gabriel Lopez-Berestein M.D.

Professor of Cancer Medicine, Cancer Biology, and Experimental Therapeutics

Associate Director, M. D. Anderson Cancer Center RNAi and Non-Coding RNA Center

The University of Texas M.D. Anderson Cancer Center

1901 East Road

3SCR3.3424

Houston, Texas 77054

Professor of Nanomedicine and Bioengineering

Department of Nanomedicine and Bioengineering

UT Health, Houston, Texas 77030

Abstract:

RNA molecules (siRNA, lncRNA and miRNA) are secreted in extracellular spaces (exRNAs) and act as endocrine signals altering the phenotypes of cancer cells. We studied the role of depleting oncogenic ncRNAs from malignant cells by enhancing the secretion of these ncRNAs as exRNAs or blocking of suppressor ncRNAs' delivery in extracellular space by blocking these mechanisms. Our main goal is to develop new strategies using miRNA and siRNA to maximize therapeutic benefit by affecting the production of exRNAs. Exosome release and functional studies will establish the validity of the lead exRNA candidates. Using our nanoliposomal delivery technology, we conducted target modulation and efficacy studies to generate clear evidence to show the exRNA-based therapeutic candidates are safe and well tolerated for sustained administration in the proposed dose range. By using a new category of regulatory exRNAs–miRNAs, would substantially enhance therapeutic efficacy for cancer treatment.

K22

Bülent Özpolat - MD Anderson Cancer Center

Development of novel targeted therapies for cancer: Targeting EF2-kinase

Bulent Ozpolat, M.D., Ph.D.

Associate Professor

Department of Experimental Therapeutics

MD Anderson Cancer Center- Houston- USA

E-mail: bozpolat@mdanderson.org

Although currently highly targeted therapies are used cancer related deaths are still high in some cancers, constituting an important public health issue. Therefore development of novel targeted therapies are needed to completely eliminate or improve patient survival. We recently discovered that Eukaryotic elongation factor 2 kinase (EF2-Kinase), an atypical kinase, promotes cancer cell proliferation, survival, invasion/migration, drug resistance and tumorigenesis of solid tumors such as breast, ovarian, pancreatic cancer and some hematological cancers. Highly specific targeting of EF2K by nanotherapeutics significantly inhibits tumor growth in these cancers. Now siRNA technology holds great promise as a therapeutic intervention for gene specific silencing therapy of oncogenes in cancer. he talk will review the recent developments of targeted therapies and our efforts to develop gene silencing therapies to target EF2-K to treat human tumors.

K23

Burcu Aslan - MD Anderson Cancer Center

Regulation of anoikis in ovarian cancer

Yumurtalık kanseri, ölüm oranının en yüksek olduğu jinekolojik hastalıktır. Semptomların görülmemesi sebebiyle hastaların çoğu, ileri seviyelerde teşhis edilmektedir ve hastaların yüzde yetmiş ilki altı ay içerisinde ön terapiye yenik düşmektedir. Hastaların büyük çoğunluğu, geniş ölçüde yayılmış metastazın sebep olduğu abdominal komplikasyonlardan dolayı ölmektedir. Metastaz, epitel hücrelerin transformasyonu ile başlayan ve kümeleşmiş tümör hücrelerinin ayrılması ile devam eden çok basamaklı biyolojik bir mekanizmadır. Metastatik tümör hücrelerinin ayrılmadan sonraki canlılıkları için anoikis yoluna direnç göstermeleri gerekmektedir. Anoikis, hücrelerin ekstrasellüler matriks ya da komşu hücreleri ile aralarındaki bağın kaybı sebebiyle görülen bir hücre ölüm şeklidir. Günümüzde metastazı hedef alan etkili bir strateji bulunmamaktadır. Fakat, anoikis gibi kritik basamaklardan birini hedef alan yaklaşımlar terapötik açıdan önemlidir. Bu çalışmada, ZNF304 proteininin yumurtalık kanserinde anoikisi düzenlediği gösterilmiştir. ZNF304, small interfering RNA (siRNA) kullanılarak susturulmuş ve $\beta 1$ integrinin transkripsiyon seviyesinde düzenlenmesi ile in vitro ortamda hücrelerdeki anoikis seviyesi artırılmıştır. Bunun yanı sıra, in vivo çalışmalarımız ZNF304 siRNA'nin sistemik olarak uygulanmasından sonra asidik sıvıdaki epitel hücrelerinin ölüm oranının artırdığını göstermiştir. ZNF304'un susturulması tümör büyüklüklerinde ve nodül sayılarında dramatik bir düşüşe sebep olmuştur. Tüm sonuçlar ele alındığında, ZNF304'un transkripsiyon düzeyinde $\beta 1$ integrinin düzenleyicisi olduğu, hücre canlılığına katkıda bulunduğu ve kanser hücrelerini anoikise karşı koruduğu gösterilmiştir.

Ovarian cancer (OC) patients present to the clinic with high metastases due to the lack of symptoms. Hence, the high mortality rate from OC is attributed to metastases, not the primary tumors. Metastasis is a multistep biological event which requires the transformation of the epithelial cells followed by detachment and embolization of tumor cell aggregates. The survival of metastatic tumor cells after detachment entail resistance to anoikis, a form of cell death that non-transformed cells undergo subsequent to loss of contact with extracellular matrix (ECM) or neighboring cells. Currently, there is no effective strategies to target metastasis, however targeting critical steps of metastasis such as anoikis is crucial for the treatment of metastatic cancers. In this study, we identified ZNF304, a novel zinc finger protein that regulates the inside-out anoikis in ovarian cancer. We demonstrated that silencing ZNF304 by small interfering RNA (siRNA) leads to increased anoikis through downregulation of $\beta 1$ integrin at transcription level, thereby facilitating the anoikis resistance in vitro. Furthermore, our in vivo studies showed that systemic administration of ZNF304 siRNA increases the cell death of epithelial cells in ascites. Silencing ZNF304 leads to a dramatic reduction in tumor weight and in number of nodules in vivo. Taken together, ZNF304 is a transcriptional regulator of $\beta 1$ integrin, promotes cell survival and protects cancer cells against anoikis in OC.

K24

Ayhan Bilir - Zirve Üniversitesi Tıp Fakültesi / Zirve University Faculty of Medicine

Lityum klorür ve antineoplastik ajanların farklı tümör hücre kültürleri üzerine etkilerinin otofajik ve ultrastrüktürel olarak incelenmesi

The autophagic activity of LiCl and antineoplastic agents on different tumor cell lines using electron microscopy

Ayhan BİLİR¹, Agnes ARCHIBONG OMON¹, İrfan AYDIN², Gülperi ÖKTEM³, Sevgi GÜNEŞ¹, Mine ERGUVEN⁴

¹Zirve Üniversitesi, Emine-Bahaeddin Nakıboğlu Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye.

²Beykent Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri, İstanbul, Türkiye.

³Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji and Embriyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir, Türkiye.

⁴İstanbul Aydın Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İstanbul, Türkiye.

Otofaji veya öz sindirim evrimsel olarak korunmuş bir işlemdir. Otofaji, hücre fagofor olarak adlandırılan kupa şekilli bir zarın oluşması ile başlar. Fagofor otofagozomun oluşturulması ve uzamasını sağlayacak proteinler ile etkinleşir. Lizozomlar ve otofagozomun kaynaşması sonucunda otolizozom olarak adlandırılan yıkılacak hücresel kargo içeren vezikül oluşur.

Otofagozom oluşması, Atg12-Atg5 ve Atg8/LC3 fosfatidil etanolamin olmak üzere iki ATG konjugat sistemini gerektirir. Beclin 1 Vps34 ile etkileşime girerek otofagozom oluşumunda önemli rol oynar.

Otofaji, bazal düzeyde protein kümelenmelerini ve hasarlı organelleri ortadan kaldırmak için devamlı olarak meydana gelir. Seçici otofaji yani Şaperon aracılı otofaji ise KFERQ motifli proteinlerin, mitokondri, peroksizom, ribozomlar ve endoplazmik retikulum gibi organellerin lizozom zarına seçici biçimde taşınmasını ve yıkımını içerir.

Otofaji kaynaklı yıkım yolları otofajik hücre ölümüne de yol açabilmektedir. Bu nedenle, kanser gibi diğer patolojilerin tedavisinde etkili olabileceği gösterilmiştir.

Lityum klorür (LiCl) bipolar bozukluk tedavisinde kullanılan alkali bir metaldir. LiCl glikojen sentaz kinaz-3β (GSK-3β) ve inozitol monofosfataz (IMPaz) aktivitesini inhibe eder.

LiCl'ün bifazik onkojenik etkisinin doza bağlı olduğu gösterilmiştir. Düşük doz LiCl, sağlıklı hücrelerde ve kanser hücrelerinde yaşamın devamlılığına/büyümenin/çoğalmanın uyarılmasına yol açmaktadır, ancak yüksek doz buna zıt etki göstermektedir. Buna ek olarak LiCl'ün, sağlıklı hücreleri ve kanser hücrelerini otofaji yoluyla koruduğu da gösterilmiştir.

Ultrastrüktürel çalışmalarımız lityumun pro-otofajik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Sorafenib ve LiCl uyguladığımız T98G insan glioblastoma hücreleri incelediğimizde otofajik vakuollerin varlığını LiCl'de ve daha fazla yoğunlukta SOR'da saptadık. Bu ilaçların kombinasyonunda ise daha fazla otofajik vakuol olduğunu gözledik. Baska çalışmamızda LiCl ve Vinorelbin (VNR) ile birlikte insan SH-SY5Y nöroblastom hücre soyunda uygulandı VNR uygulanan grupta otofajik vakuollerini saptamadık. İlginç olarak LiCl, mitozda olduğu üzere nükleus zarının yıkılmasına neden oldu. Kombinasyon grubunda nükleus zarının yıkılmasına ek olarak plazma zarları da yıkıldı. Ishikawa endometrium kanser hücre soyunda yaptığımız başka bir çalışmada LiCl ve imatinib mesilat, tek başına uygulanan grupta orta yoğunlukta otofajik vakuoller saptandı. Tek başına LiCl uygulanan grupta ise yüksek yoğunlukta otofajik vakuol ve lipid vakuollerini oluşumu gözlemlendi. Aynı hücrelerde LiCl'u mitofaji indükledi fakat LiCl ve resveratrol kombinasyonunda otofajik vakuol sayısının arttığı saptandı. [Yayınlanmamış veri].

Kanserde otofajinin rolü hala netleştirilememiştir. Otofajinin, tümör baskılayıcı olduğu ve otofajik hücre ölümü ile de kanser tedavisinde yer aldığı gösterilmiştir. Bizim çalışmalarımızda farklı kombinasyonlarla otofajiye yanıt ve bu yanıtın mekanizması araştırılmıştır. Bu konuşmada otofajiye yönelimin hatta otofajinin direnç ve hücre ölümüne gidişinin yani kaderinin hücre türü ve kullanılan ajana göre değişebilirliği mekanizmaları ile anlatılmıştır. Depresyon ve kanser tedavisi kesişiminde kanser direncine yönelik alternatif tedavi modeline katkıda bulunabilir.

Ayhan BİLİR¹, Agnes ARCHIBONG OMON¹, İrfan AYDIN², Gülperi ÖKTEM³, Sevgi GÜNEŞ¹, Mine ERGUVEN⁴

¹Zirve Üniversitesi, Emine-Bahaeddin Nakıboğlu Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye.

²Beykent Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri, İstanbul, Türkiye.

³Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir, Türkiye.

⁴İstanbul Aydın Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İstanbul, Türkiye.

Autophagy is an evolutionarily conserved process of self-digestion. Autophagy is initiated by the formation of a cup-shaped membrane known as the Phagophore. The phagophore interacts with different proteins that enable elongation and formation of a double-membrane structure called the autophagosome. Autophagosomes fuse with lysosomes to form the autolysosome in which degradation of cellular cargo occurs.

Autophagosome formation requires 2 Atg conjugation systems: Atg12-Atg5 and Atg8/LC3. The former participates in the formation and extension of the phagophore. LC3 participates in autophagosome formation and fusion. Also central to autophagy regulation is Beclin 1 which interacts with Vps34.

Autophagy may be specific and non-specific. It occurs constitutively to remove protein aggregations and damaged organelles. Specific autophagy is seen in Chaperone-mediated autophagy and organelle degradation such as mitochondria.

Autophagy-mediated degradation pathways can lead to the autophagic cell death and has been shown to be effective in the treatment of pathologies such as cancer.

Lithium chloride (LiCl) is a popular drug in the treatment of bipolar affective disorder. It inhibits Glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) and inositol monophosphatase (IMPase).

Lithium chloride has been shown to have a biphasic oncogenic effect. In healthy and cancerous cells, low doses of LiCl leads to continuity of life, growth and proliferation. However high doses result in the opposite effect. In addition, LiCl has been shown to protect healthy and cancerous cells by autophagy.

Ultrastructural studies from our group showed LiCl pro-autophagic effect. Sorafenib and LiCl treated human glioblastoma multiforme cells revealed autophagic induction. Combination of both drugs was shown to further intensify autophagy. Similarly in LiCl and Vinorelbine (VNR) treated human SH-SY5Y neuroblastoma cell line, autophagic vacuoles were not observed in VNR treated group. Interestingly LiCl resulted in the collapse of the nuclear membrane. In the combination group both nuclear and plasma membrane breakdown were observed. Additionally LiCl caused high density autophagic and lipid vacuole formation in endometrial cancer. Single treatment with Imatinib resulted in medium density autophagic vacuole formation. In the same cells, LiCl induced mitophagy. LiCl and resveratrol combination resulted in increased autophagic vacuoles [Unpublished data].

The role of autophagy in cancer remains controversial. Autophagy has been proposed to be tumour suppressive with its reduction predisposing cells to tumorigenesis. It has also been reported to function as a cell death mechanism. This highlights the need for alternative methods of treatment.

K25

Zeynep Yüce - Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi/Dokuz Eylül University Faculty of Medicine

Tedaviye direnç mekanizması olarak fenotipik plastisite
Phenotypic plasticity as a mechanism of therapy resistance

Kronik Miyeloid Lösemi (KML), hematopoetik kök hücre kompartmanında, 9 ile 22 no'lu kromozomların uzun kolları arasında meydana gelen translokasyon sonucu oluşan Philadelphia kromozomunun (derive 22) sorumlu olduğu myeloproliferatif bir hastalıktır. Hastalık patogenezinin temelinde 22. kromozomda yerleşik BCR ile 9 no'lu kromozomda yer alan ABL genlerinin yeniden düzenlenmesiyle oluşan BCR-ABL kimerik geni yer alır. BCR-ABL, artmış tirozin kinaz aktivitesine sahip onkogenik bir protein kodlar. Günümüzde KML tedavisinde tirozin kinaz inhibitörleri (TKİ) kullanılmaktadır. KML tedavisinde kullanılan imatinib moleküler hedefe yönelik geliştirilmiş ilk ilaç olup çok yüksek başarı göstermesine rağmen; hastalarda imatinibe karşı gelişen primer ve sekonder direnç halen en önemli sorundur. Başta kinaz domeyn mutasyonları ve onkogen amplifikasyonu olmak üzere, sekonder direnç mekanizmaları tanımlanmıştır. Ancak primer dirence neden olan mekanizmalar büyük oranda belirsizdir.

TKİ'lere karşı oluşan primer direnç mekanizmalarında etkili biyolojik yolların tanımlanması amacıyla laboratuvarımızda giderek artan dozlarda imatinibe maruz bırakılan K562 (KML eritrolösemik blastik faz hücre hattı) hücrelerinin klonal seçilimiyle, yüksek konsantrasyonlarda imatinibe dirençli klonlar elde edilmiştir. İmatinib dirençli klonun (K562-Ir) fenotipik plastisiteye (fenotipik/morfolojik esneklik, farklı şekil alabilme yetisi) sahip olduğu, dış uyarılara bağlı olarak farklı fenotiplere bürünebildiği izlenmiştir. K562-Ir hücrelerinin, köken aldıkları atasal K562 hücrelerinden farklı olarak BCR-ABL onkogeninin sağladığı yaşam sinyalinden bağımsız olarak üreyebildiği, adheren morfolojiye sahip (yüzeye yapışarak üreyen), indüklenebilir senesense dirençli ve daha yavaş proliferere oldukları gösterilmiştir. Bu hücreler, 3D hücre kültür koşullarında sınırları keskin tümör sferoidleri oluşturabilme yetisine sahiptir. Buna ek olarak dirençli K562-Ir hücrelerinin doku ve organ gelişim ve diferansiyasyon genlerini yüksek düzeyde eksprese ettiğini saptanmıştır.

Önerdiğimiz model, uzun süre TKİ maruziyeti sonucu, bazı kanser hücrelerinin bir adaptasyon mekanizması olarak geri-dönüşümlü fenotipik/morfolojik plastisite geliştirdiği; kemoterapi, radyoterapi gibi seçici koşullar altında gelişen bu plastisitenin tedaviye direnç oluşumunda önemli rol oynadığı yönündedir. Kanser hücrelerinin morfolojik plastisitesinin, hastalıkta izlenen relaps/rekürrenslerden sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

Chronic myelogenous leukemia (CML) is a hematopoietic stem cell disease characterized by t(9;22)(q34;q11) translocation, resulting in the formation of the fusion gene BCR-ABL with unregulated tyrosine kinase activity. The tyrosine kinase inhibitor (TKI) imatinib is the first-line treatment for patients with CML. Unfortunately in some patients primary and secondary resistance to imatinib is observed. Whereas secondary resistance is known to be due to mutations in the kinase domain of Abl or decreased cellular uptake; the mechanisms underlying primary resistance are still largely unknown. In aim to study undefined primary resistance mechanisms, we generated high dose imatinib-resistant K562 subclones (K562-Ir) by growing the cells under the selective pressure of increasing imatinib concentrations. İmatinib resistant clones were capable of phenotypic plasticity that rendered them resisted to targeted therapy. These cells gain a highly adherent character, proliferate slowly and are resistant to drug-induced senescence. We show that BCR ABL is no longer a survival factor for these phenotypic plastic cells that are capable to form intact, large tumor spheroids in 3D cell culture conditions. K562-Ir cells were shown to highly express tissue/organ development and differentiation genes. We propose that prolonged exposure to TKI may lead to phenotypic changes in cancer cells and that this phenotypic plasticity is reversible. Our model states that phenotypic plasticity is an adaptive process that occurs under selective pressures such as chemo-, radiotherapy and in itself may be cause for therapy resistance. Changes in the microenvironment induces a transient state of metamorphic cells with the capacity to reversibly adapt by displaying phenotypic plasticity to the new environmental signals. The reversible nature of phenotypic plasticity may be responsible for recurrence/relaps of cancer.

K26

Güray Saydam - Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi/Ege University Faculty of Medicine

Klinik pratikte kök hücre nakli: Laboratuvardan hastaya

Stem cell transplantation in clinical practice: From the laboratory to the patient

K27

İsmet Deliloğlu Gürhan - Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi/Ege University Faculty of Engineering

Laboratuvar - pilot ölçeklerde monoklonal antikor üretimine çeşitli örnekler ve sorunlar
Some laboratory & pilot scale monoclonal antibody production techniques and milestones

Monoklonal antikorlar (Mabs), immünojenik tepkimeler için değerli araçlar olup poliklonal antikorlara göre bazı avantajlara sahiptirler. Tanı testleri, terapötik işlemler, kanser sağaltım çalışmaları, otoimmün hastalıklar gibi yaygın kullanım alanları bulunmaktadır. Köhler ve Milstein'in* 1975'de tanımladığı hibridoma teknolojisinin yanında başka memeli hücreleri, bakteri ve maya hücrelerinde de Mab üretim yöntemleri de geliştirilmiştir. Faj display tekniği de bu alanda kullanılan son uygulamalardandır. Söz konusu yöntemlerin uygulama ve son ürün kalitesi yönünden halen farklı üstünlüklerinin yanında sorunları da bulunmaktadır. Bu sunumda Mab üretiminde karşılaşılan temel sorunlardan ve olası çözüm yollarından söz edilecektir.

*Köhler G, (1975): Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature. 7;256(5517):495-7.

Monoklonal antikorlar (Mabs), immünojenik tepkimeler için değerli araçlar olup poliklonal antikorlara göre bazı avantajlara sahiptirler. Tanı testleri, terapötik işlemler, kanser sağaltım çalışmaları, otoimmün hastalıklar gibi yaygın kullanım alanları bulunmaktadır. Köhler ve Milstein'in* 1975'de tanımladığı hibridoma teknolojisinin yanında başka memeli hücreleri, bakteri ve maya hücrelerinde de Mab üretim yöntemleri de geliştirilmiştir. Faj display tekniği de bu alanda kullanılan son uygulamalardandır. Söz konusu yöntemlerin uygulama ve son ürün kalitesi yönünden halen farklı üstünlüklerinin yanında sorunları da bulunmaktadır. Bu sunumda Mab üretiminde karşılaşılan temel sorunlardan ve olası çözüm yollarından söz edilecektir.

*Köhler G, (1975): Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature. 7;256(5517):495-7.

K28

Ümit Kayışlı - University of South Florida College Of Medicine

Transcriptomics analysis and bioinformatics approaches for histology and embryology studies

Umit A Kayisli, PhD.

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, University of South Florida, Tampa, FL, USA.

Recent progresses in research techniques in last decade enable deeper and wider investigation of cell and tissues specific physiologic and pathologic mechanisms. Among these techniques, transcriptomics that use high-throughput methods, such as global microarray analysis, RNA-seq (RNA sequencing) to evaluate the whole set of RNA transcripts that are produced by the genome in an organ, tissue or cell under specific circumstances i.e. in response to different treatments or development. Therefore, we are now able to carry out whole genome (global) transcriptomic analyzes to determine a complete set of differentially expressed genes in a specific cell, tissue or organ to complement morphological findings in our studies or to connect embryonic/cellular differentiation and maturation processes with molecular regulators. In most cases, experimental approaches that use global omics analysis yields complex and enormous data (hundreds/thousands) alterations that impose researchers to use computer-based approaches that ease our understanding of these high-throughputs. Cooperation of computer science, statistics, mathematics and engineering emerged bioinformatics, a novel interdisciplinary science department, to elucidate complex and/or massive biological data. Although initial use of bioinformatics include the identification of candidate genes and nucleotides (single nucleotide polymorphisms; SNPs) to reveal disease-gene association, genetic based differences between populations, we can now use it in our histology and embryology studies to explore the association and/or crosstalk between tissue/cell morphology and genomics or relationship(s) (inhibition/activation status) between relevant gene cluster and embryologic differentiation. During this lecture, we will discuss several omics approaches, with specific details on use of transcriptomics (advantages and disadvantages, data evaluation, positive, negative and bias findings) as well as their bioinformatics-based evolutions. We will focus on two widely used bioinformatics techniques; ingenuity pathway analysis (IPA) and the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID). IPA released by QIAGEN contains powerful features that predict specific association between the complex data and essential network analysis (proliferation, apoptosis etc.), connections between data and diseases, identification of relevant upstream regulators of the differentially regulated genes. Therefore, it is possible to quickly identify genes relevant to a diseases or phenotype as potential drug targets or as targets of toxicity. Moreover, DAVID is an original web-accessible free program by the National Institute of Health (NIH, USA) and provides a broad set of functional annotation tools for investigators to understand biological meaning behind large list of genes. These interpretations include but not limited to discover enriched functional-related gene groups, cluster redundant annotation terms, visualize genes on BioCarta and KEGG pathway maps, display related many-genes-to-many-terms on two-dimensional view, determine other functionally related genes not in the list, list potential interacting proteins, link gene-disease associations.

K29

Barış Baykal - Gülhane Askeri Tıp Akademisi / Gulhane Military Medical Academy School of Medicine

IVF sikluslarında elde edilen germinal vezikül (GV) evresindeki oositler hasta yararına kullanılabilir mi?

Can germinal vesicle (gv) stage oocytes acquired in ivf cycles be used to the benefit of the patient?

Kontrollü ovaryan hiperstimülasyon (KOH), in vitro fertilizasyon (IVF) sikluslarında, hastadan çok sayıda oosit elde etme amacıyla hormon preparatlarının uygulanmasıyla gerçekleştirilen ve sıklıkla uygulanan bir yöntemdir. Hastanın hormon preparatlarını kullanmasının kontraendike olduğu durumlarda, polikistik over sendromlu (PCOS) hastalarda in vitro maturasyon amacıyla, KOH'a yanıt vermeyen olgularda ya da maliyetin düşürülmesi amacıyla, KOH kullanılmadan, doğal (natürel) siklus ile oosit toplanabilmektedir. Doğal siklus ile gerçekleştirilen IVF vakalarında başarı oranları %15 civarında kalmaktadır.

KOH sikluslarında toplanan oositlerin büyük oranda matür (olgun) olmaları beklenir. Bununla birlikte, intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) esnasında faz kontrast mikroskobu altında gelişimin üç evresini sergileyen oositler izlenmektedir. Bu evreler germinal vezikül (GV) evresi, metafaz I (MI) evresi ve metafaz II (MII) evresidir. GV evresindeki oosit birinci mayotik bölünmenin profazındadır. GV evresindeki oosit, germinal vezikülün (oositin nükleusu) görülmesi ve kutup cisminin görülmemesi ile ayırt edilir. MI evresinde germinal vezikül kaybolmuştur, ancak kutup cismi izlenmez. MII evresindeki oosit ise germinal vezikülün izlenmemesi ve birinci kutup cisminin görülmesiyle tanınır.

Özellikle PCOS hastalarında olmak üzere, doğal siklulardan elde edilen oositlerin GV evresinde olma ihtimalleri yüksektir. Bu oositler eksojen hormona maruz kalmadıkları için in vitro maturasyona (IVM) tabi tutulurlar. KOH sikluslarında elde edilen GV evresindeki oositlerin, hiperstimülasyona rağmen olgunlaşmamış olmaları nedeniyle, genellikle fayda sağlamayacakları düşünülür ve bu oositler imha edilir. Bununla birlikte, özellikle prematür ovaryan yetmezlik olguları olmak üzere bazı hastalarda toplanabilen oositlerin %50'sinden fazlası GV evresinde olabilmektedir. Böyle bir durumda GV evresindeki oositlere bir şans verilmesi hastanın yararına olabilir.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı bünyesindeki Üremeye Yardımcı Tedavi (ÜYTE) Merkezinde 38 yaşında antagonist protokol ile KOH siklusuna alınan bir hastadan 2 adet MII evresinde, 5 adet GV evresinde oosit toplanmıştır. MII evresindeki oositlere ICSI uygulanmış, 2. gün 2 ve 4 blastomerli 2 embriyo transferi yapılmıştır. GV evresindeki oositler insan serum albumini (HSA) katkılı, bikarbonat tamponlu, IVM kültür vasatı olmayan bir vasat (G-IVF, Vitrolife, İsveç) içinde 24 saat olgunlaşmaya bırakılmış ve oositlerden dördü MII evresine ulaşmıştır. MII evresine ulaşan oositlere yapılan ICSI sonrasında üçüncü günde 6, 7 ve 8 blastomerli 3 embriyo elde edilmiş ve bunlar vitrifikasyon yöntemi ile dondurularak saklanmıştır. Transfer edilen matür oosit kaynaklı iki adet embriyo ile gebelik elde edilememesi nedeniyle, dondurulmuş olan GV oosit kaynaklı 3 embriyo çözdürülmüş ve ilerleme sergileyen 2 embriyo hastaya transfer edilmiştir. Hastanın tekil gebeliği esnasında yapılan amniyosentez ve genetik analiz sonucunda normal karyotip rapor edilmiş ve sağlıklı bir erkek bebek dünyaya gelmiştir.

2015 yılında yayınlanan bir çalışmada, düşük over rezervli hastalardan elde edilen GV evresindeki oositlerin, normal over rezervli hastalardan elde edilenlere göre daha yüksek oranda MII evresine ulaştığı (%66,9'a karşı %30,4), bu iki grup arasında fertilizasyon ve embriyo oluşturma oranlarının farklı olmadığı bildirilmiştir.

Özellikle düşük over rezervli olgularda transfer edilebilecek az sayıda embriyo oluşması, elde edilebilecek her ek embriyonun kıymetini arttırmaktadır. GV evresindeki oositlerden kaynaklanan embriyolarla gebelik ve sağlıklı doğumların da bildirilmiş olması, bu oositleri düşük over rezervli hastalar için değerli hale getirmektedir. Maturasyon, fertilizasyon ve yüksek kaliteli embriyo oluşturma potansiyelleri düşük olsa da, başka şansı olmayan hastalar için GV evresindeki oositler potansiyel sahibi olabilir ve özellikle düşük over rezervli hastalar için GV evresindeki oositlerin kullanımları rutin hale getirilmelidir.

Controlled ovarian hyperstimulation (COH) is a frequently used method with the aim to acquire high number of oocytes from the patient by means of administration of hormone preparations. Oocyte pick up (OPU) can be performed in natural cycles (without COH) in cases when there are contraindications for the patient to receive hormone preparations, to perform in vitro maturation (IVM) in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS), irresponsiveness to COH or in order to minimize costs. However, success ratios in IVF cases with natural cycles are at 15%.

In COH cycles, majority of the collected oocytes are expected to be mature. However, oocytes at three stages of maturation are observed under phase contrast microscope during intracytoplasmic sperm injection (ICSI). These stages are germinal vesicle (GV), metaphase I (MI) and metaphase II (MII) stages. The oocyte at GV stage is in the prophase of the first meiotic division. GV stage oocyte can be recognized by the presence of the germinal vesicle (the nucleus of the oocyte) and absence of the first polar body. In MI stage, germinal vesicle is broken down and the first polar body is not observed. MII stage oocyte is recognized by the absence of the germinal vesicle and the presence of the first polar body.

Especially for PCOS patients, there is a high possibility for the oocytes collected in natural cycles to be at GV stage. Because these oocytes are not exposed to exogenous hormones, they are subjected to in vitro maturation (IVM). GV oocytes acquired in COH cycles are usually thought to be useless, because they are not matured despite hyperstimulation and these oocytes are disposed off. However, in some patients and especially in premature ovarian failure cases, more than 50% of the acquired oocytes can be at GV stage. In such a case, giving a chance to GV stage oocytes may be beneficial to the patient.

Two MII stage and 5 GV stage oocytes were collected from a 38 year old patient, who was in a COH cycle in Assisted Reproductive Techniques (ART) Center of Gynecology and Obstetrics Department of Gulhane Military Medical Academy. MII stage oocytes were subjected to ICSI and 2 embryos at 2 and 4 cell stages were transferred on day 2. GV stage oocytes were incubated in a human serum albumin (HSA) supplemented bicarbonate buffered, non-IVM medium (G-IVF, Vitrolife, Sweden) to mature for 24 hours and four of them reached MII stage. The oocytes that reached MII stage were subjected to ICSI. They developed into 6, 7 and 8 cell stage embryos on day 3 and were cryopreserved using vitrification method. Because pregnancy could not be achieved with mature oocyte derived embryos, the GV stage oocyte derived 3 embryos were thawed. Two of these oocytes exhibited good progression and they were transferred to the patient. A singleton pregnancy occurred and the result of amniocentesis was reported as normal karyotype. A healthy male baby was born.

It was reported in the year 2015 that GV stage oocytes acquired from poor ovarian reserve patients reach to MII stage at a higher ratio than those acquired from normal ovarian reserve patients (66.9% vs. 30.4%) and these two groups are reported to be similar in fertilization and embryo formation ratios.

Poor number of embryo formation in cases especially with poor ovarian reserve, increases the value of every additional embryo that can be transferred. The reports regarding pregnancies and healthy births with embryos derived from GV stage oocytes, makes these oocytes valuable for patients with poor ovarian reserve. Even though their potential for maturation, fertilization and high quality embryo formation is low, GV stage oocytes may be valuable for patients that have no other chance. For this reason, the use of GV stage oocytes should become routine practice especially for patients with poor ovarian reserve.

K30

Bahar Uslu - Yale Üniversitesi Tıp Fakültesi / Yale University School of Medicine

A new rapid non-arbitrary histomorphometric method of quantifying ovarian follicle atresia in the mouse

Bahar Uslu, Carola Conca Dioguardi, Monique Haynes, De-Qiang Miao, and Joshua Johnson

Determining the number of intact ('healthy') follicles in an ovary at any time is a central measurement in reproductive biology. If intact follicles can be calculated, the current reproductive status of the ovary, its relative ovarian 'age', and the impact of genetic or environmental modifiers upon follicle number can be understood. This can be done by the histomorphometric assessment of follicles in serial sections. Subtracting the number of follicles in an ovary that are undergoing death (termed atresia, 'atretic' follicles) from the total number reveals the number of intact follicles. A standard histomorphometric approach has been used for approximately 40 years that identifies atretic follicles by counting the number of pyknotic granulosa cell nuclei in the largest follicle cross-section. This method holds that if one pyknotic granulosa nucleus is seen in the largest cross section of a primary follicle, it can be categorized as atretic. During an analysis of follicle growth, we tested whether these 'Historical' criteria could correctly identify primary follicles that were not growing (and could thus confirmed to be dying). In serial sections (n=4 ovaries), we counted not only the pyknotic granulosa cells in the largest section, but also granulosa mitotic figures and dying cells in each serial section of each primary follicle. If the number of mitotic granulosa cells in the entire follicle was greater than or equal to the number of pyknotic nuclei, we could infer that that the total granulosa population was growing, and thus the follicle was growing. To our surprise, the historical criteria performed very poorly, with data summarized as follows. A single pyknotic nucleus in the center section corresponded to a 50% false positive rate where mitotic figures showed that the follicles were instead growing. Further, the historical criteria did not identify 6.3 follicles per ovary that mitotic scoring showed were not growing (false negatives). Evaluation of mitotic and pyknotic nuclei resulted in an improved method that allows the rapid, correct, and prospective identification of dying (and not growing) follicles with 98% accuracy by evaluating most often one follicle section, and at most two serial follicle sections. This improved, non-arbitrary method will greatly improve our ability to estimate the intact population of follicles in the ovary.

K31

Özgür Çoğulu - Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi /Ege University Faculty of Medicine

Prenatal tanıya genetik yaklaşım

Genetic tests in prenatal screening

Hastalıkların oluşumunda genetik etkiler poligenik-multifaktoriyel, tek gen, kromozomal, mitokondriyal ya da epigenetik düzeyde olabilir. Oluşan bozuklukların fenotipi etkilemesi ise her zaman aynı şekilde olmaz ve kopya sayısı değişiklikleri, diğer genler, epigenetik faktörler ya da çevresel faktörler gibi başka etkiler klinik görünümün heterojen olmasına yol açabilirler. Günümüzde bu hastalıkların hemen hemen hiçbirinde genetik olarak tedavi yani hasarlı olan genetik yapıyı düzeltme olasılığı mümkün değildir. Bununla birlikte uzun yıllardır embriyodan ya da fetüsten farklı yöntemlerle prenatal dönemde alınan materyelde genetik hastalık araştırması yapılabilmektedir. Materyal elde etme yöntemleri invazif ve noninvazif olarak 2 gruba ayrılır. En sık başvuru fetal dönemde yapılan invazif yöntemler koryonik villüs biyopsisi (KVB) ve amniyotik sıvı incelemesi (ASİ) olup embriyonik dönemde preimplantasyon genetik tanı/tarama yapılmaktadır. Bu yöntemler invazif olmaları nedeniyle fetüs için bazı riskler taşımaktadır. Bu risklerin içinde en önemlisi gebeliğin düşük ile sonlanmasıdır. Noninvazif yöntemler ise maternal kanda fetüsün durumu hakkında bilgi verebilecek bazı markırların araştırılması prensibine dayanır. 2'li, 3'lü ya da 4'lü test bunların en iyi bilinenleridir. Noninvazif klasik yöntemler fetüse zarar vermezken fetal durumu yansıtır oranları yüksektir değildir. Maternal kanda fetal hücre ve DNA'nın ortaya konmasını takiben bu materyalin fetal genetik bozuklukların ortaya konmasında kullanılabilmesine yönelik son yıllarda birçok çalışma birbirini izlemiştir. Maternal kanda fetal hücre izolasyonu yöntemsel bazı sorunlar nedeniyle ilerleme gösterememiş, buna karşın fetal DNA eldesi ile birçok genetik bozukluğun prenatal dönemde noninvazif olarak tanısının konabileceği yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Bu şekilde kalitatif olarak Rh genotipleme, X'e bağlı hastalıklar, paternal mutasyonun bilindiği otozomal dominant hastalıklar, birleşik heterozigot otozomal resesif hastalıklar; kantitatif yöntem kullanılarak annenin mutasyon taşıdığı otozomal dominant hastalıklar, ebeveynlerin aynı mutasyonu taşıdığı otozomal resesif hastalıklar ve anöploidiler çalışılabilir. Günümüzde rutin olarak yapılan durumlar fetal cinsiyet tayini, RhD tayini ve anöploidiler sayılabilir. Bununla birlikte birçok otozomal dominant ve resesif hastalığın prenatal noninvazif tanısına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Anöploidi taraması günümüzde en sık başvuru nedenidir. Maternal kandan noninvazif fetal DNA eldesiyle anöploidi taramasında en sık başvuru yöntem ise yeni nesil dizi analizidir. Pozitif sonuç saptanması durumunda mutlaka genetik danışmanlık ve invazif test önerilmelidir. Dolayısıyla maternal kanda yapılan bu tarama ASİ ya da KVB gibi invazif yöntemlerin alternatifi olarak kullanılacak bir yöntem değildir. Yakın gelecekte hemen hemen tüm genetik nedenli hastalıklarda maternal kandan fetal materyal elde ederek prenatal dönemde inceleme yapmak mümkün hale gelecektir.

Kaynaklar

1. Wieacker P, Steinhard J. The prenatal diagnosis of genetic diseases. Dtsch Arztebl Int. 2010 Dec; 107(48): 857-62.
2. Papageorgiou EA, Patsalis PC. Non-invasive prenatal diagnosis of aneuploidies: new technologies and clinical applications. Genome Med. 2012 May 28; 4(5): 46.
3. Go AT, van Vugt JM, Oudejans CB. Non-invasive aneuploidy detection using free fetal DNA and RNA in maternal plasma: recent progress and future possibilities. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Jun 10; 111(23): 8583-8.
4. Norwitz ER, Levy B. Noninvasive prenatal testing: the future is now. Rev Obstet Gynecol. 2013; 6(2): 48-62.
5. Bianchi DW, Flint AF, Pizzimenti MF, Knoll JH, Latt SA. Isolation of fetal DNA from nucleated erythrocytes in maternal blood. Proc Natl Acad Sci U S A. 1990 May; 87(9): 3279-83.
6. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet. 1997 Aug 16; 350(9076): 485-7.
7. Bianchi dw, Williams jm, PCR quantitation of fetal cells in maternal blood in normal and aneuploid pregnancies. Am J Hum Genet. 1997 Oct; 61(4): 822-9.
8. Greene MF1, Phimister EG. Screening for trisomies in circulating DNA. N Engl J Med. 2014 Feb 27; 370(9): 874-5.
9. Lo YMD, Hjelm NM, Fidler C, Sargent IL, Murphy MF, Chamberlain PF, et al. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. N Engl J Med 1998; 339: 1734-1738);

10. Chan KC, Clinical applications of the latest molecular diagnostics in noninvasive prenatal diagnosis. *Top Curr Chem.* 2014; 336: 47-65.;
11. Raymond FL, Whittaker J, Jenkins L, Lench N, Chitty LS. Molecular prenatal diagnosis: the impact of modern technologies. *Prenat Diagn.* 2010 Jul; 30(7): 674-81.
12. Bustamante-Aragón A, Rodríguez de Alba M, Perlado S, Trujillo-Tiebas MJ, Arranz JP, Díaz-Recasens J, Troyano-Luque J, Ramos C. Non-invasive prenatal diagnosis of single-gene disorders from maternal blood. *Gene.* 2012 Aug 1; 504(1): 144-9. doi: 10.1016/j.gene.2012.04.045. Epub 2012 Apr 25.
13. Nepomnyashchaya YN, Artemov AV, Roumiantsev SA, Roumyantsev AG, Zhavoronkov A. Non-invasive prenatal diagnostics of aneuploidy using next-generation DNA sequencing technologies, and clinical considerations. *Clin Chem Lab Med.* 2013 Jun; 51(6): 1141-54.
14. Cogulu O. Next Generation sequencing as a Tool for Noninvasive Prenatal tests. In: *Clinical Applications for Next-Generation Sequencing.* Edt. Urszula Demkow, Rafal Ploski, Elsevier, New York, p. 171-184; 2016.

Human diseases can be caused by single gene disorders or interaction of multiple genes, chromosomal, mitochondrial or epigenetic factors. There is phenotypic heterogeneity within the individuals and copy number variations, modifier genes, epigenetic or environmental factors cause a range of phenotypes. At present there is no genetic treatment, repairing genetic defect, in almost all of those diseases. On the other hand, prenatal diagnosis of genetic diseases in the samples obtained from embryo or foetus by different procedures have been available for years. Prenatal sampling procedures can be divided into two main groups, invasive and non-invasive. The most common invasive procedures to obtain fetal material are chorionic villus sampling (CVS) and amniocentesis. Those procedures carry small but significant risk for foetus. The most important risk is the termination of pregnancy because of miscarriage. Preimplantation genetic diagnosis/screening is another method which provides genetic analysis through invitro fertilization. On the other side, the principle of non-invasive prenatal methods is based on searching a number of markers which may give information about the foetus. It includes the measurement of multiple analytes in the maternal serum, namely double test, triple test and quadruple test or ultrasonographic evaluation. While they have no hazardous effects on foetus, their impact on fetal well-being is low. Following the discovery of fetal cell and cell-free fetal DNA in maternal blood, many studies have shown that this material can be used for the fetal genetic disorders. A number of technical factors have prevented this technique from being used, however prenatal screening/diagnosis of many genetic diseases have become available by the application of cell-free fetal DNA. This test can be used qualitatively for fetal RhD genotyping, X-linked diseases, autosomal dominant diseases for which the father carries a mutation, autosomal recessive diseases for which a compound heterozygosity is present or quantitatively for autosomal dominant diseases for which the mother carries a mutation, autosomal recessive diseases for which the parents are carrying the same mutation and aneuploidy detection. At present fetal sex diagnosis, fetal RhD genotyping and aneuploidy detection are the most common indications for non-invasive prenatal test (NIPT). The most common method for the aneuploidy detection by obtaining cell-free fetal DNA from maternal blood is next generation sequencing. NIPT should be regarded as a screening test for aneuploidies, not as diagnostic, and positive results should be confirmed by an invasive test such as CVS or amniocentesis. In the near future, almost all genetic diseases will probably be available by analysing fetal genetic material obtained from maternal blood samples.

References

1. Wieacker P, Steinhard J. The prenatal diagnosis of genetic diseases. *Dtsch Arztebl Int.* 2010 Dec; 107(48): 857-62.
2. Papageorgiou EA, Patsalis PC. Non-invasive prenatal diagnosis of aneuploidies: new technologies and clinical applications. *Genome Med.* 2012 May 28; 4(5): 46.
3. Go AT, van Vugt JM, Oudejans CB. Non-invasive aneuploidy detection using free fetal DNA and RNA in maternal plasma: recent progress and future possibilities. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Jun 10; 111(23): 8583-8.
4. Norwitz ER, Levy B. Noninvasive prenatal testing: the future is now. *Rev Obstet Gynecol.* 2013; 6(2): 48-62.
5. Bianchi DW, Flint AF, Pizzimenti MF, Knoll JH, Latt SA. Isolation of fetal DNA from nucleated erythrocytes in maternal blood. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990 May; 87(9): 3279-83.

6. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997 Aug 16; 350(9076):485-7.
7. Bianchi dw, Williams jm, PCR quantitation of fetal cells in maternal blood in normal and aneuploid pregnancies. *Am J Hum Genet*. 1997 Oct; 61(4):822-9.
8. Greene MF1, Phimister EG. Screening for trisomies in circulating DNA. *N Engl J Med*. 2014 Feb 27; 370(9):874-5.
9. Lo YMD, Hjelm NM, Fidler C, Sargent IL, Murphy MF, Chamberlain PF, et al. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med* 1998; 339:1734-1738);
10. Chan KC, Clinical applications of the latest molecular diagnostics in noninvasive prenatal diagnosis. *Top Curr Chem*. 2014; 336: 47-65.;
11. Raymond FL, Whittaker J, Jenkins L, Lench N, Chitty LS. Molecular prenatal diagnosis: the impact of modern technologies. *Prenat Diagn*. 2010 Jul; 30(7):674-81.
12. Bustamante-Aragónés A, Rodríguez de Alba M, Perlado S, Trujillo-Tiebas MJ, Arranz JP, Díaz-Recasens J, Troyano-Luque J, Ramos C. Non-invasive prenatal diagnosis of single-gene disorders from maternal blood.). *Gene*. 2012 Aug 1; 504(1):144-9. doi: 10.1016/j.gene.2012.04.045. Epub 2012 Apr 25.
13. Nepomnyashchaya YN, Artemov AV, Roumiantsev SA, Roumyantsev AG, Zhavoronkov A. Non-invasive prenatal diagnostics of aneuploidy using next-generation DNA sequencing technologies, and clinical considerations. *Clin Chem Lab Med*. 2013 Jun; 51(6):1141-54.
14. Cogulu O. Next Generation sequencing as a Tool for Noninvasive Prenatal tests. In: *Clinical Applications for Next-Generation Sequencing*. Edt. Urszula Demkow, Rafal Ploski, Elsevier, New York, p. 171-184; 2016.

K32

Tahsin Murad Aktan - Necmettin Erbakan Üni. Tıp Fakültesi /Necmettin Erbakan University Faculty of Medicine

Tüp bebek ünitesinin kuruluşu ve işleyişindeki deneyimlerimiz
Our experiences during set up and operating IVF unit

Fakültemiz bünyesinde bir Tüp Bebek Merkezinin kurulması karar aşamasındayken biz de oluşumun içine katıldık. Kuruluşundan itibaren hemen her aşamasında belirleyici olabilmek hem ek iş yükü getirdi hem de klinikle iç içe ama bağımsızca çalışma ortamı geliştirebilmemize yardımcı oldu. Klinik bölümdeki ekiple beraber fertilité tedavisi gören vakalara bir çok değişik katkılar sağladık.

Yurtdışındaki bir çok ileri tıp uygulaması temel bilimlerle klinik bilimlerin uyumlu çalışması ile gerçekleşmektedir. Ülkemizde de bu tür örneklerin çoğalması için bizim çalışmamızın fikir verebileceğini düşünmekteyiz.

During an idea to set up an IVF unit in our faculty we were actively involved from the beginning.

To be inside at the start point brought extensive working but this helped us to establish a working environment who is working together with a different section in an independent manner.

This independency brought us to make contributions so that infertile couples benefitted. In developed countries clinical and basic science departments can work together with harmony and make fruitful progressions. We assume that our experience can be a sample for this kind of harmonic relations.

K33

Asuman Özen - Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi / Ankara University Faculty of Veterinary Medicine

Veteriner hekimlikte kök hücre kullanımı
Stem cell therapy in veterinary medicine

Günümüzde tedavisi mümkün olmayan pek çok hastalıkta ve rejeneratif tıpta kök hücre tedavisi alanında yapılan araştırmalar hızla ilerlemektedir. Klasik tedavi yöntemleri ile tedavi seçeneği bulunmayan hastalıklarda kök hücre tedavisi ve bunun da ötesinde her organın kendi kök hücrelerinin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Mezenkimal kök hücrelerin veteriner hekimlik alanında da kullanımı birçok hastalığın tedavisi için umut ışığı olarak görülmektedir. Mezenkimal kök hücre tabanlı tedaviler atlarda ve köpeklerde kas ve iskelet sistemi hastalıklarında, tendo ve ligament yaralanmalarında, kırık ve eklem hasarlarında kullanılmaktadır. Yağ doku kökenli mezenkimal kök hücrelerin eldesinin kolay olması ve üretiminin ek bir maliyet getirmemesi sebebiyle yağ dokudan kök hücre üretimi en çok kullanılan yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Yağ doku kökenli hücrelerin multilineage potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir. Kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücrelerin transmisyon elektron mikroskobu ile ince yapısı ve farklılaşma özellikleri incelenmiş, bu hücrelerin sürekli olarak birbirleri ile bir iletişim halinde oldukları, kontakt bölgelerinde vakuol sayısının arttığı ve bu vakuollerde bulunan maddelerin sinyalizasyonda oldukça önemli olduğu bildirilmiştir.

İnguinal bölgeden alınan yağ doku materyali explant kültür yöntemi ile, steril petri kabı içinde küçük parçalara ayrılarak T25 flasklara yerleştirilerek ve üretilebileceği gibi kemik iliği kökenli, mezenkimal kök hücreler atlarda sternal bölgeden, koyunlarda ve köpeklerde iliak bölgeden alınarak Ficol gradient yöntemi ile MKH eldesi sağlanır. Üçüncü pasaj hücrelerinin adipojenik (yağ), osteojenik (kemik), kondrojenik (kırık) farklılaşma ile MKH oldukları gösterilir.

Veteriner hekimlik alanında ilk olarak göz hastalıklarının da laboratuvarımızda üretilen kök hücreler kullanıldı. Özellikle başarılı sonuçlar aldığımız kedi kornea nekrozu (FKN) hastalığı ve keratokonjunktivitis sikka tedavisinde ve herpes viral konjunktivitis sekeli olan symblepharon tedavisinde hücrelerimiz başarıyla trasplante edilmiştir. Bunun yanında böbrek hastalıklarının tedavisi ve kemik iyileşmesinin desteklenmesi amacıyla kullanılmak üzere araştırma aşamasında olan diğer projelerimiz de bulunmaktadır.

In diseases with no treatment and in regenerative medicine stem cell therapy is advancing rapidly. Beyond this every organ's own stem cells is increasingly being used. Use of mesenchymal stem cells for the treatment of several diseases can be a new era for veterinary medicine. Stem cell based therapies in horses and dogs are widely being used in skeletal system diseases, tendon and ligament injuries. The ease of isolation and expansion of adipose derived stem cells results in a more cost effective methods so it is widely used. Adipose derived stem cells are known to have a multilineage potential. Mesenchymal stem cells derived from bone marrow is evaluated with electron microscopy and the cells contact with each other detected. Beyond this these cells contact points includes increased number of vacuoles. These ingredients in the vacuoles play an important role in signalization.

Adipose tissue sample from inguinal region is processed by explant culture method. Tissue samples could be minced in a sterile petri dish and transferred in a T25 flask by the same means bone marrow derived mesenchymal stem cells can be obtained and processed by ficol gradient centrifugation from sternal region in horses, iliac region in sheep and dogs.

Third passage cells characteristics can be shown by differentiation of MSC into Adipogenic, osteogenic, chondrogenic lineage.

In veterinary medicine for the first time in ophthalmology, MSC's cultured in our laboratory is used. The cells were transplanted successfully in patients suffering from FCN (feline corneal necrosis) and KCS (Keratokonjunktivitis sikka) as well as in patients with a sequela of symplepharon due to herpesviral conjunctivitis. Beyond this we have ongoing projects focusing on treatment of renal diseases and to support bone healing.

K34

**Selçuk Duman - Necmettin Erbakan Üni. Tıp Fakültesi / Necmettin Erbakan University
Faculty of Medicine**

PRP'nin klinik kullanımındaki deneyimlerimiz
Our Clinical Usage Experiences For PRP

Trombositler vücudumuzdaki hasarlı dokuların onarımını ve doğal hallerine dönmelerini sağlamak için gerekli olan büyüme faktörlerini yapısında barındıran kan bileşenleridir. Dokularımızda herhangi bir hasar oluştuğunda, kan trombositleri bu dokuya toplayarak bir onarım süreci başlatır. PRP (platelet rich plasma) uygulamasının amacı ise bu hedef dokuya kan dolaşımı ile taşınabilecek olan çok daha fazla sayıda trombosit verebilmektir. PRP ile elde edilen trombositlerin yoğunluğu kandakinden 3 - 5 kat fazladır.

Bizzat trombositler veya doku hasarıyla aktif hale geldiğinde asıl fonksiyonları olan kan pıhtılaşması ve yara iyileşmesini gerçekleştirmek olan trombositleri yoğunlaştırıp farklı tedavi alanlarında uygulayarak bu yetenekleri maksimum düzeye çıkaran yöntem PRP tedavisi denir. PRP uygulamasında beklenen medikal başarı, uygulama esnasında kullanılacak PRP'nin yüksek konsantrasyonda elde edilmesiyle birlikte, en az hasar görmüş trombosit ve beraberinde growth faktörü kayıplarının minimize etmek laboratuvar başarınıza bağlıdır.

Trombositlerde çok sayıda growth faktörleri olduğundan, PRP, hücrel çoğalma, kollajen üretimi, matriks sentezi, epidermal yenilenme, anjiyogenez, vb. sistemleri harekete geçirerek farklı tipte tedavilerde kullanılabilir. Ortopedi ve Fizik-Tedavi Kliniklerinde ;

- 1-Kronik tendinopatiler,
- 2-Diz bağ ve menisküs yaralanmaları,
- 3-Kas yaralanmaları,
- 4-Osteoartrit (kireçlenme)
- 5-Cerrahi işlemlerde iyileştirmeyi hızlandırmak amacıyla yardımcı olmak.

Estetik Cerrahi ve Dermatoloji Kliniklerinde;

- 1-Laser-Peeling gibi uygulamalardan hemen sonra dermisin hızla yapılanmasını sağlamak.
- 2-Deride UV ışınlarına maruz kalma sonucu oluşan derin olmayan kırışıkların düzelmesi, minimal çöküntülerin doldurulması, esneklik ve parlaklığın kazandırılmasını sağlamak, çalışmak,
- 3-İyileşmesi uzun süren yara, çatlak ve deri niteliğinin zarar gördüğü durumlarda iyileşmeyi hızlandırmak,
- 4-Saç dökülmesinde kıl folikülünün damarsal beslenmesini güçlendirmek şeklinde kullanım alanı bulunmaktadır.

Otolog olması, yeniden yapılandırıcı, kolay- güvenli hazırlığı ve uygulanması ile PRP, kullanımı giddikçe artan bir laboratuvar yöntemidir.

Platelets are blood components whom carry growth factors needed for wound tissue healing. Whenever a tissue damage occurs blood platelets gathers there and starts the repairing process. The aim of PRP (Platelet Rich Plasma) treatment is to place more platelets than normal blood circulation can do. PRP contains 3-5 times more platelets than blood.

The main function of platelets is to coagulate in the wounded tissue, PRP treatment maximizes and uses this concentrated platelets in different healing aims.

The medical treatment success of PRP treatment depends on the laboratory handlings which preserve the platelet so the growth factor losing's are minimized.

Growth factor spectrum of platelets are so wide that they can effect cell replication, collagen production, epithelial renewing, angiogenesis, etc. So PRP can be used in different medical conditions. For example in Physical Therapy clinics:

- 1- Chronic tendinopathies
- 2- Meniscal injuries of knee joint
- 3- Muscle injuries
- 4 Osteoarthritis
- 5- Accelerate the wound closer after surgical operations

In Plastic surgery and Dermatology Clinics;

- 1- Improving dermal repair after laser-peeling
- 2- Improvements in face wrinkles, small depression fillings, elasticity and brightness.
- 3- Accelerating skin wounds who need long time to heal
- 4- Strengthening hair follicules so preventing hair loss

Being autologous, repeatability, safety and easy handling makes PRP usage widespreading in laboratories.

SÖZLÜ BİLDİRİLER

ORAL PRESENTATIONS

(S01-S31)

S01-Koroner arter hastalığında epikardiyal yağ dokusunda makrofaj infiltrasyonu ve polarizasyonu üzerine netrin-1'in etkisi/Netrin-1 modulates macrophage infiltration and polarization in human epicardial adipose tissue in coronary artery disease

S02-Nesfatin Nöronlarında Glutamat Reseptörlerinin Varlığının Agonist Etkileri ve Reseptör Ekspresyonu Düzeyinde Araştırılması/Assessment of the Presence of Glutamate Receptors in Nesfatin Neurons through the Agonist Effects and Receptor Expression

S03-FoxO transkripsiyon faktörlerinin peri-implantasyon sürecindeki rolleri: Endometriyal reseptivitenin olası yeni belirteci/The roles of FoxO transcription factors in endometrium during peri-implantation period: Possible new marker of endometrial receptivity

S04-Testiküler İskemi Reperfüzyon Hasarında Ubikütin Proteazom Yolağının Rolü/Role of the Ubiquitin proteasome pathway proteins in testicular ischaemia reperfusion injury

S05-Tetrasiklin-indüklenebilir Ctcfl transgenik farelerde H19 DMD metilasyon paterni/H19 DMD methylation pattern in tetracycline-inducible Ctcfl transgenic mice

S06-Fare Oositi ve Preimplantasyon Dönemi Embriolarında mTERT Telomeraz Katalitik Alt ünitesinin c-Abl Protein Tirozin Kinaz Tarafından Düzenlenmesi/Regulation of The mTERT Telomerase Catalytic Subunit by The c-Abl Protein Tyrosine Kinase during Oocyte and Preimplantation Mouse Embryos

S07-Endokannabinoid agonistleri, endometriyotik hücrelerde hücre çoğalma indeksini düşürmektedir/Endocannabinoid agonists decrease cell proliferation indexes on endometriotic cells

S08-Embriyonik Poli(A)-Bağlanma Proteinine Özgü Poliklonal Antikor Üretimi/Producing a Polyclonal Antibody Specific to Embryonic Poly(A)-binding Protein

S09-Frajil X Primer Ovaryum Yetmezliği Fare Modelinde Folikül Atrezisinin ve Oosit Kalitesinin Değişimi/Follicle Atresia and Oocyte Quality are Altered in a Mouse Model of Fragile X Primary Ovarian Insufficiency

S10-In Vitro Elde Edilmiş Dört-Hücre Evresindeki Sığır Embriolarında Kontrollü Yavaş Dondurma veya Vitrifikasyon Sonrası Ultra-Strüktürel Değişiklikler/Ultra-Structural Alterations in In Vitro Produced Four-Cell Bovine Embryos Following Controlled Slow Freezing or Vitrification

S11-Deneysel hasarlı sıçan testislerinde yağ doku kökenli kök hücre etkilerinin oksidatif stres ile ilişkisinin histolojik ve biyokimyasal parametreler ile karşılaştırılması/Effects adipocyte derived stem cell in the experimentally damaged rat testis with evaluation of histologic and biochemical parameters together relation of oxidative stress

S12-Hücrel dormansinin küçük moleküllerle engellenmesi hematopoetik kök hücrelerinin ex vivo çoğaltılmasını sağlamaktadır/Targeting cellular quiescence by small molecules enables ex vivo hematopoietic stem cell expansion

S13-Fare vitiligo modelinde in vitro çoğaltılan dermis kökenli hücrelerin tedaviye yönelik kullanımının ışık ve elektron mikroskopu düzeyinde araştırılması/Investigation of in vitro cultured dermis derived cells for treatmental purpose in a mouse vitiligo model using light and electron microscopy

S14-Mezenkimal Kök Hücreler Hematopoetik Kök Hücrelerin Mobilizasyonunu Endokannabinoidler Aracılığı İle Düzenlemektedir/Mesenchymal Stem Cells Regulate The Hematopoietic Stem Cell Mobilization Through The Endocannabinoids

S15-Kordon kanı kök hücrelerinin diyabetik ayak yaralarında iyileşmeyi sağlayan faktörler üzerine etkisinin immünohistokimyasal yöntemle gösterilmesi/The Indication

of the Influence of Cordon Blood Stem Cells on the Factors that Provide Healing on Diabetic Foot Scars Using Immunohistochemical Method

S16-Dışoğuşturmak için yeni bir umut: öncül hücrelerle harmanlanmış hidroksi apatit grefti/A new hope for a tooth generation: hydroxy apatite scaffold combined with progenitor cells

S17-Erişkin fare ovariyumu kök hücreleri ve yeniden oogenez olasılığı/Adult mouse ovarian stem cells and possibility of neo-oogenesis

S18-Ubikitin Aktifleştirici E1 Gen Ailesinin Hematopoetik Kök Hücre Dormansisi ve Kardiyomiyosit Tutuklanmasındaki Rolü/Ubiquitin Activating E1 Family at the Crossroads between Stem Cells Quiescence and Cardiomyocyte Cell Cycle Arrest

S19-Çocukluk çağı akut miyeloid lösemilerinde kemik iliğinden köken alan mezenkimal stromal hücrelerin biyolojik ve immünolojik özellikleri/The biological and immunological properties of mesenchymal stromal cells derived from bone marrow in childhood acute myeloid leukemia

S20-Kemik iliğı ve plasenta dokusu Mezenkimal Kök Hücreler'inin immünomodülatuar ve farklılaşma kapasitelerinin karşılaştırılması/Comparison of immunomodulatory and differentiation capacities of Mesenchymal Stem Cells derived from bone marrow and placental tissue

S21-Prostat Kanseri Kök Hücresi ve Embriyo Ortak Kültürlerinde Yeniden Programlanmanın Epitelial Mezenşimal Değışim Yönüyle Araştırılması/Investigating reprogramming in co-cultures of prostate cancer stem cell and embryo in terms of epithelial mesenchymal transition

S22-Genoma entegre olmayan RNA virüsü aracılığı ile sağlıklı ve osteopetrotik insan mezenkimal kök hücrelerinin feeder-free şartlarda yeniden programlanması/Reprogramming of human mesenchymal stem cells from healthy donors and patients with osteopetrosis with non-integrating RNA virus on feeder-free conditions

S23-Fare fibroblast, fare akciğer kanseri ve fare embriyonik kök hücrelerinde flavopiridol ve geldanamisinin terapötik etkilerinin ve hücre döngüsü bileşenleri, apoptozis, hücre iskeleti ilişkili moleküllerin karşılaştırılması/Comparison of cell cycle components, apoptosis and cytoskeleton related molecules and therapeutic effects of flavopiridol and geldanamycin in mouse fibroblast, mouse lung cancer and mouse embryonic stem cells

S24-Yeni bir multi duvarlı karbon nanotüp tabanlı yapı iskelesinin insan meme kanseri hücre hattı (mcf-7) üzerine biyoyumluluğunun incelenmesi/A novel multi walled carbon nanotube based scaffold and its biocompatibility in human breast adenocarcinoma cells

S25-Neonatal farede kardiyak rejenerasyon mekanizmalarının araştırılması/Analysis of underlying molecular mechanisms of neonatal cardiac regeneration

S26-Nazal polipozis' de apoptozla ilişkili yollar: MAPK/JNK ve PI3K/mTOR Yollarının önemi/Apoptosis related pathways in the nasal polyposis: Importance of MAPK/JNK and PI3K/mTOR Pathways

S27-Sjögren Sendromu Tanılı Hastalarda, Tükürük Bezinde Mast Hücreleri ve Notch Sinyalizasyonu İlişkinin Araştırılması/The Relation Between Mast Cells and Notch Signalization In The Salivary Glands of Patients Diagnosed With Sjogren's Syndrome

S28-Deneysel olarak oluşturulmuş hipotiroid, hipertiroid ve ötroid modellerinde miyokardiyal yağ asidi metabolizması ile inflamasyon arasındaki ilişkinin incelenmesi/Investigate the relationship between myocardial fatty acid metabolism and

inflammation at experimentally induced hypothyroidism, hyperthyroidism, and euthyroid models

S29-Eritropoietin'nin Deneysel Parkinson Sıçan Modelinde Nöroprotektif Etkisi/The neuroprotective effect of erythropoietin on experimental Parkinson model in rats

S30-Dermis kökenli hücrelerin diyabetik yara modeli iyileşmesi üzerine etkisinin ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde araştırılması/Light and electron microscopic investigation of the effects of dermis derived cells of diabetic wound healing model

S31-Gebelik Sürecinde Diyabetik Sıçan Plasentalarında mTOR Sinyal Yolağının Anjiyogenez Mekanizmasına Etkisi/Effect of mTOR Signalling Pathway on Angiogenesis Mechanisms in Diabetic Rat Placenta During Pregnancy

S01

Koroner arter hastalığında epikardiyal yağ dokusunda makrofaj infiltrasyonu ve polarizasyonu üzerine netrin-1'in etkisi

Kadri Murat Gürses¹, Füsün Özmen², Duygu Koçyiğit³, Nilgün Yersal¹, Elif Bilgiç¹, Erkan Kaya⁴, Çağla Zübeyde Köprü⁵, Tolga Soyal⁶, Suat Doğanç⁷, Lale Tokgözoğlu³, Petek Korkusuz¹

¹Hacettepe Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

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

³Hacettepe Üniversitesi, Kardiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

⁴Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Gaziantep

⁵Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı, Ankara

⁶Medicana International Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Bölümü, Ankara

⁷Gülhane Askeri Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Epikardiyal yağ dokusundaki inflamasyon yanıtının ve inflamatuvar hücrelerden salgılanan adipokin ve sitokinlerin koroner arter hastalığı gelişiminde rolü olduğu bildirilmiştir. Koroner arter hastalığı olan bireylerde epikardiyal yağ dokusundaki ortaya çıkan artmış inflamasyon yanıtının temelinde ne olduğu halen tartışmalı olup kesin olarak aydınlatılamamıştır(1). Netrin-1, laminin benzeri bir proteindir ve obez hastalardan alınan omental yağ dokusu örneklerinde artmış netrin-1 ekspresyonunun Unc5b reseptörleri aracılığıyla kronik inflamasyon ve insülin direnci gelişiminde rol oynadığı öne sürülmüştür (2). Bu çalışmada, koroner arter hastalarında epikardiyal yağ dokusunda makrofaj infiltrasyonu ve polarizasyonu ile netrin- 1 arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Koroner arter hastalığı nedeniyle koroner by-pass cerrahisi yapılan hastalardan elde edilen subkütan ve epikardiyal yağ dokusu örneklerinde makrofaj infiltrasyonu ve polarizasyonu immünohistokimyasal yöntemler ile incelenmiş ve netrin-1, Unc5b ve makrofaj alt tipleri ile ilişkili sitokinlere (IL-12 ve IL-18) ait ekspresyon düzeyi qPCR yöntemi ile belirlenmiştir. Kontrol grubu olarak; koroner dışı nedenlerle kalp cerrahisi uygulanan hastalardan elde edilen epikardiyal ve subkütan yağ dokusu örnekleri kullanılmıştır.

BULGULAR: Koroner arter hastalığı olan bireylerde epikardiyal yağ dokusunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, makrofaj infiltrasyonunda artış ve makrofaj polarizasyonunda pro- inflamatuvar M1 makrofaj fenotipi lehine değişim saptanmıştır. Buna ek olarak, koroner arter hastalarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, epikardiyal yağ dokusunda subkütan yağ dokusuna oranla netrin- 1, Unc- 5B ve IL- 18 ekspresyonunda anlamlı artış görülmüştür. Hasta grubunda epikardiyal yağ dokusunda netrin- 1 ekspresyonundaki artışın, makrofaj infiltrasyonu ve polarizasyonu ile de anlamlı biçimde korele olduğu saptanmıştır.

SONUÇ: Bu çalışma sonucunda koroner arter hastalarında epikardiyal yağ dokusunda artmış netrin-1 ekspresyonu ve bu ekspresyonun makrofaj infiltrasyonu ve polarizasyonu ile ilişkisi ilk defa ortaya konmuştur. Bu bulgu; epikardiyal yağ dokusunda, koroner arter hastalığına neden olan inflamatuvar aktivite artışının daha iyi anlaşılması ve yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır.

*Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje

Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 705).

Referanslar:

1. Alexopoulos N, Katritsis D, Raggi P. Visceral adipose tissue as a source of inflammation and promoter of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2014; 233(1): 104-12.

2. Pang C, Gao Z, Yin J, Zhang J, Jia W, Ye J. Macrophage infiltration into adipose tissue may promote angiogenesis for adipose tissue remodeling in obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295: E313-22.

Netrin-1 modulates macrophage infiltration and polarization in human epicardial adipose tissue in coronary artery disease

Kadri Murat Gürses¹, Füsün Özmen², Duygu Koçyiğit³, Nilgün Yersal¹, Elif Bilgiç¹, Erkan Kaya⁴, Çağla Zübeyde Köprü⁵, Tolga Soyal⁶, Suat Doğançlı⁷, Lale Tokgözoğlu³, Petek Korkusuz¹

¹Department of Histology and Embryology, Hacettepe University, Ankara, Turkey

²Department of Basic Oncology, Hacettepe University Cancer Institute, Ankara, Turkey

³Department of Cardiology, Hacettepe University, Ankara, Turkey

⁴Department of Cardiovascular Surgery, Gaziantep University Sahinbey Research and Application Hospital, Gaziantep, Turkey

⁵Department of Nanotechnology and Nanomedicine, Hacettepe University Graduate School of Science and Engineering, Ankara, Turkey

⁶Department of Cardiovascular Surgery, Medicana International Ankara, Turkey

⁷Department of Cardiovascular Surgery, Gulhane Military Medical Academy, Ankara, Turkey

AIM: Inflammatory activity, adipokines and cytokines originating from the epicardial adipose tissue may have a role in coronary artery disease pathogenesis. Factors mediating the enhanced inflammatory activity in the epicardial adipose tissue in patients with coronary artery disease are topics still under debate (1). Netrin- 1 is a laminin- like protein and increased netrin- 1 expression in omental adipose tissue samples obtained from subjects with obesity have been suggested to have a role in chronic inflammation and insulin resistance, acting via Unc5b receptors (2). In this study, the relationship between macrophage infiltration, polarization in the epicardial adipose tissue and Netrin- 1 gene expression was investigated.

METHODS: Macrophage infiltration and polarization have been examined by immunohistochemical methods and expression levels of Netrin- 1, Unc5b and cytokines related with macrophage subtypes (IL- 12 and IL- 18) were determined by qPCR in subcutaneous and epicardial adipose tissue obtained from patients with coronary artery disease undergoing coronary artery by- pass grafting. Patients undergoing non- coronary cardiac surgery were assigned to the control group and the same sample acquisition and examination protocol was applied.

RESULTS: Increased macrophage infiltration and pro- inflammatory shift in macrophage polarization status in favor of M1 macrophages were observed in epicardial adipose tissue of patients with coronary artery disease when compared to the control group. Netrin- 1, Unc- 5b and IL- 18 gene expression levels were higher in the epicardial adipose tissue (relative to the gene expression levels in subcutaneous adipose tissue) of patients with coronary artery disease when compared to those of the control group. Netrin- 1 gene expression in epicardial adipose tissue in patients with coronary artery disease also correlated to the parameters of macrophage infiltration and polarization.

CONCLUSION: A link between enhanced Netrin- 1 expression in epicardial adipose tissue and macrophage infiltration and polarization in patients with coronary artery disease was presented for the first time in this study. This finding may contribute to a better understanding of the pro- inflammatory changes localized in the EAT that are associated with the coronary atherosclerosis and identification of novel therapeutic targets.

*Researchers have received a grant from Hacettepe University Scientific

Research Projects Coordination Unit (Project number: 705).

References:

1. Alexopoulos N, Katritsis D, Raggi P. Visceral adipose tissue as a source of inflammation and promoter of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2014;233(1):104-12.

2. Pang C, Gao Z, Yin J, Zhang J, Jia W, Ye J. Macrophage infiltration into adipose tissue may promote angiogenesis for adipose tissue remodeling in obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;295:E313-22.

S02

Nesfatin Nöronlarında Glutamat Reseptörlerinin Varlığının Agonist Etkileri ve Reseptör Ekspresyonu Düzeyinde Araştırılması

Duygu GÖK YURTSEVEN¹, Zehra MİNBAŞ², Özhan EYİĞÖR²

¹Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Bursa.

²Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Bursa

GİRİŞ: Nesfatin, besin alımını baskılayarak enerji metabolizmasını düzenleyen, anoreksijenik bir peptittir. Nesfatin sentezleyen nöronların çoğunluğu hipotalamusun paraventriküler (PVN), supraoptik (SON) ve arkuat çekirdekleri (ARC) ile lateral hipotalamik alanda (LHA) yoğunlaşmıştır. Glutamat, hipotalamusun birçok endokrin ve peptiderjik sistemi üzerinde etki gösteren eksitator bir nörotransmitterdir. İyonotropik glutamat reseptörleri, eksitator iletişime aracılık eden membran proteinleridir ve glutamat agonistlerini bağlama afiniteleri değerlendirilerek 3 alt gruba ayrılmaktadır. Çalışmamızda; farklı glutamat agonistlerinin (Kainik asit, AMPA ve NMDA), SON ve ARC'deki nesfatin nöronlarında aktivasyon etkilerinin belirlenmesi ve nesfatin nöronlarındaki glutamat reseptör proteinlerin ekspresyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Glutamat agonistlerinin etkilerini belirlemek üzere, kainik asit (2.5 mg/kg), AMPA (5 mg/kg) ve NMDA (100 mg/kg), kontrol için salin ve antagonist olarak CNQX (2 mg/kg) ve MK-801 (1 mg/kg) enjeksiyonu yapılan dişi ve erkek sıçanları içeren deney grupları oluşturulmuştur. İntraperitoneal enjeksiyondan 90 dk. sonra perfüzyonla fikse edilen dokulardan alınan yüzen kesitlerde, c-Fos (nöronal aktivasyon belirteci) ve nesfatin antikoruna ile ikili immünohistokimyasal boyamalar gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, nesfatin nöronlarında glutamat reseptörlerinin ekspresyonunu belirlemek amacıyla, herhangi bir uygulamaya maruz kalmamış deneklerden elde edilen kesitlere ikili immünofloresans yöntemi uygulanmıştır.

BULGULAR: Dişi deneklerde, kainik asit enjeksiyonu sonrası SON'de yerleşik nesfatin nöronlarının yaklaşık %79'u c-Fos'u eksprese ederken bu oran AMPA enjeksiyonu sonrası %83 ve NMDA enjeksiyonu sonrası %70 olarak belirlenmiştir. Arkuat çekirdekte ise, kainik asitin yaklaşık %16, AMPA'nın %10 ve NMDA'nın %23 oranında nesfatin nöronunu aktive ettiği görülmüştür. Erkek deneklerde, kainik asit uygulaması SON'de yerleşik nesfatin nöronlarının yaklaşık %50'sinde c-Fos proteininin ekspresyonuna neden olmuş ve bu oran dişilerdeki etkisine göre anlamlı olarak daha az bulunmuştur. AMPA uygulanan erkek deneklerde %78, NMDA uygulananlarda %87 oranında nesfatin nöronu c-Fos ile ikili işaretlenmiştir. Erkek sıçanlarda arkuat çekirdek nesfatin nöronlarının %31'i kainik asit, %22'si AMPA ve % 23'ü NMDA enjeksiyonu sonrası aktive olmuştur. Aktive nöron sayıları kontrol deneklerle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. Her üç agonistin enjeksiyonlarından önce özgün antagonist uygulanması supraoptik çekirdekte aktive olan nesfatin nöron sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya yol açmıştır. İkili immünofloresans işaretleme sonuçları glutamat reseptör alt birimlerinin önemli bir bölümünün SON'de yerleşik nesfatin nöronlarıncı sentezlendiğini göstermiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ: Sonuç olarak, hipotalamusta lokalize olan nesfatin nöronlarının önemli bir bölümünün glutamat agonistlerinin etkisiyle aktive olduklarının anlaşılması, endojen glutamatın direkt olarak bağlanabileceği, fonksiyonel reseptörleri oluşturabilecek reseptör alt birim proteinlerinin nesfatin nöronlarıncı sentezlendiğinin gösterilmesi ve bu etkide, erkek ile dişi denekler arasında cinsiyete bağlı farklılıkların belirlenmesi, besin alımının kontrolünde glutamatın, nesfatin nöronları üzerinden, önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir.

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

Anahtar Kelimeler: Nesfatin, Glutamat, Kainik asit, AMPA, NMDA, c-Fos

Assessment of the Presence of Glutamate Receptors in Nesfatin Neurons through the Agonist Effects and Receptor Expression

Duygu GÖK YURTSEVEN¹, Zehra MİNBAŞ², Özhan EYİĞÖR²

¹Uludag University, Institute of Health Science, Department of Histology and Embryology, Bursa.

²Uludag University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey.

INTRODUCTION: Anorexigenic peptide nesfatin regulates energy metabolism by suppressing food intake. Majority of nesfatin neurons is in paraventricular, supraoptic and arcuate nuclei and lateral hypothalamic area (LHA). Glutamate acts on the most endocrine and peptidergic systems in hypothalamus. Ionotropic glutamate receptors mediate excitatory signaling and are divided into three subgroups by the binding affinities of glutamate agonists. It is aimed to assess the activation impact of glutamate agonists on nesfatin neurons in SON and ARC and to investigate the expression of glutamate receptors in nesfatin neurons.

MATERIALS-METHODS: To determine the effects of agonists, groups were formed containing male and female rats injected with kainic acid, AMPA and NMDA, saline for control and CNQX and MK-801 as antagonists. Dual immunohistochemical staining with c-Fos and nesfatin antibodies was performed on floating sections. Furthermore, dual immunofluorescence was applied on sections obtained from animals with no treatment to determine the expression of glutamate receptors in nesfatin neurons.

RESULTS: In female, about 79% of SON nesfatin neurons were c-Fos-positive after kainic acid, which was 83% after AMPA and 70% after NMDA injection. In the arcuate nucleus, kainic acid activated about 16%, NMDA activated 23% and AMPA activated 10% of nesfatin neurons. In male, kainic acid induced c-Fos expression in 50% of nesfatin neurons in SON which was significantly lesser than female rats. In AMPA- or NMDA-administered male subjects nesfatin neurons were dual-labeled with c-Fos with a percentage of 78% and 87%, respectively. In male rats, this percentages in arcuate nucleus were 31% for kainic acid, 22% for AMPA and 23% for NMDA. When compared to controls, the increase of activated nesfatin neurons was statistically significant. Specific antagonist treatment before agonists caused a statistically significant reduction in the number of activated nesfatin neurons in SON. Dual immunofluorescence labeling showed that significant portion of glutamate receptor subunits was synthesized by nesfatin neurons in SON.

DISCUSSION and CONCLUSION: Since the results showed that a significant proportion of nesfatin neurons in hypothalamus are activated by the effects of glutamate agonists and that nesfatin neurons synthesize glutamate receptors which can form functional receptors that can bind endogenous glutamate and identified gender-dependent differences, it is suggested that glutamate plays an important role in the control of food intake through nesfatin neurons.

(Supported by TUBITAK through a research grant to OE. Project No:113S377)

Keywords: Nesfatin, Glutamate, Kainic acid, AMPA, NMDA, c-Fos

Kaynakça / References: 1. OH I., Shimizu H., Satoh T., Okada S., Adachi S., Inoue K., Eguchi H., Yamamoto M., Imaki T., Hashimoto K., Tsuchiya T., Monden T., Horiguchi K., Yamada M., Mori M., Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus, *Nature*, 443, 709-12, (2006). 2. SHIMIZU H., Ohsaki A., Oh I., Okada S., Mori M., A new anorexigenic protein, nesfatin-1, *Peptides*, 30, 995-8, (2009). 3. HOLLMANN M., Heinemann S., Cloned glutamate receptors, *Annu Rev Neurosci*, 17, 31-108, (1994). 4. BRANN D. W., Glutamate: a major excitatory transmitter in neuroendocrine regulation, *Neuroendocrinology*, 61, 213-25, (1995). 5. HOFFMAN G. E., Smith M. S., Verbalis J. G., c-Fos and related immediate early gene products as markers of activity in neuroendocrine systems, *Front Neuroendocrinol*, 14, 173-213, (1993).

S03

FoxO transkripsiyon faktörlerinin peri-implantasyon sürecindeki rolleri: Endometriyal reseptivitenin olası yeni belirteci

Dileyra Adıgüzel, Nuray Acar, Nilay Kuşcu, Çiler Çelik Özenci
Akdeniz Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

AMAÇ: Başarılı embriyo implantasyonu, 'aktif blastosist' ve 'reseptif uterus' arasındaki karşılıklı konuşma/etkileşimini gerektirir. Reseptif uterus, uterin çevrenin blastosistin implantasyonunu sağlayan sınırlı bir zaman dilimi olarak tanımlanır. FoxO transkripsiyon faktörleri (FoxO1, FoxO3, ve FoxO4) hücrenin kaderini belirlemede rol alırlar ve PI3K/Akt sinyali tarafından düzenlenirler. FoxO'ların hedef genleri apoptozun düzenlenmesi, stress koşullarına karşı dayanıklılık, anti-oksidan sistemlerin aktivasyonu, DNA tamiri ve farklılaşma ile ilişkilidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, FoxO'ların hem kemirgen hem de insan üreme sisteminde progesteron bağımlı rol oynadıkları gösterilmiştir. Önceki çalışmalarımızda; FoxO1 gebeliğin 5. gününde implantasyon sırasında endometriyum lümen epitelinde ve bezlerde nükleer, FoxO3 6. günde sekonder desidualizasyon bölgesinde yoğun sitoplazmik ve nükleer ve FoxO4 ise 6. günde primer desidualizasyon bölgesinde yoğun sitoplazmik ve nükleer ekspre olduğu gösterilmiştir. Mevcut literatür bilgileri ve ön bulgularımıza dayanarak bu çalışmanın amacı; FoxO'ların peri-implantasyon sürecindeki olası rollerinin araştırılmasıdır.

Materyal ve YÖNTEM: Peri-implantasyon sürecinde FoxO'ların rollerini araştırmak amacıyla; kontrol (Östrus), normal gebelik, yalancı gebelik ve yapay desidualizasyon grupları (Şekil 1) oluşturulmuştur. FoxO1, FoxO3 ve FoxO4 için tüm gruplarda immünohistokimya analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca FoxO'ın gebeliğin 4. gününde biyönötralizasyonu fonksiyonel blokajı yapılmıştır ve implantasyon oranları değerlendirilmiştir.

BULGULAR: İmmünohistokimyasal analizler sonucunda, gebeliğin 1. ve 4. günlerinde lüminal epitel ve bezlerde FoxO1 ekspresyonu izlenilmemesine rağmen, gebeliğin 5. gününde implantasyon zamanında ortaya çıkan lüminal epitel ve bez epitelinde özgün ekspresyonu vardı. İnter-implantasyon alanında ise ekspresyonunun olmaması dikkat çekiciydi (Şekil 2). Diğer yandan, yalancı gebelik ve yapay desidualizasyon modellerinde ise benzer ekspresyonlar görüldü. FoxO1'in uterus biyönötralizasyonunda ise implantasyon oranını yaklaşık %75 oranında azalttığı görüldü.

SONUÇLAR: Bulgularımıza dayanarak, FoxO transkripsiyon faktörleri peri-implantasyon süreci boyunca, uterus reseptivitesinde, implantasyon ve desidualizasyonda önemli rolleri olabilir. FoxO'ların özgün ekspresyonlarının blastosist bağımlı olup olmadığını anlamak için yalancı gebelik ve yapay desidualizasyon grupları oluşturduk. Buna dayanarak, FoxO1 ekspresyonu blastosistten bağımsız ancak progesterone bağımlı olabilir. Özellikle, FoxO1'in implantasyon zamanında lüminal epiteldeki ekspresyonu ve bu zamandaki fonksiyonel blokajının embriyo implantasyonu oranını azaltması sebebiyle bu molekül yeni bir reseptivite belirteci olarak gösterilebilir. Erken gebelik süreci ve uterus reseptivitesinin moleküler mekanizmasını daha iyi anlamak hem doğal gebelik süreçlerine hem de yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen gebeliklerin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

TÜBİTAK tarafından 215S868 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: fare, endometriyum, FoxO, implantasyon, uterus reseptivitesi

**The roles of FoxO transcription factors in endometrium during peri-implantation period:
Possible new marker of endometrial receptivity**

Dileyra Adıgüzel, Nuray Acar, Nilay Kuşcu, Çiler Çelik Özenci
Department of Histology and Embryology, Akdeniz University, Antalya, Turkey

OBJECTIVE: Successful embryo implantation requires cross talk between “activated blastocyst” and “receptive uteri”. It is defined as a limited period when the uterine environment is conducive to blastocyst acceptance and implantation. FoxO transcription factors (FoxO1, FoxO3, and FoxO4) have roles in cell fate and are regulated by PI3K/Akt signaling. Their target genes are related with regulation of apoptosis, resistance to stress conditions, activating antioxidant-systems, DNA repair and differentiation. In recent years, studies indicated that FoxOs play progesterone-dependent roles in both rodent and human reproduction system. In previously our studies, nuclear expression of FoxO1 in endometrial epithelium and glands day5 when the uterus is receptive, cytoplasmic and nuclear expression of FoxO3 in the secondary decidualization region and of FoxO4 in the primary decidualization region on day6 was observed. Present literature and based on our findings, we aimed to investigate the possible roles of FoxOs in peri-implantation period.

MATERIALS-METHOD: Control (Estrous), normal pregnancy, pseudopregnancy, artificial decidualization (Figure 1), Foxo1 bionutralization groups are established. Implantation sites have been recorded. Immunohistochemistry analyses were performed for FoxO1, FoxO3, and FoxO4 in all groups.

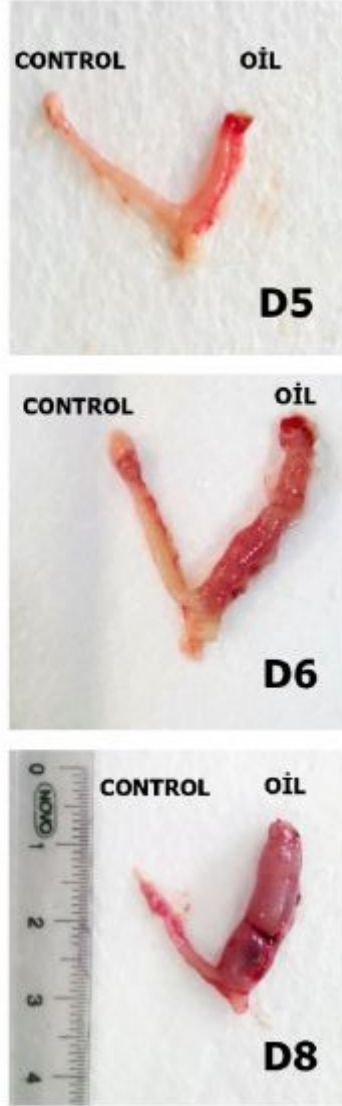
RESULTS: In immunohistochemistry analyses, although there was no FoxO1 expression in luminal epithelium and glands on days1-4, its expression was upregulated in luminal epithelium and glands at the time of implantation on day5. FoxO1 expression was not present in inter-implantation sites (Figure 2). Similar FoxO1, 3 and 4 expressions were present in pseudopregnancy and artificial decidualization groups. Bionutralization of the uterine FoxO1 reduced embryo implantation around 75%.

Conclusion: Based on our findings, FoxO transcription factors may have important roles during peri-implantation process, uterus receptivity, implantation and decidualization. We performed pseudopregnancy and artificial decidualization model for understanding whether specific expressions of FoxO's are blastocyst dependent or not. FoxO1 expression is independent of blastocyst but seem to be dependent on progesterone. Specifically, expression of FoxO1 in luminal epithelium at the time of implantation and its functional blocking at that time cause reduction in embryo implantation rate that may indicate this molecule as a new receptive marker. A better understanding of the molecular basis governing both early pregnancy and uterine receptivity will help to improve the outcome of natural pregnancy and pregnancy conceived via assisted reproductive techniques.

This project was supported by TÜBİTAK (project number:215S868)

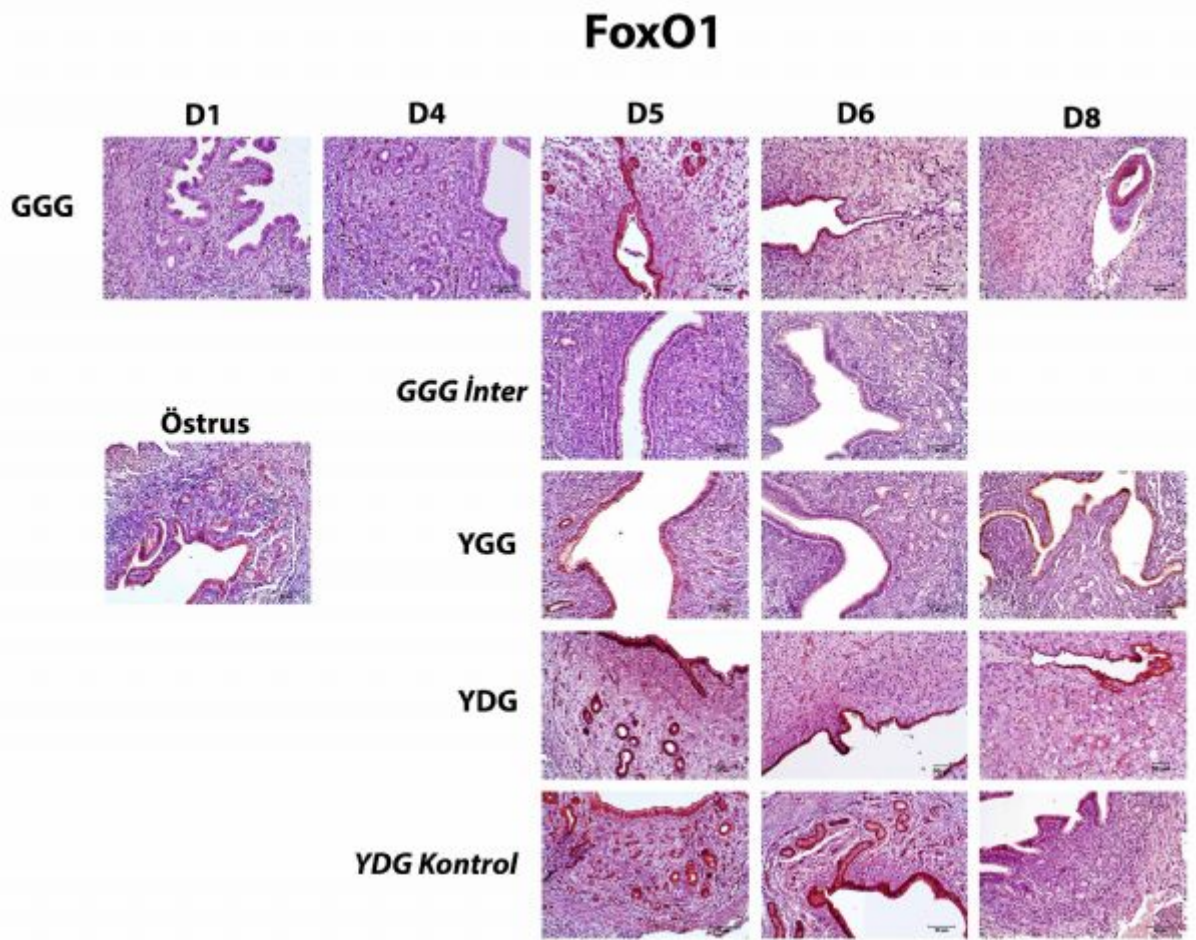
Keywords: mouse, endometrium, FoxO, implantation, uterine receptivity

ŞEKİL 1
Figure 1



*Yapay desidualizasyon oluşturulmuş gebeliğin farklı günlerindeki fare uterus görüntüleri: kontrol uterus boynuzu (işlem yapılmamış) ve yağ enjeksiyonu yapılmış boynuz.
Confirmation of artificial decidualization model in mice.*

ŞEKİL 2
Figure 2



Gebeliğin farklı günlerinde ve farklı modellerde fare endometriyumundaki FoxO1 ekspresyonunun immünohistokimyasal analizi. GGG: normal gebelik grubu, YGG: yalancı gebelik grubu, YDG: yapay desidualizasyon grubu

Immunohistochemistry analyse of FoxO1 expression in endometrium of different mouse model and early pregnancy days. GGG: natural pregnancy, YGG: pseudopregnancy, YDG: artificial decidualization

Kaynakça / References: Kajihara, T., J.J. Brosens, and O. Ishihara, The role of FOXO1 in the decidual transformation of the endometrium and early pregnancy. *Med Mol Morphol*, 2013. 46(2): p. 61-8. Gellersen, B. and J. Brosens, Cyclic AMP and progesterone receptor cross-talk in human endometrium: a decidualizing affair. *J Endocrinol*, 2003. 178(3): p. 357-72. Christian, M., et al., Cyclic AMP-induced forkhead transcription factor, FKHR, cooperates with CCAAT/enhancer-binding protein beta in differentiating human endometrial stromal cells. *J Biol Chem*, 2002. 277(23): p. 20825-32. Labied, S., et al., Progesterone regulate the expression and activity of the forkhead transcription factor FOXO1 in differentiating human endometrium. *Mol Endocrinol*, 2006. 20(1): p. 35-44. Kyo, S., et al., Forkhead transcription factor FOXO1 is a direct target of progesterone to inhibit endometrial epithelial cell growth. *Clin Cancer Res*, 2011. 17(3): p. 525-37. Kajihara, T., et al., Differential expression of FOXO1 and FOXO3a confers resistance to oxidative cell death upon endometrial decidualization. *Mol Endocrinol*, 2006. 20(10): p. 2444-55. Grinius, L., et al., Forkhead transcription factor FOXO1A is critical for induction of human decidualization. *J Endocrinol*, 2006. 189(1): p. 179-87. de los Santos, M.J., et al., Implantation rates after two, three, or five days of embryo culture. *Placenta*, 2003. 24 Suppl B: p. S13-9. Ledee-Bataille, N., et al., Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation. *Hum Reprod*, 2002. 17(1): p. 213-8. Diaz-Gimeno, P., et al., The accuracy and reproducibility of the endometrial receptivity array is superior to histology as a 26. Kajihara, T., J.J. Brosens, and O. Ishihara, The role of FOXO1 in the decidual transformation of the endometrium and early pregnancy. *Med Mol Morphol*, 2013. 46(2): p. 61-8. Gellersen, B. and J. Brosens, Cyclic AMP and progesterone receptor cross-talk in human endometrium: a decidualizing affair. *J*

Endocrinol, 2003. 178(3): p. 357-72. Christian, M., et al., Cyclic AMP-induced forkhead transcription factor, FKHR, cooperates with CCAAT/enhancer-binding protein beta in differentiating human endometrial stromal cells. J Biol Chem, 2002. 277(23): p. 20825-32. Labied, S., et al., Progesterone regulates the expression and activity of the forkhead transcription factor FOXO1 in differentiating human endometrium. Mol Endocrinol, 2006. 20(1): p. 35-44. Kyo, S., et al., Forkhead transcription factor FOXO1 is a direct target of progesterone to inhibit endometrial epithelial cell growth. Clin Cancer Res, 2011. 17(3): p. 525-37. Kajihara, T., et al., Differential expression of FOXO1 and FOXO3a confers resistance to oxidative cell death upon endometrial decidualization. Mol Endocrinol, 2006. 20(10): p. 2444-55. Grinius, L., et al., Forkhead transcription factor FOXO1A is critical for induction of human decidualization. J Endocrinol, 2006. 189(1): p. 179-87. de los Santos, M.J., et al., Implantation rates after two, three, or five days of embryo culture. Placenta, 2003. 24 Suppl B: p. S13. Ledee-Bataille, N., et al., Concentration of leukemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation. Hum Reprod, 2002. 17(1): p. 213-8. Diaz-Gimeno, P., et al., The accuracy and reproducibility of the endometrial receptivity array is superior to histology as a diagnostic method for endometrial receptivity. Fertil Steril, 2013. 99(2): p. 508-17. Fukuda, M.N., et al., Trophoblast and integrin, a novel cell adhesion molecule complex with potential involvement in embryo implantation. Genes Dev, 1995. 9(10): p. 1199-210. Margarit, L., et al., L-selectin ligands in human endometrium: comparison of fertile and infertile subjects. Hum Reprod, 2009. 24(11): p. 2767-77. Aghajanova, L., et al., HB-EGF but not amphiregulin or their receptors HER1 and HER4 is altered in endometrium of women with unexplained infertility. Reprod Sci, 2008. 15(5): p. 484-92. Lessey, B.A. and A.J. Castelbaum, Integrins and implantation in the human. Rev Endocr Metab Disord, 2002. 3(2): p. 107-17. Daftary, G.S., et al., Direct regulation of beta3-integrin subunit gene expression by HOXA10 in endometrial cells. Mol Endocrinol, 2002. 16(3): p. 571-9. Du, H., et al., 3-Phosphoglycerate dehydrogenase expression is regulated by HOXA10 in murine endometrium and human endometrial cells. Reproduction, 2010. 139(1): p. 237-45. Daftary, G.S. and H.S. Taylor, Molecular markers of implantation: clinical implications. Curr Opin Obstet Gynecol, 2001. 13(3): p. 269- Kim, J.J. and A.T. Fazleabas, Uterine receptivity and implantation: the regulation and action of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1), HOXA10 and forkhead transcription factor-1 (FOXO-1) in the baboon endometrium. Reprod Biol Endocrinol, 2004. 2: p. 34. Kim, J.J., et al., Regulation of insulin-like growth factor binding protein-1 promoter activity by FKHR and HOXA10 in primate endometrial cells. Biol Reprod, 2003. 68(1): p. 24-30.

S04

Testiküler İskemi Reperfüzyon Hasarında Ubikütin Proteazom Yolağının Rolü

Sevil Çaylı¹, Seda Ocaklı², Ufuk Şenel³, Nilnur Eyerci⁴, Tuncay Delibaşı⁵

¹Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tokat

³Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Tokat

⁴Kafkas Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kars

⁵Dışkapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği, Ankara

GİRİŞ: Testiküler torsiyon testiküler dokuda patolojik değişimlere ve erkek infertilitesine neden olmasından dolayı acil müdahale gerektiren bir durumdur. Testiküler iskemi ubikütin proteazom yolağına zarar vererek, ubikütin ile konjuge hasarlanmış proteinlerin sitoplazmada birikimine neden olur. Yapılan son çalışmalara rağmen, testiküler iskemi kaynaklı protein yıkım yolağındaki değişikliklerin spermatogenezi nasıl etkilediği konusunda sınırlı sayıda bilgi vardır. Bu çalışmanın amacı torsiyon kaynaklı germ hücre apoptozunun altında yatan hücre ve moleküler mekanizmalara ubikütin proteazom yolağındaki proteinlerin katkısını göstermektir.

MATERYAL-METOD: Wistar albino erkek sıçanların testisleri 2 saat torsiyona maruz bırakıldı ve testisler torsiyon hasarından 2, 4, 12 ve 24 saat sonra immunohistokimya ve TUNEL çalışmaları için dokular histolojik parafin takibine alındı. Western blot için ise dondurularak -800C de saklandı. Testiküler iskemi reperfüzyon sonucu oluşan DNA hasarı terminal deoksिनükleotidtransferaz aracılıklı dUTP nick-end labelling test (TUNEL) tekniği ile gösterildi. Apoptotik (aktif caspase 3, caspase 9 ve Bax), antiapoptotik (Bcl-2) ve UPS proteinlerinin (p97/VCP, Jab1/CSN5 ve poliubikütin) ekspresyonunu analiz etmek için immunohistokimya ve Western blot teknikleri uygulandı.

BULGULAR: TUNEL çalışmasını sonucunda germ hücre DNA hasarının torsiyondan 12 saat sonra en yüksek seviyeye ulaştığı ve 24 saatte ise düşmeye başladığı saptandı. Immunohistokimya ve Western blot çalışmaları sonucunda, torsiyondan 12 saat sonra, apoptotik proteinlerin ekspresyonlarında kontrole göre anlamlı bir artış, anti-apoptotik protein ekspresyonlarında ise azalış gözlemlendi. Aynı deney gruplarında, torsiyon sonrası belirlenen saatlerde Jab1/CSN5 ekspresyonunun dereceli olarak arttığı buna karşın p97/VCP ekspresyonunda anlamlı azalmalar saptandı. İskemi-reperfüzyon hasarında, poliubikütinlenmiş proteinlerin ekspresyonunu tayin etmek için yapılan Western blot çalışmalarında, poliubikütinlenmiş proteinlerin ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı görüldü.

SONUÇ: Bu bulgular sıçan testislerinde hücre ölümü ile sonuçlanan iskemi reperfüzyon hasarında UPS proteinlerinin (p97/VCP, Jab1/CSN5 ve ubikütin) de farklı ekspresyonlar göstererek hücreyi korumak adına önemli bir rol üstlendiğini öne sürmektedir.

Anahtar Kelimeler: p97/VCP, Jab1/CSN5, Ubikütin, Hücre ölümü, İskemi reperfüzyon hasarı, Testis

Role of the Ubiquitin proteasome pathway proteins in testicular ischaemia reperfusion injury

Sevil Çaylı¹, Seda Ocaklı², Ufuk Şenel³, Nilnur Eyerci⁴, Tuncay Delibaşı⁵

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Yildirim Beyazıt University, Ankara, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey

³Department of Pediatric Surgery, Faculty of Medicine, Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey

⁴Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Kafkas University, Kars, Turkey

⁵Department of Endocrinology and Metabolism, Diskapi Teaching and Research Hospital, Ankara, Turkey

INTRODUCTION: Testicular torsion is a well-known medical emergency that can lead to pathological changes in the testicular tissues and male infertility. Testicular ischaemia damages protein degradation pathways which, together with the overproduction of damaged proteins and consequent upregulation of ubiquitin-conjugated protein aggregates. Despite recent advances, the factors leading to impairment of spermatogenesis owing to testicular ischaemia remain poorly understood. This study was aimed to gain insight into the cellular and molecular mechanism underlying torsion induced germ cell apoptosis.

MATERIAL-METHODS: Male rats were subjected to 2 h torsion, and testes were examined at 2, 4, 12 and 24 h after torsion repair (reperfusion). Ischaemia–reperfusion (IR) of the testes resulted in apoptosis which was revealed by the terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate (dUTP) nick end labeling (TUNEL) technique. Immunohistochemistry and Western blotting were performed to analyze protein expression of apoptotic, antiapoptotic proteins and UPS proteins (p97/VCP, Jab1/CSN5 and polyubiquitin).

RESULTS: At 12 h after torsion repair germ cell loss reached peak, then decreased at 24 h repair. Western blotting showed that apoptotic proteins (active caspase 3, caspase 9 and Bax) gradually was upregulated at 12 h reperfusion, however anti-apoptotic protein (Bcl2) was downregulated in the relevant IR treatment. Furthermore, Jab1/CSN5 expression was gradually upregulated and p97/VCP expression was downregulated in IR injury according to western blotting and immunohistochemistry. To test further whether polyubiquitination was also involved in IR injury, the expression of polyubiquitinated proteins was examined, which showed that polyubiquitinated proteins were significantly increased in IR injury.

CONCLUSION: These findings suggest that p97/VCP and Jab1/CSN5 provide a novel signaling pathway for testicular ischaemia and may play an important role in IR injury induced cell death in rat testis.

Keywords: p97/VCP, Jab1/CSN5, Ubiquitin, Cell death, Ischaemia–reperfusion injury, Testis

S05

Tetrasiklin-indüklenebilir *Ctcf* transgenik farelerde H19 DMD metilasyon paterni

Leyla Satı¹, James McGrath²

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

²Yale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Karşılaştırmalı Tıp Anabilim Dalı, New Haven, CT USA

GİRİŞ

CTCF (BORIS), genetik olarak imprinte genlerin ekspresyonuna katılan bir proteindir. Ekspresyonu, normal koşullar altında erişkin vücudunda testiste, ovosit ve embriyonik kök hücrelerde ayrıca malignan hücrelerde belirlenebilmiştir. Bu nedenle kanser-üreme hücre hattı ya da kanser-testis antijen ailesi üyesi olarak sınıflandırılmaktadır. *Ctcf* gen ekspresyonunun doğru bir şekilde olmasının erkek fertilitesi için önemli olduğu ve normal fetal gelişim için *Ctcf* ekspresyonunun olmaması gerektiği bilinmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda, genetik mühendisliği teknikleriyle *Ctcf* gen ekspresyonunun değiştirildiği, doksisisiklin ile indüklenebilir *Ctcf* transgenik fareler kullanıldı. *Ctcf* geninin aşırı ekspresyonunun *H19/Igf2* bölgesi gibi önemli bir imprinting lokusunda metilasyon imprintlerinin oluşmasındaki olası rolü araştırıldı.

YÖNTEM-GEREÇLER

Transgenik modelimiz, *Ctcf* transgeni ekspresyonunun sadece testiste ve tetrasiklin analogu olan doksisisiklin varlığında görülebilmesine olanak verdi. Kontrol ve doksisisiklin (içme suyunda 1.5mg/ml) muamelesine tabi tutulan transgenik farelerin testis ve karaciğer örneklerinden total RNA izolasyonu yapıldı. Testisteki aşırı ekspresyon, kantitatif gerçek zamanlı PCR ile doğrulandı. Sperm DNA örnekleri izole edildi ve sonrasında total DNA bisüfit ile muamele edildi. Bisüfit muamelesinden sonra, 26 tane CpG alanı içeren *H19* DMD (differentially methylated domain) bölgesi PCR ile çığaltıldı. PCR ürünleri pCR™4-TOPO® TA vektörüne klonlandı ve sonra elektrokompotent One Shot® TOP10 *E. coli* hücrelerine transforme edildi. Plasmid DNA'sı bakteriden izole edildi ve CpG adacıklarındaki metilasyon durumunu araştırmak için sekans analizi yapıldı. Kontrol ve transgenik fare sperm örneklerinden, sırasıyla 806 ve 520 CpG adacığı değerlendirildi.

BULGULAR

Bisüfit ile muamele edilmiş DNA'da *H19* DMD bölgesinin sekans analizleri, CpG adacıklarındaki sitozin dizilerinin metile olup olmadığını gösterdi. *Ctcf* transgenik farelerden elde edilen sperm örneklerinde, kontrole göre istatistiksel olarak artmış *H19* DMD CpG metilasyon durumu tespit edildi ($p = <0.001$).

SONUÇLAR

Çalışmamızda yetişkin *Ctcf* transgenik fare sperminde *H19* DMD metilasyon paterninin kontrollere göre arttığı bulunmuştur. Bulgularımız, *Ctcf* geninin erkek üreme hattında normal imprinting paternini değiştirebildiğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: CpG adacıkları, *Ctcf*, genetik imprinting, metilasyon, testis

H19 DMD methylation pattern in tetracycline-inducible *Ctcf* transgenic mice

Leyla Satı¹, James Mcgrath²

¹Department of Histology and Embryology, Akdeniz University School of Medicine, Antalya, Turkey

²Department of Comparative Medicine, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut, USA

INTRODUCTION

CTCF (BORIS) is a protein that has been implicated in the expression of genetically imprinted genes. It is normally expressed only in testis, oocytes and embryonic stem cells; however, it is aberrantly expressed in malignant cells. Thus, it is classified as a cancer-germline or cancer-testis antigen family member. However, it is known that appropriate *Ctcf* gene expression is crucial for male fertility and absence of *Ctcf* is required for normal fetal development. Therefore, we used genetically engineered doxycycline inducible *Ctcf* transgenic mice in such a way to allow expression of the *Ctcf* gene. We investigated the potential role of *Ctcf* gene overexpression in the formation of methylation imprints in *H19/Igf2* locus.

MATERIALS-METHODS

Our transgenic mouse model allowed us to induce *Ctcf* transgene expression only in testis when tetracycline analog doxycycline was present. The total RNA isolation was performed from testis and liver tissues from control and doxycycline-treated (1.5mg/ml of drinking water) transgenic male mice. The overexpression in testis was confirmed by using quantitative real time PCR analysis. Sperm DNA samples were isolated and afterwards total DNA was bisulfite treated. *H19* DMD (differentially methylated domain) region containing 26 CpG islands was amplified by PCR after bisulfite treatment. The PCR products were cloned into pCR™4-TOPO® TA vector and then transformed to electrocompetent One Shot® TOP10 *E. coli* cells. Plasmid DNA was isolated from bacteria and sequenced to investigate the methylation status in CpG islands. A total of 806 and 520 CpG islands were evaluated in sperm samples from both control and transgenic mice, respectively.

RESULTS

Sequencing of *H19* DMD region with bisulfite-treated DNA showed whether cytosine residues in CpG islands were methylated or not. Increased *H19* DMD methylation status was found to be statistically significant in sperm samples compared to controls in *Ctcf* transgenic mice ($p = <0.001$).

CONCLUSION

In our study we found that *H19* DMD methylation pattern was increased over control mice in adult *Ctcf* transgenic mice sperm and that the *Ctcf* gene can alter the normal imprinting pattern in the male germline.

Keywords: CpG islands, *Ctcf*, genetic imprinting, methylation, testis

S06

Fare Oositi ve Preimplantasyon Dönemi Embriolarında mTERT Telomeraz Katalitik Alt ünitesinin c-Abl Protein Tirozin Kinaz Tarafından Düzenlenmesi

Aylin Yaba Uçar¹, Sami Agus², Ecem Yıldırım², Bayram Yılmaz², Necdet Demir³

¹Yeditepe Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Yeditepe Üniversitesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³Akdeniz Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

Bir ribonükleoprotein kompleksi olan telomeraz, hücrenin bölünmesi esnasında kromozomların kararlı yapılarının korunmasını sağlar. Fare telomeraz ters transkriptaz (mTERT), telomeraz kompleksinin gerekli bir bileşeni olup insan ile homoloji göstermektedir (hTERT). c-Abl, DNA çift sarmalında kırıkların oluşması ile aktive olan ve telomer kontrolü esnasında bu kırıkların tamir edilmesine katılan bir protein tirozin kinazdır. Bu çalışmada, c-Abl'in fare oositi ve preimplantasyon dönemi embriolarında mTERT ile ilişkisini belirlemeyi amaçladık.

Çalışmamızda 3 haftalık dişi Balb/C farelere i.p. 7,5 IU PMSG enjeksiyonu ve 48 saat sonra 7,5 IU hCG enjeksiyonu yapılarak süperovulasyon ile: Profaz I oosit (PI) PMSG enjeksiyonundan 20 saat sonra; Metafaz II oosit (MII), 1-hücreli (zigot), 2-hücreli, 4-hücreli, 8-hücreli, morula ve blastosist aşamasındaki embrioları hCG enjeksiyonundan sırasıyla 14, 20, 42, 60, 68, 72 ve 96 saat sonra topladık. Çalışmamızda c-Abl ve mTERT arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla fare oositi ve preimplantasyon dönemi embriolarında qReal Time-PCR, embriyo kültürü, siRNA transfeksiyonu ve western blot tekniklerini kullandık. Toplanan oosit ve embriolarda siRNA transfeksiyonu yaparak c-Abl genini susturduk. Ardından RNA izolasyonu yapıldıktan sonra qReal Time-PCR yöntemi ile c-Abl ve mTERT gen ekspresyonlarını değerlendirdik. Ayrıca c-Abl ve mTERT arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla western blot yöntemini uyguladık.

Yapılan bu proje ile ilk defa c-Abl ve mTERT ekspresyonları fare oositi ve preimplantasyon dönemi embriolarında gösterilmiştir. Sunulan çalışmanın sonuçları c-Abl ekspresyonunun özellikle zigotik genom aktivasyonunda ((ZGA) 2-hücreliden 4-hücreliye embriyonik gelişim aşaması) ve sonrasında blastosist aşamasına kadar önemli oranda arttığını (P<0.05) göstermektedir. mTERT ekspresyonunun da ZGA ve preimplantasyon embriyonik gelişim sürecinde aşamalı olarak arttığını belirledik. Çalışmamızda farede oosit maturasyonu, ZGA ve preimplantasyon dönemi embriyonik gelişim esnasında, c-Abl siRNA'nın mTERT'in ekspresyonunu azalttığını gösterdik. Gerek qRT-PCR yöntemi ile mRNA düzeyinde elde ettiğimiz sonuçlar, gerekse protein analizleri sonucumuz, c-Abl ile mTERT arasındaki korelasyonu ortaya koymaktadır. qRT-PCR verilerimiz ile protein analizi verilerimizi karşılaştırdığımızda c-Abl ile mTERT arasında transkripsiyonel ve translasyonel olarak bir paralellik olduğunu belirledik. Sonuçlarımız c-Abl'in siRNA ile knockdown edildiğinde, mTERT ekspresyonunu çarpıcı bir şekilde azaldığını göstermektedir.

Bu nedenle, c-Abl'in oositte ve preimplantasyon dönemi embriolarında ZGA ve erken embriyonik gelişim esnasında mTERT ile ilişkide olabileceğini ve c-Abl'in mTERT üzerinde düzenleyici bir etkisinin olabileceğini düşünmekteyiz. Bulgularımız, erken embriyonik gelişimde, telomeraz fonksiyonunun düzenlenmesinde ve genomik kararlılığın korunmasında c-Abl ile mTERT arasındaki ilişkinin önemli olabileceğini vurgulamaktadır.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir. (111S446)

Anahtar Kelimeler: c-Abl, mTERT, fare, oosit, preimplantasyon dönemi embrioları

Regulation of The mTERT Telomerase Catalytic Subunit by The c-Abl Protein Tyrosine Kinase during Oocyte and Preimplantation Mouse Embryos

Aylin Yaba Uçar¹, Sami Ağuş², Ecem Yıldırım², Bayram Yılmaz², Necdet Demir³

¹Department of Histology and Embryology, Yeditepe University, İstanbul, Turkey

²Department of Physiology, Yeditepe University, İstanbul, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Akdeniz University, Antalya, Turkey

Telomerase is a ribonucleoprotein complex that elongates telomeres, allowing the stable maintenance of chromosomes during multiple cell divisions. Mouse telomerase reverse transcriptase (mTERT), an essential protein component of the telomerase complex, presents homology with human (hTERT). c-Abl protein tyrosine kinase is activated by DNA double-strand breaks and proteins involved in the repair of these lesions function in telomere control. We aimed to show c-Abl interaction with mTERT in mouse oocyte and during preimplantation embryonic development.

3-week-old Balb/C female mice were superovulated by i.p. injection of 7,5 IU of Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) and Human Chorionic Gonadotropin (hCG). To collect oocytes arrested at prophase I (PI), metaphase of the second meiotic division (MII), 1-cell, 2-cell, 4-cell, 8-cell, morulla and blastocyte stages was performed at 20 h post PMSG, and 14h, 20h, 42 h, 60 h, 68 h, 72h and 96h after hCG injection, respectively. In the present study we aimed to detection of c-Abl and mTERT interaction in oocytes and preimplantation embryos using qReal Time-PCR, embryo culture, siRNA transfection, and western blot techniques.

This is the first time we showed c-Abl and mTERT expressions in mouse oocytes and preimplantation embryos. Results of the study show that c-Abl expression level significantly ($P < 0.05$) increased during zygotic genome activation (ZGA (2 to 4-cell stage of embryonic development)) and showed increased expression until blastocyte stage. We detected gradually increased mTERT expression during ZGA and preimplantation embryonic development. The present study showed that c-Abl siRNA, could significantly down-regulate the expression of mTERT during mouse oocyte maturation, ZGA and preimplantation embryonic development. When we evaluate qRT-PCR and protein results, we detected transcriptional and translational correlation between c-Abl and mTERT. Our results showed that knockdown of c-Abl by siRNA led to dramatically reduced mTERT expression.

We suggest that mTERT may associates with the c-Abl in oocyte and preimplantation embryonic development and c-Abl may have a regulatory function on mTERT activity. Our fundings suggest that the interaction between c-Abl and mTERT may be important in regulation of telomerase function and genomic stability during early embryonic development.

This work was supported by TUBITAK. (111S446)

Keywords: c-Abl, mTERT, mouse, oocyte, preimplantation embryos

Kaynakça / References: 1. Armstrong L, Lako M, Lincoln J, Cairns PM, Hole N mTERT expression correlates with telomerase activity during the differentiation of murine embryonic stem cells. *Mech Dev* 97:109-116. (2000) 2. Greenberg RA, Allsopp RC, Chin L, Morin GB, DePinho RA Expression of mouse telomerase reverse transcriptase during development, differentiation and proliferation. *Oncogene* 16:1723-1730. (1998) 3. Liu L, Blasco M, Trimarchi J, Keefe D An essential role for functional telomeres in mouse germ cells during fertilization and early development. *Dev Biol* 249:74-84. (2002) 4. Dorey K, Barila D, Gavin AC, Nebreda AR, Superti-Furga G Regulation of human c-Abl tyrosine kinase activity in Xenopus oocytes and acceleration of progesterone-induced G2/M transition by oncogenic forms. *Biol Chem* 380:223-230. (1999) 5. Kharbanda S, Yuan ZM, Weichselbaum R, Kufe D Determination of cell fate by c-Abl activation in the response to DNA damage. *Oncogene* 17:3309-3318. (1998) 6. Derijck A, van der Heijden G, Giele M, Philippens M, de Boer P DNA double-strand break repair in parental chromatin of mouse zygotes, the first cell cycle as an origin of de novo mutation. *Hum Mol Genet* 17:1922-1937. (2008)

S07

Endokannabinoid agonistleri, endometriyotik hücrelerde hücre çoğalma indeksini düşürmektedir

Elif Bilgic¹, Elif Güzel Meydanlı², Sevil Köse³, Eda Karaismailoğlu⁴, Alp Usubütün⁵, Petek Korkusuz¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AbD, Ankara

²İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AbD, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara

⁴Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik AbD, Ankara

⁵Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji AbD, Ankara

Endojen esrar ligandı olarak bilinen yağ yapılı endokannabinoidler, vücudumuzda kadın genital sisteminde, ovaryum, uterus ve tuba uterinada dağılım gösterir. En yaygın cannabinoidler olan anandamid (AEA) ve 2- arşidonoglisero (2-AG) klasik etkilerini çoğunlukla cannabinoid 1 (CB1) ve cannabinoid 2 (CB2) reseptörleri aracılığı ile gösterir. Kadınların önemli bir bölümünü etkileyen ve dismenore, disparoni, infertilite ve anovulatuvar siklus ile seyreden endometriyozis hastalığının etiopatogenezi kesin olarak bilinmemektedir. Ancak endometriyotik hücrelerin endometriyum dışı odaklara göç etme eğiliminde olduğu ve apoptozise dirençli olduğu gösterilmiştir (2).

Endokannabinoidlerin, endometriyozisteki etkileri sınırlı sayıda literatürde çalışılmıştır ve apoptozis ile ilişkisi ortaya konmamıştır. AEA ve 2-AG endokannabinoidlerinin yapım ve yıkım enzimlerinin ve buna paralel olarak CB1 ve CB2 reseptör seviyelerinin endometriyozisli hasta dokularında azaldığı ve yine apoptotik indeksin de azaldığı grubumuzca rapor edilmiştir (1). Buradan hareketle, endokannabinoid agonistleri ile endometriyozis odağında apoptozun tetiklenebileceği varsayılmıştır. Bu varsayımı test etmek için çalışmada, CB1 ve CB2 agonistleri olan ACPA ve CB65 ile Ishikawa endometriyum adenokarsinom hattı, CRL-7566 ovaryum kökenli endometriyum stroma hücre hattı ve hasta kaynaklı ovaryum kökenli endometriyozis bez hücrelerinde gerçek zamanlı olarak doz bağımlı hücre empedans sistemi ile (Xcelligence system, Roche) etkileri araştırıldı. ACPA ve CB65 için saptanan IC50 değerleri ile, her üç hücre hattında da zamanla hücre çoğalma indeksinde azalma saptandı ($p < 0.05$). Endometriyotik hücrelerin (CRL-7566 ve ovaryum kökenli endometriyozis odağı bez hücreleri), adenokarsinom hattı olan ve normal endometriyum bez hücrelerini örnekleyen Ishikawa hücrelerine göre cannabinoid agonistleri ile daha yüksek ölüm indekslerine sahip olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Sonuç olarak endokannabinoidlerin endometriyozisteki hücre proliferasyonunun azalmasına katkıda bulunduğu saptanmıştır. Bu bulgular, klinikte endometriyozis tedavisi için cannabinoid agonistlerinin kullanılma olasılığını gündeme getirmiştir.

Bu çalışma TÜBİTAK (#SBAG 112S217) tarafından desteklenmiştir

Anahtar Kelimeler: Endokannabinoidler, endometriyozis, apoptozis, hücre empedansı

Endocannabinoid agonists decrease cell proliferation indexes on endometriotic cells

Elif Bilgiç¹, Elif Güzel Meydanlı², Sevil Köse³, Eda Karaismailoğlu⁴, Alp Usubütün⁵, Petek Korkusuz¹

¹Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara

²Istanbul University Medical Faculty, Department of Histology and Embryology, Ankara

³Hacettepe University Faculty of Medicine, Stem Cell Research and Application Center, Ankara

⁴Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Ankara

⁵Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pathology, Ankara

Lipid-structured endocannabinoids, known as endogenous cannabinoid ligands are distributed at female genital system in ovaries, uterus and uterine tubes. Anandamide (AEA) and di-arachidonoylglycerol (2-AG) which are the most well known endocannabinoids act through their classical receptors cannabinoid 1 (CB1) and cannabinoid 2 (CB2) usually. The etiopathogenesis of endometriosis, which effects a considerable part of women population with symptoms such as dysmenorrhea, dyspareunia, infertility and anovulatory cycles is not exactly known yet. However it has been pointed out that endometriotic cells have migratory abilities and they are resistant to apoptosis (2). Impacts of endocannabinoids in endometriosis are sparsely studied in the literature and relationship between endocannabinoids and apoptosis is not proved. It has been reported by our group that synthesizing and catabolizing enzymes of AEA and 2-AG decreased in endometriotic tissues, also CB1 and CB2 receptor expressions and apoptotic indexes decreased parallel to this (1). From this point of view, it has been assumed that endocannabinoid agonists could induce apoptosis. To test this hypothesis, CB1 and CB2 receptor agonists which are ACPA and CB65 were applied on Ishikawa endometrium adenocarcinoma cell line, CRL-7566 ovarian endometriotic stromal cell line and patient derived ovarian glandular epithelial cells by time-dose dependent cell impedance system (Xcelligence system, Roche). Decreased cell proliferation indexes were detected by predetermined IC50 values of ACPA and CB65 in progress of time ($p < 0.05$). It was found that endometriotic cells' (CRL-7566 and ovarian endometriotic glandular cells) proliferation indexes were significantly lower than Ishikawa adenocarcinoma, which simulated normal endometrial glandular cells ($p < 0.05$). In conclusion, the contributing impact of endocannabinoids on endometriotic cell proliferation decrease was found. These findings brought out the potential use of cannabinoid agonists to cure endometriosis clinically.

This work was supported by TÜBİTAK (#SBAG 112S217)

Keywords: Endocannabinoids, endometriosis, apoptosis, cell impedance

Kaynakça / References: 1) Bilgiç E, (2013) Endokannabinoidlerin Endometriyozisteki Olası Reseptör Aracılı Etkileri (Yayınlanmamış tıpta uzmanlık tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AbD, Ankara, Türkiye) 2) Sbracia M, Valeri C, Antonini G, Biagiotti G, Pacchiarotti A, Pacchiarotti A. Fas and Fas-Ligand in Eutopic and Ectopic Endometrium of Women With Endometriosis: The Possible Immune Privilege of Ectopic Endometriim. *Reprod Sci.* 2016 Jan;23(1):81-6. doi: 10.1177/1933719115594019

S08

Embriyonik Poli(A)-Bağlanma Proteinine Özgü Poliklonal Antikor Üretimi

Fatma Uysal, Saffet Öztürk

Akdeniz Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

Embriyonik poli(A)-bağlanma proteini (ePABP), oosit olgunlaşması, fertilizasyon ve erken dönem embriyo gelişiminde maternal mRNA'ların translasyonel kontrol sürecinde görev almaktadır. ePABP geninin, fare ve insan germ hücreleri ve erken dönem embriyolar ile ovaryum ve testis dokularında mRNA düzeyinde eksprese edildiği belirlenmiştir. Ayrıca, ePABP geni çıkarılmış dişi farelerin infertil oldukları da ortaya konulmuştur. Oogenez, fertilizasyon ve erken embriyogenez süreçlerinde kritik rolleri olduğu ortaya konulan bu genle ilgili protein düzeyinde bir araştırma gerçekleştirilememiştir. Bu proje çalışmasının ilk amacı, ePABP proteinine özgü antikor üretimi ve bu antikorun özgüllük durumunun değerlendirilmesidir.

ePABP proteinine özgü antikor üretimi için tasarladığımız iki farklı peptid TÜBİTAK-MAM'a gönderildi. Bu merkez tarafından iki adet tavşana yapılan immünizasyon işlemleri ile poliklonal antikor üretimi gerçekleştirildi. TÜBİTAK-MAM tarafından gönderilen iki adet tavşana ait poliklonal antikor örnekleri immünohistokimya yöntemi ile fare gonadal ve somatik dokularında analiz edildi.

Analizler sonucunda ePABP proteininin sadece ovaryum ve testis doku örneklerinde eksprese olduğu, diğer somatik dokularda (karaciğer, bağırsak, böbrek, beyin). olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, ePABP proteini ile yüksek homoloji gösteren PABPC1 proteini için de immün boyamalar gerçekleştirilmiş ve iki protein arasında çapraz reaksiyon olmadığı görülmüştür. Çalışma kapsamında, ePABP proteini için fare gonadal ve somatik dokularda Western blot uygulamalarına devam edilmektedir.

Oosit olgunlaşması, fertilizasyon ve erken dönem embriyo gelişiminde önemli görevleri olduğu belirlenen ePABP proteininin, translasyonel kontrol sürecinde ilişki kurduğu maternal mRNA ve proteinlerin tanımlanmasının önemli bir bulgu olacağı kanısındayız. Ayrıca, bu bulgularının dişi infertilitesinin moleküler mekanizmasının aydınlatılması ve yeni tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde ilk adımı oluşturabileceği düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: ePABP, PABPC1, antikor, oosit, embriyo

Producing a Polyclonal Antibody Specific to Embryonic Poly(A)-binding Protein

Fatma Uysal, Saffet Öztürk

Department of Histology and Embryology, Akdeniz University, School of Medicine, Antalya, Turkey.

Embryonic poly(A)-binding protein (ePABP) functions in translational control of maternal mRNAs in oocyte maturation, fertilization and early embryo development. It is determined that the ePABP gene is expressed at mRNA levels in mouse and human germ cells and early embryos as well as ovary and testis tissues. It is revealed that female mice lacking ePABP gene are found to be infertile. There is no study aimed to analyze critically important roles of the ePABP protein levels during oogenesis, fertilization and early embryogenesis. The first aim of the present work is to produce ePABP-specific antibody and to examine the specificity of the created antibody.

Two types of peptides designed for ePABP protein were sent to TUBITAK-MAM. In this center, two rabbits are immunized and they have produced polyclonal antibody. The produced polyclonal antibodies from two different rabbits, sent from TUBITAK-MAM are tested in the immunohistochemical staining of mouse gonadal and somatic tissues.

We have observed that ePABP protein is only expressed in the ovary and testis tissue samples; however it is not detected in the somatic tissues including liver, intestine, kidney, brain. Moreover, immunostaining for the PABPC1 protein showing high homology with ePABP protein was carried out, and it is observed that there is no cross reactivity between the two proteins. We continue to Western blot experiments for ePABP protein in the mouse gonadal and somatic tissues.

Determining the maternal mRNAs and proteins interacting with ePABP protein which has important roles in oocyte maturation, fertilization and early embryo development would be crucial result. Furthermore, we think that these results will be the first step in illuminating the molecular mechanism of female infertility development and creating new treatment options.

Keywords: ePABP, PABPC1, antibody, oocyte, embryo

S09

Frajil X Primer Ovaryum Yetmezligi Fare Modelinde Folikül Atrezisinin ve Oosit Kalitesinin Değişimi

Bahar Uslu¹, Carola Conca Dioguardi², Monique Haynes¹, Gloria Hoffman³, Karen Usdin⁴, Joshua Johnson¹

¹Yale Tıp Fakültesi, Kadın Doğum ve Üreme Bilimleri Departmanı, New Haven

²Vita-Salute San Raffaele Üniversitesi, IRCCS, Milan

³Morgan State Üniversitesi, Biyoloji Departmanı, Baltimore

⁴NIH/NIDDK, Hücre ve Moleküler Biyoloji Laboratuvarları, Bethesda

GİRİŞ

Laboratuvarımızda yürütülen son çalışmalar, heterozigot Frajil X Premutasyon (FXPM) geni taşıyan farelerin yumurta ve granuloza hücrelerinde mitokondriyal bazda görülen anomalilerin ilk kez tanımlanmasını sağlamıştır. Burada bu çalışmanın bu konudaki ultrayapısal detayları açıklayan ilk çalışma olduğu belirtilmelidir.

METOD

Bu çalışmada FXPM fare overlerinde, doğal fenotip kontrol grubu (WT) ile karşılaştırılarak, folikül büyümesi ve atrezisi üzerine histomorfometrik analizler yapılmıştır. Yumurtalar, gebe kısırak serum gonadotropini (PMSG) ile stimüle edildikten 48 saat sonra insan koryon gonadotropini (hCG) uygulanmış ve hCG den 12 saat sonra da yumurta kanalından toplanmıştır.

BULGULAR

Primer ve küçük preantal foliküllere ait granuloza hücrelerindeki mitotik ve piknotik (olmekte olan) çekirdeklerin sayılması, mutant farelerde belirgin bir farklılık olduğunu ortaya çıkarmıştır. Primer folikül atrezisinde standart kriter, santral folikül kesitinde tek piknotik çekirdeğin görülmesi iken, küçük preantal foliküllerde bu kriter 3 tane piknotik çekirdeğin görülmesi şeklindedir. FXPM grubunda kontrol grubuna kıyasla bütün folikül tiplerinde piknotik çekirdek sayısı daha fazla bulunurken, FXPM foliküllerin yüzde doksanı bu standart esigi geçmiştir. FXPM overler hemen her folikül tipinde normale yakın sayıda folikül içerdiğinden bu durum artmış piknotik çekirdek sayısı içeren folikülün büyüdüğü (yani atretik olmadığının) göstergesidir. FX premutasyonun folikül büyümesi üzerine olan bu etkisi ovulatuvar FXPM foliküllerinin kontrol grubuna oranla daha az sayıda granuloza hücresi içerdiğine dair edindiğimiz önceki sonuçlarımızla da uyumludur. Sonuçta büyüyen FXPM foliküllerinde mitokondriyal fonksiyon bozukluğu üzerine elde ettiğimiz bilgiler bizi gonadotropik stimülasyon yanıtının FXPM farelerinde farklı olabileceği üzerine hipotez oluşturmaya yöneltmiştir. Heterozigot FXPM farelerindeki sağlam, ovulatuvar yada dejenere yumurta sayısı ortalaması kontrol grubundakilere oranla belirgin bir şekilde daha yüksek bulunmuştur.

SONUÇLAR

Bu yegane bulgular fizyolojik şartlarda oluşan mitokondriyal işlev bozukluğu ile gelişmemiş folikülün bağlantılı olduğunu gösterirken, diğer yandan da fare modelimizde stimülasyonun büyüme bozukluğunu düzeltebileceğini göstermektedir. Böyle olsa dahi, FXPM farelerin aynı fiziksel şartlara sahip kontrol grubuna kıyasla 2 kat fazla dejenere yumurta ürettiği görülmüştür. Genel olarak bu bilgiler, gonadotropik stimülasyon bağlamında FX premutasyonun folikül gelişmesi ve fertilizasyonla uyumlu matur yumurta üretimine etkisi konusunun daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Folikül Atrezisi, FXPM, Primer Over Yetmezliği

Follicle Atresia and Oocyte Quality are Altered in a Mouse Model of Fragile X Primary Ovarian Insufficiency

Bahar Uslu¹, Carola Conca Dioguardi², Monique Haynes¹, Gloria Hoffman³, Karen Usdin⁴, Joshua Johnson¹

¹Yale School of Medicine, Department of OB/GYN & Reproductive Sciences, New Haven

²Vita-Salute San Raffaele University, IRCCS, Milan

³Morgan State University, Department of Biology, Baltimore

⁴NIH/NIDDK, Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Bethesda

INTRODUCTION

Recent work in our laboratories has led to the first time recognition that mitochondrial abnormalities are present in the granulosa cells and oocytes of heterozygous mouse carriers of the Fragile X Premutation (FXPM). It should be noted here that the study is a state of the art study in this field shedding light on ultrastructural details about this subject.

METHOD

We performed histomorphometric analysis of follicle growth and atresia of FXPM ovaries compared to wild-type (WT) controls. We stimulated animals with Pregnant mare's Serum Gonadotrophin (PMSG), followed by human chorionic gonadotropin (hCG) 48 hours later, and eggs were collected from oviducts 12 hours post-hCG.

RESULTS

Counting the mitotic and pyknotic (dying) nuclei in the granulosa cells of primary and small preantral follicles revealed a significant difference in the mutants. The standard criteria for primary follicle atresia is one pyknotic nucleus per central follicle cross-section; for small preantral follicles, three per central cross-section. While In each follicle class, pyknotic nuclei were elevated in FXPM compared to wild-type, 90% of FXPM follicles exceeded this threshold. Because FXPM ovaries contain approximately normal numbers of follicles of all classes, this means that pyknotic nuclei are elevated in follicles that are growing (and not actually atretic). This effect of FXPM upon follicle growth is consistent with the prior finding that FXPM ovulatory follicles contain fewer granulosa cells than WT. Finally, our data on mitochondrial dysfunction in growing FXPM follicles led us to hypothesize that the response to gonadotrophic stimulation might be altered in FXPM animals. Mean numbers of ovulated intact and degenerate eggs were significantly higher in heterozygous FXPM animals than in WT controls.

CONCLUSIONS

These unique data suggest that while mitochondrial dysfunction favors follicle under-growth under physiological conditions, that stimulation can overcome the compromised growth in our mouse model. Even so, FXPM animals still produce more than double the number of degenerate eggs as seen in WT controls under the same conditions. Overall, these data increase our understanding of the impact of FXPM upon follicle development and the production of mature, fertilization-competent eggs in the context of gonadotrophic stimulation.

Keywords: Follicle Atresia, FXPM, Primary Ovarian Insufficiency

Kaynakça / References: Hoffman GE, Le WW, Entezam A, Otsuka N, Tong ZB, Nelson L, Flaws JA, McDonald JH, Jafar S, Usdin K, Ovarian abnormalities in a mouse model of fragile X primary ovarian insufficiency. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society* 2012;60:439–56 . Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly JL, Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 2004;428:145–150. Lu C, Lin L, Tan H, Wu H, Sherman SL, Gao F, Jin P, Chen D, Fragile X premutation RNA is sufficient to cause primary ovarian insufficiency in mice. *Human Molecular Genetics* 2012;21:5039–5047. Pastore LM, Johnson J, The FMR1 gene, infertility, and reproductive decision-making: a review. *Frontiers in genetics* 2014;5:195.

S10

In Vitro Elde Edilmiş Dört-Hücre Evresindeki Sığır Embriyolarında Kontrollü Yavaş Dondurma veya Vitrifikasyon Sonrası Ultra-Strüktürel Değişiklikler

Türker Cavuşoğlu¹, Jens Popken², Tuena Guengoer³, Kubilay Doğan Kılıç⁴, Özlem Yılmaz¹, Yiğit Uyanıkgil¹, Utku Ateş⁵, Meral Baka⁴, Emin Öztaş⁶, Valeri Zakhartchenko³

¹Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı & Ege Üniversitesi, Kordon Kanı, Hücre- Doku Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir

²Antropoloji ve İnsan Genetiği Bölümü, Münih Ludwig-Maximilian Üniversitesi, Münih

³Moleküler Hayvan Yetiştiriciliği ve Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Münih Ludwig-Maximilian Üniversitesi, Münih

⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

⁵İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁶Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Kriyoprezervasyon hücrelerin ve dokuların düşük sıcaklıklarda dondurulması ve korunması sürecidir. Kontrollü yavaş dondurma ve vitrifikasyon memeli embriyolarının kriyoprezervasyonunda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Embriyo kriyoprezervasyonu ile ilişkili tekniklerin geliştirilmesi sürecinde laboratuvar ve çiftlik hayvanlarından yararlanılmıştır. Kriyoprezervasyonun etkilerinin belirlenmesi, kriyoprezervasyon sonrası çözdürülen farklı evrelerdeki embriyolarda gelişim süreçlerinin incelenmesi ve kriyoprezervasyon başarısını artırmada etkili olabilecek faktörlerin tespit edilmesi amacıyla araştırmalar yapılmış ve şimdiye kadar, embriyo kriyoprezervasyonu uygulanmış 40 civarında türün olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte kriyoprezervasyonun embriyo üzerinde olumsuz etkilerinin bulunduğunu bildiren pek çok yayın mevcuttur. Bu yayınlarda kriyoprezervasyonun etkilerinin; türler arasında değiştiği, embriyoların kalitesine, dondurma sırasında buldukları evreye, kriyoprezervasyon işlemi sırasında kullanılan kriyoprotektanlara, uygulanan yöntem ve embriyoların in vivo veya in vitro oluşuna bağlı olarak farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir. Bu iki kriyoprezervasyon yönteminin in vitro elde edilmiş dört-hücre seviyesindeki sığır embriyoları üzerine etkileri incelenmiştir.

YÖNTEM: Bu iki kriyoprezervasyon yönteminin in vitro elde edilmiş ve kalitesine göre sınıflandırılarak üç gruba ayrılmış dört-hücre evresindeki sığır embriyoları üzerine etkisi incelendi. Birinci grup, herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubu olarak belirlendi (n=350). İkinci grup (n=385) ve üçüncü grup(n=385) embriyoları ise kontrollü yavaş dondurma ve vitrifikasyon yöntemleriyle kriyoprezerve edildi. Grup 2 ve grup 3 embriyoları 1 günün ardından çözdürüldü. Kontrol grubundan 100 embriyo rasgele seçildi, ikinci ve üçüncü gruplardan morfolojik olarak bozulmamış yüzer adet embriyo bir günün ardından çözdürülerek blastosist aşamasına gelişimleri gözlemlenmek üzere kültüre edildi. Blastosist gelişim oranları kontrol grubunda %22, yavaş dondurma grubunda %1 ve vitrifikasyon grubunda ise %3 olduğu görüldü. Her üç gruptan kalan embriyolar ışık mikroskopu, transmisyon elektron mikroskopu ve immünofloresan konfokal mikroskop ile histolojik boyama yapıldıktan sonra incelendi.

BULGU: Kriyoprezervasyonun ultra-strüktürel seviyede dejeneratif değişimlere sebep olduğu izlendi. Vitrifikasyon ile kıyaslandığında, kontrollü yavaş dondurma yönteminin daha fazla; mitokondrial dejenerasyona, sitoplazmik vakuolizasyona, nükleus ve plazma membran bütünlüğünde bozulmaya, organellerde parçalanmaya, hücre iskeleti hasarına, zona pelusida da incelmeye ve kırılmaya neden olduğu görüldü.

SONUÇ: Kriyoprezervasyon tekniklerinin embriyo yapılarında farklı sonuçlara sebep olduğu görülmektedir. Kriyoprezerve embriyoların çözdürüldükten sonra canlılıklarını kaybetmeden korunmalarını sağlayacak yeni tekniklerin geliştirilmesi ve kriyoprezervasyonun etkilerinin daha iyi anlaşılması için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kriyoprezervasyon, Kontrollü Yavaş Dondurma, Vitrifikasyon, Sığır Embriyosu

Ultra-Structural Alterations in In Vitro Produced Four-Cell Bovine Embryos Following Controlled Slow Freezing or Vitrification

Türker Cavuşoğlu¹, Jens Popken², Tuena Guengoer³, Kubilay Doğan Kılıç⁴, Özlem Yılmaz¹, Yiğit Uyanıkgil¹, Utku Ateş⁵, Meral Baka⁴, Emin Öztaş⁶, Valeri Zakhartchenko³

¹Department of Histology and Embryology, Ege University School of Medicine & Cord blood Cell-Tissue Research and Application Center, Ege University, Izmir, Turkey

²Division of Anthropology and Human Genetics, Biocenter, Ludwig-Maximilian University of Munich, Munchen, Germany

³Department of Molecular Animal Breeding and Biotechnology, Ludwig-Maximilian-University of Munich, Munchen, Germany

⁴Department of Histology and Embryology, Ege University, Izmir, Turkey

⁵Department of Histology and Embryology, Istanbul Bilim University School of Medicine, Istanbul, Turkey

⁶Department of Histology and Embryology, Gulhane Military Medical Academy, Ankara, Turkey

BACKGROUND: Cryopreservation is the process of freezing and preserving cells and tissues at low temperatures. Controlled slow freezing and vitrification have successfully been used for cryopreservation of mammalian embryos. During the process of devising of techniques laboratory animals and livestock were used. Researchers were made to ascertain the effects of cryopreservation, analyze the developmental processes of embryos at different stages which were thawed following cryopreservation and identify the factors which may be influential in enhancing the success of cryopreservation and it was reported that to date embryo cryopreservation was applied to approximately 40 species. However, there are numerous publications which report that cryopreservation has negative effects on the embryo. It was indicated in those publications that the effects of cryopreservation changed from one species to another and varied depending on the quality of embryos, the stage of embryos during cryopreservation, the cryoprotectants used during cryopreservation, the method applied and whether the embryos are in vivo or in vitro. We investigated the effect of these two methods on in vitro produced four-cell stage bovine embryos.

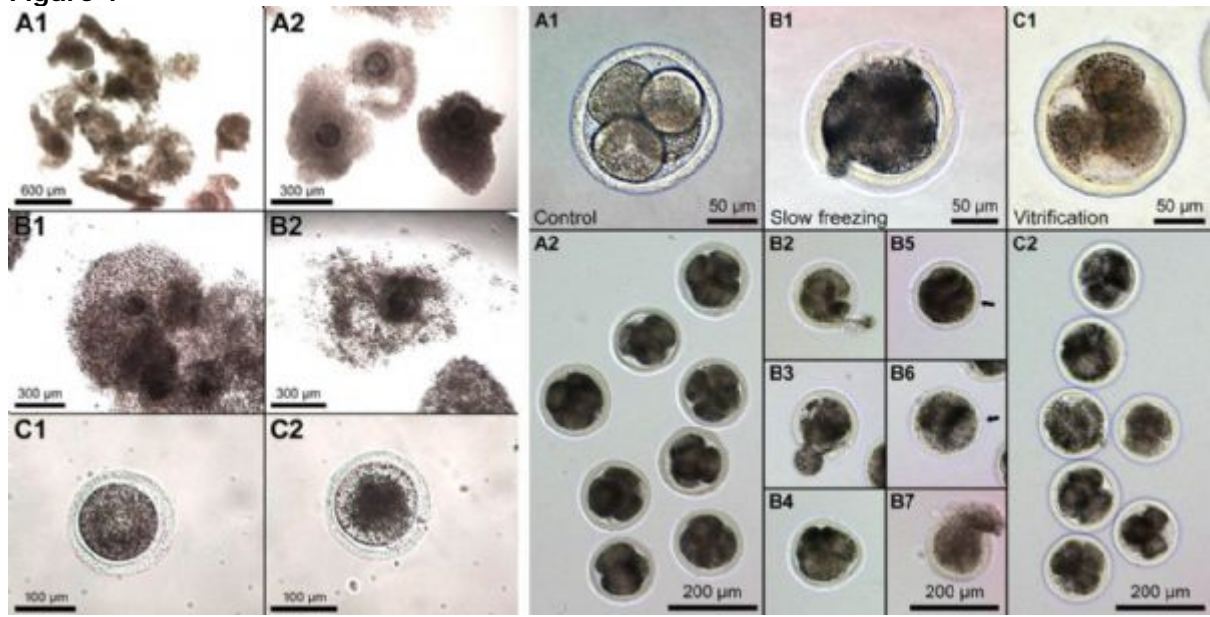
METHODS: In vitro produced four-cell stage bovine embryos which were classified according to their quality and separated into three groups. The first group was maintained as untreated controls (n=350). Embryos of the second (n=385) and the third (n=385) groups were cryopreserved either by controlled slow freezing or by vitrification. Embryos in groups 2 and 3 were thawed after 1 day. 100 embryos were randomly selected from the control group, and 100 morphologically intact embryos from the second and third group for per each other were thawed after 1 day and cultured to observe the development up to the blastocyst stage. Remaining embryos of all three groups were examined by light microscopy, transmission electron microscopy and immunofluorescence confocal microscopy with subsequent histological staining procedures.

RESULTS: The blastocyst development rate was 22% in the control group, 1% in the slow-freezing group and 3% in the vitrification group. Remaining embryos of all three groups were examined by light microscopy, transmission electron microscopy and immunofluorescence confocal microscopy with subsequent histological staining procedures. Cryopreservation caused degenerative changes at the ultra-structural level. Compared with vitrification, slow freezing caused an increased mitochondrial degeneration, cytoplasmic vacuolization, disruption of the nuclear and plasma membrane integrity, organelle disintegration, cytoskeletal damage, a reduced thickness and a formation of fractures in the zona pellucida.

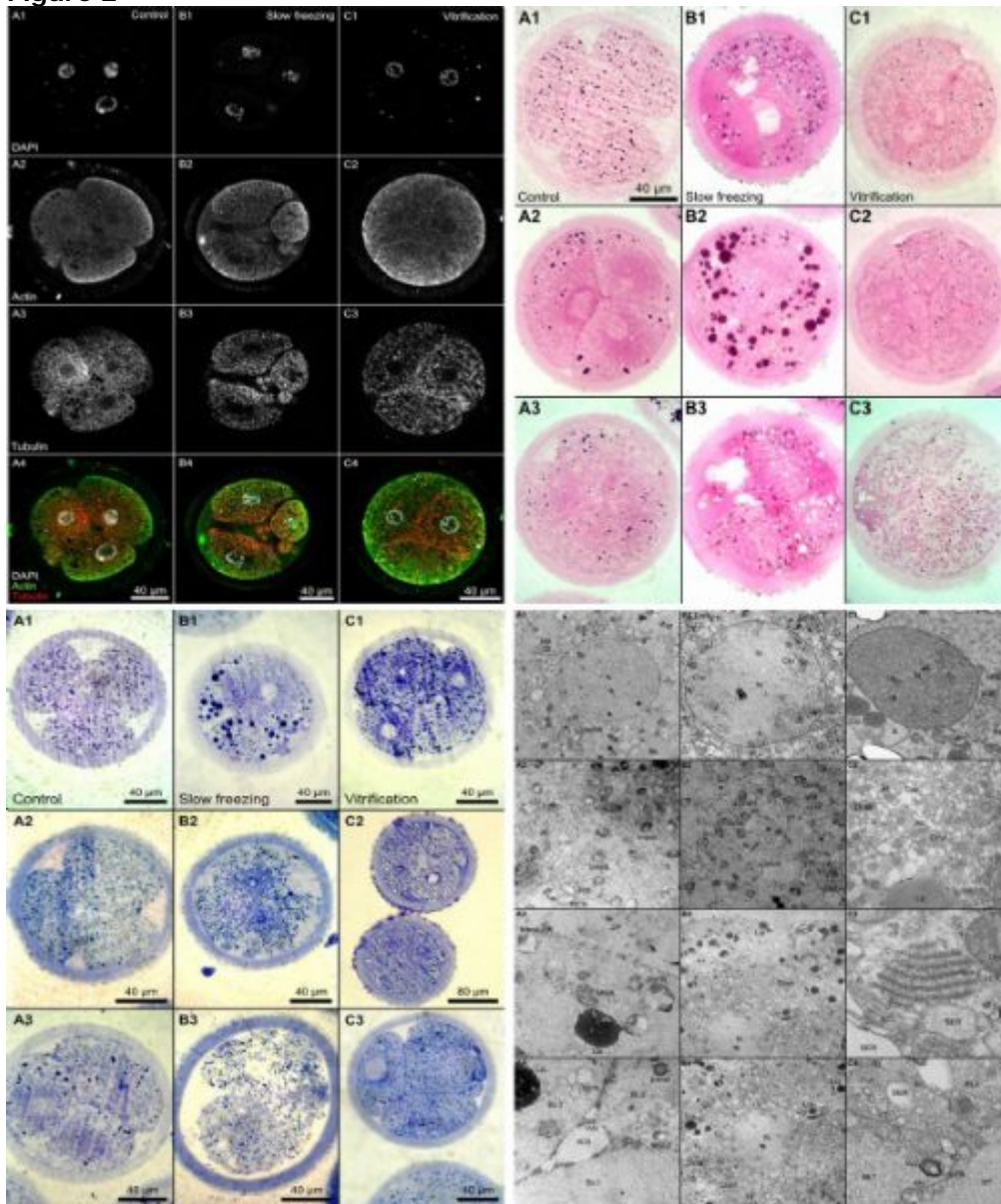
CONCLUSION: It was seen that cryopreservation techniques cause different alterations. Further studies are required to understand and decrease the harmful effects of cryopreservation.

Keywords: Cryopreservation, Controlled Slow Freezing, Vitrification, Bovine Embryo

Figür 1
Figure 1



Figür 2
Figure 2



Kaynakça / References: 1) Hyttel, P., H. Lehn-Jensen, and T. Greve, 1986: Ultrastructure of bovine embryos frozen and thawed by a two-step freezing method. *Acta Anat.* 125, 27–31. 2) Dobrinsky, J., 1996: Cellular approach to cryopreservation of embryos. *Theriogenology* 45, 17–26. 3) Naik, B., B. Rao, R. Vagdevi, M. Gnanprakash, D. Amarnath, and V. H. Rao, 2005: Conventional slow freezing, vitrification and open pulled straw (OPS) vitrification of rabbit embryos. *Anim. Reprod. Sci* 86, 329–338. 4) Tharasanit, T., B. Colenbrander, and T. A. E. Stout, 2005: Effect of cryopreservation on the cellular integrity of equine embryos. *Reproduction* 129, 789–798. 5) Park, S. Y., E. Y. Kim, X. S. Cui, J. C. Tae, W. D. Lee, N. H. Kim, S. P. Park, and J. H. Lim, 2006: Increase in DNA fragmentation and apoptosis-related gene expression in frozenthawed bovine blastocysts. *Zygote* 14, 125–131. 6) Vajta, G., and M. Kuwayama, 2006: Improving cryopreservation systems. *Theriogenology* 65, 236–244. 7) Pereira, R. M., and C. C. Marques, 2008: Animal oocyte and embryo cryopreservation. *Cell Tissue Bank.* 9, 267–277. 8) Sturmey, R., A. Reis, H. Leese, and T. McEvoy, 2009: Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation and early embryo development. *Reprod. Domest. Anim.* 44, 50–58. 9) Saragusty, J., and A. Arav, 2011: Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification. *Reproduction* 141, 1–19. 10) Moradi, S. Z., A. M. Meybodi, H. Gourabi, H. Mozdarani, and Z. Mansouri, 2013: Chromosome abnormalities and viability of vitrified eight-cell mouse embryos at presence of two different cryoprotectants at different storage durations. *Cell J. (Yakhteh)* 14, 254–263.

S11

DeneySEL hasarlı sıçan testislerinde yağ doku kökenli kök hücre etkilerinin oksidatif stres ile ilişkisinin histolojik ve biyokimyasal parametreler ile karşılaştırılması

Dila Hatun Sal¹, Suna Saygılı¹, Fulya Gülbağça¹, Pınar S. Kılıçaslan¹, Işıl Aydemir¹, Mahmut Özkut¹, Ahmet Var², Mehmet İbrahim Tuğlu¹

¹Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, MANİSA

²Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, MANİSA

Testikular torsiyon iskemik hasar nedeniyle meydana gelen ve infertiliteyle sonuçlanan ürolojik bir vakadır. Testiste kök hücrelerin davranışlarının anlaşılması, infertilite ve kanser başta olmak üzere, testiküler fonksiyonun ve fertilitenin aydınlatılması ve gelecekte yeni tedavi metodlarının bulunabilmesi için yararlı olacaktır (Xu Yr ve ark 2016, Janqueira LC ve Carneiro J 2006, Agarwal A ve ark 2012). Bu çalışmada, torsiyon ile hasar verilmiş testiste yağ doku kökenli kök hücre (YDKKH) uygulamasının tedavi edici etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı(Hsiao CH ve ark., 2015). Taklit ile Torsiyon yetişkin erkek sıçan doku örneklerinden alınan doku ve kan örneklerinde oksidatif stres parametreleri bakılarak belirlenecektir. Taklit, Torsiyon+IP kök hücre ve Torsiyon+rete testis kök hücre olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. DeneySEL torsiyon modeli bir testisin 2 saat süreyle saat yönünün tersine 7200 döndürülmesi şeklinde uygulanmıştır. Torsiyon sonrasında, sham grubu kültür besiyeri ile enjekte edilirken torsiyon+IP kök hücre grubuna 1x10⁶ YDKKH/100 µl besiyeri ile intraperitoneal olarak, torsiyon+rete testis kök hücre grubuna 1x10⁶ YDKKH/100 µl besiyeri enjekte edilmiştir Uygulamadan sonra 7. günde testiküler doku da ve intrakardiyak alınan kanda MDA, SOD, katalaz, NO ve 8-hidroksideoksiguanozin oksidatif stres belirteç kitleri ile analiz edilmiştir. Doku örnekleri eNOS, iNOS, caspas 9 ve TUNNEL assay ile immünohistokimyasal olarak boyanmıştır. İstatistiksel testler için ise ANOVA testi kullanılmıştır. MDA ve NO seviyeleri torsiyon grubunda diğer gruplara göre önemli derecede artış göstermişken torsiyon+YDKKH gruplarında biyokimyasal parametrelerinde önemli derecede düşüş gözlemlenmiştir. Ayrıca, torsiyon grubunda eNOS ve iNOS immünoaktiviteleri diğer iki gruptan daha yüksek çıkmıştır. YDKKH uygulamasından sonra eNOS ve iNOS ekspresyonları ve apoptoz belirteçleri azalmıştır. Deney sonucunda elde edilen biyokimyasal analiz bilgileri histolojik sonuçlar ile tutarlılık göstermektedir. Torsiyon ile hasar verilen testise YDKKH uygulaması sonrası oksidatif stres belirteçleri olan eNOS ve iNOS ile apoptotik hücre sayılarını düşürmüştür. Bu sonuçta kök hücrelerin iskemiden kaynaklanan infertilite vakalarında kullanılabileceğini önermektedir.

Anahtar Kelimeler: Testis, Torsiyon, Oksidatif Stres, Apoptoz, Kök Hücre, İnfertilite.

Effects adipocyte derived stem cell in the experimentally damaged rat testis with evaluation of histologic and biochemical parameters together relation of oxidative stress

Dila Hatun Sal¹, Suna Saygılı¹, Fulya Gülbağça¹, Pinar S. Kılıçaslan¹, Işıl Aydemir¹, Mahmut Özkut¹, Ahmet Var², Mehmet İbrahim Tuğlu¹

¹Celal Bayar University, Faculty of Medical, Department of Histology and Embryology, MANİSA

²Celal Bayar University, Faculty of Medical, Department of Biochemistry, MANİSA

Testicular torsion is an urological case that occurred with the ischemic damage and resulted with infertility. With the understanding of the stem cell behavior in testis, prior with the infertility and cancer, it will be helpful for the lightening the way of testicular function and fertility and finding new treatment method (Xu Yr et all 2016, Janqueira LC ve Carneiro J 2006, Agarwal A at all 2012). In this study, it is aimed that the evaluation of the healing effect of Adipocyte Derived Stem Cell (ADSC) at the torsionally damaged testis (Hsiao CH et all, 2015). Torsion will be performed imitatively and from the tissue and blood samples collected from this adult male rat will be analyzed in the way of oxidative stress parameters. Imitation will be separated into four groups: Torsion+IP stem cell and Torsion+rete testis stem cell. Experimental torsion model has been done as followed: twisting the testis 720° to counterclockwise angle. During torsion, sham group is applied with culture medium, however, to the torsion IP stem cell group, 1x10⁶ ADSC cell is applied with 100 µl culture media interperitoneally, torsion+rete testis stem cell group is injected with 1x10⁶ ADSC cell with 100 µl together with the culture media. After the application, at the 7th day, in the testicular tissue and blood that taken intracardially, MDA, SOD, catalase, NO and 8-hydroxydeoxyguanosine levels will be screened with oxidative stress detection kits. Tissue samples are stained immunohistochemically with eNOS, iNOS, caspas 9 ve TUNNEL assay kits. ANOVA test has been used for statistical analyzes. MDA and NO levels rised in torsion group when compared with the other groups, while in the torsion+BMSC group, this biochemical parameters has been lowered. Also, in the torsion group, eNOS and iNOS immunoreactivities are relatively higher when compared with the other groups. After the application of ADSC, eNOS and iNOS expressions and apoptosis markers has been decreased. The biochemical datas that obtained from experiments are consistent with histological results. After the ADSC application to the testis that damaged with the torsion, oxidative stress markers eNOS and iNOS levels are lowered together with the decreased apoptotic cells. This result is suggested that this stem cells can be used against ischemia sourced infertility cases.

Keywords: Testes, Torsion, Oxidative Stress, Apoptosis, Stem Cell, İnfertility.

Kaynakça / References: Agarwal A, Hamada A, Esteves SC. Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 1. Nat Rev Urol. 2012 Dec;9(12):678-90. doi: 10.1038/nrurol.2012.197. Epub 2012 Nov 20. Reviev. Hsiao CH, Ji AT, Chang CC, Cheng CJ, Lee LM, Ho JH. Local injection of mesenchymal stem cells protects testicular torsion-induced germ cell injury. Stem Cell Res Ther. 2015 May 30;6:113. Janqueira LC ve Carneiro J, 2006 Xu YR, Dong HS, Yang WX. Regulators in the apoptotic pathway during spermatogenesis: Killers or guards Gene. 2016 May 15;582(2):97-111

S12

Hücrel dormansinin küçük moleküllerle engellenmesi hematopoetik kök hücrelerinin ex vivo çoğaltılmasını sağlamaktadır

Fatih Kocabaş¹, Raife Dilek Turan¹, Esra Albayrak¹, Dolay Damla Çelik¹, Merve Aksöz¹, Emre Can Tüysüz², Seyhan Genç¹, Diğdem Taşkaya Gül¹, Galip Servet Aslan¹, Pınar Siyah¹, Merve Uslu¹, Remziye Döğür¹

¹Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi

²Medikal Genetik Bölümü, Tıp Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi

The primary therapeutic modality for many hematopoietic disorders is bone marrow transplantation, which relies on the ability of a small number of hematopoietic stem cells (HSCs) to repopulate all blood cell lineages. However, limited availability of appropriately human leukocyte antigen (HLA) - compatible HSCs still poses a problem for allogeneic HSC transplantation. We have recently shown that deletion of HSC quiescence regulators in HSC compartment not only leads to cell cycle entry but also HSC expansion [1,2,3]. Thus, targeting of HSC quiescence regulators using small molecule inhibitors may provide valuable tools for ex vivo expansion of HSCs. To this end, we have determined novel hematopoietic small molecules (HSMs) targeting regulators of HSC quiescence. These HSMs increased murine HSCs content as shown by flow cytometry analysis of HSC markers and CFU assays. In addition, they induce HSC exit from quiescence state as determined by cell cycle analysis. These studies warrant identification of potential therapeutics to be utilized in HSC expansion.

Anahtar Kelimeler: hematopoetik kök hücreler, hematopoetik inhibitörler, HKH, küçük moleküller

Targeting cellular quiescence by small molecules enables ex vivo hematopoietic stem cell expansion

Fatih Kocabaş¹, Raife Dilek Turan¹, Esra Albayrak¹, Dolay Damla Çelik¹, Merve Aksöz¹, Emre Can Tüysüz², Seyhan Genç¹, Diğdem Taşkaya Gül¹, Galip Servet Aslan¹, Pınar Siyah¹, Merve Uslu¹, Remziye Döğür¹

¹Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

²Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

The primary therapeutic modality for many hematopoietic disorders is bone marrow transplantation, which relies on the ability of a small number of hematopoietic stem cells (HSCs) to repopulate all blood cell lineages. However, limited availability of appropriately human leukocyte antigen (HLA) - compatible HSCs still poses a problem for allogeneic HSC transplantation. We have recently shown that deletion of HSC quiescence regulators in HSC compartment not only leads to cell cycle entry but also HSC expansion [1,2,3]. Thus, targeting of HSC quiescence regulators using small molecule inhibitors may provide valuable tools for ex vivo expansion of HSCs. To this end, we have determined novel hematopoietic small molecules (HSMs) targeting regulators of HSC quiescence. These HSMs increased murine HSCs content as shown by flow cytometry analysis of HSC markers and CFU assays. In addition, they induce HSC exit from quiescence state as determined by cell cycle analysis. These studies warrant identification of potential therapeutics to be utilized in HSC expansion.

Keywords: hematopoietic stem cells, stem cell quiescence, hematopoietic inhibitors, HSC, small molecules, hematopoiesis

Kaynakça / References: Reference: 1) Kocabaş, Fatih (co-first author) & Simsek, Tugba, et al. "The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche." Cell stemcell 7.3 (2010): 380-390. 2) Kocabaş, Fatih, et al. "Meis1 regulates the metabolic phenotype and oxidant defense of hematopoietic stem cells." Blood 120.25 (2012): 4963-4972. 3) Kocabaş, Fatih, et al. "Hypoxic metabolism in human hematopoietic stem cells." Cell & bioscience 5.1 (2015): 1 Acknowledgments: This study is funded by Co-Funded Brain Circulation Scheme by The Marie Curie Action COFUND of the 7th Framework Programme (FP7) of the European Commission and The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) [grant number 115C039]. RDT, GSA, and MA are funded by TÜBİTAK ARDEB 1001 program [grant number 115S185]. EA is supported by TÜBİTAK-BİDEB 2211 program.

S13

Fare vitiligo modelinde in vitro çoğaltılan dermis kökenli hücrelerin tedaviye yönelik kullanımının ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde araştırılması

Aslı Erdoğan, Seyhun Solakoğlu

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

Vitiligo deride ve kıl foliküllerinde renk kaybına yol açan ve dünya popülasyonunun %0,5-1'ini etkileyen bir hastalıktır. Multifaktöriyel, poligenik bir hastalıktır ve genetik, otoimmün ve toksik bileşenleri ile karışık bir patogeneze göstermektedir. Deride melanosit dejenerasyonu sonucu oluşan renk kaybı, başlangıçta küçük bir alanda ortaya çıkan ve giderek genişleyen düzensiz beyaz lekeler şeklinde gözlenir. Çalışmamızda MBEH ile indüklenmiş fare vitiligo modelinde dermisten elde edilen hücrelerin tedaviye yönelik kullanım potansiyelini histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle ve elektron mikroskobu ile ince yapı düzeyinde araştırmayı amaçladık.

Vitiligo ve deney grubundaki C57BL/6 farelerin sırt bölgelerine vitiligo oluşturmak amacıyla %40 konsantrasyonda MBEH içeren kremi kıllarda beklenen ağarma gözlenene dek her gün uyguladık. Deney grubundaki farelerin sırt derilerinden primer kültür ile elde ettiğimiz karma hücre popülasyonunu floresan ve lipofilik bir işaretleyici olan Cell Tracker CM-Dil ile işaretleyerek, vitiligo oluşturduktan sonra otolog ve intradermal olarak enjekte ettik. Deney grubundaki farelerden hücre transplantasyonu sonrasındaki 3. ve 15. günlerde deri örnekleri alarak, kontrol ve vitiligo gruplarından aldığımız örneklerle karşılaştırarak inceledik.

Deney grubundaki farelerden primer kültür ile elde ettiğimiz hücrelerde immünohistokimyasal boyama ile nestin ve versikan immünoaktivitesi gözlemledik. Floresan mikroskobuyla deney grubuna ait dokularda kıl foliküllerinin çevresinde ve dermiste işaretlenmiş hücreler saptadık. Hematoksilen-Eozin ve Fontana-Masson ile yaptığımız histokimyasal boyamalarda vitiligo grubundaki kıl foliküllerinde melanin bulunmadığını, kontrol grubundaki foliküllerde ise melanin bulunduğunu gözlemledik. Deney gruplarında ise vitiligo grubuna göre melanin içeren kıl folikülü sayısında artış gözlemledik, deney grubunun transplantasyon sonrası 15. gün örnekleri için bu artış istatistiksel olarak anlamlıydı. MART-1 immünohistokimyasal boyamasıyla kontrol grubunda daha çok kıl foliküllerinin çevresinde, vitiligo grubunda ise dermis bölgesinde immünoaktivite gözlemledik. Elektron mikroskobu ile kontrol grubunun kıl foliküllerinde melanozomların varlığını, vitiligo grubunun kıl foliküllerinde melanozomların bulunmadığını, deney gruplarında ise melanozom barındıran ve barındırmayan kıl foliküllerinin olduğunu gözlemledik.

Çalışmamızda MBEH uygulanıp hücre transplantasyonu yapılan deney gruplarında kıl folikülleri içerisinde melanin varlığının gösterilmesi, uygulamamızın vitiligo tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Elde ettiğimiz bulguların, kök hücre plastisitesi ve hücre farklılaştırma araştırmaları bağlamında kliniğe destek olacak yeni çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: vitiligo, MBEH, melanin, kıl folikülü, dermis kökenli hücre

Investigation of in vitro cultured dermis derived cells for treatmental purpose in a mouse vitiligo model using light and electron microscopy

Aslı Erdoğan, Seyhun Solakoğlu

Department of Histology and Embryology, İstanbul Faculty of Medicine, İstanbul University, İstanbul

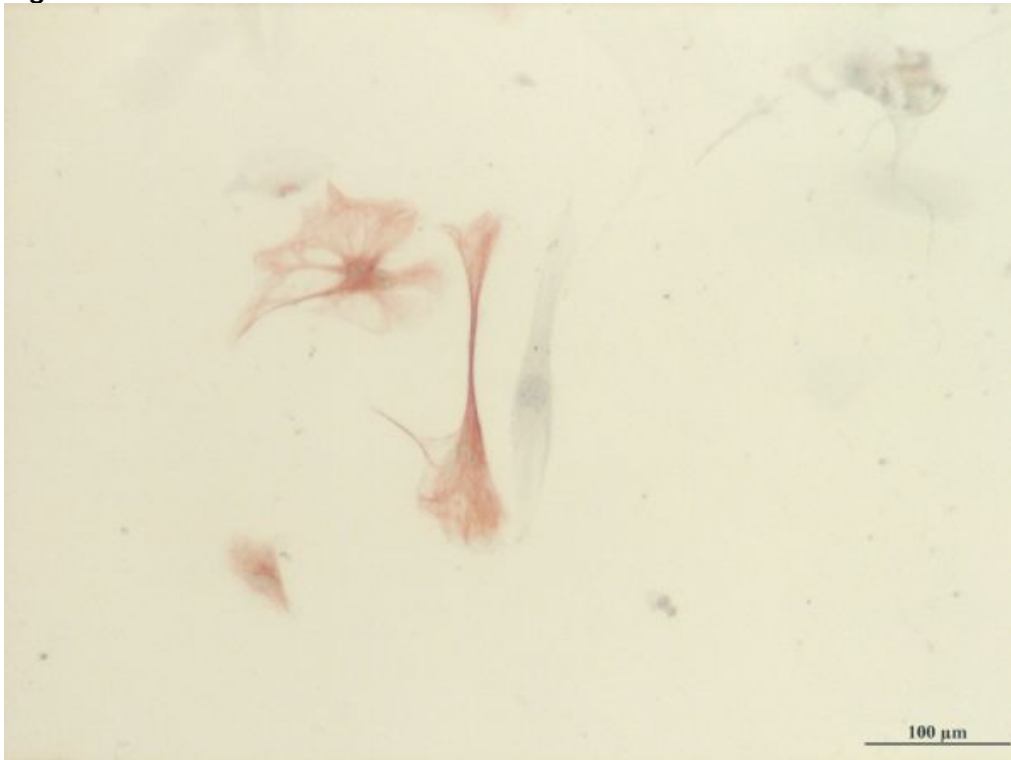
Vitiligo is a depigmentation disease which effects skin and hair follicles with a prevalence of 0.5-1% worldwide. It is a multifactorial, polygenic disease which shows complex pathogenesis with its genetic, autoimmune and toxic components. Skin depigmentation, which occurs as a consequence of melanocyte degeneration, is observed as gradually enlarging white patches. In our study, we aimed to investigate treatmental potential of dermis derived cells in MBEH induced mouse vitiligo model with histochemical, immunohistochemical and electron microscopy methods.

40% MBEH cream is topically applied to C57BL/6 mice until depigmentation occurs in vitiligo and experimental groups. In experimental groups, cell population which we proliferated from back skin is injected intradermally to vitiligo mice after labeling with a fluorescent and lipophylic dye Cell Tracker CM-Dil. At day 3 and 15 after cell transplantation to experimental groups, skin biopsies are compared with biopsies of control and vitiligo groups.

Cell population which we proliferated with primary culture from skins of experimental groups showed nestin and versican immunoreactivity. In tissues of experimental groups, fluorescent cells are observed around hair follicles and within dermis. Histochemical staining showed melanin in hair follicles of control group whereas hardly any melanin is observed in hair follicles of vitiligo group. In experimental groups, there was an increase in the number of hair follicles with melanin compared to vitiligo group. We observed MART-1 immunoreactive cells mostly around hair follicles in control group and within dermis in vitiligo group. Electron microscopic investigation showed existence of melanosomes in hair follicles of control group and absence of them in vitiligo group. In experimental groups, both type of hair follicles are observed with electron microscope. Our data suggest that cell population which we derived from dermis may be effective in vitiligo treatment providing contribution to melanin production. In the context of stem cell plasticity and cell differentiation studies, we suggest that our data can shed light on new studies which support clinical research.

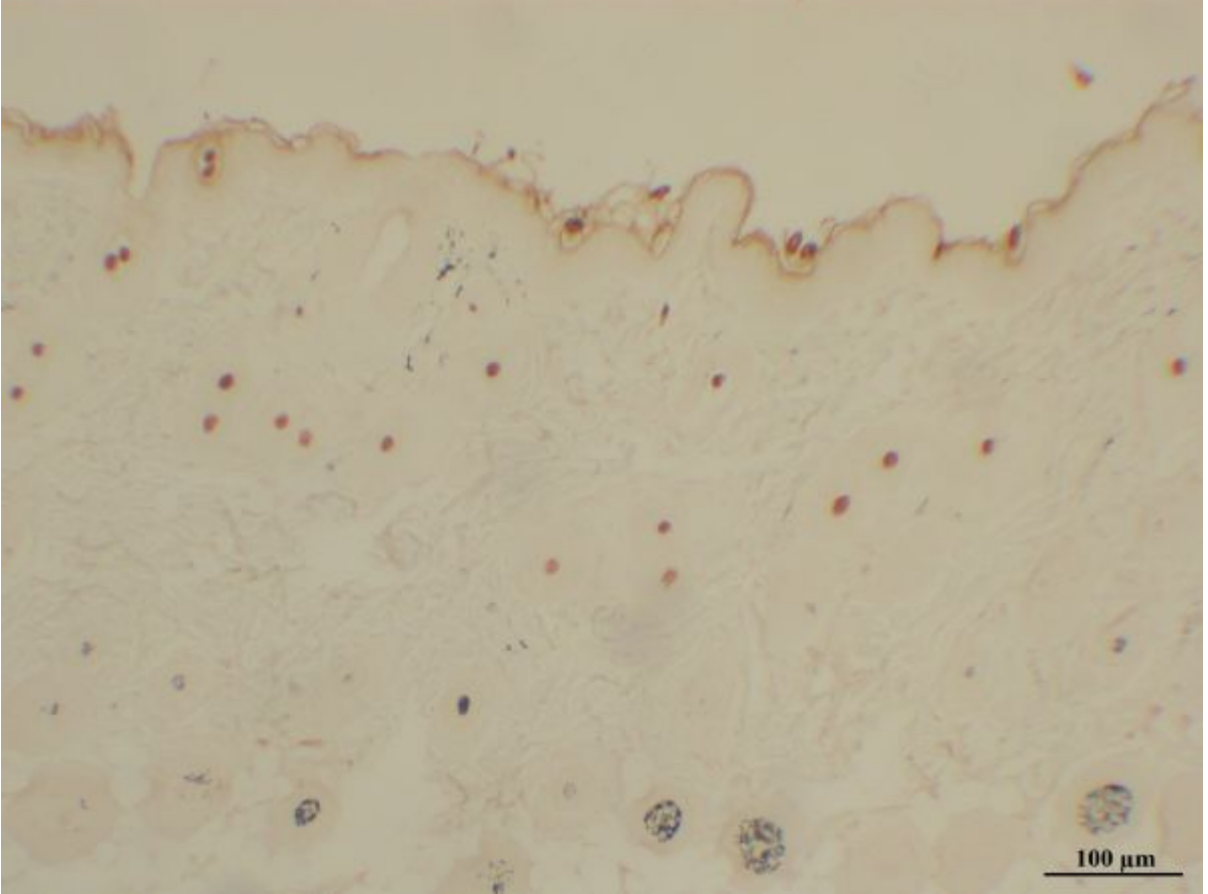
Keywords: vitiligo, MBEH, melanin, hair follicle, dermis derived cells

Resim 1
Figure 1



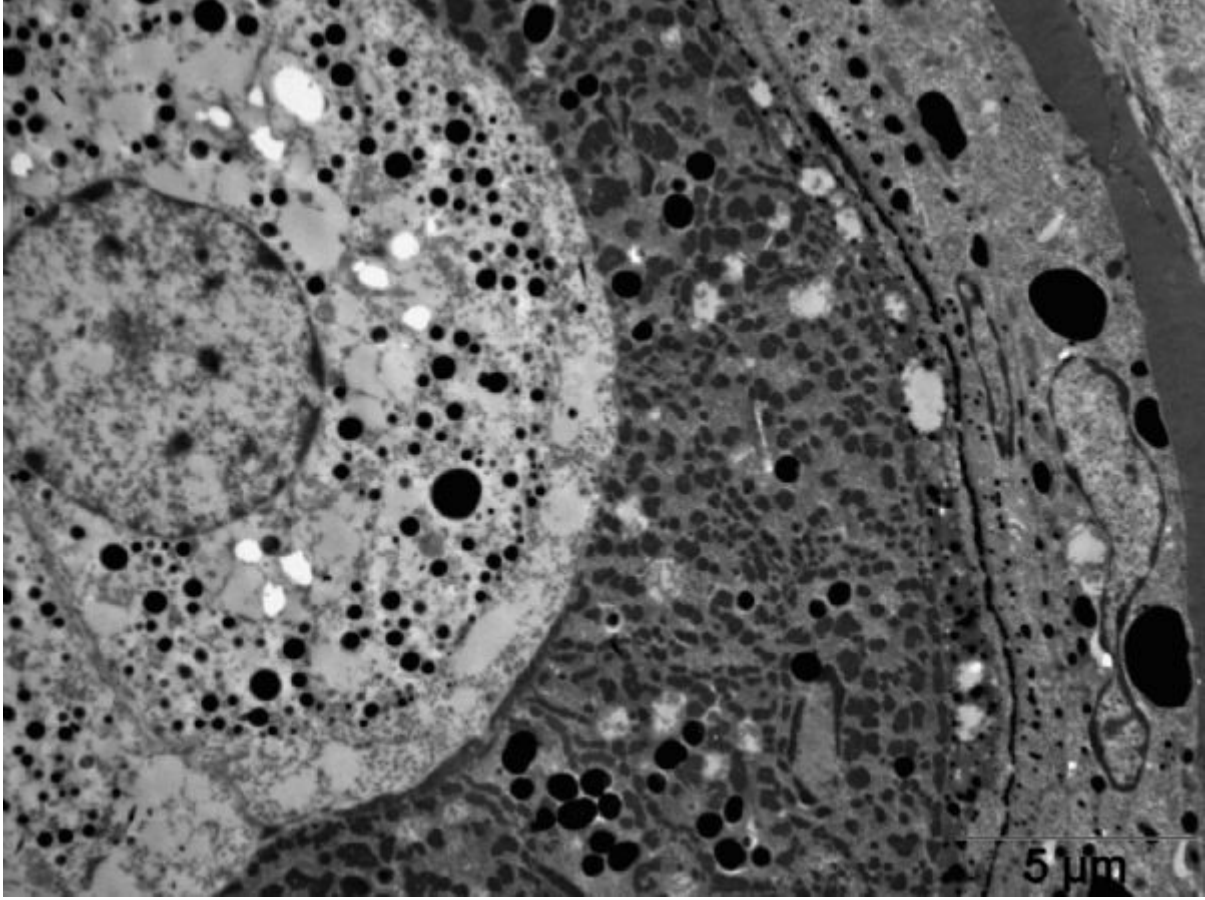
Deney grubundaki farelerin deri örneklerinden primer kültür ile çoğaltılan hücrelerde nestin immünoreaktivitesi
Nestin immunoreactivity of cells which are proliferated with primary culture from skins of experimental groups

Resim 2
Figure 2



Fontana-Masson boyaması sonucunda vitiligo grubuna ait deri kesitinde gözlenen melanin içermeyen kıl folikülleri
Hair follicles without melanin are observed in skin sections of vitiligo group with Fontana-Masson stain

Resim 3
Figure 3



Deney grubuna ait bir deri kesitinde kıl folikülündeki melanozomların elektron mikroskobu fotoğrafı
Electron microscopy image of melanosomes in hair follicle in a skin section of experimental group

Kaynakça / References: Hariharan, V., Toole, T., Klarquist, J., Longley, J.B., Mosenson, J. ve Poole, I.C. (2011). Topical application of bleaching phenols; in-vivo studies and mechanism of action relevant to melanoma treatment. *Melanoma Research*, 21(2), 115-126. van den Boorn, J.G., Picavet, D.I., van Swieten, P.F., van Veen, H.A., Konijnenberg, D., van Veelen, P.A. ve ark. (2011). Skin-Depigmenting Agent Monobenzene Induces Potent T-Cell Autoimmunity toward Pigmented Cells by Tyrosinase Haptenation and Melanosome Autophagy. *Journal of Investigative Dermatology*, 131, 1240-1251. Bellei, B., Pitisci, A., Ottaviani, M., Ludovici, M., Cota, C., Luzi, F. ve ark. (2013). Vitiligo: a possible model of degenerative diseases. *PLoS One*, 8(3), e59782. Laddha, N.C., Dwivedi, M., Mansuri, M.S., Gani, A.R., Ansarullah, M., Ramachandran, A.V. ve ark. (2013). Vitiligo: interplay between oxidative stress and immune system. *Experimental Dermatology*, 22, 245-250. Zhu, Y., Wang, S. ve Xu, A. (2013). A mouse model of vitiligo induced by monobenzene. *Experimental Dermatology*, 22, 499-501.

S14

Mezenkimal Kök Hücreler Hematopoetik Kök Hücrelerin Mobilizasyonunu Endokannabinoidler Aracılığı İle Düzenlemektedir

Sevil Köse¹, Çağla Köprü², Beren Karaosmanoğlu¹, Ekim Zihni Taşkıran³, Fatima Aerts Kaya¹, Emirhan Nemutlu⁴, Duygu Uçkan Çetinkaya¹, Petek Korkusuz⁵

¹Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye

²Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye

³Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye

⁴Analitik Kimya Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Ankara, Türkiye

⁵Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye

Endojen esrar ligandları olan yağ yapılı endokannabinoidlerin vücutta sinir sistemine ek olarak pek çok doku ve organda fizyolojik ve patolojik düzeyde reseptör aracılı yaygın etkileri olduğu bilinmektedir (1). Bu etkilerin bir kısmı moleküler düzeyde hücrelerin çoğalma, farklılaşma, apoptoz ve migrasyon mekanizmaları üzerinden gerçekleşmektedir (2). Kemik iliği mikroçevresinde endokannabinoid ligandlarının (AEA, 2-AG) mezenkimal kök hücrelerden (MKH) salındığı, reseptörlerinin (CB1, CB2) ise hematopoetik kök hücrelerde (HKH) bulunduğu tarafımızca rapor edilmiştir (Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi 013D04101005). Endokannabinoid sisteminin sitokin aracılı hematopoetik kök hücre migrasyonunda rol aldığı bilinmekte, ancak bu medyatörlerin granulocyte colony stimulating factor (GCSF) uygulanmış ve uygulanmamış insan kemik iliği örneklerindeki HKH mobilizasyonuna karşılaştırmalı etkisi ve bu etkinin sempatik sinir uyarımı ile ilişkisi bilinmemektedir. Klinikte mobilizasyon protokollerinde kullanılan GCSF ile cannabinoid ve sempatik sinir iletilisi eşgüdümlü çalışıyor olabilir. Bu varsayımı test etmek amacıyla HKH'lerin (i) kemik iliğinde bulunan kemoatraktanlardan biri olan SDF-1'e (CXCL12), (ii) SDF-1 reseptör antagonisti AMD3100, (iii) beta adrenerjik reseptör agonisti olan epinefrin ve (iv) bu reseptörlerin antagonisti olan SR59230A'ya (v) endokannabinoidlerin kendisine (AEA, 2-AG) ve (vi) endokannabinoid reseptör antagonistlerine (CB1 için AM281, CB2 için AM630) mobilizasyonu in vitro ortamda araştırılmıştır. Ek olarak HKH'lerin MKH'lere mobilizasyonu adı geçen antagonistler varlığında çalışılmıştır. Hematopoetik hücre kaynağı olarak sağlıklı donörlerden aferez yöntemi ile toplanan HKHler kullanılmıştır. Hücrelerin CD34, CD38 ve CD34/CD38 ikili işaretlenme yüzdeleri; beta1, beta2, beta3 ve CB1 ve CB2 reseptörleri ile işaretlenme yüzdeleri akım sitometrisi yöntemi ile belirlenmiştir. HKH'ler CD34 ile %87,9±4,5, CD38 ile %35,5±12,4, CD34/CD38 ile ikili olarak %33,0±12,7 oranında işaretlenmiştir. Elde edilen sayım sonuçlarına göre hematopoetik hücrelerin SDF-1'e mobilizasyonları SDF-1 inhibitörü AMD3100 ile inhibe olurken; epinefrine doğru mobilizasyonları beta adrenerjik reseptör inhibitörü SR59230A ile inhibe olmaktadır. Endokannabinoid ligandları AEA ve 2-AG ile mobilizasyonun SDF-1'e oranla arttığı ve endokannabinoid reseptör antagonistleri ile bu artışın durduğu belirlenmiştir. HKH'lerin MKH'lere mobilize olduğu ve etkinin SDF-1 reseptör antagonisti AMD3100, beta adrenerjik reseptörlerin antagonisti SR59230A ve endokannabinoid reseptör antagonistleri ile (CB1 için AM281, CB2 için AM630) baskılandığı belirlenmiştir. Elde edilen veriler endokannabinoidlerin, klinikte HKH GCSF'li mobilizasyon protokollerinde kullanılmaya aday olabileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (SBAG 113S819).

KAYNAKLAR

1. Zimmer A. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2016 Feb 17.
2. Smith M, Wilson R, O'Brien S, Tufarelli C, Anderson SI, O'Sullivan SE. PLoS One. 2015 Sep 28; 10(9):e0136546

Anahtar Kelimeler: endokannabinoid, hematopoetik kök hücre, mezenkimal kök hücre, beta adrenerjik uyarı, kokültür

Mesenchymal Stem Cells Regulate The Hematopoietic Stem Cell Mobilization Through The Endocannabinoids

Sevil Köse¹, Çağla Köprü², Beren Karaosmanoğlu¹, Ekim Zihni Taşkiran³, Fatima Aerts Kaya¹, Emirhan Nemutlu⁴, Duygu Uçkan Çetinkaya¹, Petek Korkusuz⁵

¹Stem Cell Research and Application Center, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey

²Department of Nanotechnology and Nanomedicine, Institute of Science, Hacettepe University, Ankara, Turkey

³Department of medical biology, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey

⁴Analytical Chemistry, Hacettepe University Faculty of Pharmacy, Ankara, Turkey

⁵Department of Histology and Embryology, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey

Lipid-structured endocannabinoids are endogenous morphine ligands and present widespread receptor-mediated effects at physiological and pathological levels on the nervous system as well as many other systems (1). These effects are partially realized through mechanisms affecting cell growth, differentiation, apoptosis and migration at the molecular level (2) We have been reported in Hacettepe Research Fund supported project report (013D04101005), endocannabinoid ligands (AEA, 2-AG) are released from mesenchymal stem cells (MSCs) and their receptors (CB1, CB2) are located on hematopoietic stem cells (HSCs) in bone marrow microenvironment (niche). The endocannabinoid system also takes part in mobilization of the HSCs through cytokines. Although it is known that the endocannabinoid system plays a role in cytokine-mediated hematopoietic stem cell migration, the effects of these mediators on Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) stimulated and unstimulated human bone marrow derived HSC mobilization have never been compared and their relationship with the sympathetic nervous system is currently unknown. During clinical G-CSF mobilization, endocannabinoids and the sympathetic nervous system may be working together. In order to test this hypothesis, the migration of HSCs towards (i) SDF-1 (CXCL12), chemoattractant in bone marrow, (ii) AMD3100, SDF-1 antagonist, (iii) epinephrine, an adrenergic receptor agonist (iv) SR59230A, an adrenergic receptor antagonist, (v) AEA and 2-AG, endocannabinoid ligands, (vi) AM281 (CB1 receptor antagonist), AM630 (CB2 receptor antagonist) were investigated. In addition, migration of HSCs towards MSCs was studied in the presence of various antagonists. As a source of HSCs, apheresis product collected from healthy donors were used. CD34, CD38 and CD34 / CD38 dual labeling percentage of HSCs; beta1, beta2, beta3 and CB1, CB2 receptors percentages were determined by flow cytometry method. Cells expressed 87.9 ± 4.5% CD34, 35.5 ± 12.4% CD38 and 33.0 ± 12.7% of cells were double positive for CD34 and CD38. Hematopoietic cell mobilization towards SDF-1 and epinephrine was inhibited by AMD3100 and SR59230, respectively. Mobilization in presence of the endocannabinoid ligands AEA and 2-AG was increased compared to SDF-1 alone and inhibited when using the endocannabinoid receptor antagonists AM281 and AM630. HSCs migration towards MSCs is inhibited by AMD3100, SR59230, AM281 and AM630. Thus, endocannabinoids may be a candidate for clinical use of to enhance or facilitate/accelerate G-CSF mediated HSC mobilization.

(*) This work was supported by TÜBİTAK (SBAG 113S819).

1. Zimmer A. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2016 Feb 17.

2. Smith M, Wilson R, O'Brien S, Tufarelli C, Anderson SI, O'Sullivan SE. PLoS One. 2015 Sep 28; 10(9):e0136546

Keywords: endocannabinoid, hematopoietic stem cells, mesenchymal stem cells, beta adrenergic receptors, co-culture

S15

Kordon kanı kök hücrelerinin diyabetik ayak yaralarında iyileşmeyi sağlayan faktörler üzerine etkisinin immünohistokimyasal yöntemle gösterilmesi

Nazlı Cil¹, Emin Oğuzhan Oğuz¹, Ergun Mete², Ayşe Çetinkaya¹, Gülçin Abban Mete¹

¹Pamukkale Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Denizli

²Pamukkale Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli

⁶Diyabetik ayak tedavisinde kemik iliğinden, periferik kandan ve kordon kanından elde edilen kök/progenitor hücrelerin kullanılması gün geçtikçe daha yaygın hale gelmektedir. Kök/Progenitor hücreler anjiogenik faktörleri salgılatarak neovaskularizasyona yardım ederler. Aynı zamanda bu hücreler iskemik durumlarda, diyabetik ayak ülserasyonunu da içeren bazı patolojik durumlarda hücre çoğalması ve hücre göçünü uyararak epitelizasyonu sağlarlar. Biz çalışmamızda kordon kanından elde ettiğimiz CD 34(+) kök hücrelerini diyabetik yara oluşturduğumuz sıçanlara vererek yara iyileşmesindeki rollerini incelemeyi amaçladık.

Birinci grup kontrol (K), ikinci grup diyabet (D), üçüncü grup ise diyabet oluşturulduktan sonra kordon kanı kök/progenitor hücre verilen grup (KH) olarak 3 eşit gruba ayrıldı. Tüm sıçanların başlangıç ağırlıkları ve kan glikoz düzeyleri ölçüldü. D grubu ve KH grubuna streptozosin 50-60 mg/kg tek doz intraperitoneal olarak uygulandı. Streptozosin uygulamasından sonraki 3. gün sıçanlarda kan glikoz düzeyleri'ni 250 mg/dl nin üzerinde olan sıçanlar diyabet olarak kabul edildi. Tüm sıçanların sağ ön ayaklarına 5 mm çapında yara yeri oluşturuldu. KH grubuna 0,5x10⁶ kordon kanı kökenli CD 34 (+) hematopoetik kök hücre yara yerine uygulandı. Sıçanların 10. günde ağırlıkları ve kan glikoz düzeyleri tekrar ölçüldü. Sıçanlar sakrifiye edildiler. Kesitlere TUNEL yöntemi, TGF- β , PDGF, VEGF, FGF, IL-1, TNF- α ve kaspaz 3 aktivasyonlarını belirlemek için immünohistokimyasal yöntem uygulandı.

Kordon kanı CD34(+) kök hücreleri yaralarda belirgin iyileşme sağlamıştır. Işık mikroskopik bulgularımız KH uygulanan deneklerde ayak yaralarında yeni oluşan derinin diyabet grubuyla karşılaştırıldığında çok daha normal yapıda olduğu saptanmıştır.

VEGF, PDGF, IL-1, FGF, TGF β , TUNEL, kaspaz 3 ve TNF- α ekspresyonları açısından diyabet ve kök hücre uygulanan gruplar arasında farklılık vardı. VEGF, PDGF ve TGF β 'nin kök hücre uygulanma gruplarda fazla olması yara iyileşmesinde bu faktörlerin etkili olduğunu göstermektedir.

Apoptozisin önlenmesinde FGF uyarımının etkin olduğu düşünülmektedir. FGF'nin TNF- α yı inhibe ederek apoptozisi engellemesi yara iyileşmesinde önemli bir süreçtir. Kök hücre uygulamalarının FGF ekspresyonun artırmasının diyabetik yara iyileşmesinde yeni tedavi yaklaşımlarında anahtar molekül olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: CD 34, diyabetik ayak, yara iyileşmesi, apoptozis

The Indication of the Influence of Cordon Blood Stem Cells on the Factors that Provide Healing on Diabetic Foot Scars Using Immunohistochemical Method

Nazlı CİL¹, Emin Oğuzhan Oğuz¹, Ergun Mete², Ayşe Çetinkaya¹, Gülçin Abban Mete¹

¹Department of Histology and Embryology, Pamukkale University, Denizli, Turkey

²Department of Medical Microbiology, Pamukkale University, Denizli, Turkey

It gets commoner each day to use stem/progenitor cells procured from bone marrow, peripheral blood and cordon blood in diabetic foot treatment. The stem/progenitor cells help neovascularization by having angiogenic factors excreted. At the same time, these cells provide epithelisation by stimulating cell multiplication and cell migration in certain pathological situations that also includes diabetic foot ulceration in ischemic conditions. Stem/progenitor cells help the restoration of the scarred area. In this study, we aimed to examine the role of the CD 34(+) stem cells acquired from cordon blood in healing the scars by applying it on rats.

The first group was the control (C), the second group was the diabetics (D) and the third group was the group which was given cordon blood stem/progenitor after the creation of diabetic (DSC). The weights and glucose levels of all the rats were measured at the beginning. D and DSC was given of 50-60 mg/kg streptozosin intraperitoneally. On the third day after the streptozosin application, the rats with over 250 mg/dl glucose level were regarded as diabetics. Scarred areas were generated on the feet of all the rats. Cordon blood CD 34(+) hematopoietic stem cell rooted in $0,5 \times 10^6$ was applied on the scarred area in group DSC. On the tenth day the weights and blood glucose levels of the rats were measured. The rats were sacrificed. The tissues were applied with TUNEL and TGF- β , PDGF, VEGF, FGF, IL-1, TNF- α methods; and were also applied immunohistochemical method in order to determine their caspase 3 activations.

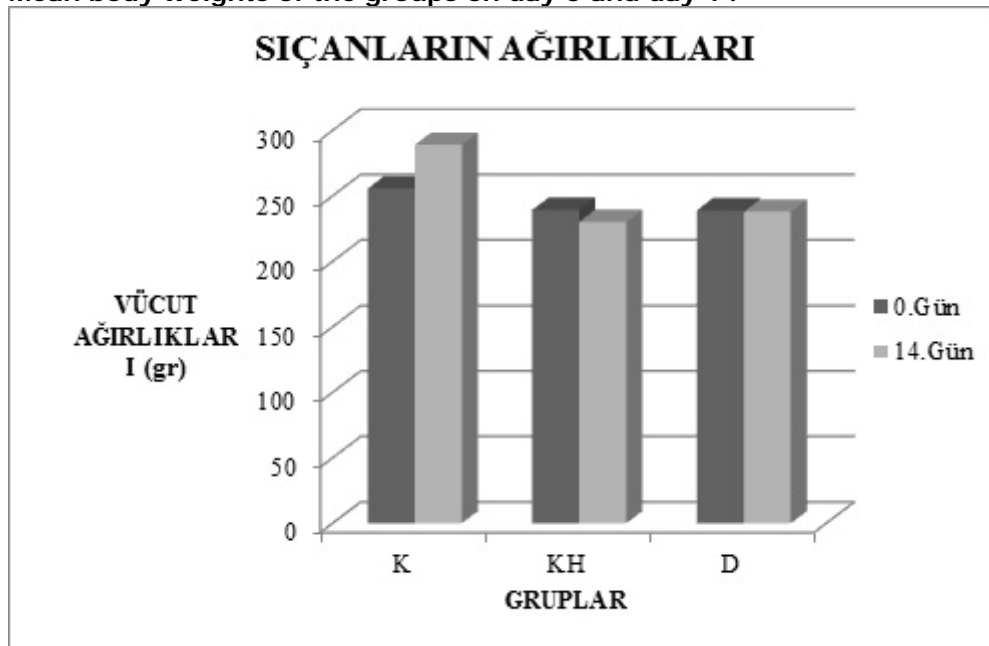
The use of cordon blood CD 34(+) stem cells provided a significant healing. Our light microscopic findings showed that the newly formed skin in the foot scars in DSC applied subjects were found to be a lot more normal compared to diabetic group.

There were differences between diabetic and stem cell applied groups in terms of their VEGF, PDGF, IL-1, FGF, TGF β , TUNEL, caspase3 and TNF- α expressions. The higher amount of VEGF, PDGF and TGF β in stem cell applied groups indicates that these factors are influential in scar healing.

It is thought that the FGF stimulation has an active role in apoptosis prevention. FGF's prevention of apoptosis by inhibiting TNF- α is an important process in the healing process of the scars. We assume that the increase of FGF expressions by the application of stem cells will be key molecule in new treatment approaches to diabetic scar healings.

Keywords: CD 34, diabetic foot, wound healing, apoptosis

Grupların 0. gün ve 14. gün vücut ağırlık ortalamalarının grafiği
Mean body weights of the groups on day 0 and day 14



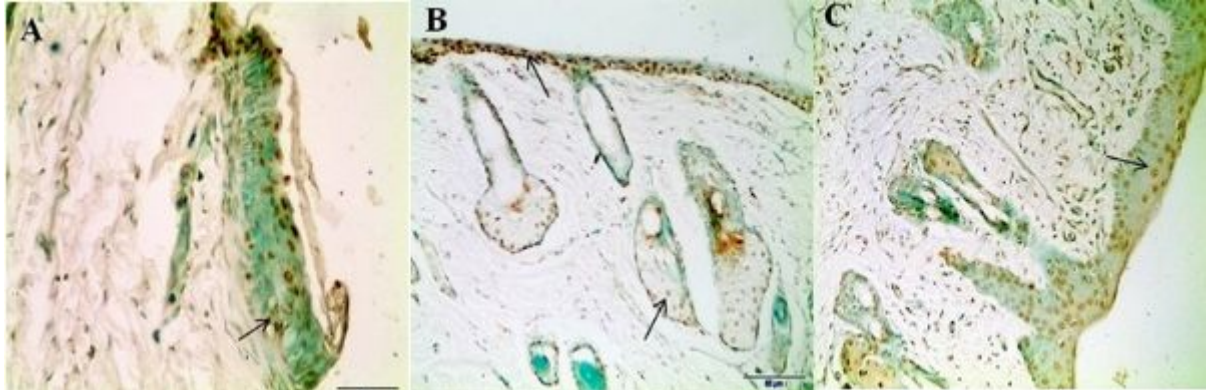
K: Kontrol, KH: Kök hücre grubu, D: Diyabet
C: Control, DSC: Diabetic stem cell, D: Diabetes

Grupların 0. gün ve 3. gün ve 10. gün kan glikoz düzeyi ortalamalarının grafiği
Mean blood glucose levels of the groups on day 0, day 3 and day 10



K: Kontrol, KH: Kök hücre grubu, D: Diyabet
C: Control, DSC: Diabetic stem cell, D: Diabetes

TUNEL Yöntemi
TUNEL Method



A: Kontrol, B: Diyabet, C: Kök hücre gruplarında TUNEL pozitif hücreler,(→): apoptotik hücre.
TUNEL positive cells on groups. A: Control, B: Diabetes, C: Diabetic stem cell.(→): apoptotic cells

Kaynakça / References: 1. Jiang XY, De-Bin Lu, Chen B. Progress in stem cell therapy for the diabetic foot. Diabetes research and clinical practice, 2012; 97: 43–50. 2. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. Circ Res 1999;85(3):221–8. 3. Mohamed A. Elsharawya, Magda Naimb and Sahar Greish. Human CD34+ stem cells promote healing of diabetic foot ulcers in rats, Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery 0 (2011) 1–6 4. Gürpınar T, Ekerbiçer N, Uysal N, Barut T, Tarakçı F, Tuğlu M. İ. The Histologic Evaluation of Atorvastatin and Melatonin Treatment on Oxidative Stress and Apoptosis of Diabetic Rat Pancreas. Kafkas Univ Vet Fak Dergisi 2010; 16 (4): 547-552. 5. Xie L,

Zhang M, Dong B, Guan M, Lu M, Huang Z, et al. Improved refractory wound healing with administration of acidic fibroblast growth factor in diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011; 93(3): 396-403. 6. Kim HR, Heo YM, Jeong KI, Kim YM, Jang HL, Lee KY, et al. FGF-2 inhibits TNF- α mediated apoptosis through upregulation of Bcl2-A1 and Bcl-xL in ATDC5 cells. *BMB Rep.* 2012 May; 45(5): 287-92.

S16

Diş oluşturmak için yeni bir umut: öncül hücrelerle harmanlanmış hidroksi apatit grefti

Pakize Neslihan Taşlı¹, Alev Cumbul², Gül Merve Yalçın Ülker³, Ünal Uslu², Fikretin Şahin¹

¹Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bölümü, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Dişçilik Fakültesi, Ağız ve Çene Cerrahisi Bölümü, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Son zamanlarda diş doku mühendisliğinde kullanılan stratejiler, travmaya bağlı olarak zarar gören dokunun onarılması, desteklenmesi ve steril edilmesine dayanıyor. Hidroksi Apatit (HA) çoğunlukla kemik ve diş doku mühendisliğinde en önemli biyoaktif materyal olarak kabul edilir. Özellikle HA dişin yapısında bolca bulunan ve dişin yapısal, biyolojik ve mekanik içeriğini destekleyen bir moleküldür. Bu çalışmada HA içeren porlu diş greftinin yapımı, karakterizasyonu ve yapısal ve kimyasal özelliklerinin ölçümü gösterilmiştir. Bu çalışmada diş oluşturulan en önemli yapılardan olan dentin, pulpa, ligament ve enameli oluşturmak amacıyla gelişen bir diş taklit ederek içerisinde insan Adipoz Kök Hücre (iAKH), insan Kemik İliği Kök Hücre (iKİKH) ve diş eti epitel hücresi bulunan Hidroksi Apatit (HA) kaynaklı diş şeklinde bir greft inşa edilmiştir. Greftin por yapısı, büyüklüğü ve yoğunluğu Taramalı Elektron Mikroskopu (TEM), Kızılötesi Absorbsiyon Spektroskopisi (FTIR) ve pore büyüklük ve yoğunluk ölçümü ile karakterize edilmiştir. Hücrelerin birbirleriyle olan etkileşimlerini belirleyebilmek için mRNA seviyelerinin belirlenmesi, salgılanan proteinlerin ELISA yöntemiyle ölçülmesi ve histopatolojik olarak değerlendirilmesiyle belirlenmiştir. 150-300 mikron büyüklükte iç içe geçmiş por yapısı ve makro porlara sahip olan greft doğru hücre ve materyallerin bir araya gelmesiyle oluşmuştur. 8 hafta sonunda oluşan doku benzeri yapı HA greftle birleşip sementum, pulpa ve dentin benzeri yapılar gözlemlenmiştir. Deney sonucunda elde edilen bulgular diş doku mühendisliğinde oluşturulması güç olan enamel-dentin-pulpa kompleksinin oluşumunun başladığını gösterip, biyouyumlu materyallerin ve uygun hücrelerin bir araya getirilmesiyle ve dişin oluşum evresindeki bir aşamayı taklit etmesiyle oluşturulan 3 boyutlu greft dizaynı sayesinde olmuştur. Canlı dokuyu taklit ederek oluşturulan bu doku dental doku mühendisliği çalışmaları için yol gösterici niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Kök Hücre, Doku Mühendisliği, Hidroksi Apatit, Diş 3 Boyutlu Greft

A new hope for a tooth generation: hydroxy apatite scaffold combined with progenitor cells

Pakize Neslihan Taşlı¹, Alev Cumbul², Gül Merve Yalçın Ülker³, Ünal Uslu², Fikretin Şahin¹

¹Department of Genetics and Bioengineering, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

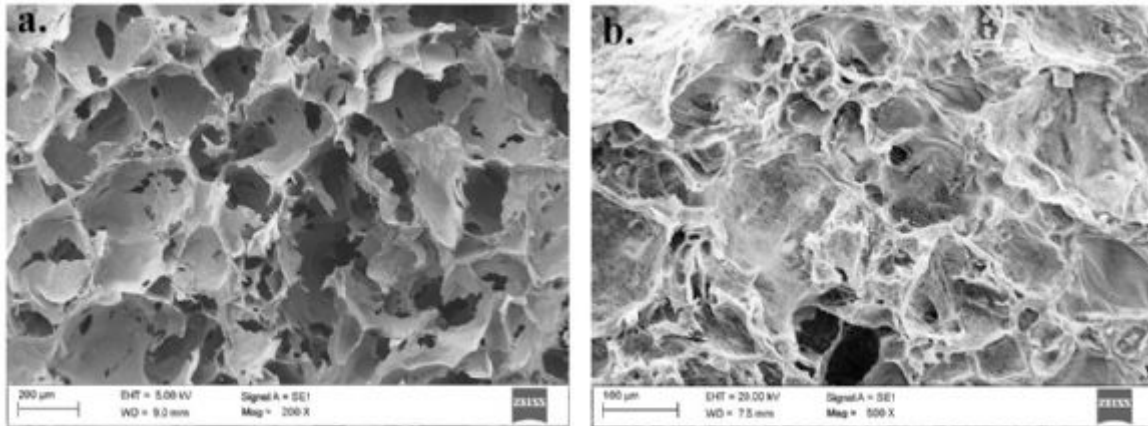
²Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

³Faculty of Dentistry, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

Currently, oral regenerative medicine strategies are unpredictable for repair of tooth supporting tissues destroyed as a consequence of trauma, chronic infection or surgical resection. Hydroxy Apatite (HA) is widely accepted as a bioactive material for guided bone and tooth regeneration. HA is the main factor that exist in tooth and it's in harmony with structural, biological, and mechanical characteristics. In this study, it was reported that, HA porous scaffold preparation, characterization and evaluation of structural and chemical properties. Here, this study shows mimicking immature tooth at the late bell stage design and construction of Hydroxy Apatite (HA) scaffolds for cell transplantation of human Adipose Stem Cells (hASCs), human Bone Marrow Stem Cells (hBMSCs) and Gingival Epitelial cells for the formation of human tooth dentin-pulp-enamel complexes in vitro. The pore morphology, size and size distribution of scaffold were characterized were demonstrating by (Scanning electron microscopy) SEM, (Infrared spectroscopy) FTIR and pore size and density measurements. The biological contraction of dental tissues against each other was demonstrated by mRNA gene expressions, histopatologic observations and protein release profile by ELISA technique. The tooth shaped constructs with a pore size ranging from 150 to 300 µm arranged by gathering right amounts of materials provide interconnected macro-porous structure. The newly formed tissue like structures that grow and integrate within the HA designed constructs forming tooth cementum like tissue, pulp and bone structures. These findings are important as they emphasize the potential biological effect of the hybrid scaffold system. In conclusion, this in vitro study clearly demonstrates that designed 3D scaffolds shaped as a immature tooth at the late bell stage were essential to form enamel-dentin-pulp interfaces with an appropriate cell and biodegradable material combination. The biomimetic architecture achieved here is providing a promising platform for dental tissue engineering.

Keywords: Stem Cells, Tissue Engineering, Hydroxy Apatite, Tooth, 3D Scaffold

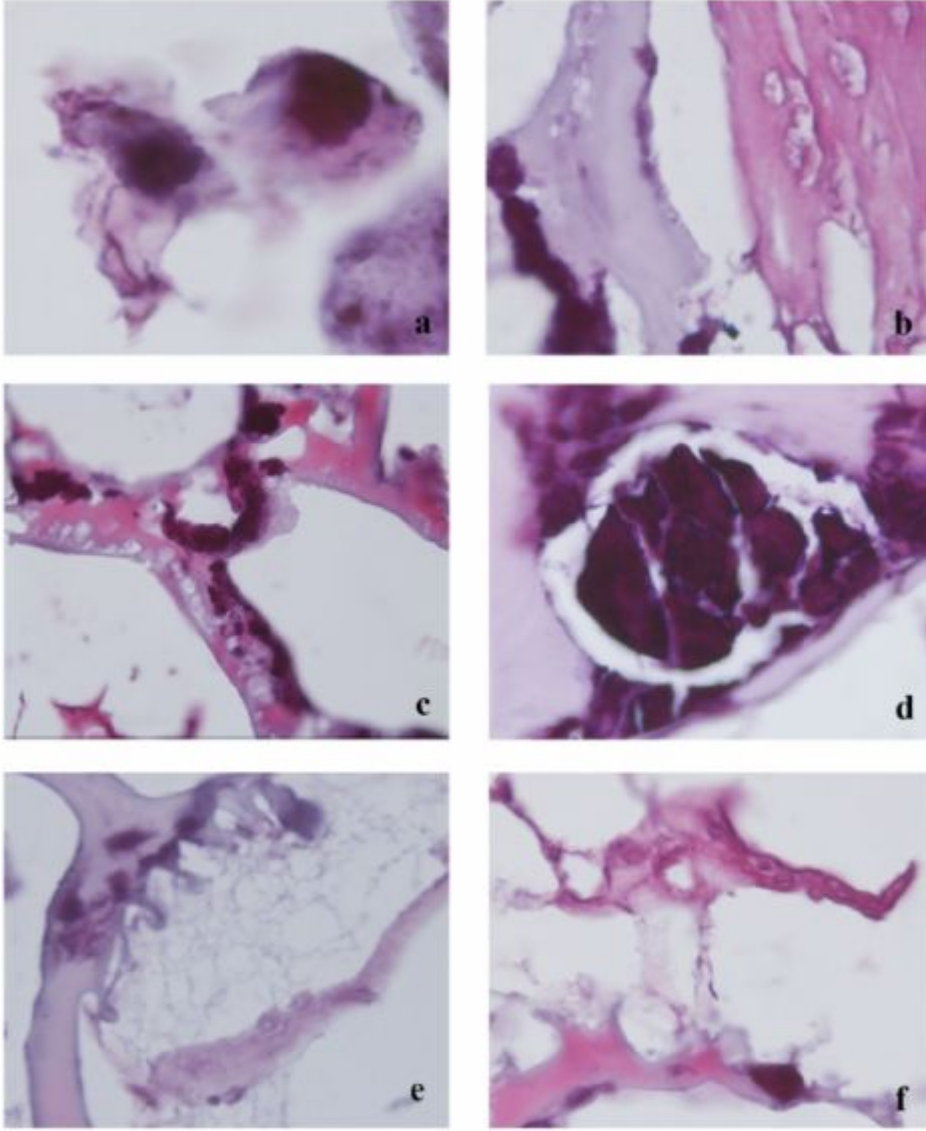
Figür 1
Figure 1



TEM görüntüsü; HA hibrid greftinin açık ve bağlantılı porlu yapısını göstermektedir. (a) hücre içermeyen ve (b) hücre içeren porlu ve bağlantılı yapıyı gösteren TEM görüntüsü.

SEM images show the porous structure of HA hybrid scaffold with open and connective form. SEM images of interconnected porous of HA scaffold prepared with mixture containing 40 wt % HA (b) with and (a) without cells.

Figür 2
Figure 2



*8. haftanın sonunda HA hibrid greften elde edilen özelleşmiş yapılar.
Specilized structures of cells seeded on HA hybrid scaffols for 8 week.*

S17

Erişkin fare ovaryum kök hücreleri ve yeniden oogenez olasılığı

Yashar Esmailian¹, Arzu Atalay¹, Esra Erdemli²

¹Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü

²Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD

Üreme biyolojisinin klasik bilgilerine göre doğum sonrası (post-natal) dişi memelilerin ovaryumunda oosit sayısı sınırlıdır ve oositlerin herhangi bir hastalık veya hasar nedeniyle kaybedilmesi durumunda tekrar yenilenme olanağı yoktur. Ancak, bu görüş son 10 yılda erişkin memeli ovaryumunda yeni oosit ve folikül oluşumu ile ilgili çıkan araştırma sonuçları karşısında tamamen değişmektedir. Buradan yola çıkarak tasarlanan çalışmada amaç, erişkin fare (8 haftalık BALB/c) ovaryumunda olası germline ve pluripotent kök hücrelerin varlığını tespit etmek ve yeniden oosit oluşması olasılığını araştırmaktır.

Çalışmada, ovaryum (n: 20) hücre kültüründen elde edilen hücrelerin immüno Floresan boyama sonucu pluripotent (Oct-4, Nanog, Sox2 ve SSEA1) ve germline (DAZL ve DDX4) kök hücre belirteçleri pozitif olarak tespit edilmiştir.

Ovaryum hücre kültüründe oosite farklılaştırma sonucu morfolojik olarak oosite benzer hücrelerin oluştuğu ve bu hücrelerden bazılarında germinal vezikül (GV), kutup cisimciği, zona pellusida (ZP) ve çekirdek bölünmesinin meydana geldiği gözlenmiş, bunun yanı sıra foliküle benzer yapıların oluştuğu da tespit edilmiştir.

RT-PCR analiz sonucu, pluripotent (Oct-4, Nanog, Sox2 ve SSEA1) ve germline (DDX4, DAZL, STRA8, SCP3, DMC1 ve PRDM1) kök hücrelerine özgün genlerinin ifadesi hem ovaryum dokusu hem de farklılaştırma öncesi hücre kültüründen elde edilen hücrelerde tespit edilmiştir.

Farklılaştırma sonrası, oosite farklılaşan hücrelerde oosite özgün genlerin (ZP2, ZP3, NOBOX) ifade edildiği RT-PCR analiz yöntemi ile gösterilmiştir.

İmmunoblotlama analizi sonucu Oct-4, Sox2, Nanog, DDX4 ve DAZL proteinlerinin ifadesi hem ovaryum dokusu hem de farklılaştırma öncesi hücre kültüründen elde edilen hücrelerde tespit edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada erişkin fare ovaryumunda pluripotent ve germline kök hücre özelliğine sahip hücrelerin varlığı tespit edilmiş, İn vitro koşullarda bu hücrelerden oosit ve folikül benzeri hücrelerin oluştuğu gözlenmiştir.

Araştırma projesi, TÜBİTAK (SBAG 115S244) ve Ankara Üniversitesi BAP (13B4143003) tarafından desteklenmiştir.

TÜBİTAK-BİDEB'e verdiği destekten dolayı teşekkür ederiz.

Anahtar Kelimeler: Ovaryum kök hücresi, oosit, oogenez

Adult mouse ovarian stem cells and possibility of neo-oogenesis

Yashar Esmailian¹, Arzu Atalay¹, Esra Erdemli²

¹Ankara University, Biotechnology Institute

²Ankara University, School of Medicine, Department of Histology and Embryology

According to the classical knowledge of biology, in the ovary of female mammals there are a limited number of oocytes and there is no possibility of renewal if the oocytes are lost due to disease or injury. However, in the last 10 years, the results of studies about renewal and formation of oocytes and follicles in the adult mammalian ovary are lead to changing of this view completely. The aim of this study is demonstration of presence of putative germline and pluripotent stem cells and investigates the possibility of neo-oogenesis in the adult mouse (8 week-old BALB/c) ovary (n: 20).

Immunoflorescence staining of the cells that harvested from ovarian cell culture revealed the presence of pluripotent stem cell (Oct-4, Nanog, Sox2 and SSEA1) and germline stem cell (DAZL and DDX4) markers in these cells.

In the ovary cell culture, oocyte differentiation process led to formation of morphologically oocyte-like cells and in some of these cells development of germinal vesicle (GV), polar body, zona pellucida (ZP) and nucleus division was occurred. As a result of differentiation process formation of follicle-like structures was also observed.

In the ovarian tissue and non-differentiated cells that harvested from cell culture, expression of the pluripotent (Oct-4, Nanog, Sox2 and SSEA1) and germline (DDX4, DAZL, STRA8, SCP3, DMC1 and PRDM1) stem cell specific genes were demonstrated by RT-PCR method. In the cells that differentiated into oocyte, expression of oocyte specific genes (ZP2, ZP3, NOBOX) was demonstrated by RT-PCR method.

As a result of western blot analysis, expression of Oct-4, Sox2, Nanog, DDX4 and DAZL proteins was observed in the ovarian tissue and non-differentiated cells that harvested from cell culture. Based on our study outputs, presence of pluripotent and germline stem cells in the adult mouse ovary was demonstrated. Under in vitro circumstances, differentiation potential of these cells into oocyte-like cells and follicle-like structures was observed

This study was funded by TÜBİTAK (SBAG115S244) and Ankara University BAP (13B4143003).

I would like to express my great appreciation to the TÜBİTAK-BİDEB for their valuable supports.

Keywords: Ovarian stem cell, oocyte, oogenesis

S18

Ubikitin Aktifleştirici E1 Gen Ailesinin Hematopoetik Kök Hücre Dormansisi ve Kardiyomiyosit Tutuklanmasındaki Rolü

Merve Aksöz, Galip Servet Aslan, Semih Arbatlı, Remziye Döğer, Fatih Kocabaş
Yeditepe Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

Hematopoetik kök hücreler ve kardiyomiyositler nadiren bölünürler ve çoğalabilmeleri için uyarıcı bir sinyale ihtiyaç duyarlar. Ubikitin Aktifleştirici Enzim E1 gen ailesinin endoreduplikasyon ve mitotik hücre döngüsündeki fonksiyonlarının anlaşılması, hematopoetik kök hücrelerin dormansi halinde kalmalarına ve kardiyomiyositlerin G0 evresinde tutuklanmasına neden olan mekanizmaların anlaşılmasına yardımcı olabilir. Mikroçip analizlerine göre Ubikitin Aktifleştirici Enzim E1 gen ailesinden Uba2 ve Nedd8 sistemi (Uba3/Nae1) ekspresyonu hematopoetik kök hücrelerde ve kardiyomiyositlerde yüksek olduğunu bulduk. Ayrıca bu genlerin ekspresyonlarını gerçek-zamanlı PZR ile doğruladık. Bu nedenle yetişkin fare kemik iliği kök hücreleri toplanmıştır ve magnetik seperasyonun ardından Lin-Sca-1+c-kit+CD34low hematopoetik kök hücreleri izole edilmiştir. Ayrıca yetişkin ve yeni doğan fare kalplerinde Uba2, Uba3 ve Nae1 genlerinin ekspresyonu karşılaştırılarak bu genlerin kalp rejenerasyonunda belirleyici rolünün olabileceği gösterilmiştir. Bundan sonra küçük moleküller uygulanarak yapılacak çalışmalarımız NEDD8 sisteminin kardiyomiyosit bölünmesinde ve hematopoetik kök hücrelerin çoğalması üzerindeki etkilerini ortaya çıkaracaktır. Yaptığımız çalışmalar Ubikitin Aktifleştirici E1 ailesinin fonksiyonun ve hematopoetik kök hücre ve kardiyomiyosit hücre döngüsünün anlaşılmasına yardım edecektir.

Anahtar Kelimeler: hematopoetik kök hücre, kardiyomiyosit, hücre döngüsü, Nedd8, Uba2, Uba3

Ubiquitin Activating E1 Family at the Crossroads between Stem Cells Quiescence and Cardiomyocyte Cell Cycle Arrest

Merve Aksöz, Galip Servet Aslan, Semih Arbatlı, Remziye Döğür, Fatih Kocabaş
Department of Genetics and Bioengineering, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

Hematopoietic stem cells (HSC) and cardiomyocytes divide rarely and only after a stimulus. Identifying the function of Ub-activating E1 family and how they are involved in mitotic and endoreduplicative cell cycle progression may help to understand the mechanism of HSC quiescence [1,2,3] as well as post-natal cardiomyocyte cell cycle arrest [4,5,6]. From microarray analysis, we have found that Uba2 and NEDD8 system (Uba3/Nae1) from Ub-activating E1 family are highly expressed in HSCs and heart. We confirmed their expression by Real-time PCR. For this reason we have collected murine bone marrow and isolated Lin-Sca-1+c-kit+CD34low HSCs by fluorescent activated cell sorting following magnetic depletion. In addition, we have compared expression of these genes in murine neonatal and adult hearts and our results suggest that Uba2, Uba3 and Nae1 genes might be involved in cardiomyocyte cell cycle arrest. Our further studies will elucidate the role of NEDD8 system in cardiomyocyte proliferation and HSC expansion following potential small molecule treatment of target genes. In conclusion, our study helps to understand the function of Ub-activating E1 family and how they influence cell cycle of HSCs and cardiomyocytes.

Keywords: Hematopoietic stem cells, Cardiomyocytes, Cell cycle, NEDD8, Uba2, Uba3

Kaynakça / References: 1) Kocabas, Fatih (co-first author) & Simsek, Tugba, et al. "The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche." *Cell stem cell* 7.3 (2010): 380-390. 2) Kocabas, Fatih, et al. "Meis1 regulates the metabolic phenotype and oxidant defense of hematopoietic stem cells." *Blood* 120.25 (2012): 4963-4972. 3) Kocabas, Fatih, et al. "Hypoxic metabolism in human hematopoietic stem cells." *Cell & bioscience* 5.1 (2015): 1 4) Galip Servet Aslan, Dudu Gonca Misir, Fatih Kocabaş. Underlying mechanisms and prospect of heart regeneration. *Turkish Journal of Biology. Special Issue on Regenerative and Restorative Biology*. Available online: 13.09.2015. Last modified on 04.09.2015 DOI: 10.3906/biy-1506-14 5) Kocabas, Fatih (co-first author) & Mahmoud, Ahmed I et al. Meis1 regulates postnatal cardiomyocyte cell cycle arrest. *Nature* 497, no. 7448 (2013): 249-253. 6) Kocabas, Fatih, et al. Meis1 is a key regulator of post-natal cardiomyocyte cell cycle arrest. *Basic Cardiovascular Sciences 2012 Scientific Sessions, New Orleans, Louisiana, USA (July 23-26, 2012)*. *Circulation Research*. 111(4_MeetingAbstracts) Supplement 1, July 20, 2012.

S19

Çocukluk çağı akut miyeloid lösemilerinde kemik iliğinden köken alan mezenkimal stromal hücrelerin biyolojik ve immünolojik özellikleri

İlkay Pişkin¹, Tuba Özdemir¹, Yasin Köksal², Hilal Göktürk¹, Sevil Çaylı¹, Habibe Meltem Özgüner¹

¹Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji&Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

²Ankara Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kök Hücre İşleme ve Saklama Laboratuvarı, Ankara

GİRİŞ: Akut miyeloid lösemi (AML), çocukluk çağında sık görülen lösemi tiplerindedir.

Çalışmamızda AML hastalarının kemik iliğinden alınan Mezenkimal Stromal Hücreler (MSH) (grup A) ile sağlıklı bireylerin kemik iliğinden alınan MSH'lerin (grup B) biyolojik ve immünolojik özelliklerini karşılaştırmak amaçlandı.

YÖNTEM-GEREÇLER: 6 AML hastası ve 6 sağlıklı bireyin kemik iliği örnekleri ile 6 AML hastası ve 1 sağlıklı bireyin periferik kan mononükleer hücre (MNC) örnekleri kullanıldı. MSH'lerin morfolojik özellikleri, proliferasyon hızları (population doubling), adipojenik ve osteojenik farklılaşma kapasiteleri ve mitojen ajan olarak fitohemaglutinin ile uyarılan veya uyarılmayan periferik kan MNC'leri ile ko-kültüre edilen MSH'lerin ko-kültür sonrası hücresel canlılık (viabilite) farkları incelenmiştir. Sağlıklı birey ve AML hastası periferik kanlarından elde edilen MNC'lerin bir grubu fitohemaglutinin ile uyarılırken [Fito (+) MNC] bir grubu fitohemaglutinin [Fito (-) MNC] ile uyarılmadı. Grup A ve grup B MSH'ler, Fito(+) AML hastası ve sağlıklı birey periferik kan MNC'leri ile ve Fito (-) AML hastası ve sağlıklı birey periferik kan MNC'leri ile ayrı ayrı ko-kültüre edildi. Ko-Kültür sonrası, supernatanlar ayrıldıktan sonra tripsinizasyon işlemiyle kültür ortamından kaldırılan MSH'lerin viabilite oranları karşılaştırıldı.

BULGULAR: AML hastaları ve sağlıklı bireylerin kemik iliklerinden elde edilen MSH'lerin morfolojik özelliklerinin aynı olduğu ve proliferasyon hızlarının benzer olduğu tespit edildi ($z = 1.074$; $p = 0.394$) (Resim 1) (Tablo 1). AML hastalarına ve sağlıklı bireylere ait MSH'lerin hem osteojenik hem adipojenik yönde farklılaşabildikleri gözlemlendi (Resim 2). Flow-sitometri ile MNC'lerin aktivasyon belirteçleri belirlendi (Tablo 2). Aktive MNC'ler ile ko-kültüre edilen MSH'lerin canlılık sonuçları karşılaştırıldığında Kuyucuk 2'de sağlıklı bireyden elde edilen değerler ile AML hastalarına ait hücresel canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($z = 2.246$; $p = 0.026$) (Resim 3) (Tablo 3). AML hastalarına ait kuyucuklarda hücresel canlılık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($\chi^2 = 2.184$; $p = 0.823$). Sağlıklı bireyler için elde edilen hücresel canlılık değerleri de tüm kuyucuklar için benzerdi ($\chi^2 = 10.714$; $p = 0.057$). AML hastalarına ait örnekler ve sağlıklı bireylere ait örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 3).

SONUÇ: Son yıllarda MSH biyolojisini aydınlatmaya yönelik çok sayıda çalışma olmasına rağmen özellikle Akut Mieloid Lösemilerinde kemik iliği mikroçevresine ait MSH'lerle ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Çalışmamızın sonucunda, MSH'ler ile MNC'ler arasındaki etkileşimin tek yönlü olmadığı gözlemlendi ve sağlıklı kişilerin aktive MNC'lerinin AML hastaları kemik iliğine ait MSH'lerin viabilitesini azalttığına ve mikroçevrenin yeniden düzenlenmesinde aktif rol oynadığına dair bulgulara ulaşıldı.

Anahtar Kelimeler: Akut miyeloid lösemi, farklılaşma, fitohemaglutinin, hücresel viabilite, mezenkimal stromal hücre

The biological and immunological properties of mesenchymal stromal cells derived from bone marrow in childhood acute myeloid leukemia

İlkay Pişkin¹, Tuba Özdemir¹, Yasin Köksal², Hilal Göktürk¹, Sevil Çaylı¹, Habibe Meltem Özgüner¹

¹Department of Histology&Embryology, Faculty of Medicine, Yıldırım Beyazıt University, Ankara, Turkey

²Ankara Child Health and Diseases Hematology Oncology Education and Research Hospital, Stem Cell Processing and Storage Laboratory, Ankara, Turkey

INTRODUCTION: Acute Myeloid Leukemia (AML) is one of the common type of childhood leukemia. In this study, we aimed to compare the biological and immunological features of mesenchymal stromal cells (MSCs) derived from bone marrow of AML patients (grup A) and healthy individuals (grup B).

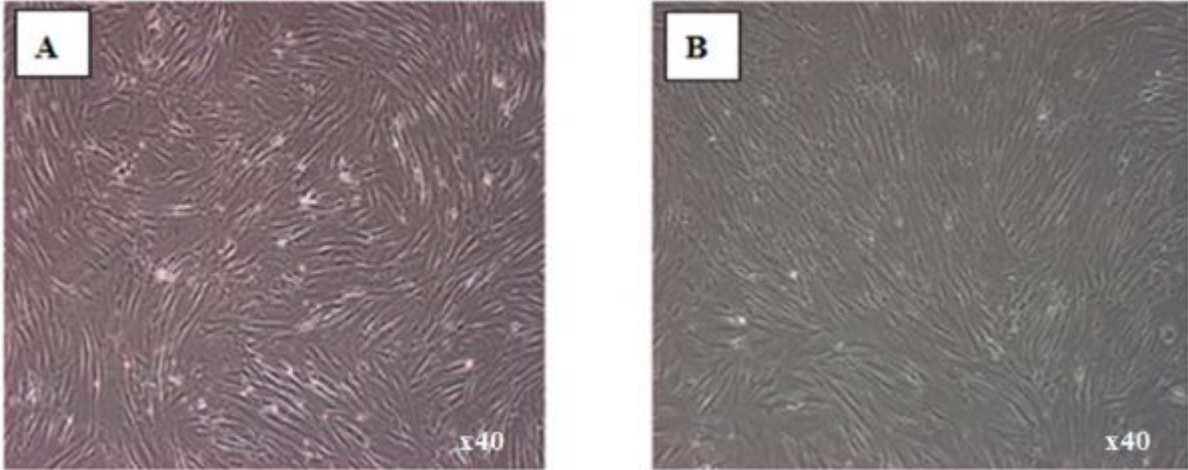
MATERIAL-METHOD: Bone marrow samples of 6 AML patients and 6 healthy individuals and also peripheral blood mononuclear cells (MNCs) of 6 AML patients and 1 healthy individual were used. Morphological properties of MSCs, proliferation rates (population doublings), adipogenic and osteogenic differentiation capacities were examined and immunological tests using peripheral blood MNC that were stimulated [phyto(+)MNC] or unstimulated [phyto(-)MNC] with the mitogen agent – phytohemagglutinin- were performed. Group A and Group B of MSCs were then co-cultured with phyto(+) MNCs of AML patient and healthy individual and phyto (-) MNCs of AML patients and healthy individuals. After co-culture, supernatants containing culture medium and MNCs were removed and following the trypsinization procedure, cell viability differences of MSCs were documented.

RESULTS: MSCs obtained from bone marrow in AML patients and healthy individuals presented the same morphological features and were found to be similar for the proliferation rates ($z=1.074$; $p=0.394$) (Figure 1)(Table 1). The osteogenic and adipogenic differentiation capacities were also similar in both MSCs of AML patients and healthy individuals (Figure 2). The activation markers of MNCs were detected by flow-cytometric analysis (Table 2). Comparison of the MSCs viability after co-culture with activated MNCs, especially in Well #2 revealed a statistically significant difference ($z = 2.246$, $p = 0.026$) (Figure 3)(Table 3). In the wells of AML patients, there wasn't a statistically significant difference between the value of the cellular viability ($\chi^2=2.184$; $p=0.823$). Cellular viability values obtained for healthy individuals were similar for all the wells ($\chi^2=10.714$; $p=0.057$). MSC viability values of AML patients and healthy individuals were not statistically significantly different when compared with each other (Table 3).

CONCLUSION: In recent years, although there are many studies about MSC biology, the research studies especially concerning MSCs of the bone marrow microenvironment of AML patients is limited. In our study, we concluded that the interaction between MSC and MNC in bone marrow microenvironment is not one-sided and, activated MNCs of healthy individuals may also reduce the viability of the MSC of bone marrow in AML patients. So our findings revealed that activated MNCs that interacts with MSCs could play an active role during the reorganization of the bone marrow microenvironment even in pathologic conditions.

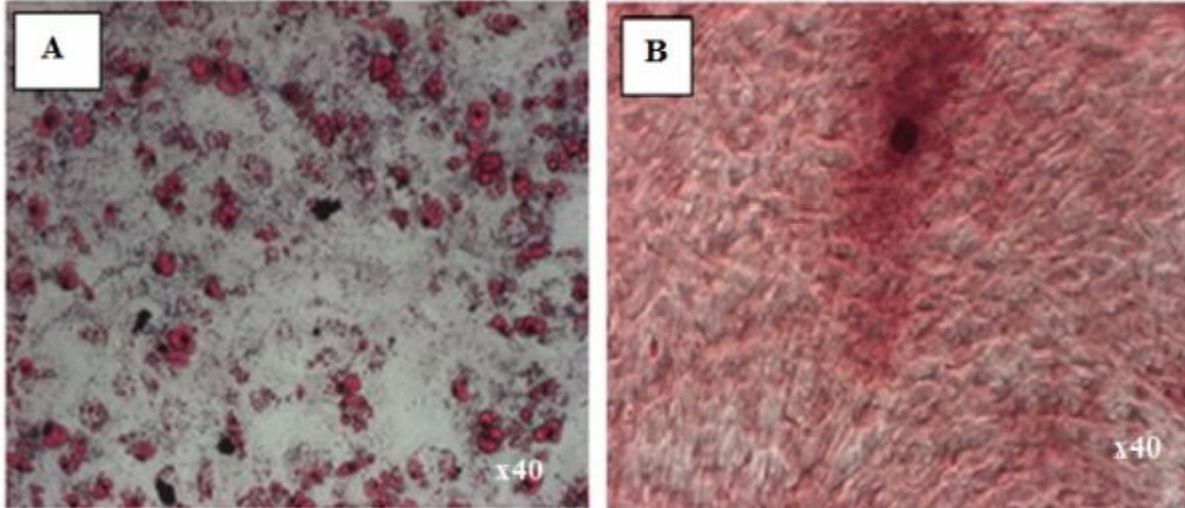
Keywords: Acute myeloid leukemia, cell viability, differentiation, mesenchymal stromal cell, phytohemagglutinin

Resim 1. Mezenkimal stromal hücrelerin invert mikroskop görüntüleri
Figure 1. Inverted microscope images of mesenchymal stromal cells



(A)AML hastasına ait mezenkimal stromal hücreler (B)Sağlıklı bireye ait mezenkimal stromal hücreler
(A)MSCs of AML patients (B)MSCs of healthy individuals

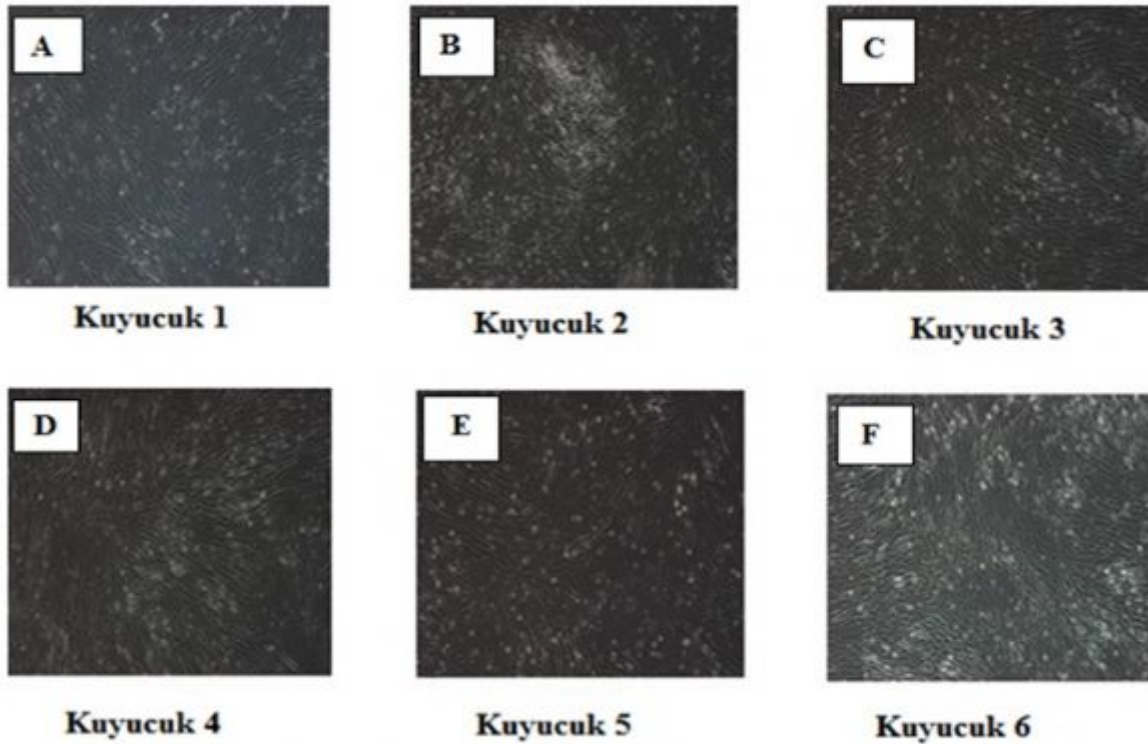
Resim 2. Mezenkimal stromal hücrelerin adipojenik ve osteojenik farklılaşması
Figure 2. Adipogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells



(A)AML hastasından elde edilen mezenkimal stromal hücrelerin adipositlere farklılaşması(Oil red O ile boyama-Olympus CKX41 40x) (B)AML hastasından elde edilen mezenkimal stromal hücrelerin osteositlere farklılaşması(Alizarin red ile boyama-Olympus CKX41 100x)
(A)Mesenchymal stromal cells of AML patient to to differentiate into adipocytes(Oil red O staining-Olympus CKX41 40x) (B)Mesenchymal stromal cells of AML patient to to differentiate into osteocytes(Alizarin red staining- Olympus CKX41-100x)

Resim 3. MSH- MNC ko-kültür sonrası invert mikroskop görüntüleri

Figure 3. Mesenchymal stromal cells-mononuclear cells after co-culture images of an inverted microscope



(A) Kontrol grubu (B) AML hastası MSH:Sağlıklı birey fito(+)MNC (C) AML hastası MSH:AML hasta fito(+)MNC (D) AML hastası MSH:Sağlıklı birey MNC (E) AML hastası MSH:Sağlıklı birey fito(-)MNC (F) AML hastası MSH:AML hasta fito(-)MNC

(A) Control group (B) AML patient MSC: Healthy individual phyto(+)MNC (C) AML patient MSC: AML patient phyto(+)MNC (D) AML patient MSC: Healthy individual MNC (E) AML patient MSC: Healthy individual phyto(-)MNC (F) AML patient MSC: AML patient phyto(-)MNC

Tablo 1. Mezenkimal stromal hücrelerinin proliferasyon hızı sonuçlarının karşılaştırılması

AML hastalarına ait MSH'ler		Sağlıklı bireylere ait MSH'ler			
Ortanca (min; mak)	Ort±SS	Ortanca (min; mak)	Ort±SS	z	p
PD 2.0 (2.0; 3.0)	2.3 ± 0.4	2.0 (1.0; 3.6)	1.9 ± 0.9	1.074	0.394

Table 1. Comparison of the proliferation rates of mesenchymal stromal cells

MSCs of AML patients		MSCs of Healthy individuals			
Median(min; max)	Mean±SD	Median(min; max)	Mean±SD	z	p
PD 2.0 (2.0; 3.0)	2.3 ± 0.4	2.0 (1.0; 3.6)	1.9 ± 0.9	1.074	0.394

Tablo 2. AML hastalarının periferik kanlarından izole edilen mononükleer hücrelerin T hücre aktivasyon belirteçlerinin immünolojik analizi

T hücre aktivasyon belirteçleri	Fito(+)		Fito(-)		z	p
	Ortanca(min; mak)	Ort±SS	Ortanca(min; mak)	Ort±SS		
CD3/CD69	3.232 (0.000; 43.701)	1.537 ± 16.840	0.579 (0.000; 2.741)	0.996 ± 1.048	1.524	0.132
CD3/HLA-DR	3.354 (0.000; 46.457)	14.657 ± 20.292	2.197 (0.136; 5.764)	2.264 ± 2.038	0.480	0.669
CD4/CD25	4.032 (0.969; 30.041)	8.540 ± 10.968	2.532 (0.309; 16.041)	4.243 ± 5.867	0.961	0.394

Table 2. Immunological analysis of T cell activation markers of isolated mononuclear cells from peripheral blood of AML patients

T cell activation markers	Phyto(+)		Phyto(-)		z	p
	Median(min; max)	Mean±SD	Median(min; max)	Mean±SD		
CD3/CD69	3.232 (0.000; 43.701)	1.537 ± 16.840	0.579 (0.000; 2.741)	0.996 ± 1.048	1.524	0.132
CD3/HLA-DR	3.354 (0.000; 46.457)	14.657 ± 20.292	2.197 (0.136; 5.764)	2.264 ± 2.038	0.480	0.669
CD4/CD25	4.032 (0.969; 30.041)	8.540 ± 10.968	2.532 (0.309; 16.041)	2.264 ± 2.038	0.961	0.394

Tablo 3. Hüresel viabilite sonuçları

	AML hastası		Sağlıklı birey		z	p
	Ortanca(min; mak)	Ort±SS	Ortanca (min; mak)	Ort±SS		
Kuyucuk 1	70.95 (53.30; 94.30)	70.98 ± 14.01	70.95 (56.30; 79.00)	69.40 ± 8.80	0.161	0.937
Kuyucuk 2	65.70 (55.60; 80.80)	68.05 ± 10.04	89.05 (61.80; 90.50)	84.60 ± 11.27	2.246	0.026
Kuyucuk 3	73.50 (56.40; 92.50)	73.73 ± 13.16	78.85 (76.60; 85.40)	76.40 ± 3.31	0.321	0.818
Kuyucuk 4	73.10 (56.50; 87.50)	72.20 ± 13.57	73.70 (51.30; 84.40)	72.52 ± 12.49	0.320	0.818
Kuyucuk 5	76.30 (64.70; 81.80)	74.35 ± 7.23	73.60 (56.50; 84.30)	72.45 ± 9.09	0.320	0.818
Kuyucuk 6	78.55 (60.00; 86.90)	76.38 ± 9.21	73.95 (63.60; 86.90)	73.68 ± 8.51	0.643	0.589
x ² ;p	2.184; 0.823		10.714; 0.057			

Table 3. Cell viability results

	AML patient		Healthy individual		z	p
	Median(min; max)	Mean±SD	Median(min; max)	Mean±SD		
Well 1	70.95 (53.30; 94.30)	70.98 ± 14.01	70.95 (56.30; 79.00)	69.40 ± 8.80	0.161	0.937
Well 2	65.70	68.05 ± 10.04	89.05	84.60 ± 11.27	2.246	0.026

	(55.60; 80.80)		(61.80; 90.50)			
Well 3	73.50 (56.40; 92.50)	73.73 ± 13.16	78.85 (76.60; 85.40)	76.40 ± 3.31	0.321	0.818
Well 4	73.10 (56.50; 87.50)	72.20 ± 13.57	73.70 (51.30; 84.40)	72.52 ± 12.49	0.320	0.818
Well 5	76.30 (64.70; 81.80)	74.35 ± 7.23	73.60 (56.50; 84.30)	72.45 ± 9.09	0.320	0.818
Well 6	78.55 (60.00; 86.90)	76.38 ± 9.21	73.95 (63.60; 86.90)	73.68 ± 8.51	0.643	0.589
x2;p	2.184; 0.823		10.714; 0.057			

Kaynakça / References: 1) Conforti A, Biagini S, Del Bufalo F, Sirlito P, Angioni A, Starc N, Li Pira G, Moretta F, Proia A, Contoli B, Genovese S, Ciardi C, Avanzini MA, Rosti V, Lo-Coco F, Locatelli F, Bernardo ME. Biological, Functional and Genetic Characterization of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells from Pediatric Patients Affected by Acute Lymphoblastic Leukemia, Plos one, 2013; Volume 8, Issue 11, e76989. 2) Kenneth B, Philip RD. Clinical manifestation of acute myeloid leukemia. Hematology Basic Principles and practise (Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen H, Silberstein). 4th edition. Pennsylvania, elsevier Churchill Livigstone. 2005, 1071-1097. 3) Lichtman MA. Acute myelogenous leukemia. In: Williams Hematology, Eds: Beutler E, Lichtman MA, Coller BC, Kipps TJ, New York. Mc Graw-HillCo, 1995, pp: 272-98. 4) Vedi A, Ziegler DS. Antibody therapy for pediatric leukemia, Frontiers on oncology. 2014, volume 4, article 82.

S20

Kemik iliği ve plasenta dokusu Mezenkimal Kök Hücreler'inin immünomodülatuar ve farklılaşma kapasitelerinin karşılaştırılması

Aysun Sarıkaya¹, Gözde Aydın¹, Özgür Özyüncü³, Elvan Özbek², Duygu Uçkan Çetinkaya¹, Fatima Aerts Kaya¹

¹Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Bilimleri AD, Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi

²Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın doğum ve hastalıkları AD

Mezenkimal kök hücreler (MKH); kemik iliği, yağ doku, plasental doku ve Wharton's Jelly'den izole edilen multipotent stromal hücrelerdir. Bu hücreler osteojenik ve adipojenik hücrelere farklılaşabilmektedir, ayrıca immünomodülatuar özelliklere sahiptir ve bu özellikleri sayesinde in vitro ve in vivo ortamında T hücrelerin çoğalmasını baskılamaktadır. Bu çalışmanın amacı; kemik iliği ve plasenta dokusundan elde edilen MKH'lerin farklılaşma ve immünomodülatuar kapasitelerinin farklılıklarının değerlendirilmesidir.

Sağlıklı donörlerden alınan kemik iliğinden (n=5) dansite santrifüj yöntemi kullanılarak MKH'ler elde edilmiştir ve plasental dokudan (n=5) MKH'ler Tripsin, Dispaz ve Kollejenaz kombinasyonu kullanılarak elde edilmiştir. Hücrelerin tüm özellikleri pasaj 3'te değerlendirilmiştir ve CD29, CD90, CD73, CD44, CD105, CD45, HLA-DR, HLA-G, CD200 ve CD31 antikoru kullanılarak karakterize edilmiştir. Kemik iliği ve plasental kaynaklı MKH'ler 21 gün boyunca adipojenik ve osteojenik farklılaşma besisi yerine maruz bırakılmıştır. 21. günün sonunda Oil Red O (adipojenik farklılaşma için) ve Alizarin Red S (osteojenik farklılaşma için) kullanılarak boyanmıştır. MKH'lerin in vitro ortamındaki T hücre proliferasyonu üzerine immünomodülatuar etkilerinin incelenmesi amacıyla, periferik kan lenfositleri (PKL) MACS (Miltenyi) teknolojisi kullanılarak, anti-CD3 antijenleri ile izole edilmiştir. PHA ile uyarılmış ve CFSE (Molecular Probes) ile işaretlenmiş 5x10⁵ CD3 pozitif T hücreler; %1, %3, %10 ve %30 oranındaki kemik iliği veya plasental kaynaklı MKH'ler ile 4 günlük ko-kültür yapılmıştır. T-hücre proliferasyonu FACSARIA akım sitometrisi cihazı kullanılarak değerlendirilmiştir.

FACS analizinde kemik iliği ve plasenta kökenli adheran hücrelerde önemli farklılıklar gözlenmiştir. Kemik iliği kökenli MKH'lere CD29, CD90, CD73, CD44 ve CD105 antikoru için yüksek ifadeler ve saflık (>95%) gösterilmiştir; ancak plasental kaynaklı MKH örneklerinde CD90, CD73, CD44 ve CD105 ekspresyon seviyelerinin daha düşük (70-80%) ve saflığının ve kök hücre potansiyelinin az olduğu gözlenmiştir. Kemik iliği MKH'leri 3 hafta içerisinde adipojenik ve osteojenik hücrelere farklılaşabilirken, plasenta kökenli MKH'lerin farklılaşma kapasiteleri daha yavaş ve daha az olduğu için hücre kültürlerinin en az 4 haftaya kadar uzatılması gereklidir.

PKL, PK mononükleer hücre fraksiyonlarından izole edilmiştir (>%90 CD3+ hücreler). Kemik iliği ve plasental MKH'ler PHA ile aktive edilen ve IL-2 ortamında kültür edilen T hücrelerinin klonal ekspansiyonunu baskılamıştır, ancak genel hücre proliferasyonu etkilenmemiştir. Sonuç olarak, elde edilen kemik iliği MKH'lerin popülasyonları homojen olduğu ve yüksek adipojenik ve osteojenik farklılaşma kapasitelerini sahip olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda bu hücreler klonal T-hücre ekspansiyonu etkili olarak baskılamışlardır. Ancak, plasenta dokudan elde edilen hücrelerin homojen olmadığı, ve farklılaşma kapasiteleri daha düşük olduğu gösterilmiştir. Buna rağmen, karışık plasenta hücre popülasyonları aktive edilen T-hücrelerin klonal ekspansiyonunu etkili olarak baskılamıştır.

Anahtar Kelimeler: İmmünomodülasyon, Kemik iliği, Mezenkimal Kök Hücre, Plasenta, T-hücreler

Comparison of immunomodulatory and differentiation capacities of Mesenchymal Stem Cells derived from bone marrow and placental tissue

Aysun Sarıkaya¹, Gözde Aydın¹, Özgür Özyüncü³, Elvan Özbek², Duygu Uçkan Çetinkaya¹, Fatima Aerts Kaya¹

¹Hacettepe University Institute of Health Sciences, Department of Stem Cell Sciences, Center for Stem Cell Research and Development

²Sakarya University Medical Faculty, Department of Histology and Embryology

³Hacettepe University Medical Faculty, Department of Obstetrics and Gynecology

Mesenchymal Stem Cells (MSCs) are multipotent stromal cells that can be isolated from a number of tissues, including bone marrow (BM), adipose tissue, placental tissue (PL) and Wharton's Jelly. In addition to their potential to differentiate into adipogenic and osteogenic cells, these cells also have immune modulatory properties and can suppress T-cell proliferation in vitro and in vivo. Here, we wanted to assess the differences in immune modulatory and differentiation capacities of BM and PL-MSCs.

MSCs were isolated from BM of healthy donors (n=5) using density centrifugation and from placental tissue using a combination of Trypsin, Dispase and Collagenase (n=5). Cells were cultured up to passage 3 and characterized using antibodies against CD29, CD90, CD73, CD44, CD105, CD45, HLA-DR, HLA-G, CD200, and CD31. For differentiation assays, BM and PL-MSCs were exposed to adipogenic and osteogenic differentiation media for 21 days and assessed using Oil Red O (for adipogenic differentiation) and Alizarin Red S (for osteogenic differentiation). To assess the immunomodulatory effects of MSCs on in vitro T-cell proliferation, peripheral blood lymphocytes (PBL) were isolated with anti-CD3 antigens using MACS technology (Miltenyi). 5×10^5 CD3 positive T-cells were stained with CFSE (Molecular Probes) to assess T-cell proliferation and stimulated for 4 days with PHA in presence of 1%, 3%, 10% or 30% BM or PL-MSCs. Proliferation was assessed using a FACSARIA flow cytometer.

FACS analysis of BM and PL-derived adherent cells, showed important differences. Whereas MSC samples from BM displayed high purity and high expression levels of CD29, CD90, CD73, CD44 and CD105 (>95%); average expression levels of surface CD90, CD73, CD44 and CD105 was much lower (70-80%) in PL-MSCs, indicating less purity and decreased stem cell potential. Accordingly, BM-MSCs rapidly differentiated in adipogenic and osteogenic lineages within 3 weeks, but PL-MSCs showed less and slower differentiation capacity, with optimal results taking often >4 weeks.

PBL were effectively isolated from PB mononuclear cell fractions (>90% CD3+ cells), activated with PHA and expanded in presence of IL-2 for 4 days. Both BM and PL-derived MSCs suppress clonal expansion of activated T-cells, but not general expansion.

In conclusion, isolation of BM-MSCs results in homogenous populations of multipotent cells with the capacity to differentiate into adipogenic and osteogenic cells, and suppress clonal expansion of T-cells, whereas PL-MSCs are non-homogenous, contain more differentiated cells, and show a decreased differentiation potential. Nevertheless, these cells appear to be equally able to suppress clonal expansion of activated T-cells.

Keywords: Bone Marrow, Immune modulation, Mesenchymal Stem Cells, Placenta, T-cells

S21

Prostat Kanseri Kök Hücreleri ve Embriyo Ortak Kültürlerinde Yeniden Programlanmanın Epitelial Mezenseşimal Değişim Yönüyle Araştırılması

Gülperi Öktem¹, Fatih Oltulu¹, Ümmü Güven², Fahriye Düzağaç², Eda Açıkgöz³, Ayşegül Uysal¹, Hüseyin Aktuğ¹, Altuğ Yavaşoğlu¹, Rüşan Uslu⁴, Levent Karagenç⁵, Sevinç İnan⁶, Emine Özçınar⁷

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök hücre Ana Bilim Dalı, İzmir

³Yüzüncüyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Van

⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İzmir

⁵Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Aydın

⁶Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Manisa

⁷İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

Son yıllarda yapılan çalışmalar embriyonik morfogenetik ortamın kanser hücrelerinde fenotipik değişiklikler yaptığını göstermektedir. Gelişmekte olan embriyo ile birlikte kültürleri yapılan kanser hücrelerinin tam bir remisyona girdiği ve malign özelliklerini kaybedebildiği gözlenmiştir. Kanser Kök Hücreleri (KKH) tümör dokusu içinde çok az sayıda hücreden oluşan, kök hücre gibi sonsuz sayıda bölünebilen ve sessiz kalabilen hücre grubudur. Bu hücreler tümörün çoğalmasından, konvansiyonel tedavilere dirençten, invazyondan ve hatta metastazdan sorumlu tutulmaktadır. Epitelial-mezenseşimal Geçiş/ Transition (EMT) son yıllara kadar gelişim sırasında, embriyonun değişim sinyali olarak kullandığı bir sinyal ileti sistemi olarak bilinmekteydi. Onkolojik araştırmalardaki ilerlemeler, bu yolun sadece embriyo tarafından kullanılmadığını, kanser hücrelerinin agresifliği, metastaz ve invazyon yeteneği ile ilgili bir yolak olduğunu ortaya koymuştur. Bu sebeple de EMT ile ilişkili moleküllerin daha fazla KKH tarafından eksprese edildiği belirlenmiştir.

Bu çalışmanın amacı KKH'nin ve tümör kitlesini oluşturan ama kök hücre özelliği bulunmayan kanser hücrelerinin (non-KKH) embriyo ile etkileşimlerinde verdikleri yanıt EMT molekülleri yönüyle incelemektir. Bu etkileşim değerlendirilirken yalnızca birlikte kültürlerle verdikleri yanıt değil, aynı zamanda embriyo içine enjekte edilen kanser hücrelerinin değişimleri de incelenmiştir. Superovulasyon oluşturulan CD1 farelerden çiftleşme gerçekleşenlerde iki hücre aşamasında bulunan embriyolar oviduktun yıkanması (flushing) ile elde edilmişlerdir. Blastosist eldesi için 115 saat sonra yıkama yapılarak blastosistler toplanmıştır. DU-145 insan prostat kanser hücre hattı kullanarak, flowcytometry (akım sitometri) cihazı ile CD133+/ CD44+/low yüzey antijenlerine göre, prostat KKH ve kalan hücre grubu yani non-KKH (bulk population) izole edilmiştir. İlk deneyde embriyo, zigot aşamasında, KKH ve non-KKH ile birlikte hücre kültürü ortamında inkübe edilmiştir. Diğer bir çalışma grubunda ise mikromanipulator yardımı ile blastosist aşamasına gelen embriyoların iç hücre kitlesine ayrı ayrı KKH ve non-KKH enjeksiyonu yapılmıştır. Hücreler blastosistden sonra 2 gün takip edilmiş ve sonrasında microarray ile EMT analizleri yapılmıştır. Sonuca göre değişim gösteren moleküllerin protein analizleri Western Blot (W.B) ve immünofloresan yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Projemiz TÜBİTAK tarafından 112S447 no ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kanser kök hücreleri, EMT, hücre kültürü,

Investigating reprogramming in co-cultures of prostate cancer stem cell and embryo in terms of epithelial mesenchymal transition

Gülperi Öktem¹, Fatih Oltulu¹, Ümmü Güven², Fahriye Düzağaç², Eda Açıkgöz³, Ayşegül Uysal¹, Hüseyin Aktuğ¹, Altuğ Yavaşoğlu¹, Rüçhan Uslu⁴, Levent Karagenç⁵, Sevinç İnan⁶, Emine Özçınar⁷

¹Ege University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, İzmir

²Ege University Health Sciences Institute, Department of Stem Cell, İzmir

³Yüzüncüyıl University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Van

⁴Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Oncology, İzmir

⁵Adnan Menderes University Faculty of Veterinary, Department of Histology and Embryology, Aydın

⁶Celal Bayar University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Manisa

⁷İzmir University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, İzmir

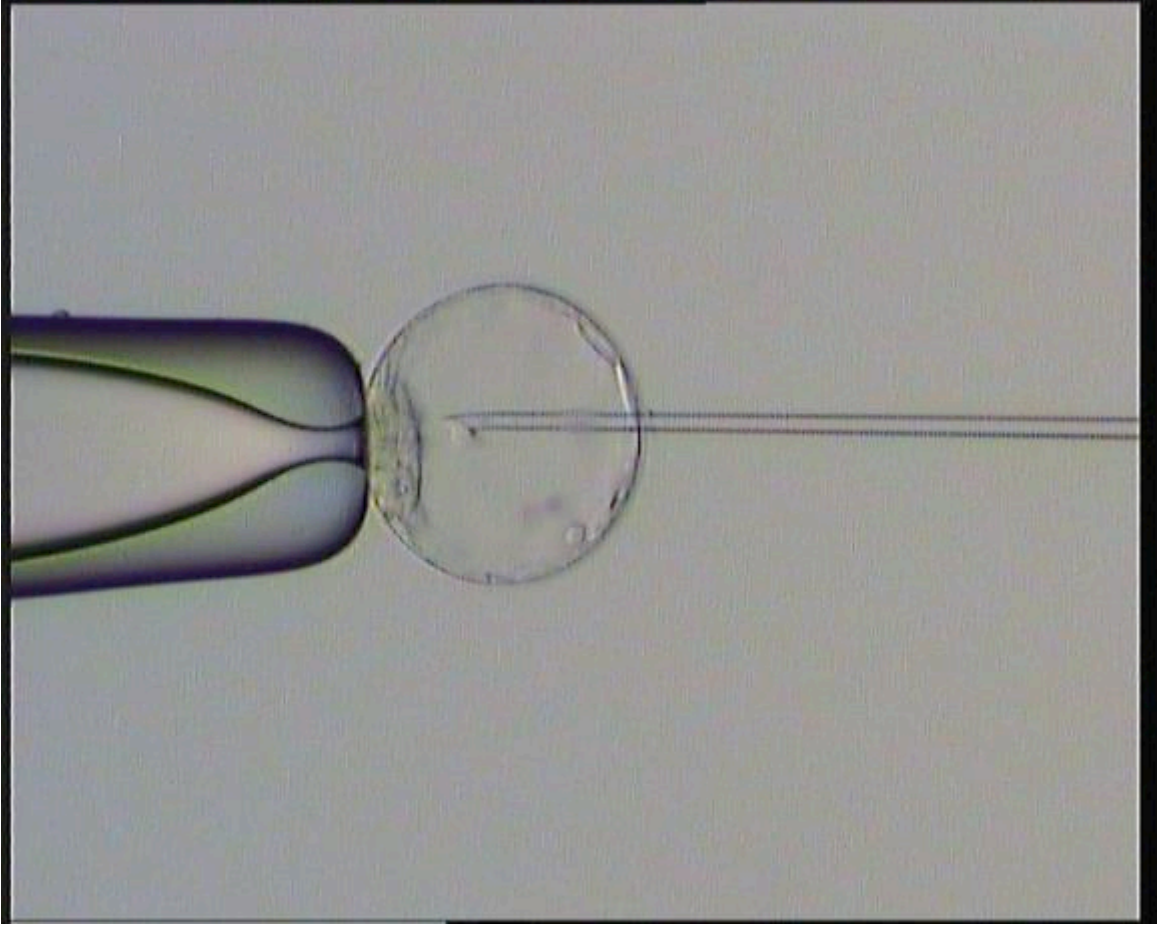
Co-cultures of developing embryos and cancer cells can be committed to a complete reversion of their malignant phenotype. It was observed that cancer cells cultured with developing embryo remissioned totally and lost their malignancy. Cancer stem cell is a group of cells that ability proliferation endless by itself and keeping silent such as stem cell and responsible from cancer proliferation, resistance to the conventional treatments, invasion and also metastasis. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) was known as a signalling system that embryo used for changing system during development till last years. Improvements on Oncological investigations are introduced that this system are not only used by Embryo, but also a pathway related to ability of cancer cell's aggressivity, metastasis and invasion.

The aim of this study is investigated that cancer stem cell and cancer cell respond to interactions with embryo in terms of EMT molecules. When this interaction evaluate, they are researched by not only response to cancer stem cells and cancer cells cultured with together but also transition of cancer cells injected into embryo.

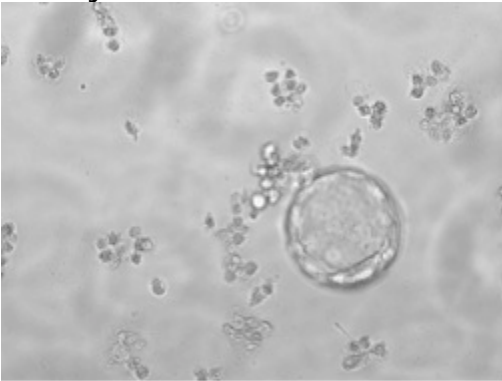
After superovulation female mice were mated 1:1 to male mice of proven fertility and obtaining two cell stage embryos by flushing. Using DU-145 human prostate cancer cell line, prostate cancer stem cells and non- cancer stem cells will be isolated by flowcytometry according CD133+/CD44+/low surface antigens. Embryos will be incubated in the cell culture with cancer stem cells and non- cancer stem cells. Second, in separately, cancer stem cells and non- cancer stem cells will be injected into inner cell masses of the embryos staged blastocyst by Micromanipulator. After blastocyst stage, cells will follow two days and will be made EMT analysis by microarray later. According to results, protein analysis of the detected molecules were evaluated by WB (Western Blot) and immunofluorescence technique.

Keywords: Cancer stem cell, EMT, cell culture,

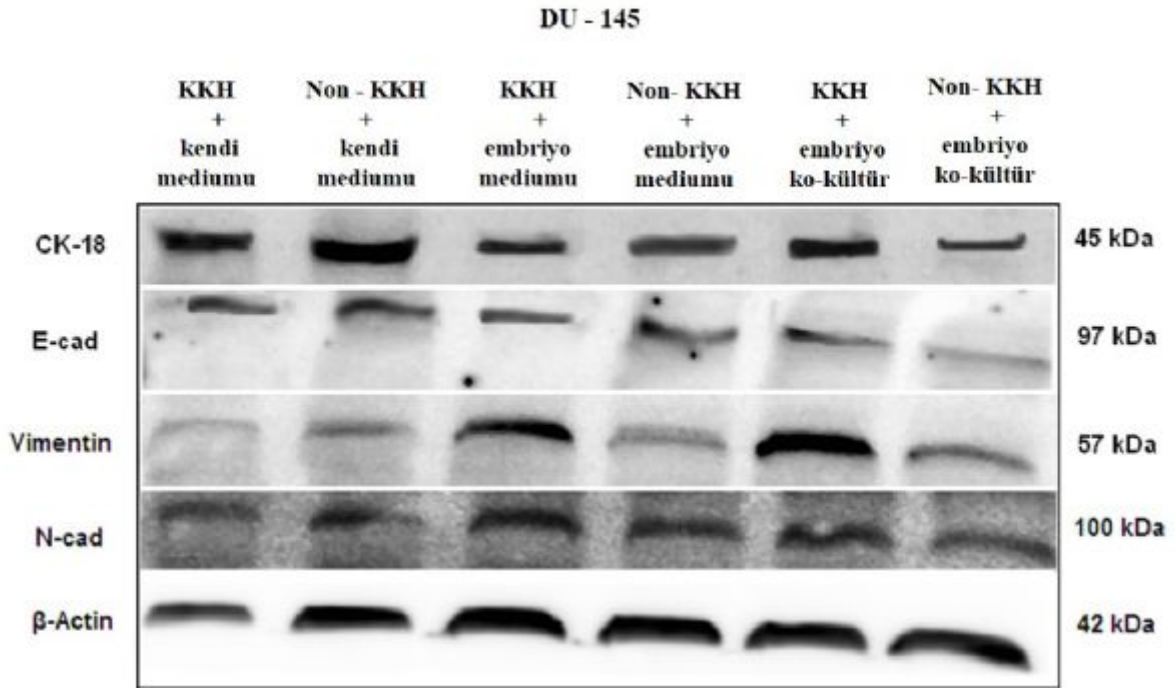
Embriyo içine hücre enjeksiyonu
Cell injected into the embryo



Ortak Kültürlerde 4. Gün
4th day in a common culture



Western Blot Bulguları
Western Blot findings



S22

Genoma entegre olmayan RNA virüsü aracılığı ile sağlıklı ve osteopetrotik insan mezenkimal kök hücrelerinin feeder-free şartlarda yeniden programlanması

İnci Cevher¹, İrem Akar Soyca¹, Suray Pehlivanoğlu³, Betül Çelebi Saltık¹, Emine Kılıç⁴, Duygu Uçkan Çetinkaya¹, Fatma Visal Okur¹, Duygu Uçkan Çetinkaya², Fatma Visal Okur²

¹Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, PediSTEM, Ankara, TÜRKİYE

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji/ Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi, Ankara, TÜRKİYE

³Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Konya, TÜRKİYE

⁴Hemosoft IT ve Eğitim Servisi Araştırma ve Geliştirme Bölümü, Ankara, TÜRKİYE

Amaç: Bu çalışmanın amacı sağlıklı donör ve nadir görülen çocukluk çağı kalıtsal hastalıklarından biri olan osteopetrozisli hasta kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinden hasta/hastalığa özel UPKH'lerin üretilmesi, ileri araştırmalarda kullanılmak üzere bankalama prototipi oluşturulmasıdır. Yüksek yeniden programlama verimliliği ve güvenilirlik profili nedeni ile Sendai viral vektör-aracılı üretim tekniği kullanıldı.

Material ve Metot: Karakterizasyonları yapılan kemik iliği kaynaklı donör ve hasta mezenkimal kök hücreleri (Kİ-MKH) Cytotune-IPS Sendai yeniden programlama kiti kullanılarak yeniden programlandı. 6 kuyucuklu doku kültür kabındaki %80-85 konfluent insan MKH'leri SeV vektör (MOI:3) ile transdükte edildi. 7.günde hücreler matrigel kaplı 10 cm'lik doku kültür kabına aktarıldı ve günlük TeSR-E7 besiyeri ile medium değişimi yapıldı. 14.günden itibaren TeSR-E8 mediuma geçildi. Yaklaşık 21.günde gözlemlenmeye başlayan UPKH kolonileri manuel mikrodiseksiyon yöntemi ile seçildi. Hem hasta hem donör kaynaklı UPK hücre hatlarının karakterizasyonu için erken ve geç pasajlarda Alkalen fosfataz (AP), immünofloresan boyama (IF) ve akım sitometrik analizler (FACS) gerçekleştirildi. Ayrıca, üretilen UPKH'lerinden karyotip analizleri yapıldı. Pluripotans özelliklerini göstermek için yapılan embriyonik cisimcik geliştirme ve teratom deneyleri yapıldı. **Bulgular:** Hem hasta hem de donör Kİ-MKH kaynaklı UPK hücre kolonilerinin tipik insan embriyonik kök hücre koloni morfolojisine sahip olduğu gözlemlendi (yüksek nükleostoplazmik oran, sınırları belirgin kompakt koloniler). İmmünositokimya boyaması ile erken ve geç pasajlardaki hasta ve donör UPK hücrelerinin insan pluripotent kök hücre belirteçleri olan ALP, SSEA-4 ve TRA-1-81'i ifade ettiği gösterildi. Akım sitometrik analiz ile bu hücrelerin %85-95'i SSEA-4 ve Oct3/4 yüzey belirteçlerini ifade ederken, CD29 açısından negatif bulundu. Karyotip analizi ile genomik olarak "stabil" oldukları gösterilen bu kolonilerin pluripotans özelliklerini göstermek için planlanmış olan embriyonik cisimcik oluşturma ve teratom geliştirme deneyleri ise halen devam etmektedir. **Sonuç:** Genoma entegre olmayan viral vektör kullanımına dayalı SeV üretim tekniği; yüksek verimliliği ve güvenilirliği yanında uygulama ve standardizasyonu kolay bir üretim tekniği olması nedeni ile hasta/hastalığa özgü UPKH üretimi ve bu hücrelerin kişiye özel hücresel tedaviler başta olmak üzere ileri araştırmalarda kullanımı amaçlı diğer genetik modifikasyon metotlarından daha avantajlı bir teknoloji gibi gözükmektedir.

Teşekkürler: Bu araştırmanın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini paylaşan Dr. Jean J. Kim'e ve devam eden teknik destekleri için Baylor Tıp Fakültesi İnsan Kök Hücre Merkezi'ne teşekkür ederiz.

*Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK), 1003-öncelikli Alanlar Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı, Proje No: 213S236, tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: UPKH, SeV, Osteopetrozis, MKH, Yeniden Programlama

Reprogramming of human mesenchymal stem cells from healthy donors and patients with osteopetrosis with non-integrating RNA virus on feeder-free conditions

İnci Cevher¹, İrem Akar Soyca¹, Suray Pehlivanoğlu³, Betül Çelebi Saltık¹, Emine Kılıç⁴, Duygu Uçkan Çetinkaya¹, Fatma Visal Okur¹, Duygu Uçkan Çetinkaya², Fatma Visal Okur²

¹Hacettepe University Center for Stem Cell Research and Development, PediSTEM, Ankara, TURKEY

²Hacettepe University Faculty of Medicine Pediatric Hematology/Bone Marrow Transplantation Unit, Ankara, TURKEY

³Necmettin Erbakan University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Konya, TURKEY

⁴Hemosoft IT and Training Services R&D Department, Ankara, Turkey

Aim: Main purpose of this study is to generate human iPSCs from bone marrow-derived mesenchymal stem cells of healthy donor and children with osteopetrosis (rare inheritable childhood disease) and for developing a model for iPSC banking to store/supply ethically approved stem cells for medical research and new treatment. The Sendai virus vector-based production technique was chosen due to its high reprogramming efficiency and safety profile.

Material and Methods: Bone marrow-derived donor and patient mesenchymal stem cells (BM-MSCs) were reprogrammed by using CytoTune™-iPS 2.0 Sendai Reprogramming Kit. 80-85% confluent hMSCs in a 6-well plate were transduced with SeV vectors at an MOI of 3. Cells were replated on day 7 on matrigel-coated 10 cm dishes and fed with TeSR-E7 medium daily. The medium was switched to TeSR-E8 starting from day 14. IPS colonies which started to appear around day 21, were harvested with manual microdissection method. Alkaline phosphatase (AP), immunofluorescence (IF) staining and flowcytometry analysis were performed for characterization of both donor and patient-derived iPSC lines during early and late passages. Embryoid body and teratoma assays have been started in order to show pluripotency and karyotype analyses of generated lines were performed.

Results: Human embryoid stem cell colony morphology was observed in both donor and patient iPSC colonies (cells with increased nucleocytoplasmic ratio forming flat compact colonies with clear borders). By immunocytochemistry staining, it was shown on early and late passages that patient and donor iPSCs expressed human pluripotent stem cell markers such as ALP, SSEA-4 and TRA-1-81. By flow cytometric analysis, almost 85-95% of the cells were found positive for SSEA-4 and Oct3/4 and negative for CD29. Embryoid body (EB) formation and teratoma assays that are done to assess in vitro and in vivo pluripotency are still in progress. Genomic stability of iPSC lines were evaluated which by karyotype analysis and found as normal.

Conclusion: Generation of human iPSC lines using SeV-based non-integrating viral vectors seems to have an advantage over other genetic modification methods, due to ease of application and standardization besides its high efficiency and reliability.

Acknowledgments: *We are thankful to Jean J. Kim, PhD (Director) for providing expertise and Human Stem Cell Core of Baylor College of Medicine for continuous technical support. *This study is supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK), 1003-Primary Subjects R&D Funding Program, Project No: 213S236.

Keywords: iPSC, SeV, Osteopetrosis, MSC, Reprogramming

S23

Fare fibroblast, fare akciğer kanseri ve fare embriyonik kök hücrelerinde flavopiridol ve geldanamisinin terapötik etkilerinin ve hücre döngüsü bileşenleri, apoptozis, hücre iskeleti ilişkili moleküllerin karşılaştırılması

Hüseyin Aktuğ¹, Eda Açıkgöz², Ayşegül Uysal¹, Fatih Oltulu¹, Gülperi Öktem¹, Gürkan Yiğittürk¹, Kenan Demir¹, Altuğ Yavaşoğlu¹, Vildan Bozok Çetintaş³

¹Ege Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

³Ege Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

GİRİŞ: Fare deri fibroblast hücreleri (MSFs), skuamöz hücreli akciğer kanseri (SqCLCs) ve embriyonik kök hücrelerinin (mESCs) hücre döngüsü bileşenleri, apoptozis ve hücre iskeleti ilişkili moleküllerdeki benzerlikler ve farklılıkları, bu hücrelerin davranış ve diferansiyasyon kapasitesinde önemli belirleyicilerdir. Apoptotik yolları açıklamak ve hücre döngüsü-hücre iskeletinin karşılaştırmalı rolünü ve dağılımını incelemek için tumor biyolojisi ve kök hücre biyolojisinin onkogenesiz ve embriyogenesiz alanlarında birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Hücre döngüsü inhibitörü olan flavopiridolün (FLV) ve ısı-şok protein inhibitörü olan geldanamisinin (GLD) fare somatic, tumoral ve embriyonik kök hücrelerde özellikle hücre iskeleti proteinleri, hücre döngüsü regülatörleri, hücre polaritesi ve motilitesi üzerindeki değişimlere etkisini araştırmak çalışmanın temel amacıdır. **YÖNTEMLER:** . Tüm Fare hücre hatlarında; flavopiridol veya geldanamisin öncesi ve sonrası çeşitli gen ekspresyonu analizi, hücre döngüsü-flow cytometric analizi ve hücre iskeleti moleküllerinin immunfloresan analizleri gerçekleştirildi. **BULGULAR:** Flavopiridol uygulaması SqCLCs hücrelerinde hücre içi iskelet proteinlerinde, hücre polaritesinde ve hücre döngüsü bileşenlerinde belirgin derecede artışa neden olmuştur. FLV ve GLD uygulaması kanser hücrelerinde apoptozisi tetiklemiştir. Hücre içi iskelet, hücre polaritesi ve motilite genlerinin ekspresyonunun fare embriyonik kök hücrelerine kıyasla skuamöz hücreli akciğer kanseri hücrelerinde anlamlı derecede az olduğu ortaya konmuştur. **SONUÇ:** Embriyogenesiz ve karsinogenesiz arasındaki benzer/farklı moleküler mekanizmaları ortaya çıkaran bu sonuçlarımız, özellikle kanser hücrelerini hedef alan yeni tedavilerin geliştirilmesi için kritik öneme sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Hücre iskeleti, Fare embriyonik kök hücre, Hücre döngüsü, Isı şok protein inhibitörü, Hücre döngüsü inhibitörü, Tümör biyolojisi

Comparison of cell cycle components, apoptosis and cytoskeleton related molecules and therapeutic effects of flavopiridol and geldanamycin in mouse fibroblast, mouse lung cancer and mouse embryonic stem cells

Hüseyin Aktuğ¹, Eda Açıkgöz², Ayşegül Uysal¹, Fatih Oltulu¹, Gülperi Öktem¹, Gürkan Yiğittürk¹, Kenan Demir¹, Altuğ Yavaşoğlu¹, Vildan Bozok Çetintaş³

¹Department of Histology and Embryology, Ege University, İzmir, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Yuzuncu Yil University Faculty of Medicine, Van, Turkey,

³Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey,

INTRODUCTION: Similarities and differences in cell cycle components, apoptosis and cytoskeleton related molecules among mouse skin fibroblast cells (MSFs), mouse squamous cell lung carcinomas (SqCLCs) and mouse embryonic stem cells (mESCs) are important determinants of the behaviour and differentiation capacity of these cells. To reveal apoptotic pathways and to examine the distribution and the role of cell cycle-cell skeleton comparatively would necessitate tumor biology and stem cell biology to be assessed together in terms of oncogenesis and embryogenesis.

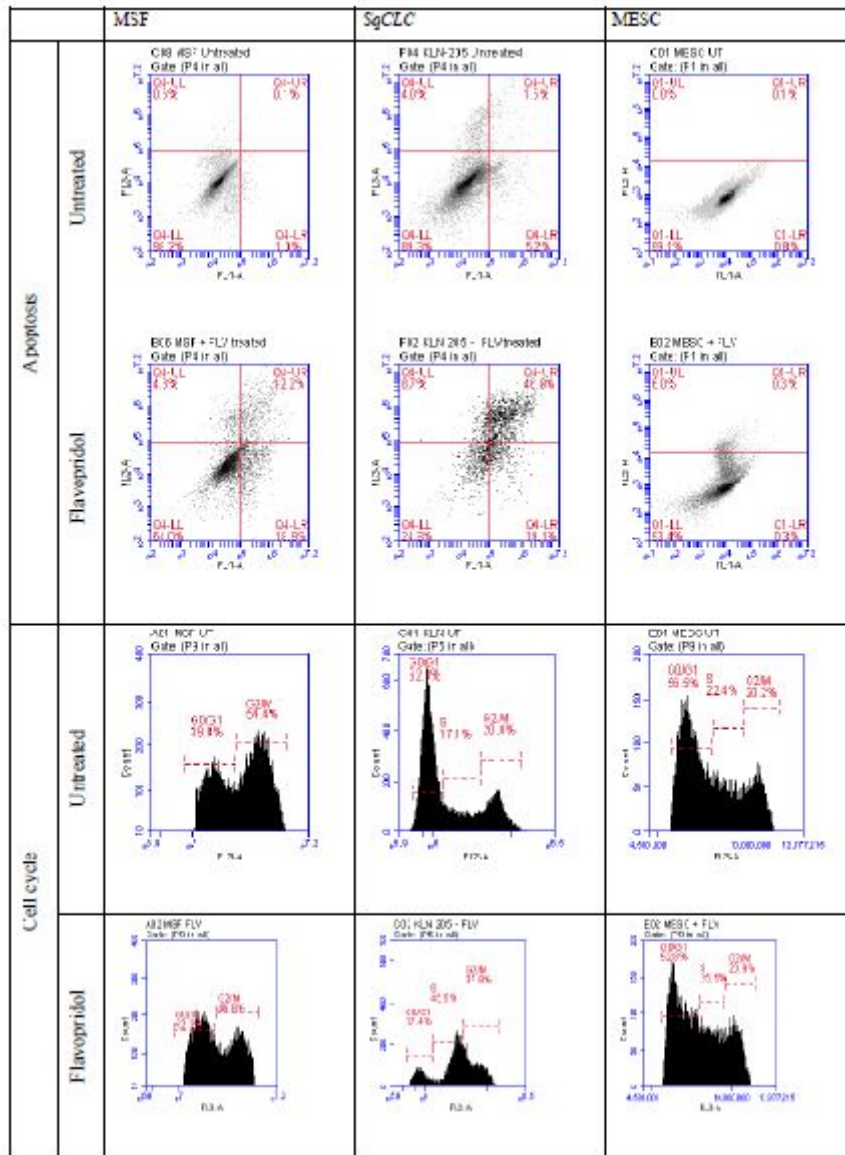
METHODS: The primary objectives of this study are to investigate the effects of flavopiridol, a cell cycle inhibitor, and geldanamycin, a heat shock protein inhibitor on mouse somatic, tumor and embryonic stem cells, by specifically focusing on alterations in cytoskeletal proteins, cell polarity and motility as well as cell cycle regulators. To meet these objectives, expression of several genes, cell cycle analysis and immunofluorescence staining of intracellular cytoskeletal molecules were performed in mouse cell lines pre and post flavopiridol or geldanamycin treatment.

RESULTS: Comparative analysis showed that flavopiridol administration significantly increased intracellular skeletal proteins, cell polarity and cell cycle components in SqCLCs. Comparative analysis of gene-array results revealed significantly lower expression levels of genes that are crucial for intracellular skeleton, cell polarity and motility in SqCLCs versus mESCs.

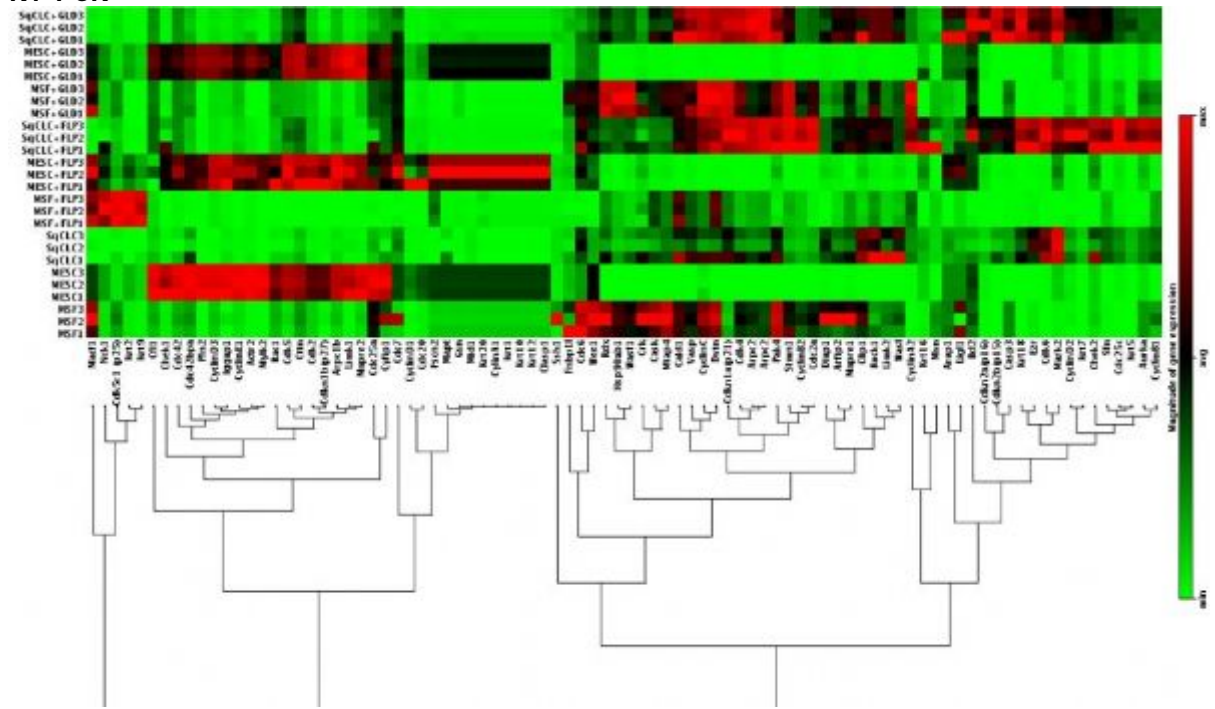
CONCLUSION: Our results revealing differences in molecular mechanisms between embryogenesis and carcinogenesis may prove crucial in developing novel therapeutics that specifically target cancer cells.

Keywords: Cell cytoskeleton, Mouse embryonic stem cell, Cell cycle, Heat shock protein inhibitor, Cell cycle inhibitor, Tumor biology

Apoptozis-Hücre Döngüsü
Apoptosis-Cell Cycle



RT-PCR
RT-PCR



S24

Yeni bir multi duvarlı karbon nanotüp tabanlı yapı iskelesinin insan meme kanseri hücre hattı (mcf-7) üzerine biyoyumluluğunun incelenmesi

Pinar Kılıçaslan Sönmez¹, Mahmud Özkut¹, Eser Metin Akinoglu³, Cengiz Kurtman⁴, Michael Giersig⁵, Sevinç İnan¹, Kemal Özbilgin¹

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı

²Freie Universität Berlin, Department of Physics, Berlin, Germany

³Max Planck Institute of Colloids and Interfaces, Potsdam-Golm, Germany

⁴Ankara University, School of Medicine, Ankara, Turkey

⁵Poznan University of Technology, Poznan, Poland

Yapı iskelesi uygulamaların hücre kültürü çalışmalarında kullanılması doku mühendisliğinin yeni konuları arasındadır. Multi (Çoğul) Duvarlı Karbon Nanotüp tabanlı nanostrüktürel yapı iskelesi yeni üretilen bir biyo malzeme olup, hücre kültürü çalışmalarında etkileri bilinmemektedir. Bu çalışmada, Multi Duvarlı Karbon Tabanlı Nanostrüktürel Yapı İskelesinin insan meme kanseri hücrelerinde (MCF-7) biyoyumluluğunu göstermeyi amaçlandı.

MCF-7 insan meme kanseri hücreleri, 10% FBS, 1% L-Glutamin, 1% Penisilin-Streptomisin içeren kültür vasatında çoğaltıldı. Hücrelerin materyal üzerine ekiminden önce MDKNT tabanlı yapı iskelesi 3 defa distile su ile yıkandı. Daha sonra etilen oksit uygulaması ile sterilize edildi. 12 gözlü hücre kültür plağının bir gözüne MDKNT tabanlı yapı iskelesi, diğer bir gözüne silikon referans materyali yerleştirilerek her birinin üzerine konfluent monolayer elde etmek amacıyla 1 x10⁵ adet hücre ekildi. Kültür vasatı gün aşırı değiştirildi ve 1 hafta sonra deney sonlandırıldı. Elde edilen hücrelerin yarısı immunhistokimyasal boyama yapılmak üzere kazıma yöntemiyle alındı. Hücreler santrifüjden geçirilerek damla metoduyla lam üzerine alındı. Materyallerin yüzeyinde kalan hücreler tarama elektron mikroskobu görüntüsü alınmak üzere glutraldehit ile fikse edildi.

Yapılan TEM analizinde MDKNT tabanlı yapı iskelesi hücrelerin yaygın olarak çoğaldığı gözlemlendi. Proliferasyon, migrasyon ve metastaz kabiliyetini karşılaştırmak amacıyla immunhistokimyasal yöntemlerle yapılan boyamada PI3K, AKT ve NF-KB antikorlarında herhangi anlamlı bir fark saptanmadı.

MDKNT tabanlı yapı iskelesinin meme kanseri çalışmaları için biyoyumlu olduğu tespit edildi ve MDKNT tabanlı yapı iskelesinin doku mühendisliği ve diğer biyomedikal uygulamalar için kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: MDKNT, meme kanseri, biyoyumlu

A novel multi walled carbon nanotube based scaffold and its biocompatibility in human breast adenocarcinoma cells

Pınar Kılıçaslan Sönmez¹, Mahmud Özkut¹, Eser Metin Akinoglu³, Cengiz Kurtman⁴, Michael Giersig⁵, Sevinç İnan¹, Kemal Özbilgin¹

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı

²Freie Universität Berlin, Department of Physics, Berlin, Germany

³Max Planck Institute of Colloids and Interfaces, Potsdam-Golm, Germany

⁴Ankara University, School of Medicine, Ankara, Turkey

⁵Poznan University of Technology, Poznan, Poland

The application of bioengineered scaffolds is recently one of the crucial factors in tissue engineering. Multi Walled Carbon Nanotube based nanostructurel scaffold (MWCNTs) is a novel biomaterial and its effects in cell culture studies are not known yet. In this study we aimed to show biocompatibility of MWCNTs in human breast cancer cell line (MCF7).

MCF-7 human breast cancer cells were cultered in cell culture medium RPMI 1640 containing 10% FBS, 1% L-glutamine, 1% penicillin-streptomycin. MWCNT based scaffold was washed with distilled water three times before the seeding cells onto the material. After that they were sterilized using the application of ethylene oxide. MWCNT based scaffold was placed on one well of 12-well cell culture cluster and silicon reference was placed on another well and 1×10^5 cells were seeded on wells to obtain a confluent monolayer. The culture medium was changed every other day and one week after the experiment was terminated. The half of the incubated cells were collected by scraping for immunohistochemical staining. The cells were centrifuged and put on slides using drop method. Remaining cells on the surface of materials were fixed with glutaraldehyde to be imaged by scanning electron microscope.

SEM analysis of cells which are cocultured with MWCNT-based scaffold were found to proliferate widely. The results of immunohistochemical staining of cells with PI3K, AKT ve NF-KB primary antibodies showed that there was no significant difference between groups compared to their ability of proliferation, migration and metastasis. These results demonstrated that the MWCNT based scaffold is biocompatible for breast cancer studies so MWCNT based scaffold and these properties made it to plausible potential candidate for tissue engineering or other biomedical applications.

Keywords: MWCNTs, breast cancer, biocompatible

S25

Neonatal farede kardiyak rejenerasyon mekanizmalarinin araştırılması

Doğacan Yücel¹, Galip Servet Aslan¹, Semih Arbatlı¹, Raife Dilek Turan¹, Merve Aksöz¹, İlkem Emrah Nikerel¹, Bayram Yılmaz², Alev Cumbul³, Ünal Uslu³, Remziye Döğner¹, Fatih Kocabaş¹

¹Yeditepe Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

²Yeditepe Üniversitesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

³Yeditepe Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

Neonatal farede kardiyak rejenerasyon mekanizmalarinin araştırılması

Doğacan Yücel¹, Galip Servet Aslan¹, Semih Arbatlı¹, Raife Dilek Turan¹, Merve Aksöz¹, İlkem Emrah Nikerel¹, Bayram Yılmaz², Alev Cumbul³, Ünal Uslu³, Remziye Döğner¹, Fatih Kocabaş^{1,*}

¹Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Fizyoloji Bölümü, Tıp Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Histoloji ve Embriyoloji Bölümü, Tıp Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

*fatih.kocabas@yeditepe.edu.tr

Son yapılan çalışmalara göre, memeli neonatal kalbinin yaralanma sonrasında tamamiyle yenilenme kapasitesi olduğu belirlenmiştir. Ancak bu olağanüstü rejenerasyon kapasitesi, farenin doğumundan 7 gün sonra önemli ölçüde azalmaktadır [1]. Bu değişim, kardiyomiyosit bölünmesinin durmasıyla ve yetişkin memelilerde kalp krizi sonrası fibrotik doku oluşmasıyla da gözlemlenebilir. Yakın tarihte Meis1 geninin kardiyojenik faktör olarak belirlenmesi ve neonatal fare modelinde kardiyomiyosit bölünmesi açısından önemi tarafımızca kanıtlanmıştır [2, 3]. Ancak, neonatal kardiyak rejenerasyonunun altında yatan diğer moleküler mekanizmalar henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada, tarafımızca belirlenmiş olan ve kardiyomiyosit bölünmesinde görev alması olası kardiyojenik faktörlerin, kalp rejenerasyonundaki görevlerini incelenmiştir. Seçilen genlerin kalpte ve spesifik olarak kardiyomiyositlerdeki gen anlatımlarının varlığı belirlenmiştir. Buna ek olarak, neonatal farede kalp rejenerasyonu sırasında Innp5d, Dnmt3a, c-Myc ve Cbl genlerinin anlatımlarının azaldığı da gözlemlenmiştir. Bu duruma paralel olarak, 7 günlük rejenerasyon kapasitesini kaybetmiş farede bu dört genin anlatımlarında artış görülmüştür. Elde ettiğimiz bu veriler Inpp5d, Dnmt3a, c-Myc ve Cbl genlerinin kardiyomiyosit bölünmesinde negatif rol oynayan faktörler olabileceği ve kalp rejenerasyonunu sağlamak amacıyla hedef alınabileceğini göstermektedir.

Referanslar:

1) Enzo R. Porrello, Ahmed I. Mahmoud, Emma Simpson, Joseph A. Hill, James A. Richardson, Eric N. Olson, and Hesham A. Sadek. "Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart." Science 331, no. 6020 (2011): 1078-1080.

2) Fatih Kocabas (co-first author), Ahmed I Mahmoud, Shalini A. Muralidhar, Wataru Kimura, Ahmed S. Koura, Suwannee Thet, Enzo R. Porrello, and Hesham A. Sadek. Meis1 regulates postnatal cardiomyocyte cell cycle arrest. Nature 497, no. 7448 (2013): 249-253.

3) Fatih Kocabas, Ahmed I Mahmoud, Shalini Muralidhar, Suwannee Thet, Enzo R. Porrello, Eric Olson, and Hesham A. Sadek. Meis1 is a key regulator of post-natal cardiomyocyte cell cycle arrest. Basic Cardiovascular Sciences 2012 Scientific Sessions, New Orleans, Louisiana, USA (July 23-26, 2012). Circulation Research. 111(4_MeetingAbstracts) Supplement 1, July 20, 2012.

Teşekkür: Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından desteklenmektedir (TÜBİTAK) [destek numarası 115S185]. Doğacan Yücel'in kendisi de TÜBİTAK-BİDEB 2209A programı tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kardiyak rejenerasyonu, Kardiyojenik faktörler, Kardiyomiyosit bölünmesi, Hücre biyolojisi

Analysis of underlying molecular mechanisms of neonatal cardiac regeneration

Doğacan Yücel¹, Galip Servet Aslan¹, Semih Arbatlı¹, Raife Dilek Turan¹, Merve Aksöz¹, İlkem Emrah Nikerel¹, Bayram Yılmaz², Alev Cumbul³, Ünal Uslu³, Remziye Döğür¹, Fatih Kocabaş¹

¹Department of Genetics and Bioengineering, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

²Department of Physiology, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

Analysis of underlying molecular mechanisms of neonatal cardiac regeneration

Doğacan Yücel¹, Galip Servet Aslan¹, Semih Arbatlı¹, Raife Dilek Turan¹, Merve Aksöz¹, İlkem Emrah Nikerel¹, Bayram Yılmaz², Alev Cumbul³, Ünal Uslu³, Remziye Döğür¹, Fatih Kocabaş^{1,*}

¹Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

²Department of Physiology, Faculty of Medicine, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

*fatih.kocabas@yeditepe.edu.tr

Neonatal mammalian heart has recently been shown to possess the capacity to regenerate completely after injury. This remarkable regenerative capacity is lost after postnatal day 7 [1]. This transition has been marked with cardiomyocyte cell cycle arrest and induction of fibrotic response similar to what occurs after myocardial infarction in adults. We have recently outlined the function of Meis1 as a new cardiogenic factor that plays a pivotal role in neonatal cardiac regeneration [2,3]. However, underlying molecular mechanisms of neonatal cardiac regeneration and other cardiogenic factors remained elusive. Here, we investigated the involvement of novel putative cardiogenic factors in neonatal cardiac regeneration and cardiomyocyte cell cycle withdrawal. We have confirmed their expression in the heart and cardiomyocytes. We have shown that expressions of Inpp5d, Dnmt3a, c-Myc and Cbl are significantly downregulated during neonatal cardiac regeneration process. Intriguingly, these four factors are upregulated in non-regenerative period of 7-day old mice after injury. Taken together, our findings suggest that Inpp5d, Dnmt3a, c-Myc and Cbl may be involved in the regulation of cardiomyocyte cell cycle progression and represent new targets for induction of cardiac regeneration.

References:

1) Enzo R. Porrello, Ahmed I. Mahmoud, Emma Simpson, Joseph A. Hill, James A. Richardson, Eric N. Olson, and Hesham A. Sadek. "Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart." *Science* 331, no. 6020 (2011): 1078-1080.

2) Fatih Kocabas (co-first author), Ahmed I Mahmoud, Shalini A. Muralidhar, Wataru Kimura, Ahmed S. Koura, Suwannee Thet, Enzo R. Porrello, and Hesham A. Sadek. Meis1 regulates postnatal cardiomyocyte cell cycle arrest. *Nature* 497, no. 7448 (2013): 249-253.

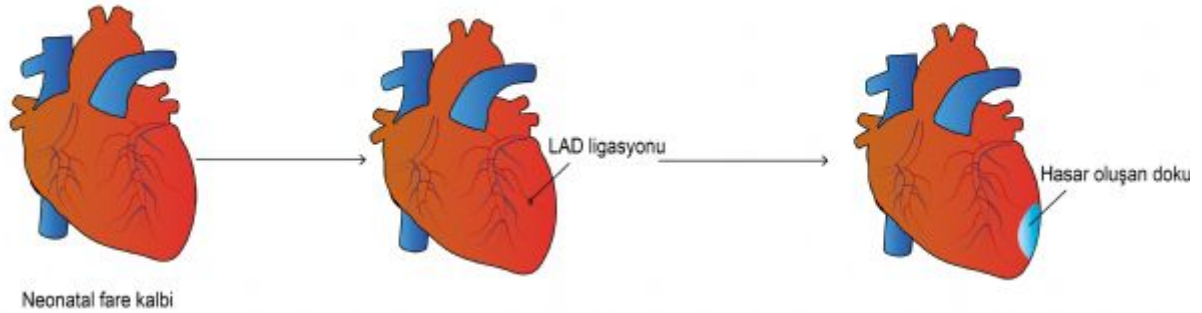
3) Fatih Kocabas, Ahmed I. Mahmoud, Shalini Muralidhar, Suwannee Thet, Enzo R. Porrello, Eric Olson, and Hesham A. Sadek. Meis1 is a key regulator of post-natal cardiomyocyte cell cycle arrest. *Basic Cardiovascular Sciences 2012 Scientific Sessions, New Orleans, Louisiana, USA (July 23-26, 2012)*. *Circulation Research*. 111(4_MeetingAbstracts) Supplement 1, July 20, 2012.

Acknowledgments: This study is funded by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) [grant-no 115S185]. DY has been supported by TÜBİTAK-BİDEB 2209A program.

Keywords: Cardiac regeneration, Cardiogenic factors, Cardiomyocyte proliferation, Cell biology

Neonatal Farede LAD Operasyonu LAD Ligation in Neonatal Mouse

Farede Uygulanan LAD Ligasyonunun Şematik Gösterimi

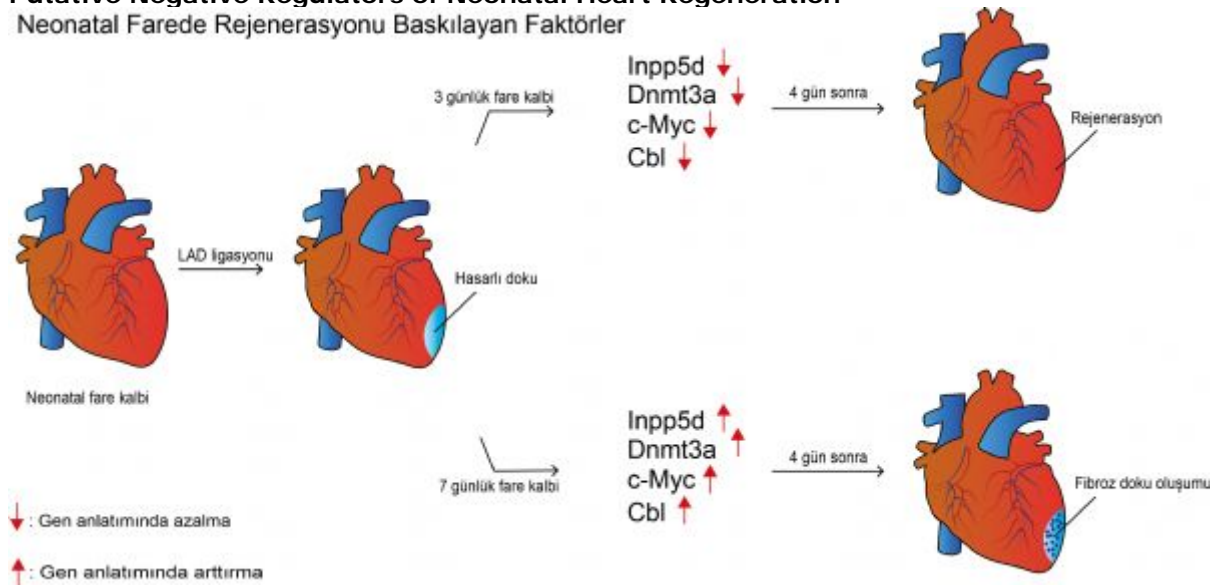


Neonatal fare kalbi

Kalbin rejenerasyonu sırasında yapacağımız çalışmalar için yavru farede şekildeki gibi LAD ligasyonu yöntemi ile kalpte doku hasarı oluşturuldu.
We constructed the LAD injury model to compare gene profiles in regenerating and non-regenerating hearts.

Neonatal Farede Rejenerasyonu Baskılayan Faktörler Putative Negative Regulators of Neonatal Heart Regeneration

Neonatal Farede Rejenerasyonu Baskılayan Faktörler



Arastirmamız sonucunda yavru fare rejenerasyon olurken anlatımı azalan ve rejenerasyonun baskılandığı sürede anlatımı artan genler. Bu durum genlerin rejenerasyonu baskılandığını önermektedir.

Four factors that have been identified as negative regulators of neonatal heart regeneration. During regeneration, expressions of these genes were downregulated whereas in non-regenerating heart model, these genes were upregulated.

Rejenerasyon olan ve olmayan kalpteki gen anlatımlarındaki değişim

Kardiyojenik faktör	Rejenerasyon olan kalpte gen anlatımındaki değişim	Rejenerasyon olmayan kalpte gen anlatımındaki değişim
Inpp5d	4.24 kat azalma	2.11 kat artış
Itch	1.19 kat artış	2.57 kat artış
Dnmt3a	3.65 kat azalma	1.90 kat artış
c-Myc	5.10 kat azalma	2.28 kat artış
Cbl	3.36 kat artış	1.10 kat artış
Gfi1b	1.22 kat artış	1.49 kat azalma

Gene profiles of putative factors in regenerating and non-regenerating hearts

Putative cardiogenic factor	Change in gene expression in regenerating heart	Change in gene expression in non-regenerating heart
Inpp5d	4.24 fold decrease	2.11 fold increase
Itch	1.19 fold increase	2.57 fold increase
Dnmt3a	3.65 fold decrease	1.90 fold increase
c-Myc	5.1 fold decrease	2.28 fold increase
Cbl	3.36 fold decrease	1.10 fold increase
Gfi1b	1.22 fold increase	1.49 fold increase

Kaynakça / References: 1) Enzo R. Porrello, Ahmed I. Mahmoud, Emma Simpson, Joseph A. Hill, James A. Richardson, Eric N. Olson, and Hesham A. Sadek. "Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart." *Science* 331, no. 6020 (2011): 1078-1080. 2) Fatih Kocabas (co-first author), Ahmed I Mahmoud, Shalini A. Muralidhar, Wataru Kimura, Ahmed S. Koura, Suwannee Thet, Enzo R. Porrello, and Hesham A. Sadek. Meis1 regulates postnatal cardiomyocyte cell cycle arrest. *Nature* 497, no. 7448 (2013): 249-253. 3) Fatih Kocabas, Ahmed I Mahmoud, Shalini Muralidhar, Suwannee Thet, Enzo R. Porrello, Eric Olson, and Hesham A. Sadek. Meis1 is a key regulator of post-natal cardiomyocyte cell cycle arrest. *Basic Cardiovascular Sciences 2012 Scientific Sessions, New Orleans, Louisiana, USA (July 23-26, 2012). Circulation Research. 111(4_MeetingAbstracts) Supplement 1, July 20, 2012.*

S26

Nazal polipozis' de apoptozla ilişkili yollar: MAPK/JNK ve PI3K/mTOR Yollarının önemi

Fatma Şimşek¹, Erdem Eren², Selen Bahçeci¹, İbrahim Aladağ²

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Histoloji ve Embriyoloji Bölümü, İzmir, Türkiye

²İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Bölümü, İzmir, Türkiye

GİRİŞ: Nazal polip, rekürrenslerle ilerleyen bu nedenle hayat kalitesini düşüren bir hastalıktır. Nazal poliplerin genel populasyonda görülme sıklığı tam olarak bilinmemesine rağmen KBB polikliniğinde en sık rastlanan nazal kitlelerdir. Nazal polipte apoptotik yolların etkisi özellikle de hangi yolların etkili olduğu henüz belli değildir. Çalışmamızda nazal polip dokusunda apoptotik (MAPK/JNK) ve antiapoptotik (PI3K/mTOR) yolların histokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

METOD: 20 tane nazal polip ve 15 tane hipertrofik konkak dokularından alınan örnekler parafine gömülmüş, apoptozla ilişkili yollara H&E ve immunohistokimya metodları ile bakılmıştır. Ayrıca Tunel metodu ile de dokunun neresinde ve özellikle hangi hücrelerde apoptozun meydana geldiği gösterilmiştir. Gruplar arası karşılaştırma Mann Whitney U testi ile yapılmıştır. P<0,05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

SONUÇLAR: İmmunohistokimyasal boyama sonucunda nazal polipli dokularda P38, MAPK ve JNK immunoreaktivitesi konkak hipertrofisi olan dokulara göre azalmış olarak gözlenmiştir (P <0.005). Buna rağmen anti-apoptotik belirteçler olan PI3K ve mTOR immunoreaktivitesi nazal polipli dokularda artmıştır. TUNEL boyaması ile nazal polipli dokulardaki apoptotik hücre yüzdesi hipertrofik konkaya göre daha az bulunmuştur (P <0.005).

TARTIŞMA: Pro-apoptotik (MAPK/JNK) ve anti-apoptotik (PI3K/mTOR) yolların nazal polip patogeneğinde rol oynadığı görülmüştür. Pro-apoptotik moleküllerin salınımının özellikle eozinofil hücrelerinde azalmış olması polip gelişimine yol açabilecek faktörlerden biri olabilir.

Anahtar Kelimeler: Nazal polip, apoptoz, immunohistokimya, eozinofil, tunel

Apoptosis related pathways in the nasal polyposis: Importance of MAPK/JNK and PI3K/mTOR Pathways

Fatma Şimşek¹, Erdem Eren², Selen Bahçeci¹, İbrahim Aladağ²

¹Izmir Katip Celebi University Atatürk Education and Research Hospital, Department of Histology and Embryology, Izmir, Turkey

²Izmir Katip Celebi University Atatürk Education and Research Hospital, Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery Clinic, Izmir, Turkey

BACKGROUND: Nasal polyposis is a progressive disease with recurrence so it reduce the quality of life. Although incidence of general population of nasal polyposis isn't known exactly, they are the most common nasal masses that seen in Otolaryngology polyclinics. Effects of apoptotic pathways especially effective pathway in nasal polyposis is not yet clearly known. In this study we aimed to investigate apoptotic (MAPK/JNK) and anti-apoptotic (PI3K/mTOR) pathways in the nasal polyposis tissues.

METHODS: We studied the pathways of related the apoptosis in paraffin-embedded nasal tissue sections of 20 nasal polyps and 15 turbinate hypertrophy by H&E and immunohistochemistry. Also using tunel method the nuclear DNA fragmentation of apoptosis was determined and showed the apoptosis especially in which cells of tissues. Comparisons between groups were evaluated with Mann Whitney U test. Differences were considered to be significant when $p < 0.05$.

RESULTS: As a result of immunohistochemical staining, decreased immunoreactivity of P38 MAPK and JNK were observed in nasal polyp tissues when compared to turbinate hypertrophy ($P < 0.005$). Whereas the anti-apoptotic markers are PI3K and mTOR immunoreactivities are increased in nasal polyp tissues. TUNEL staining of sections indicated percentage of apoptotic cells in the nasal polyposis were lower than in the turbinate hypertrophy ($P < 0.005$).

CONCLUSION: Proapoptotic (MAPK/JNK) and antiapoptotic (PI3K/mTOR) pathways were involved in the pathogenesis of nasal polyps. The decreased expression of proapoptotic molecules in especially in eosinophils may be one of the contributing factor for development of polyps.

Keywords: Nasal polyposis, apoptosis, immunohistochemistry, eosinophil, tunel

S27

Sjögren Sendromu Tanılı Hastalarda, Tükrük Bezinde Mast Hücreleri ve Notch Sinyalizasyonu İlişkisinin Araştırılması

Sema Avcı¹, Berkant Avcı², Hakan Soylu¹, Nuray Acar¹, Özlem Özbey¹, Münevver Kahraman³, Ender Terzioğlu², İsmail Üstünel¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları/Romatoloji Anabilim Dalı, Antalya

³Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi, Antalya

Mast hücrelerince ortama salınan bioaktif mediatörler, mikroçevreyi değiştirerek fizyolojik ve immünolojik tepkiler de dahil hücreler arası iletişimi etkiler. Bu nedenle mast hücre fonksiyonlarının yetersiz düzenlenmesi, organizma için yıkıcı etkilere neden olarak birçok kronik alerjik/inflamatuar, oto-immün hastalıklar ve bazı kanserlerin patojenezinde rol oynamaktadır (1,2). Otoimmün bir hastalık olan Sjögren sendromu, ekzokrin bezlerde lenfosit birikimine bağlı salgı fonksiyonlarında bozulma ve klinik olarak ağız ve göz kuruluğu gibi semptomlar ile karakterizedir (3). Notch sinyalizasyonu, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoz gibi birçok hücre fonksiyonunda rolü olan ve birçok canlı türünde var olduğu gösterilmiş önemli bir yoldur. Mast hücrelerinde Notch reseptörü ve ligandlarının bazılarının eksprese edildiği özellikle MHC-II ekspresyonunu indüklediği daha önce yapılan bazı çalışmalarda belirtilmiştir(4,5). Bununla birlikte, Sjögren sendromu tanısı alan hastalarda, tükrük bezinde Mast hücreleri ve notch sinyalizasyonu bağlantısı ile ilişkili henüz bir çalışmanın bulunmaması nedeni ile bu konuyu araştırmayı amaçladık.

Çalışmada; 30 adet hastaya ait tanısal amaçlı rutin tükrük bezi biyopsi materyali (n:30) immunohistokimyasal değerlendirmeler için kullanıldı. Söz konusu doku materyalinde Notch-1, Notch-2, Notch-3, Notch-4, Jagged-1, Jagged-2, HEY-1 ve HES-5 immunolokalizasyonları belirlendi. Bununla birlikte mast hücrelerine ait doğrulama boyamaları triptaz ile çiftli immünoboyama ve immünofloresan yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen görüntülerdeki immünoboyama yoğunlukları, Image J yöntemiyle değerlendirilerek Student- t testi ile istatistiksel olarak analiz edildi. Ayrıca; biyopsi örneği alınan hastalardan alınan serum örneklerinde IgG2 düzeyleri flowsitometrik olarak araştırıldı ve hastalık tanısı açısından ilişkilendirildi.

Bulgularımıza göre; normal doku örneklerinde Notch reseptör ve ligandlarına ait boyanmaların daha çok seröz son kısımlar, boşaltım kanalına ait epitel hücrelerinde yoğunlaştığı, özellikle Notch 1 reseptörü ile Jagged 1 ligandı ve HEY1 ekspresyonlarının mast hücrelerince yoğun olarak gerçekleştirildiği ve hasta grubunda Notch 1 reseptör, Jagged 1 ligand ve Hey1 ekspresyonlarının epitelyal ve stromal kompartımanda azaldığı görüldü.

Sonuç olarak, çalışılan Notch reseptör ve ligandlarının gerek tükrük bezinde yapılan salgılama işlemi gerekse de Sjögren hastalığının gelişim sürecinde etkin olabileceği ve mast hücrelerinin bu olaya büyük ölçüde katkı sağlayabileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Sjögren, Notch sinyal yolu, Mast hücresi

The Relation Between Mast Cells and Notch Signalization In The Salivary Glands of Patients Diagnosed With Sjogren's Syndrome

Sema Avcı¹, Berkant Avcı², Hakan Soylu¹, Nuray Acar¹, Özlem Özbey¹, Münevver Kahraman³, Ender Terzioğlu², İsmail Üstünel¹

¹Akdeniz University, Medical Faculty, Department of Histology and Embryology, Antalya

²Akdeniz University, Medical Faculty, Department of Internal Diseases/Rheumatology, Antalya

³Akdeniz University, Health Sciences Research and Application Center, Antalya

The bioactive mediators released by the mast cells change the micro environment and effect the intercellular communication including the physiological and immunological reactions. Therefore, the insufficient regulation of mast cell functions plays a role in numerous chronic allergic/inflammatory, auto-immune diseases and certain cancer pathogenesis by causing destructive effects for the organism(1,2). Sjogren's syndrome, which is an auto-immune disease, is characterized with symptoms such as secretion function disorders due to lymphocyte accumulation in exocrine glands and clinically dryness of mouth and eyes(3). Notch signalization is an important pathway which has a role in numerous cellular functions such as cell proliferation, differentiation and apoptosis which is present in numerous species. It was previously stated that some notch receptors and ligands have been expressed in the mast cells and especially MHC-II expression has been induced(4,5). However, since there isn't any study about the relationship between mast cells and notch signalization in the salivary glands of patients diagnosed with Sjogren's syndrome yet, we aimed to investigate it. In our study, the routine diagnostic salivary gland biopsy material (n: 30) of 30 patients has been used for the immunohistochemical evaluations. In the relevant tissue material, Notch-1, Notch-2, Notch-3, Notch-4, Jagged-1, Jagged-2, Hey-1 and Hes-5 immunolocalizations have been determined. In addition to this, the conformational staining of the mast cells has been performed by using with tryptase dual immunostaining and immunofluorescence method. The immunostaining densities of the images were evaluated by Image J and statistically analyzed with Student-t test. Additionally, IgG2 levels of serum samples received from the patients have been investigated by flow cytometry and correlated in terms of disease diagnosis.

According to our findings; normal tissue samples that immunostaining of Notch receptors and ligands, mostly concentrated in the epithelial cells and the serous last part of the discharge channel. Notch 1 receptor, Jagged 1 ligand and Hey1 expressions that were intensely expressed by mast cells and Notch 1 receptor, Jagged 1 ligand and Hey1 expressions were decreased in epithelial and stromal compartment of patient group.

As a conclusion, it is possible to say that Notch receptors and ligands studied can be effective both on the salvation process of the salivary glands and development process of Sjogren's syndrome and mast cells may have an important contribution to this situation.

Keywords: Sjogren's, Notch signal pathway, Mast cell

Kaynakça / References: 1- da Silva EZ, Jamur MC, Oliver C. Mast Cell Function: A New Vision of an Old Cell. *J Histochem Cytochem.* 2014 October; 62(10): 698–738. doi: 10.1369/0022155414545334. 2- Galli S, Tsai M. (2008). Mast cells: versatile regulators of inflammation, tissue remodeling, host defense and homeostasis. *J Dermatol Sci* 49: 7-19. 3- Yamamoto T, Katayama I, Nishioka K. Mast cell numbers in multiple dermatofibromas. *Dermatology.* 1995; 190(1):9-13. 4- Christy AL, Brown MA. The multitasking mast cell: positive and negative roles in the progression of autoimmunity. *J Immunol.* 2007 Sep 1; 179(5):2673-9. 5- Nakano N, Nishiyama C, Yagita H, Koyanagi A, Akiba H, Chiba S, Ogawa H, Okumura K. Notch signaling confers antigen-presenting cell functions on mast cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2009 Jan; 123(1): 74-81.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2008.10.040.

S28

Deneyisel olarak oluşturulmuş hipotiroid, hipertiroid ve ötroid modellerinde miyokardiyal yağ asidi metabolizması ile inflamasyon arasındaki ilişkinin incelenmesiEzgi Nuriye Bektur¹, Cengiz Bayçu¹, Erhan Şahin¹, Dilek Burukoğlu Dönmez¹, Bilgin Kaygısız²¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

Tiroid hormonu (TH), fizyolojik ve gelişim sürecinde kritik bir düzenleyici göreve sahiptir. Öncü tiroid hormonu olan L-tiroksin (T4), kısa ömürlü aktif hormon olan Triiyodotronin (T3)'e dönüşmesi ile organlar üzerinde etkilerini göstermektedir. T3, yetişkinde kardiyomiyositlerin uzunluğunda baskın bir artış, artan kardiyak kontraktilite, sistolik hipertansiyon ve artan kardiyak outputlar ile karakterize fizyolojik tipte kardiyak hipertrofiye neden olmaktadır. Buna karşılık uzun süreli hipotiroidizm, diastolik hipertansiyon, azalan kardiyak output ve kalbin atış hacminde azalmanın yanı sıra dilatasyon ve kalp yetmezliğine neden olmaktadır. Hipertiroidizmde hipermetabolik durum artan reaktif oksijen radikalleri (ROS) ile ilişkili iken hipotiroidizmden kaynaklanan hipometabolik durum azalan reaktif oksijen radikallerinin üretimi ile ilişkilidir. ROS'lar inflamasyon bozukluk sürecinde önemli rol oynayan anahtar moleküllerdir. Kalpte enfeksiyon sonucu meydana gelen inflamasyon miyokardiyal hasara neden olmaktadır. Bazı durumlarda inflamatuvar yanıtlar enfeksiyon yokluğunda da oluşmaktadır. Bu tip inflamasyona steril inflamasyon denir. NLRP3 (Cryopyrin) steril inflamasyon sürecinde görev alan önemli proteinlerden biridir.

Çalışmamızda amacımız hipertiroid, hipotiroid ve ötroid modellerinin kalp dokularında beta yağ asidi oksidasyonu sonucunda oluşan ROS'ların steril inflamazom ürünü olan NLRP3 ile ilişkisini incelemektir. Bu amaçla 21 adet dişi Wistar albino ratları 3 gruba böldük. Bunlar hipertiroid (12 mg/l L-Thyroxine, 4 hafta), hipotiroid (% 0.05 6-n-propil-2-thiourasil, 3 hafta) ve eutroid gruplardır. Süre sonunda intrakardiyak yolla alınan kan örneklerinden T3, T4 ve TSH düzeyleri ELISA yöntemiyle, sol ventrikülden alınan doku örneklerinden ise MDA düzeyi fotometrik yöntemiyle, histopatolojik analiz hematoksilen-eozin boyama ile, apoptotik hücreler TUNEL yöntemiyle; NLRP3, CPT-1, Nfκβ, Caspase-1 düzeyleri ise western blot ve immünohistokimya yöntemleri ile incelendi. Çalışmamızın sonucunda hipotiroid grubunda kontrol grubuna göre T3, T4 düzeyi düşüp TSH düzeyi yükselirken; hipertiroid grubunda ise T3, T4 düzeyi yükselip TSH düzeyi düşmüştür. MDA düzeylerine baktığımızda ise kontrol grubuna göre hipertiroid grubunda daha belirgin olmak üzere hipotiroid grubunda da belirgin bir artış gözlenmiştir. Hipertiroid grubunda büyük, koyu çekirdeklere sahip hipertrofik kalp kası hücreleri, miyokardiyal atrofi, miyokardiyal hücrelerin sitoplazmalarında vakuol ve piknotik çekirdekler belirlenmiştir. Hipotiroid grubunda ise lökosit infiltrasyonu, miyokardiyal atrofi, miyokard hücre sitoplazmalarında vakuol ve piknotik çekirdekler görülmüştür. Hipertiroid grubundaki belirgin MDA artışına paralel olarak CPT-1 ekspresyonu hem western blot hem de immünohistokimya analizlerinde artmıştır. Steril inflamazomu oluşturan NLRP3 ve Caspase-1 antikoru hipotiroid grubunda hem western blot hem de immünohistokimya da belirgin artış gösterirken; Nfκβ hipotiroid grubunda belirgin düşüş göstermiştir. Apoptotik hücre ölümüne baktığımızda ise hem hipertiroid hem de hipotiroid gruplarında TUNEL pozitif reaksiyon gözlenmiştir.

Sonuç olarak artan yağ asidi oksidasyonuna paralel hipotiroid grubunda hücre ölümü NLRP3 inflamazom yolağından ilerlerken, hipertiroid grubunda Nfκβ yolağından gittiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Hipertiroid, Hipotiroid, İnflamasyon, Kalp, NLRP3

Investigate the relationship between myocardial fatty acid metabolism and inflammation at experimentally induced hypothyroidism, hyperthyroidism, and euthyroid models

Ezgi Nuriye Bektur¹, Cengiz Bayçu¹, Erhan Şahin¹, Dilek Burukoğlu Dönmez¹, Bilgin Kaygısız²
¹Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Eskisehir, Turkey

²Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Eskisehir, Turkey

Thyroid hormone (TH) has a critical regulatory role on many physiological and developmental processes. The precursor of thyroid hormone levothyroxine (T4) turns into the active hormone Triiodotronin (T3) and shows the effects on organs. T3 causes an increasing in the length of the cardiomyocytes, cardiac contractility, systolic hypertension and increased cardiac output that characterizes physiological types cardiac hypertrophy. In contrast, long-term hypothyroidism causes diastolic hypertension, reduced cardiac output and heart rate as well as heart failure and dilatation. Hypermetabolic state in hyperthyroidism is associated with increased reactive oxygen species (ROS) whereas hypometabolic state in hypothyroidism is associated with reduced the production of ROS that are key molecules that play an important role in the process of inflammation disorders. Inflammation causes myocardial injury. In some cases, it consists in the absence of inflammatory responses. This type of inflammation is named sterile inflammation. NLRP3 (Cryopyrin) is one of the major proteins that is involved in the process of sterile inflammation.

The aim of our study, to examine the relationship between NLRP3 and ROS that occurs in β -oxidation of fatty acids in heart tissue. For this purpose, 21 female Wistar albino rats were divided into 3 groups that were hyperthyroid (12mg/l L-Thyroxin, 4 weeks), hypothyroid (0.05% 6-n-propyl-2-thiouracil, 3weeks) and euthyroid group. T3, T4 and TSH levels were measured by ELISA. Left ventricles were used for MDA measurement by photometric method, for histopathological analysis, for determining the apoptotic cells by TUNEL method and for NLRP3, CPT-1, Nf κ B, Caspase-1 levels with western blot and immunohistochemistry methods.

At the end of our study, when we compared hypothyroid to euthyroid group, T3, T4 decreased, TSH levels increased whereas T3, T4 increased, TSH levels decreased in hyperthyroid group. MDA levels increased both hypothyroid and hyperthyroid but significantly increased in hyperthyroid compared to euthyroid group. Hypertrophic heart muscle cells with dark nucleus, myocardial atrophy, cytoplasmic vacuoles and pyknotic nuclei were seen in hyperthyroid myocards. Infiltration, vacuoles, pyknotic nuclei and myocardial atrophy were observed in hypothyroid myocard. Increasing of MDA was parallel to increase of CPT-1 expression in both western blot and immunohistochemistry. NLRP3 and Caspase-1 antibodies that were occurred sterile inflammasome increased in western blot and immunohistochemistry whereas Nf κ B significantly decreased in hypothyroidism. TUNEL positive reactions were observed in hyperthyroid and hypothyroid groups. In conclusion, we believe that the increasing fatty acid oxidation causes cell death in the hypothyroid in NLRP3 inflammasome pathway whereas Nf κ B pathway in hyperthyroid group.

Keywords: Heart, Hyperthyroid, Hypothyroid, Inflammation, NLRP3

S29

Eritropoietin'nin Deneysel Parkinson Sıçan Modelinde Nöroprotektif Etkisi

Oytun Erbaş¹, Bilge Piri Çınar², Volkan Solmaz³, Kubilay Doğan Kılıç⁴, Türker Çavuşoğlu⁵, Yiğit Uyanıkgil⁵, Utku Ateş⁶

¹İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²Giresun Devlet Hastanesi, Giresun

³Turhal Devlet Hastanesi, Nöroloji Ana Bilim Dalı, Tokat

⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

⁵Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı & Ege Üniversitesi, Kordon Kanı, Hücre- Doku Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir

⁶İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

Parkinson hastalığındaki (PD) dopaminerjik nöronal kayıp; oksidatif stres, nöroinflamasyon ve eksitotoksiteden kaynaklanmaktadır. Eritropoietinin antioksidan, anti-inflamatuar ve nöroprotektif etkisi olduğu birçok çalışmada gösterildiğinden, bu çalışma rotenon ile indüklenmiş dopaminerjik nöronal kayıpta EPO'nun etkisini değerlendirmek için tasarlandı. Rotenon ile sterotaksik metot ile PD modeli oluşturulmuş sıçanlarda MDA ve TNF-alfa seviyelerinin arttığı, HVA (homovalinik asit) seviyesinin azaldığı görülmüştür. Diğer yandan EPO tedavisi MDA ve TNF-alfa seviyelerini düşürüp, HVA seviyesini yükseltmiştir. Rotenon-infüze gruptaki EPO tedavisi striatal alanda nörodejenerasyonda iyileşmeye ve immünohistokimyasal TH (tirozin hidroksilaz) pozitif nöron sayısında anlamlı bir artışa sebep olmuştur. Bu çalışmadaki sonuçlar EPO'nun rotenon ile oluşturulmuş nörodejeneratif hayvan modeli üzerindeki nöroprotektif, anti-inflamatuar ve antioksidan etkisini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Eritropoietin, Parkinson hastalığı, Nöroprotektif etki, Antioksidan, Anti-inflamatuar

The neuroprotective effect of erythropoietin on experimental Parkinson model in rats

Oytun Erbaş¹, Bilge Piri Çınar², Volkan Solmaz³, Kubilay Doğan Kılıç⁴, Türker Çavuşoğlu⁵, Yiğit Uyanıkgil⁵, Utku Ateş⁶

¹Department of Physiology, Istanbul Bilim University Faculty of Medicine, Izmir, Turkey

²Giresun State Hospital, Giresun, Turkey

³Department of Neurology, Turhal State Hospital, Tokat, Turkey

⁴Department of Histology and Embryology, Ege University School of Medicine, Izmir, Turkey

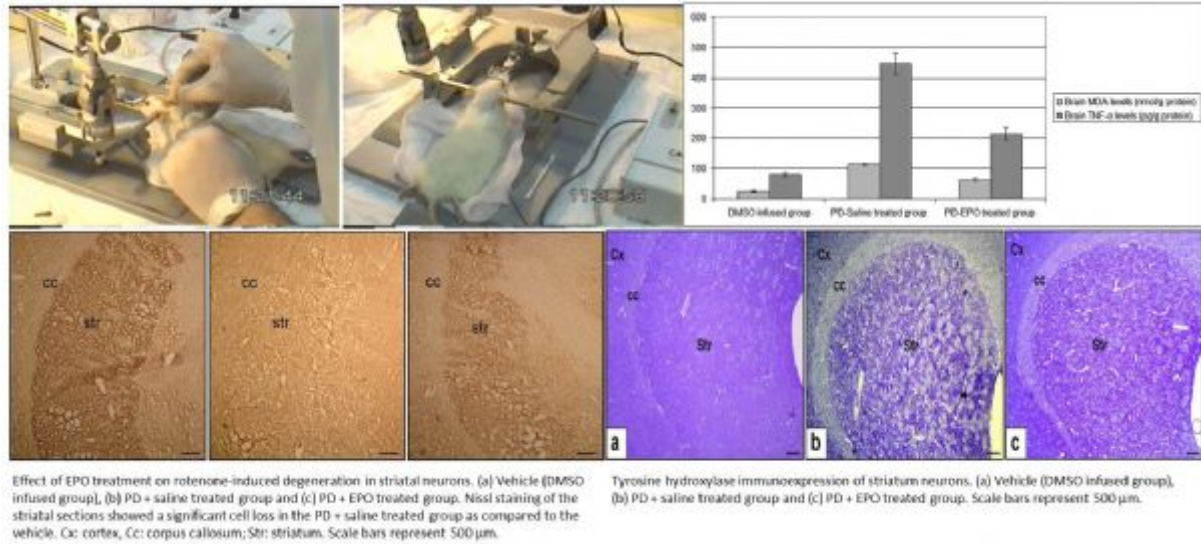
⁵Department of Histology and Embryology, Ege University School of Medicine & Cord blood Cell-Tissue Research and Application Center, Ege University, Izmir, Turkey

⁶Department of Histology and Embryology, Istanbul Bilim University Faculty of Medicine, Izmir, Turkey

Dopaminergic neuronal loss in Parkinson's disease (PD) results from oxidative stress, neuroinflammation and excitotoxicity. Because erythropoietin (EPO) has been shown to have antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects in many previous studies, present study was designed to evaluate the effect of EPO on rotenone-induced dopaminergic neuronal loss. The rats in which PD was induced by stereotaxical infusion of rotenone showed increased MDA and TNF-alpha levels and decreased HVA (homovalinic acid) levels. On the other hand, EPO treatment resulted in markedly decreased MDA and TNF-alpha levels and increased HVA levels. EPO treatment in rotenone-infusion group resulted in improvement of striatal neurodegeneration and a significant increase in decreased total number of neurons and immunohistochemical TH (tyrosine hydroxylase) positive neurons. Results of the present study demonstrate the neuroprotective, anti-inflammatory and antioxidant effects of EPO in a rotenone-induced neurodegenerative animal model.

Keywords: Erythropoietin, Parkinson's disease, Neuroprotective effect, Antioxidant, Anti-inflammatory

Figür 1
Figure 1



Kaynakça / References: 1)Bredesen, D.E., Rao, R.V., Mehlen, P., 2006. Cell death in the nervous system. *Nature* 19, 796–802. 2)Kumral, A., Gonenc, S., Acikgoz, O., et al., 2005. Erythropoietin increases glutathione peroxidase enzyme activity and decreases lipid peroxidation levels in hypoxicischemic brain injury in neonatal rats. *Biol. Neonate* 87 (1), 15–18. 3)Xiong, N., Huang, J., Zhang, Z., Zhang, Z., Xiong, J., Liu, X., et al., 2009. Stereotaxical infusion of rotenone: a reliable rodent model for Parkinson's disease. *PLoS ONE* 4 (11), 7878.

S30

Dermis kökenli hücrelerin diyabetik yara modeli iyileşmesi üzerine etkisinin ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde araştırılması

Hasan Serdar Mutlu, Leyla Tapul

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

Diyabetik yaralar özellikle yangısal evrenin geç başlaması ve uzaması, yetersiz büyüme faktörü sentezi gibi sebeplerden dolayı geç iyileşmekte ve bu durum kişiyi enfeksiyonlara açık hale getirmenin ötesinde, ekstremiteler amputasyonuna sebep olabilecek kronik ülserlere de neden olabilmektedir. Diyabetik yaraların iyileşmesi üzerine, çeşitli kök hücre veya farklılaştırılmış hücre kaynaklarının transplantasyonunun etkisini incelemiş çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmanın amacı dermis kökenli hücrelerin olog transplantasyonunun diyabetik yara iyileşmesi üzerine etkisi incelenmektedir.

Bu çalışmada Streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan Sprague-Dawley soyu sıçanların sırtında açılan eksizyonel yara modelinin iyileşmesi üzerine dermis kökenli hücrelerin etkisi incelenmiştir. Çalışmada 3 grup kullanılmıştır: Birinci grupta yalnızca yara açılmış, ikinci grupta STZ ile diyabet oluşturulduktan sonra yara açılmış, üçüncü grupta ise deneysel diyabet oluşturulmadan önce sırt bölgesinden alınan deri parçası ile yapılan primer kültürde çoğaltılan hücreler, deneysel diyabet oluşturulup yara açıldıktan sonra intradermal olarak enjekte edilmiştir. Primer kültür çalışması için anestezisi altındaki, sıçanlardan aseptik koşullarda 5 mm çaplı biyopsi punch ile alınan sırt derisi parçası steril DMEM-F12 içinde hücre kültürü laboratuvarına getirilmiştir. İki adet steril bistüri yardımıyla yaklaşık 1 mm³'lük parçalar haline getirilen doku, DMEM-F12 medyum içerisinde 37 C0, %5 CO₂'de inkübe edilmiş ve hücrelerin çoğalması sağlanmıştır. Yaranın 5. ve 15.

günlerindeki iyileşme özellikleri, histolojik ışık ve elektron mikroskobu düzeyinde incelenmek üzere histolojik doku takip işlemlerinden sonra parafin ve epona gömülmüştür. Histokimyasal değerlendirme için hematoksilin-eozin, Metil Blue Van Gieson ve Gümüşleme boyaları kullanılmıştır. Her bir grup için Alfa düz kas aktini (α -SMA) ve Keratinosit büyüme faktörü/fibroblast büyüme faktörü-7 (KGF/FGF-7) ekspresyonu immünohistokimyasal olarak incelenmiştir.

Yapılan incelemede hücre transplantasyonu sonucunda, deneysel diyabet durumunda özellikle erken dönemde azalan α -SMA ve FGF-7 ekspresyonunun arttığı, yine deneysel diyabet grubuna ait kesitlerde yara alanında görülen çok sayıda yangısal hücrenin ortamdaki uzaklaştığı görülmüştür. Hücre transplante edilen grupta Metil Blue Van Gieson ve Gümüşleme boyanmış kesitlerde hücre transplante edilen grupta kolajen lif demeti oluşumu kontrol grubunda olduğu gibi düzene girdiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, diyabetik yara iyileşmesi çalışmalarında çeşitli kök hücre ve genetik olarak manipüle edilmiş hücre kaynaklarının kullanılmış olduğu bilgisi dahilinde tasarlanmış çalışmamızda, dermis bağ dokusundan elde edilen hücreler de yarayı iyileştirmiştir ve α -SMA ve FGF-7 ekspresyonunu arttırmıştır. Bu bilgiler ışığında bağ dokusu hücrelerinin de belirli şartlar altında mezenkimal kök hücre gibi davranabildiği düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: α -SMA, diyabet, FGF-7, histoloji, yara iyileşmesi

Light and electron microscopic investigation of the effects of dermis derived cells of diabetic wound healing model

Hasan Serdar Mutlu, Leyla Tapul

Department of Histology and Embryology, İstanbul Medicine Faculty, İstanbul University, İstanbul

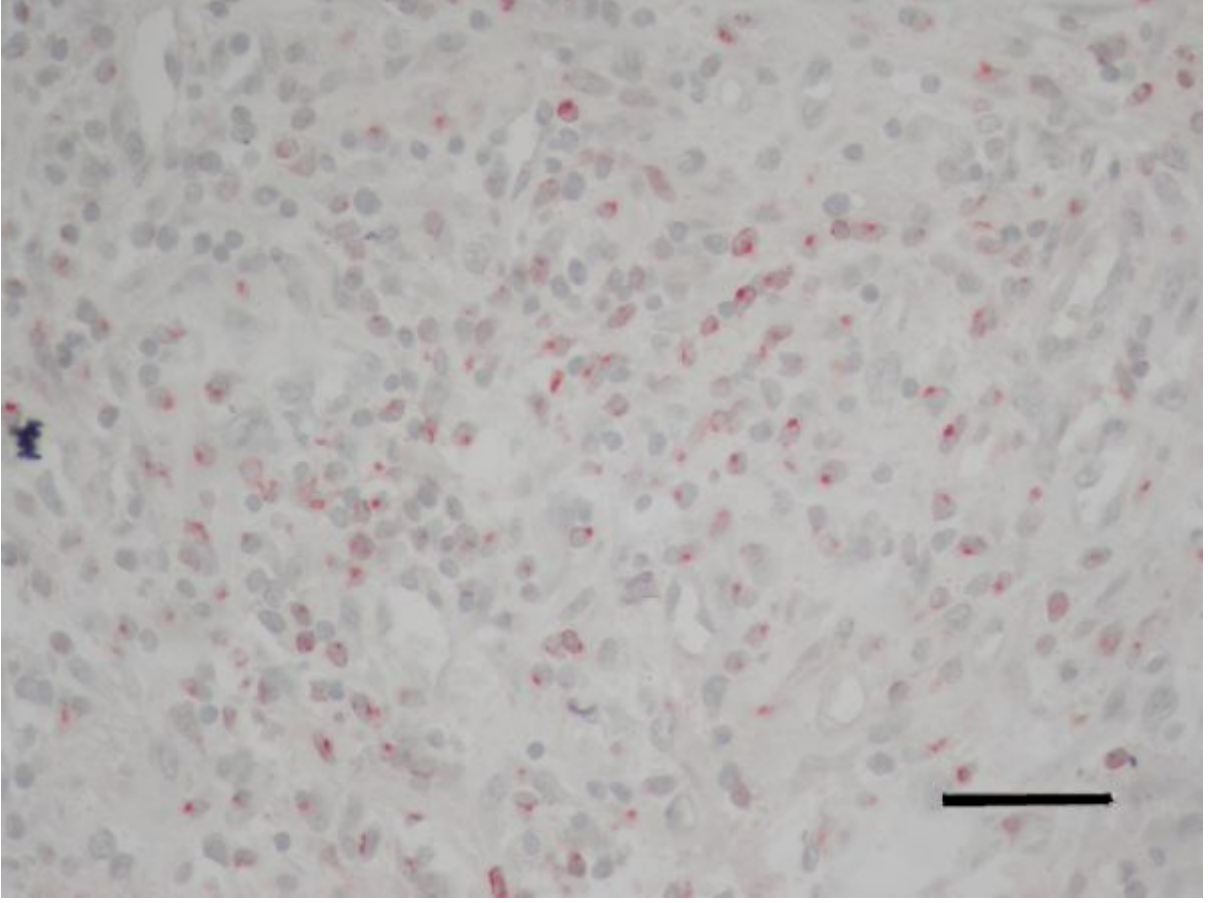
Diabetic wounds heal late because of the reasons such as especially the late start of the inflammatory phase and its elongation and the synthesis of insufficient growth factor, and this situation may also lead to the chronic ulcers that will may cause extremity amputation as well as making the subject open the infections. There are many researches on the effects of transplantation various stem cells and differentiated cells on healing of diabetic wounds. The aim of this study, to examine the effects of transplantation of dermis derived cells on diabetic wound healing.

In this study, it has been examined the effects of dermis-derived cells on healing of excisional wound model that was opened on Sprague-Dawley rats' back skin, generated experimental diabetes using Streptozotocin (STZ). Three groups were used in the study. In the first group only wound opened. In the second group the wound opened after generating diabetes using STZ, in the third group before generating experimental diabetes the cells multiplied in cultures formed with skin part excised from dorsum part were injected intradermally after generating experimental diabetes and opening the wound. For primary culture study; dorsum skin of anesthetized rats were excised with aseptically with 5 mm diameter sterile biopsy punch. Skin parts were transferred to laboratory in sterile DMEM-F12 medium. Tissues were chopped with two sterile scalpels to 1 mm³ parts and incubated in DMEM-F12 at 37 C0 and %5 CO₂. Wound tissues those excised at 5th and 15th days, embedded paraffin and epon after histological tissue processing to examine ligth and electron microscopy respectively. Sections stained with H-E Methyl Blue Van Gieson and Silver impregnation for histochemical examination. Alpha smooth muscle actin (α -SMA) and Keratinocyte growth factor/ Fibroblast growth factor-7 (KGF/ FGF-7) immunohistochemistry were applied. In the examination result of cell transplantation it was seen the increment of the α -SMA and FGF-7 expression decreasing especially in early period in the case of experimental diabetes, and the removal of many inflammatory cells seen in the wound area of experimantel diabetes group incisions from the medium. In the cell transplated group the formation of collagen fiber bundles was in order as is in the control group.

This study was designed with the knowledge of various stem cells and genetically manipulated cell sources used for diabetic wound healing studies. This can be noted that connective tissue cells can behave as mesenchymal stem cells under certain conditions

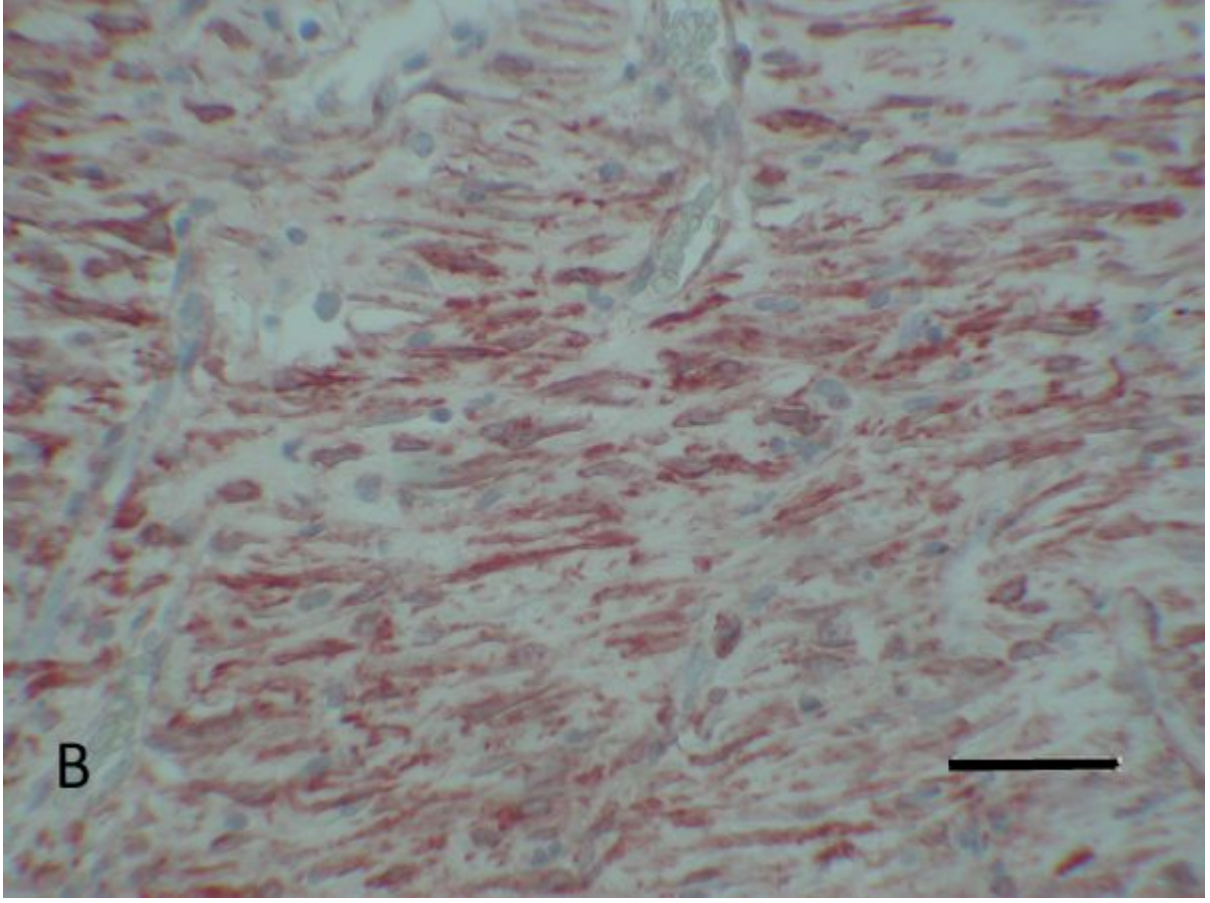
Keywords: α -SMA, diabetes mellitus, FGF-7, histology, wound healing

Resim 1
Figure 1



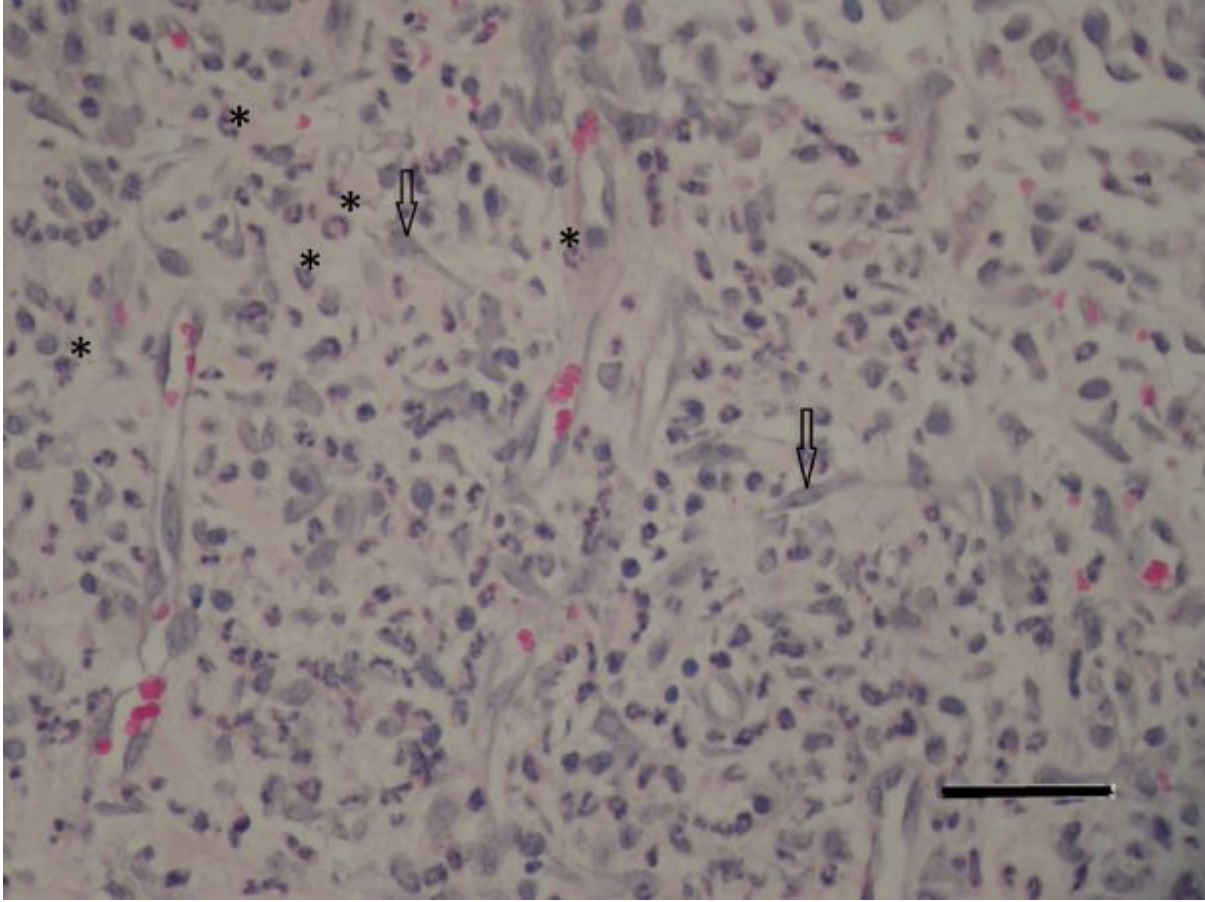
Hücre transplante edilen gruba ait günlük yara iyileşmesinde KGF immünoreaktivitesi
KGF immunoreactivity in 5 days wound healing at cell transplanted group.

Resim 2
Figure 2



Hücre transplante edilen gruba ait günlük yara iyileşmesinde α -SMA immünoreaktivitesi
 α -SMA immunoreactivity in 5 days wound healing at cell transplanted group

Resim 3
Figure 3



Diyabetli gruba ait 5 günlük yara iyileşmesi. H-E.
H-E stained section of 5th days wound healing in diabetic group.

Kaynakça / References: Abe, R., Donnelly, S. C., Peng, T., Bucala, R., Metz, C. N. (2001). Peripheral blood fibrocytes: Differentiation pathway and migration to wound sites. *J Immunol*, 166, 7556-7562. Achar, R. A. N., Silva, T. C., Achar, E., Martines, R. B., Machado, J. L. M. (2014). Use of insulin-like growth factor in the healing of open wounds in diabetic and non-diabetic rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 29(2), 125-131. Alba-Loureiro, T. C., Hirabara, S. M., Mendonça, J. R., Curi, Pithon-Curi, T. C. (2006). Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. *J Endocrinol*, 188, 295-303. Alba-Loureiro, T. C., Munhoz, C. D., Martins, J. O., Cerchiaro, G. A., Scavone, C., Curi, R., Sannomiya, P. (2007). Neutrophil function and metabolism in individuals with diabetes mellitus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40, 1037-1044. Barrandon, Y., Green, H. (1987). Cell migration is essential for sustained growth of keratinocytes colonies: the role of transforming growth factor-alpha and epiderman growth factor (EGF). *Cell*, 106, 590-597. Battegay, E. J. (1995). Angiogenesis: mechanistic insights, neovascular diseases, and therapeutic prospects. *J Mol Med*, 73, 333-346. Bitar, M. S., Farook, T., Wahid, S., Francis, I. M. (1999). Glucocorticoid- dependent impairment of wound healing in experimental diabetes: amelioration by adrenalectomy and RU 486. *J Surg Res*, 82, 234-243. Black, E., Vibe-Petersen, J., Jorgensen, L. N., Madsen, S. M., Agren, M. S., Holstein, P. E., Perrild, H., Gottrup, F. (2003). Decrease of collagen deposition in wound repair in type 1 diabetes independent of glycemic control. *Arch Surg*, 138(1), 34-40. Brem, H., Tomic-Canic, M. (2007). Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J Clin Invest*, 117, 1219-1222. Broughton, G. I. I, Janis, J. E., Attinger, C. E. (2006). The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg*, 117(7), 12-34. Brown, D. L., Kane, C. D., Chernausek, S. D., Greenhalgh, D. G. (1997). Differential expression and localization of IGF-I and IGF-II in cutaneous wounds of diabetic versus nondiabetic mice. *Am J Pathol*. 151, 715– 724. Brown, L. F., Detmar, M., Claffey, K., Nagy, J. A., Feng, D., Dvorak, A. M., Dvorak, H. F. (1997). Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS*, 79: 233-269. Cavalher-Machado, S. C., de Lima, W. T., Damazo, A. S., de Frias Carvalho, V., Martins, M. A., Silva, P. M., Sannomiya, P. (2004). Down-regulation of mast cell activation and airway reactivity in diabetic rats: role of insulin. *Eur Respir J*,

24(4), 552-558. Cheing, G. L., Li, X., Huang, L., Kwan, R. L., Cheung, K. (2014). Pulsed electromagnetic fields (PEMF) promote early wound healing and myofibroblast proliferation in diabetic rats. *Bioelectromagnetics*, 35, 161-169. Christopherson, K. (2003). The impact of diabetes on wound healing: Implications of microcirculatory changes. *Br J Community Nurs*, 8, 6-13. Circolo, A., Welgus, H. G., Pierce, G. F. (1991). Differential regulation of the expression of proteinases/antiproteinases in fibroblasts: effects of interleukin-1 and platelet-derived growth factor. *J Biol Chem*, 266, 12283-12288. Darby, I. A., Bisucci, T., Hewitson, T. D., MacLellan, D. G. (1997). Apoptosis is increased in a model of diabetes-impaired wound healing in genetically diabetic mice. *Int J Biochem Cel Biol*, 29(1), 191-200. Desmouliere, A., Chaponnier, C., Gabbiani, G. (2005). Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound Repair Regen*, 13, 7-12. Diegelmann, R. F., Evans, M. C. (2004). Wound healing: An overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Frontiers in Bioscience*, 9, 283-289. Dorsett-Martin, W. A. (2004). Rat models of skin wound healing: A review. *Wound Rep Reg*, 12, 591-599. Elsner, M., Guldbakke, B., Tiedge, M., Munday, R., Lenzen S. (2000). Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia*, 43, 1528-1533. Engelhardt, E., Toksoy, A., Goebeler, M., Debus, S., Bröcker, E. B., Gillitzer, R. (1998). Chemokines IL-8, GROalpha, MCP-1, IP-10, and Mig are sequentially and differentially expressed during phase-specific infiltration of leukocyte subsets in human wound healing. *Am J Pathol*, 153, 1849-1860. Enoch, S., Leaper, D. J. (2007). Basic science of wound healing. *Surgery*, 26(2), 31-37. Falanga, V. (1993). Growth factors and wound healing. *Dermatol Clin*, 11(4), 667-75. Fortes, Z. B., Garcia, L. J., Scivoletto, R. (1983). Vascular reactivity in diabetes mellitus: role of the endothelial cell. *Br J Pharmacol*, 79, 771-781. Fortes, Z. B., Garcia, L. J., Scivoletto, R. (1984). Vascular reactivity in diabetes mellitus: possible role of insulin on the endothelial cell. *Br J Pharmacol*, 83, 635-643. Frank, S., Hübner, G., Breier, G., Longaker, M. T., Greenhalgh, D. G., Werner, S. (1995). Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. *J Biol Chem*, 270, 12607-12613. Galiano, R. D., Michaels, J. V., Dobryansky, M., Levine, J. P., Gurtner, G. C. (2004). Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing. *Wound Rep Reg*, 12, 485-492. Garlick, J. A. (1994). The effect of TGF-beta 1 on re-epithelization of human keratinocytes in vitro: an organotypic model. *J Invest Dermatol*, 103, 554-563. Gerber, H. P., Condorelli, F., Park, J., and Ferrara, N. (1997). Differential transcriptional regulation of the two vascular endothelial growth factor receptor genes. Flt-1, but not Flk-1/KDR, is up-regulated by hypoxia. *J Biol Chem*, 272(38), 23659-23667. Gillitzer, R., Goebeler, M. (2001). Chemokines in cutaneous wound healing. *J Leukoc Biol*, 69, 513-521. Greenhalgh, D. G. (1996). The role of growth factors in wound healing. *J Trauma*, 41, 159-67. Greenhalgh, D. G. (2003). Wound healing and diabetes mellitus. *Clin Plastic Surg*, 30, 37-45. Güngörmüş M., Akyol, U. (2009). Effect of biostimulation on wound healing of skin incisions made using a diode laser in diabetic rats. *Photomedicine and Laser Surgery*, 27, 607-610. Hall, M. C., Young, D. A., Waters, J. G., Rowan, A. D., Chantry, A., Edwards, D. R., Clark, I. M. (2003). The comparative role of activator protein 1 and Smad factors in the regulation of Timp-1 and MMP-1 gene expression by transforming growth factor-beta 1. *J Biol Chem*, 278 (12), 10304-10313. Harrison, C. A., Gossiel, F., Layton, C. M., Bullock, A. J., Johnson, T., Blumsohn, A., MacNeil, S. (2006). Use of an in vitro model tissue-engineered human skin to investigate the mechanism of skin graft contraction. *Tissue Eng*, 12(11), 3119-3133. Henry, G., Garner, W. L. (2003). Inflammatory mediators in wound healing. *Surg Clin N Am*, 83, 483-507. Herzog, E. L., Bucala, R. (2010). Fibrocytes in health and disease. *Experimental Hematology*, 38, 548-556. Hinz, B. (2007). Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *J Invest Dermatol*, 127(3), 526-537. Hynes, R. O. (1992). Integrins: versatility, modulation and signaling in cell adhesion. *Cell*, 69(1), 11-25. Jakelic, J., Kokic, S., Hozo, I., Maras, J., Fabijanic, D. (1995). Nonspecific immunity in diabetes: hyperglycemia decreases phagocytic activity of leukocytes in diabetic patients. *Med Arh*, 49, 9-12. Katz, M. H., Alvarez, A. F., Kirsner, R. S., Eaglstein, W. H., Falanga, V. (1991). Human wound fluid from acute wounds stimulates fibroblast and endothelial cell growth. *J Am Acad Dermatol*, 25, 1054-1058. Kelly, D. E., Wood, R. L., Enders, A. C. (1984). *Bailey's Textbook of Microscopic Anatomy*. (18th ed). Baltimore, Williams & Wilkins. Ke, T., Yang, M., Mao, D., Zhu, M., Che, Y., Kong, D., Li, C. (2015). Co-Transplantation of skin derived precursors and collagen sponge facilitates diabetic wound healing by promoting local vascular regeneration. *Cell Physiol Biochem*, 35, 1725-1737. Kibbey, M. C., Corcoran, M. L., Wahl, L. M., Kleinmann H. K. (1994). Laminin SIKVAV peptide-induced angiogenesis in vivo is potentiated by neutrophils. *J Cell Physiol*, 160, 185-193. Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histology and Cell Biology*. (3rd ed). Mosby. Kilik, R., Lakyova, L., Sabo, J., Kruzliak, P., Lacjakova, K., Vasilenko, T., Vidova, T., Longauer, F., Radonak, J. (2014). Effect of equal daily doses achieved by different power densities of low level laser therapy at 635 nm on open skin wound healing in normal and diabetic rats. *Biomed Research International*, 1-9. King, L. (2001). Impaired wound healing in patients with diabetes. *Nursing Standart*, 15(38), 39-45. Knighton, D. R., Hunt, T. K., Scheuenstuhl, H., Halliday, B. J., Werb, Z., Banda, M. J. (1983). Oxygen tension regulates the expression of angiogenesis factor by macrophages. *Science*, 221, 1283-1285. Komesu, M. C., Tanga, M. B.,

Buttros, K. R., Nakao, C. (2004). Effects of acute diabetes on rat cutaneous wound healing. *Pathophysiology*, 11, 63-67. Komi-Kuramochi, A., Kawano, M., Oda, Y., Asada, M., Suzuki, M., Oki, J., Imamura, T. (2005) Expression of fibroblast growth factors and their receptors during full-thickness skin wound healing in young and aged mice, *J Endocrinol*, 186(2), 273-286. Kotil, T. (2006). Deneysel diyabetli sıçanlarda yara iyileşmesinin histolojik ve ince yapı olarak incelenmesi. *İ. Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 76s. Melo, R. C. N., Dvorak, A. M. (2012). Lipid body-phagosome interaction in macrophages during infectious disease: host defence or pathogen survival strategy? *Plos Pathogens*, 8(7), 1-13. Laato, M., Niinikoski, J., Gerdin, B., Lebel, L. (1986). Stimulation of wound healing by epidermal growth factor. *Ann Surg*, 203(4), 379-381. LaVan, F. B., Hunt, T. K. (1990). Oxygen and wound healing. *Clin Plast Surg*, 17, 463-472. Ledoux, S. P., Woodley, S. E., Patton, N. J., Wilson, G. L. (1986). Mechanisms of nitrosurea-induced beta cell damage. Alterations in DNA. *Diabetes*, 35, 866-872. Leibovich, S. J., Ross, R. (1975). The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol*, 78(1), 71-100. Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51, 216-226. Lerman, O. Z., Galiano, R. D., Armour, M., Levine, J. D., Gurtner, G. C. (2003). Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast. *Am J Pathol*, 162 (1), 303-312. Li, J., Chen, J., Kirsner, P. (2007). Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25, 9-18. Linger, M. W. (2001). Role of leukocytes and endothelial cells in the development of angiogenesis in inflammation and wound healing. *Arch Pathol Lab Med*, 125, 67-71. Lobmann, R., Ambrosch, A., Schultz, G., Waldmann, K., Schiweck, S., Lehnert, H. (2002). Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wound of diabetic and non-diabetic patients. *Diabetologia*, 45, 1011-1016. Loots, M. A. M., Kenter, S. B., van der Loos, C. M., Middelkoop, E., Bos, J. D., Mekkes, J. R. (2002). Macrophages in diabetic wounds express the activation marker MRP8/14. *İçinde M. A. M. Loots (Ed.), Wound Healing in diabetic ulcers*, University of Amsterdam, Faculty of Medicine, 90-103. Lorenz, H. P., Longaker, M. T. (2006) Wound healing. Repair biology and wound and scar treatment. *İçinde S. J. Mathes (Ed.), Mathes Plastic Surgery Volume 1*. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier Inc.: 209-34. Martin, P., Leibovich, S. J. (2005). Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol*, 15(11), 599-607. Mescher, A. L. (2013). *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas*. (13th ed). McGraw-Hill Education. Michel, G., Kemeny, L., Peter, R. U., Beetz, A., Ried, C., Arenberger, P., Ruzicka, T. (1992). Interleukin-8 receptor-mediated chemotaxis of normal human epidermal cells. *FEBS Lett*, 305, 241-244. Mori, L., Bellini, A., Stacey, M. A., Schmidt, M., Mattoli, S. (2005). Fibrocytes contribute to the myofibroblast population in wounded skin and originate from the bone marrow. *Experimental Cell Research*, 304, 81-90. Monaco, J., Lawrence, W. T. (2003). Acute wound healing: An overview. *Clin Plastic Surg*, 30, 1-12. Neely, A. N., Clendening, C. E., Gardner, J., Greenhalgh, D. G. (2000). Gelatinase activities in wounds of healing-impaired mice versus non-healing-impaired mice. *J Burn Care Rehabil*, 21, 395-402. Nyugen, D. T., Orgill, D. P., Murphy, G. F. (2009). The pathophysiologic basis for wound healing and cutaneous regeneration. *İçinde, D. Orgill, C. Blanco (Ed.), Biomaterials for treating skin loss*, Woodhead Published Limited, 25-57. Öntürk, H., Özbek, H. (2007). Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şekeri düzeyinin ölçülmesi. *Genel Tıp Derg*, 17(4), 231-236. Quan, T. E., Cowper, S., Wu, S., Bockenstedt, L. K., Bucala, R. (2004). Circulating fibrocytes: collagen secreting cells of peripheral blood. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 36, 598-606. Parks, W. C. (1999). Matriks metalloproteinases in repair. *Wound Repair Reg*, 7, 423-433. Parsons, S. L., Watson, S. A., Brown, P. D., Collins, H. M., Steele, R. J. C. (1997). Matrix metalloproteinases. *Br J Surg*, 84, 160-166. Peplow, P. V., Baxter, G. D. (2012). Gene expression and release of growth factors during delayed wound healing: A review studies in diabetic animals and possible combined laser phototherapy and growth factor treatment to enhance healing. *Photomed Laser Surg*, 30(11), 617-636. Postlethwaite, A. E., Keski-Oja, J., Moses, H. L., Kang, A. H. (1987). Stimulation of the chemotactic migration of human fibroblasts by transforming growth factor beta. *J Exp Med*, 165(1), 251-256. Racine-Samson, L., Rockey, D. C., Bisell, D. M. (1997). The role of alpha1 beta1 integrin in wound contraction. A quantitative analysis of liver myofibroblasts in vivo and in primary culture. *J Biol Chem*, 272(49), 30911-30917. Ramasastry, S. S. (2005). Acute wounds. *Clin Plastic Surg*, 32, 195-208. Ross, M. H., Pawlina, W. (2011). *Histology A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology*. (6th ed). Philadelphia, Williams & Wilkins. Sakurai, E., Anand, A., Ambati, B. K., Van Rooijen, N., Ambati, J. (2003). Macrophage depletion inhibits experimental choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 44, 3578-3585. Scheid, A., Wenger, R. H., Schäffer, L., Camenisch, I., Distler, O., Ferenc, A., Cristina, H., Ryan, H. E., Johnson, R. S., Wagner, K. F., Stauffer, U. G., Bauer, C., Gassmann, M., Meuli, M. (2002). Physiologically low oxygen concentrations in fetal skin regulate hypoxia-inducible factor 1 and transforming growth factor-beta3. *FASEB J*, 16, 411 - 425. Senger, D. R., Claffey, K. P., Benes, J. E., Perruzzi, C. A., Sergiou, A. P., Detmar, M. (1997). Angiogenesis promoted by vascular endothelial growth factor: regulation through alpha1beta1 and alpha2beta1 integrins. *Proc Natl Acad Sci*, 94, 13612-13617. Seppa, H., Grotendorst, G. R., Seppa, S., Schiffrmann E., Martin G. R. (1982). Platelet derived growth in chemotactic for fibroblasts. *J Cell Biol*, 92(2), 584-588.

Sethi, K. K., Yannas, I. V., Mudera, V., Eastwood, M., McFarland, C., Brown, P. A. (2002). Evidence for sequential utilization of fibronectin, vitronectin, and collagen during fibroblast mediated collagen contraction, *Wound Repair Regen*, 10(6), 397-408. Singer, I. I., Scott, S., Kawka, D. W., Kazazis, D. M., Gailit, J., Ruoslahti, E. (1988). Cell surface distribution of fibronectin and vitronectin receptors depend on substrate composition extracellular matrix accumulation. *J Cell Biol*, 106(6), 2171-2182. Singer, A. J., Clark, R. A. F. (1999). Cutaneous wound healing. *N Engl J M*, 341(10), 7738-7746. Shrestha, C., Zhao, L., Chen, K., He, H., Mo, Z. (2013). Enhanced healing of diabetic wounds by subcutaneous administration of human umbilical cord derived stem cells and their conditioned media. *Int J Endocrinol*, 592454, 1-10. Sporn, M. B., Roberts, A. B. (1992). Transforming growth factor-beta: recent progress and new challenges. *J Cell Biol*, 119, 1017-1021. Tonnesen, M. G., Feng, X., Clark, R. A. (2000). Angiogenesis in wound healing. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 5, 40-46. Uргу, K. (2001). Adipoz kökenli erişkin kök hücrelerin radyoterapi uygulanmış deride primer yara iyileşmesi üzerindeki etkisi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi*, 144 s. Watson, J. B., Getzler, S. B., Mosher, D. F. (1999). Platelet factor 4 modulates the mitogenic activity of basic fibroblast growth factor. *J Clin Invest*, 94, 261-268. Werb, Z., Banda, M. J., Jones, P. A. (1980). Degradation of connective tissue matrices by macrophages: I. proteolysis of elastin, glycoproteins and collagen by proteinases isolated from macrophages. *J Exp Med*, 152, 1340-1357. Werb, Z., Tremble, P., Damsky, C. H. (1990). Regulation of extracellular matrix degradations by cell – extracellular matrix interactions. *Cell Differ Dev*, 32, 299-306. Werner, S., Breeden, M., Hübner, G., Greenhalgh, D. G., Longaker, M. T. (1994). Induction of keratinocyte growth factor is reduced and delayed during wound healing in the genetically diabetic mouse. *J Invest Dermatol*, 103(4), 469– 472. Wilson, G. L., Hartig, P. C., Patton, N. J., LeDoux, S. P. (1988). Mechanisms of nitrosurea-induced beta cell damage. Activation of poly (ADP-ribose) synthetase and cellular distribution. *Diabetes*, 37, 213-216. Woodley, D. T., Bachmann, P. M., O’Keefe, E. J. (1988). Laminin inhibits human keratinocyte migration. *J Cell Physiol*, 136, 140-146. Vaalamo, M., Mattila, L., Johansson, N., Kariniemi, A. L., Karjalainen- Lindsberg, M. L., Kähäri, V. M., Saarialho-Kere, U. (1997). Distinct populations of stromal cells express collagenase-3 (MMP-13) and collagenase-1 (MMP-1) in chronic ulcers but not in normally healing wounds. *J Invest Dermatol*, 109, 96-101. Van Amerongen, M. J., Harmsen M. C., Van Rooijen, N., Petersen A. H., Luyn M. J. A. (2007). Macrophage depletion impairs wound healing and increases left ventricular remodeling after myocardial injury in mice. *The American Journal of Pathology*, 170(3), 818-829. Zhang, X., Yan, X., Cheng, L., Dai, J., Chunyang, W., Han, P., Chai, Y. (2013). Wound healing improvement with PHD 2 silenced fibroblast in diabetic mice. *Plos One*, 8(12), 1-11.

S31

Gebelik Sürecinde Diyabetik Sıçan Plasentalarında mTOR Sinyal Yolağının Anjiyogenez Mekanizmasına Etkisi

Aslı Özmen¹, Büşra Çetinkaya¹, Ertan Katırcı¹, Gözde Ünek¹, Müge Molbay¹, Dijle Kipmen Korgun², Emin Türkay Korgun¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.D., Antalya, TÜRKİYE

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya A.D., Antalya, TÜRKİYE

Diyabet, metabolik hastalıkların hiperglisemi ile karakterize heterojen bir grubudur. Maternal diyabet, plasentada yapısal ve fonksiyonel değişikliklere sebebiyet vermektedir. Plasental/fetal damarların gelişimi ve fonksiyonu, diyabetik çevreden doğrudan etkilenebilir. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) ailesi üyelerinin yanı sıra mTOR'un (The Mammalian Target of Rapamycin) anjiyogenez mekanizmasını etkilediği bilinmektedir. Fakat plasental anjiyogenezde mTOR yolağının etkisi henüz aydınlatılmamıştır. Ayrıca diyabetik gebeliklerde mTOR aktivitesinin nasıl değiştiği ve bu durumun anjiyogenez mekanizmalarını nasıl etkilediği de bilinmemektedir. Bu nedenle bu çalışmada diyabetik sıçan plasentalarında hipergliseminin, mTOR sinyal iletim yolağı aracılığıyla plasental anjiyogenez mekanizmalarına etkisi değerlendirilmiştir. Gebe sıçanlarda 7.günde 60mg/kg Streptozotosin (STZ) uygulaması ile diyabet oluşturulmuş ve 48 saat sonra kuyruk kanından glikoz ölçümü yapılarak, kan glikoz düzeyi 200mg/dL üzeri olanlar diyabet kabul edilmiştir. Diyabet olan ve olmayan gebelere 12.günde 0.05mg/kg/gün Everolimus (Rapamisin) gavaj yoluyla verilmiştir. 14 ve 20. günlerde gruplar sakrifiye edilmişlerdir. Serum insülin düzeyleri ile STZ uygulamasının etkinliği teyit edilmiş ve diyabetik grupların insülin düzeylerinin kontrol gruplarından düşük olduğu gözlenmiştir. Rapamisin uygulaması ile serum VEGF düzeyleri; diyabet ve diyabet olmayan gruplarda 14. günde artmış, 20. günde ise azalmıştır. mTOR yolağının inhibisyonu, p70S6K fosforilasyonundaki azalma ile teyit edilmiştir. Bunun sonucunda gebeliğin 14. gününde plasenta ve embryo ağırlıklarının arttığı, 20. günde ise azaldığı gözlenmiştir. Rapamisin verilen gruplarda VEGF ekspresyonunun 14. günde azaldığı gözlenmiştir. Diyabet grubunda ise 14. günde azalma 20. günde ise artış olduğu gözlenmiştir. VEGFR1 ve VEGFR2 ekspresyonları Rapamisin verilen gruplarda 14. günde artmıştır ancak 20. günde azalmıştır. Diyabet grubunda 20. günde reseptörlerde görülen artış, Rapamisin uygulamasının ardından azalmıştır. Dolayısıyla diyabetik koşullarda mTOR yolağı daha çok VEGF reseptörleri üzerinden düzenleniyor olabilir. Sonuç olarak, diyabetik plasentalarda gebeliğin 14 ve 20. günlerinde plasental gelişimin normalden farklı olduğu tespit edilmiştir. VEGF ekspresyonundaki değişim, diyabetik plasentalardaki mTOR ve p70S6K fosforilasyonlarındaki değişimler ile pozitif korelasyon göstermektedir. Diyabetik plasentalarda gözlenen vasküler anomalilerin altında yatan sebeplerden birinin mTOR yolağındaki aksaklıklar olabileceği söylenebilir. (Bu çalışma 113S463 proje numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.)

Anahtar Kelimeler: Diyabet, anjiyogenez, rapamisin, mTOR, plasenta, sıçan

Effect of mTOR Signalling Pathway on Angiogenesis Mechanisms in Diabetic Rat Placenta During Pregnancy

Aslı Özmen¹, Büşra Çetinkaya¹, Ertan Katırcı¹, Gözde Ünek¹, Müge Molbay¹, Dijle Kipmen Korgun², Emin Türkay Korgun¹

¹Akdeniz University, Medical Faculty, Histology and Embryology Department, Antalya, TURKEY

²Akdeniz University, Medical Faculty, Biochemistry Department, Antalya, TURKEY

Diabetes is a heterogeneous group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia. Maternal diabetes gives rise to structural and functional changes in the placenta. Besides Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) family members, mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) is known to effect angiogenesis. mTOR-mediated placental angiogenesis mechanisms have not been elucidated yet. Besides it is still not known how mTOR activity will change and affect placental angiogenesis in diabetic pregnancies. Therefore in this study, mTOR signaling pathway mediated hyperglycemia effect on placental angiogenesis mechanism is questioned in diabetic rats. Pregnant rats were injected with 60mg/kg STZ at gestational day 7. After 48 hours, serum glucose levels were measured and over 200mg/dL were accepted as diabetic. 0,05 mg/kg/day Everolimus (Rapamycin) were administered by gavage beginning from day 12 until the day of sacrifice of both diabetic and non-diabetic rats. All groups were sacrificed at day 14 and 20. Serum insulin levels were measured and a decrease was detected in STZ treated diabetic rats. Serum VEGF levels were increased both in diabetic and Rapamycin treated groups at day 14 and decreased at day 20. mTOR inhibition was confirmed by decreased phosphorylation of p70S6K. It is observed that Rapamycin treated rats had bigger placentas and embryos at day 14 and smaller placentas and embryos at day 20. On contrary, diabetic placentas were smaller on day 14, and bigger on day 20. VEGF expression was decreased at Rapamycin treated group on day 14. In diabetic placentas, VEGF expression was decreased at day 14 and then increased at day 20. Rapamycin treatment resulted with increased VEGFR1 and VEGFR2 expression at day 14 and decreased at day 20. Increased VEGFR1 and VEGFR2 expression in diabetic placentas were decreased by mTOR inhibition. Therefore, it could be concluded that mTOR inhibition affected angiogenic factor expression via VEGFR1 and VEGFR2 in diabetic placentas. As a result, it is observed that placental development in altered by Rapamycin treatment. Therefore, it could be supposed that placental vascular abnormalities in diabetic placentas could be related with mTOR pathway. (This study was supported by TÜBİTAK, project number 113S463)

Keywords: Diabetes, angiogenesis, rapamycin, mTOR, placenta, rat

POSTER BİLDİRİLER
POSTER PRESENTATIONS
(P001-P240)

P001-Sistemik ve Lokal Minosiklinin Yağ Grefti Sağkalımı ve Apoptotik Yolak İnhibisyonu Üzerine Etkisi/The Effect Of Systemic And Local Minocycline On The Fat Graft Survival And The Inhibition Of Apoptotic Pathway

P002-Hiperbarik oksijen tedavisinin kalp kasına etkisi/Effects of Hyperbaric Oxygen Therapy on Cardiac Muscle

P003-Koroner Trombusun Neden Olduğu Akut Koroner Sendromlu 3 Olgunun Değerlendirilmesi/Evaluation of 3 Cases With Acute Coronary Syndrome Caused by Coronary Thrombus

P004-İntrauterin Okskarbazapin ve Gabapentin maruziyetinin postnatal dönemde beyin dokusunda apoptotik etkisinin flow sitometrik incelemesi/Investigation of apoptotic effect of intrauterin exposure to Oxcarbazepin and Gabapentin on brain by flowcytometry

P005-Urtica Dioica L.'nın Sıçanlarda Histolojik Hasar, Oksidatif Stres ve Lipid Peroksidasyonunu Baskılayarak Doksorubisine Bağlı Kardiyotoksositeye Karşı Etkileri/Effect of Urtica Dioica L. Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats Through Suppression of Histological Damage, Oxidative Stress and Lipid Peroxidation

P006-Postnatal Dönemdeki Sıçan Testis ve Epididimislerinde Hücre Proliferasyonu/Cell Proliferation in The Testis and Epididymis of Postnatal Rat

P007-Plantago major'un hiperkolesterolemik diyetle ateroskleroz oluşturulan tavşanlarda ateroskleroz ve aterosklerotik risk faktörleri üzerine etkileri/The effects of Plantago major on risk factors and development of atherosclerosis in hypercholesterolemia-induced atherosclerotic rabbits

P008-17-beta Östradiolün Erkek Rat Aortasında Apoptoz ve Oksidatif DNA Hasarı Üzerine Etkisi/The Effect of 17-beta Estradiol on the Apoptosis and Oxidative DNA Damage on the Male Rat Aorta

P009-Öğrenme Ve Antidepresan Tedavinin Hippokampal Nörogenez Üzerine Etkisinin İmmunohistokimyasal Yöntemle Değerlendirilmesi/The Analysing of Immunohistochemical Roles of Learning and SSRI Therapy on Hippocampal Neurogenesis

P010-Akrilamidin neden olduğu renal hasara karşı N-asetilsisteinin koruyucu etkisi/The protective effects of N-acetylcysteine against acrylamide induced renal damage

P011-C-myc inhibisyonunun insan ve fare hematopoetik kök hücre/hücre progenitorlerinin ex vivo çoğalmasını arttırıcı etkisi/C-myc inhibition allows ex vivo expansion of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells

P012-Hiperoksik Akciğer Hasarı Oluşturulan Yenidoğan Ratlarda Vitamin D'nin Etkisi/Effects of Vitamin D on Hyperoxic Lung Injury In The Newborn Rats

P013-Sıçanlarda İnfrarenal Abdominal Aorta İskemi-Reperfüzyonu İle Oluşturulan Akut Akciğer Hasarına Karşı Alfa-Kristalin'in Koruyucu Etkisi/Investigation of Protective Effects of Alpha-Crystallin Against Ischemia-reperfusion Induced Acute Lung Injury

P014-{Nigella sativa}'nın sıçanlarda inflamasyon, fibrozis ve indüklenebilir nitrik oksit sentezini baskılayarak bleomisine bağlı gelişen pulmonar fibrozise karşı etkileri/{Nigella sativa} attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats by inhibition of inflammation, fibrosis, and inducible nitric oxide synthase

P015-Postnatal gelişim sürecindeki sıçanların akciğerinde Toll-like reseptörlerinin (TLR-2, TLR-4, TLR-5 ve TLR-9) lokalizasyonları ve ekspresyonları*/The localizations and

expressions of Toll-like receptors (TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-9) in rat lung during the postnatal development period*

P016-Ormangülü Balının (Deli bal) Fare Karaciğer Dokusuna Etkisi/The Effect of Mad Honey in Mice Liver Tissue

P017-Trinitrobenzen sülfonik asit (TBNS) uyarımlı sıçan kolit modelinde Th17 ilişkili sitokinlerin (IL-17 ve IL-22) ifadelerinin değişimi/Change of expressions of Th17-related cytokines (IL-17 and IL -22) in TNBS-induced rat colitis

P018-İyonizan radyasyonun neden olduğu jejunal mukozal hasara karşı {Nigella sativa}'nın koruyucu etkilerinin incelenmesi/Protective effects of {Nigella sativa} on gamma radiation-induced jejunal mucosal damage in rats

P019-Sıçanlarda D-Galaktozamin ile Oluşturulmuş Karaciğer Hasarına Karşı Vitamin D3'ün Koruyucu Etkileri/Protective Effects Of Vitamin D3 Against D-Galactosamine-Induced Liver Injury In Rats

P020-Deneysel Diyabette Melatonin Tedavisinin Böbrek Dokusu Üzerine Etkisinin İncelenmesi/Investigation of the Effect of Melatonin Treatment on Kidney in Experimental Diabetes

P021-Levetirasetam'ın Neonatal Sıçanlarda Serebral Hipoksi-İskemi Nedenli Periferik Sinir Hasarı Üzerindeki Koruyucu Etkilerinin Elektron Mikroskopik Olarak İncelenmesi/Ultrastructural Examination of the Protective Effects of Levetiracetam in Neonatal Rats with Cerebral Hypoxia-Ischemia Induced Peripheral Nerve Injury

P022-Adolesan dönemde uzun süreli, kesintisiz uygulanan 900 megahertz elektromanyetik alanın 60 günlük Sprague Dawley erkek sıçanların hipokampus morfoloji ve biyokimyası üzerine zararlı etkileri/Pernicious effects of long-term, continuous 900-megahertz electromagnetic field throughout adolescence on the hippocampus morphology and biochemistry of 60-day-old Sprague Dawley male rats

P023-Nesfatin-1 Nöronlarında Glukokortikoid Reseptör Ekspresyonunun İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması/Immunohistochemical Assessment of Glucocorticoid Receptor Expression in Nesfatin-1 Neurons

P024-Non-Pregangliyonik Edinger-Westphal Çekirdeğinin Besin Alımı Üzerine Etkisinde Glutamatın Düzenleyici Rolü/The Regulatory Role of Glutamate on the Food Intake Effects of the Non-Preganglionic Edinger-Westphal Nucleus

P025-Koroid Pleksusda Aquaporin-1 (AQP1), Aquaporin-2 (AQP2) ve Aquaporin-4(AQP4) Ekspresyonları: Cinsiyet ve Siklus Bağımlı Farklılıklar/Expression of Aquaporin-1 (AQP1), Aquaporin-2 (AQP2) and Aquaporin-4 (AQP4) in Plexus Choroideus Cells: Evidence for Sex and Cycle-Linked Differences

P026-PRP'nin Sinir greftleriyle Yeniden Yapılanmaya Etkisi/Effect of PRP on Reconstruction with Nerve grafts

P027-Cep Telefonları Kaynaklı Elektromanyetik Dalgaların Sıçan Trigeminal Siniri Üzerine Etkileri/Effects of Electromagnetic Waves Emitted by Cell Phones on Rat Trigeminal Nerve

P028-Nesfatin-1 Nöronlarının Açlık Sonrası Beslenmeye veya Glukoz Enjeksiyonuna Bağlı Aktivasyonu ve Glutamaterjik Sistemin Rolü/Activation of Nesfatin-1 Neurons Induced by Re-feeding or Glucose Injection after Fasting and the Role of the Glutamatergic System

P029-Açlık Sonrası Beslenme ile Uyarılan Nöronostatin Nöronlarında pSTAT5 ve c-Fos Ekspresyonunun Araştırılması/Investigation of the pSTAT5 and c-Fos expression in Neuronostatin Neurons by Refeeding after Fasting

P030-Kaolin ile Hidrosefali Modeli Oluşturulmuş İnfant Sıçanlarda Serebellum Üzerine Melatoninin Etkileri: Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Bir Çalışma/Effects of Melatonin on the Cerebellum of Infant Rat Following Kaolin-Induced Hydrocephalus: A Histochemical and Immunohistochemical Study

P031-Deneysel diyabet oluşturulan ratlarda östrojen reseptörü taşıyan hücrelerde, proliferatif hücrelerde ve apoptotik hücrelerde meydana gelen değişimler ve bu değişimler üzerine likopenin etkisi/Changes in the pancreas as for the cells carrying estrogen receptors, proliferating cells and apoptotic cells in experimentally induced diabetes mellitus in rats and the effect of lycopenine on these changes

P032-Gebe, Ergin ve Yavru Ankara Kedilerinin Periferik Kan Lökositlerinde Alfa-Naftil Asetat Esteraz Aktivitesinin Belirlenmesi/Determination of alpha naphthyl acetate esterase (ANAE) activity in peripheral blood leukocytes of pregnant, adult and kitten Angora cats

P033-Apelin makrofajların fonksiyonunu azaltır/Apelin attenuates the function of macrophages

P034-Di (n-bütül) fitalat (DBP) ile indüklenmiş nefrotoksisite üzerine resveratrol'ün koruyucu etkisi: İmmünohistokimyasal ve Elektron Mikroskopik Çalışma/The protective effect of resveratrol in di(n-butyl) phthalate (DBP) induced nephrotoxicity. An immunohistochemical and ultrastructural studies

P035-Ratlarda İdrar Alkalinizasyonunun Kolistine Bağlı Nefrotoksisiteyi Önlemedeki Etkisinin İnvivo Olarak Değerlendirilmesi/In Vivo Evaluation Of Protective Effect Of Hydration With Sodium Chloride Versus Urine Alkalinisation On Colistin Induced Nephrotoxicity In Rats

P036-Renal iskemi reperfüzyon hasarına karşı {Nigella Sativa}'nın koruyucu etkisinin incelenmesi/Protective effect of {Nigella Sativa} on renal ischemia/reperfusion injury in rat

P037-BALB/C türü farelerde TAA indüklü-böbrek hasarına karşı Lipoksin A4'ün koruyucu etkileri/the protective effect of Lipoxin A4 (LXA4) against Thioacetamide-induced kidney injury in BALB/C mice

P038-Sıçanlarda deneysel osteoartrit modellerinde sık kullanılan bazı boyama yöntemlerinin karşılaştırılması/Comparison of some staining methods frequently used in experimental osteoarthritis model in rat

P039-Sıçanların Lakrimal Bezlerinde α -SMA, S-100 Protein ve Alt Ünitelerinin Lokalizasyonları/Localizations of α -SMA, S-100 Protein and Its Subunits in the Lacrimal Glands of the Rats

P040-Coturnix coturnix Türü Japon Bildircinlarının Embriyonik Gelişiminin Ve Alüminyum Sülfat(Al_2SO_4)'ın Embriyonik Gelişimine Etkilerinin morfolojik İncelenmesi/Investigation of Normal and Aluminum Sulfate (Al_2SO_4) Administered Embryological Development of Coturnix coturnix Japanese Quail

P041-Koyun fötüslerinde ileal müsinlerin prenatal gelişimi ve histokimyasal özellikleri/The prenatal development and histochemical properties of the ileal mucins in the ovine fetuses

P042-Astenozoospermili Hastalarda in vitro Sperm Parametreleri Üzerine Pentoksifilinin Doza ve Uygulama Süresine Bağlı Etkileri/Effects of pentoxifylline on in vitro sperm parameters in terms of the dose and application time in patients with asthenozoospermia

P043-Resveratrol ve CAPE (Kafeik asit fenil ester)'nin Permetrinin neden olduğu fetotoksisite üzerine etkilerinin değerlendirilmesi/Evaluation the effects of Resveratrol and CAPE (caffeic acid phenyl ester) on foetotoxicity caused by Permethrin

P044-İn Vitro Embriyo Kültürü Ve Embriyo Transferinin Fetal Fare Trakeasında Bazal Hücrelerin Sayısı Üzerine Etkisi/Effect Of In Vitro Embryo Culture And Embryo Transfer On The Number Of Basal Cells In The Fetal Mouse Trachea

P045-Preeklampsia Hastaların Plasentalarında İmmunohistokimya Metodu ile Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü, Annexin A5 ve Apelin'in Histopatolojik Rolünün İncelenmesi/Investigation of Histopathological Role of Vascular Endothelial Growth Factor, Annexin A5 and Apelin by Immunohistochemistry Method in Placenta of Preeclampsia Patients

P046-Preeklamptik plasentalarda beta 3-integrin indüklü MAPK-HIF etkileşiminin bozulması/The disruption of beta 3-integrin-induced MAPK-HIF relationship in preeclamptic placentas

P047-Stevioside ve STZ Uygulanmış Sıçan Plasentalarında GLUT1 Ekspresyonu/GLUT 1 expression in STZ and Stevioside Applied Rat Placenta

P048-Streptozotosin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda implantasyon döneminde endometriyumdaki immün sistem hücrelerinin immünhistokimyasal yöntemlerle incelenmesi/Immunohistochemical investigation of endometrial leucocytes in implantation period in rats with streptozotosin-induced diabetes

P049-Gebeliğin farklı günleri boyunca fare uterus ve implantasyon bölgelerinde Hey2 ve Fbw7 ekspresyonları/Expressions of Fbw7 and Hey2 on mice uterus and implantation sites during different pregnancy days

P050-Spermatogenetik Seriyeye Ait Hücreler Üzerine Retinoik Asidin Etkilerinin İnce Yapı Düzeyinde İncelenmesi/Ultrastructural Investigation of Retinoic Acid Effects on Spermatogenetic Cell Types

P051-Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarı Üzerine Shilajit'in Histopatolojik Etkisi/Histopathological Effects of Shilajit on Methotrexate Induced Testicular Damage in Rats

P052-Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarına Karşı E Vitamininin Kısa Süreli Koruyucu Etkileri/The protective effects of short period usage of Vitamin E on Methotrexate induced testicular damage

P053-Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarına Karşı Beta Glukan'ın Etkisi/The effect of Beta Glucan on Methotrexat induced testicular damage in rats

P054-Farklı varikosel dereceli erkekler arasında sperm DNA hasarının değerlendirilmesi/Evaluation of sperm DNA damage from men with different varicocele grades

P055-Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum İle Oluşturulan Hasar Üzerine Propolisin Koruyucu Etkiliğinin Araştırılması/The Investigation Of Protective Effects Of Propolis On Cadmium-Induced Testicular Damaged In Rat

P056-Torsiyon Detorsiyon Sonucunda Sıçan Testisinde Oluşan Hasar Üzerine Vinpocetin'in Etkilerinin Araştırılması/The Investigation Of Protective Effects Of Vinpocetine On Torsion/Detorsion-Induced Testicular Damaged In Rat

P057-Sıçan Testis Dokusunda Sisplatin İle Oluşturulan Hasar Üzerine Propolisin Etkilerinin Araştırılması/Investigation Effects Of Propolis On Cisplatin-Induced Testicular Damaged In Rats

P058-İzole teratozoospermi olgularında farklı sperm hazırlama tekniklerinin kromatin kondenzasyon defekti sonuçlarına etkisi/Effect of different sperm preparation techniques on chromatin condensation defects in patients with isolated teratozoospermia

P059-Metforminin Sıçan Testis Yapısına Etkisinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi/The Evaluation Of the Effects Of Metformin On The Rat Testis At A Light and Electron Microscopic Level

P060-Sıçanlarda torsiyon/detorsiyon modelinde hasara karşı ferulik asitin etkisi/The effect of ferulic acid in rat against damage in torsiyon/detorsiyon model

P061-Non-obstrüktif Azospermi Tanılı Erkek Hastalarda DNMT3A ve DNMT3B Proteinlerinin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi/Determining DNMT3A and DNMT3B Protein Expression in Male Patients with Non-obstructive Azoospermia

P062-Uzun Süreli GnRH Analogunun (4,7 mg Deslorelin, Suprolerin®) Erkek Ratların Testisinde HsP 70 Üzerine Etkilerinin İmmünohistokimyasal Araştırılması/Immunohistochemical Examination of the Long-Term Impacts of GnRH Analogue (4,7mg Deslorelin, Suprolerin®) on HsP 70 Activity in the Testes of Male Rats

P063-Diabetin prostat stroma ve parankime olan etkisinin stereolojik yöntemlerle incelenmesi/The investigation of diabet over prostat stroma and parankime with stereological methods. and parenchyma tissue by

P064-Kadmiyum uygulanan sıçan testis modeli kullanarak CRB3 proteinin değerlendirilmesi/Evaluation of CRB3 expression using cadmium-treated rat testis model

P065-Deneysel Diyabet Oluşturulan Prepubertal ve Yetişkin Ratların Testis Dokularında NPR-A Reseptör İmmünreaktivitesinin Belirlenmesi/Determination of NPR-A Receptor Immunoreactivity in Testes of Experimental Diabetes Induced Prepubertal and Adult Rats

P066-Postnatal dönemdeki sıçan testis ve epididimisinde vasküler endotelial büyüme faktörü ve reseptörlerinin lokalizasyonu/The localization of vascular endothelial growth factor and its receptors on testis and epididymis of rat during postnatal period

P067-Diyabetik Testis Dokusunda INSL3 İfadesi/Expression of INSL3 in Diabetic Testicular Tissue

P068-Sıçanlarda Epididimis Fiksasyonunda Kullanılan Farklı Fiksatiflerin Doku Morfolojisi ve Histokimyasal Boyanması Üzerine Etkileri/The effect of different fixatives on tissue morphology and histochemical staining of rat epididymis

P069-Varikosel Oluşturulmuş Sıçan Testisinde Apelin ve APJ Reseptörü Ekspresyonlarının İncelenmesi/The Investigation of Apelin and APJ Receptor Expression on Varicocele Induced Rat Testis

P070-İleri doğru sperm hareketliliği ile seminal plazma NT-proCNP konsantrasyonu arasındaki ilişkinin analizi/Analysis of the relationship between seminal plasma NT-proCNP level and progressive sperm motility

P071-3G Cep Telefonlarından Yayılan Kısa Ve Uzun Süreli Elektromanyetik Radyasyonun Testis Seminifer Tübül Hücrelerinde Endoplazmik Retikulum Stres Proteinlerine Olan Etkisi/Acute And Chronic Effects Of Electromagnetic Radiation Emitted By 3G Mobile

Phones On Proteins Of Endoplasmic Reticulum Stress In Testes Seminiferous Tubules Cells

P072-Rat testislerinin doğum sonrası dönemden erişkin döneme dek histolojik, morfometrik ve moleküler düzeyde değerlendirilmesi/Histological, Morphometric and molecular evaluation of rat testes development from neonatal to adult period

P073-BALB/C türü farelerde TAA indüklü-testis hasarına karşı Lipoksin A4'ün koruyucu etkileri/the protective effect of Lipoxin A4 (LXA4) against Thioacetamide-induced testes injury in BALB/C mice

P074-SASP'ın ratlarda indüklediği testiküler hasara karşı folik asitin antiapoptotik, ve antioksidan etkisi/Anti-Apoptotic And Anti-Oxidant Effects Of Folic Acid On Sulfasalazine-Induced Testicular Damage İn Rats

P075-Azoospermik Hastalarda Lim 15/Dmc1 Ve PCNA Proteinlerinin İmmünohistokimyasal olarak İncelenmesi/The Evaluation of Lim 15/Dmc1 and PCNA Proteins by Immunohistochemical in Azoospermia Patients

P076-Yenidoğan döneminden erişkinliğe kadar olan dönemde rat testislerinde spermatogonial kök hücre sayısında ve dağılımında görülen değişikliklerin incelenmesi/Evaluation of the number and distribution of spermatogonial stem cell in rat testes from newborn to adult period

P077-Normozoospermik İnfertil Hastalarda Sperm DNA Bütünlüğü ve Konvansiyonel Semen Parametreleri Arasındaki İlişki/The Relationship Between Sperm DNA Integrity And Conventional Semen Parameters In Normozoospermic İnfertile Patients

P078-Prepubertal Dönemde Uygulanan Cyfluthrinin Oluşturduğu Testiküler Hasar Üzerine Benfotiaminin Koruyucu Etkileri/Protective Effects of Benfotiamine on Cyfluthrin-Induced Testicular Damage During the Prepubertal Period

P079-Obezite Erkek İnfertilitesi İçin Bir Risk Faktörü müdür?/Is obesity a Risk Factor for Male Infertility?

P080-Npas2 Ekspresyonu İnsan Spermatogenezi ile İlişkilidir/Npas2 expression is associated with human spermatogenesis

P081-İnsan Sperm Kriyoprezervasyonunun Sperm Motilite, Morfoloji ve Deoksiribonükleik Asit (DNA) Fragmantasyonuna Etkisinin Araştırılması/Human Sperm Cryopreservation Effects of Sperm Motility, Morphology and DNA Fragmentation

P082-VEGF ve IL-1'in İnfertilideki Önemi/Significance of VEGF and IL-1 in Infertility

P083-Deneysel olarak oluşturulmuş diabetik sıçan modelinde transforming growth factor (tgf β), nuclear factor kappa b (nf-kb), heat-shock 90 β (hsp90 β) ve e-cadherin proteinlerinin, testis dokusunda dağılımının histolojik olarak incelenmesi/Histologically investigation of transforming growth factor (tgf β), nuclear factor kappa b (nf-kb), heat-shock 90 β (hsp90 β) and e-cadherin proteins on the testicular tissue of experimental induced diabetic rats model

P084-Deneysel Polikistik Over Sendromunda D Vitamininin Over Üzerine Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi/Effects of vitamin D on ovary in experimental polycystic ovary syndrome: A light and electron microscobic study

P085-Diyabetin Dişi Sıçan Uterus Dokusunda Nitrik Oksit Sentaz Üzerine Etkisinin Araştırılması/Investigation Effects Of Diabetes On Nitric Oxide Synthase In Female Rat Uterus Tissue

P086-E Vitamininin Sıçanlarda Nikotine Bağlı Ovaryum Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi/Light and Electron Microscopic Evaluation of the Effects of Vitamin E on Nicotine-induced Ovarian Damage in Rats

P087-Neonatal Dönemde Dişi Ratlara Uygulanan Bisfenol A'nın Tuba Uterina'da Oluşturduğu Değişikliklere Karşı Melatonin'in Olası Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi/Histopathologic Examination Of Possible Effects Of Melatonin Against The Alternation On Tuba Uterina Of Neonatal Exposure To Bisphenol A In Female Rats

P088-Kronik Cep Telefonu Radyasyonu ve Koruma Amaçlı Uygulanan Melatonin'in Serviks Üzerine Etkisi/Investigation The Effects Of Chronic Mobile Phone Radiation And Melatonin Used For Protection Purpose On The Cervix Tissue

P089-Benzo(a)piren Uygulanan Sıçanlarda Ovaryum Dokusunda Meydana Gelen Değişikliklere Bir Antioksidan Olarak Curcumin'in Rolü/The Role Of Curcumin As An Antioxidant On Ovary Tissue Changes Of Benzo (a) pyrene Applied Rats

P090-Deneysel Rat Modelinde Sisplatinin İndüklediği Over Hasarı Üzerine Progesteronun Koruyucu Etkisi/Protective Effect Of Progesterone On Ovarian Damage Caused By Cisplatin In An Experimental Rat Model

P091-PMSG ve hCG uygulamalarının fare ovaryumunda folliküler gelişime olan etkileri/Effect of PMSG and hCG on follicule development in the mice ovaries

P092-Sperm aktivasyonunun endometriyum epitelinde pinopod formasyonu üzerine etkisi/The effect of sperm activation on pinopod formation in endometrial epithelium

P093-Seksüel Siklus Süresince İneklerin Serviks ve Vajinasında VEGF/VEGFR Ailesinin Non-Endotelial Hücrelerdeki Fonksiyonel Rolü/The Functional Role of VEGF/VEGFR Family on Non-Endothelial Cells in Bovine Cervix and Vagina during Sexual Cycle

P094-Farede Oosit Maturasyonunda c-Abl Tirozin Kinaz ve mTERT Telomeraz Katalitik Alt Ünitesi Ekspresyonunun İmmunofloresan Yöntem ile Gösterilmesi/Expression of c-Abl Tyrosine Kinase and mTERT Telomerase Catalytic Subunit by Immunofluorescence Method during Mouse Oocyte Maturation

P095-Di-n-bütül fitalat'ın tuba uterina'da oluşturduğu değişikliklere karşı resveratrol'ün olası koruyucu etkilerinin yapısal düzeyde incelenmesi/The effects of di-n-butly phthalate on tuba uterina and possible protective effect of resveratrol

P096-Rekombinant hCG ile ovulasyonun tetiklendiği sıklularda ovulasyon oranların değerlendirilmesi/An evaluation of ovulation rates in cycles triggered by recombinant hCG

P097-İskemi-reperfüzyon uygulanmış sıçanlarda IL-1 ve VEGF'in over ve uterus dokusundaki değişimi/Alterations of IL-1 and VEGF in ischemia-reperfused ovary and uterus in rats

P098-Köpek uterusunda, östrus siklusunda fibronektin reseptör (integrin β 1) ve lamininin immunohistokimyasal lokalizasyonu/The immunohistochemical localization of fibronectin receptor(Integrin β 1) and laminin in the uterus of bitch during the estrous cycle

P099-Yavaş dondurma tekniği sıçan ovaryumlarında DNA metiltransferaz proteinlerinin ekspresyonlarını değiştirir/Slow freezing changes expressions of the DNA metiltransferase proteins in cryopreserved rat ovaries

P100-Prepubertal ve Erişkin Ovaryumların Di(2-ethylhexyl) phthalate Yanıtı: Apoptosis, Proliferasyon ve Nrf2 aktivasyonu/Prepubertal and Adult Ovarian Response to Di(2-ethylhexyl) phthalate: Apoptosis, Proliferation and Nrf2 Activation

P101-Nedeni açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda sekretuvar fazdaki endometriyum epitelinin ultrastrüktürel özellikleri ve epitelde Musin-1 ekspresyonu/Ultrastructural characteristics and Mucin-1 expression of secretory endometrium of women with unexplained infertility

P102-Düşük ve Yüksek Doz Capsaicin Uygulamasının Rat Ovaryum Granuloza Hücrelerinde IGF-1 ve IGFR İfadeleri Üzerine Etkisi/IGF-1 and IGFR Expressions After Low and High Doses of Capsaicin Treatment in Rat Ovarian Granulosa Cells

P103-Fare oosit ve preimplantasyon dönem embriyolarda DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B proteinlerinin görelî ekspresyon düzeyleri ile hücre içi yerleşimlerinin belirlenmesi/Determination of relative expression levels and cellular localization of DNMT1, DNMT3A and DNMT3B proteins in mouse oocyte and preimplantation stage embryos

P104-Siklofosfamide bağılı ovaryan toksisiteyi azaltmada silymarinin rolü/Protective effect of silymarin on cyclophosphamide toxicity in ovary

P105-İntrauterin Dönemde Metformin Uygulamasının Yavru Dişi Sıçanların Ovaryum ve Uterusuna Etkilerinin İncelenmesi/Investigation of the Effects of Metformin Treatment on The Ovaries and Uterus of the Female Rat Pups During Intrauterine Period

P106-Kedi ovaryum dokusunun vitrifikasyon ile dondurulup çözülmesinin ardından nude fareye transplantasyonu sonrası follikül ve oosit canlılığı/Follicle and oocyte survival of transplanted tissue after freezing-thawing vitrified feline ovarium tissue to nude mouse

P107-Normal gebelik, komplet mol hidatiform ve parsiyel mol hidatiformlarda leukemia inhibitory factor(lösemi inhibitör faktörü) ve insulin like growth factor-1 (insulin benzeri büyüme faktörü-1)ekspresyonunda ki farklılıklar/Differential expression of leukemia inhibitory factor and insulin like growth factor-1 between normal pregnancies, partial hydatidiform moles and complete hydatidiform moles

P108-Swim up tekniğı uygulanan normospermili kişilerde fosfodilserin membran translokasyonu olan hücrelerin motilite ile ilişkisi/Correlation between the cells with phosphodilserine membran translocation and motility in swim up technique applied male

P109-Metafaz I oositlerin ve in vitro matüre edilmiş metafaz II oositlerin ICSI sonuçlarının karşılaştırması/Comparison of the outcomes of ICSI of metaphase I oocytes and in vitro matured metaphase II oocytes

P110-Tek klivaj embriyo ya da blastosist transferi ile elde edilen gebeliklerde embriyo morfolojisinin maternal serum hCG düzeyinde belirleyici etkisi/Predictive value of embryo morphology on maternal serum hCG level in pregnancies achieved with single cleavage or blastocyst embryo transfer

P111-Deneysel ıvıf modelinde kültür ortamına tiroid hormon desteğinin bovine embriyosu klivajı ve kalitesi üzerine etkilerinin araştırılması/Effects of thyroid hormone addition to culture media on bovine embryo cleavage and quality in experimental ıvıf model

P112-İnsan Yenidoğan Sünnet Derisi Kök Hücrelerinin Sinir Öncülü Hücrelere Farklılaşma Potansiyellerinin Tespiti ve Bu Hücrelerin Klinikte Kullanılmasına İlişkin Karakterizasyonları/Characterization and Neural Differentiation Potential of Human Newborn Foreskin Stem Cells (hnFSSCs) for Future Clinical Applications

P113-İnsan kıl foliküllerinde eksprese edilen markerların farklı deri bölgelerine göre değerlendirilmesi/The evaluation of markers expressing in human hair follicles according to different skin areas

P114-Kök Hücre Uygulamalarının İmplantasyon Sırasında Adezyon Moleküllerine Etkisi/Effects of Stem Cell Applications on Adhesion Molecules During Implantation

P115-3D Baskı Yöntemi ile Elde Edilen Biyomalzemenin Kemik İliği Mezenkimal Kök Hücre ile in vivo ve in vitro Uyumu/Compatibility of 3D Printed Biomaterials with Mesenchymal Stem Cells in vivo and in vitro

P116-Deneysel diyabet oluşturulan ratlarda beta hücrelerinin sayılarında ve pankreas progenitor hücrelerin Ngn-3, nestin ve Pdx-1 ekspresyonlarında meydana gelen değişimler ve bu değişimler üzerine lycopene etkisi/Changes in the pancreas as for the number of beta cells and Pdx-1, Ngn-3 and nestin expressions of progenitor cells, in experimentally induced diabetes mellitus in rats and the effect of lycopene on these changes

P117-Oksitosin ve Takrolimus Kombinasyonunun Yağ Kaynaklı Mezenşimal Kök Hücreler Üzerine Antagonistik Etkileri/Antagonistic Effect of Oxytocin and Tacrolimus Combination On Adipose Tissue-- Derived Mesenchymal Stem Cells

P118-Dormansi Modülatörlerinin Küçük Moleküllerle Hedeflenmesi ile İnsan Hematopoetik Kök Hücrelerinin ex vivo Çoğaltılması/Ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells by targeting quiescence modulators with small molecules

P119-Deride Yanık Zemininde Kök Hücre Uygulaması ve Damar Anastomozunu Patensinin Araştırılması/Investigation of stem cell application and vessel anastomosis patency on burn skin

P120-Deneysel İnmemiş Testis Oluşturulmuş Sıçanlarda Oluşan Testis Hasarında Yağ Doku Kökenli Kök Hücrelerinin Oksidatif Stres Üzerine Etkileri/Effects Of Adipose Driven Stem Cells In Experimentally Undescended Testes Rat Model

P121-İmmunomodulator olarak İnsan Diş Jerm Kök Hücrelerinin Özellikleri/Immunomodulation properties of human tooth germ stem cells

P122-Plateletten Zengin Plazma ile Kombine Periferik Kan Mononükleer Hücrelerinin Osteojenik Farklılaşması/Osteogenic Differentiation Of Peripheral Blood Mononuclear Cells Combined with Platelet Rich Plasma

P123-Deneysel Yara İyileşmesinde Laminin İle Kombine Hematopoetik Kök Hücrenin Etkisi/The Efficacy Of Hematopoietic Stem Cell Combined With Laminin For Experimental Wound Healing

P124-Kök Hücre Uygulanan Testis Biyopsi Modelinde PI3K/AKT Sinyali/Stem Cell Application Testis Biopsy Model PI3K / AKT Signaling

P125-Over Torsiyon/Detorsiyonunda Mezenkimal Kök Hücrenin Etkisi/Effect of Mesenchymal Stem Cell on Torsion/Detorsion Rat Ovary

P126-Miyelin oluşumunun ve myelinizasyon hastalıklarının kök hücre kullanarak modellenmesi/Modeling myelin formation and myelination disorders using stem cells

P127-Mezenkimal kök hücre kaynağı göbek kordonu için farklı kriyoprezervasyon protokollerinin karşılaştırılması/Comparison of different cryopreservation protocols for human umbilical cord as source of mesenchymal stem cells

P128-İnsan göbek kordonunun farklı bölgelerinden enzimatik ve doku eksplantı yöntemleri ile izole edilen mezenkimal kök hücrelerinin karakterizasyonu/Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from different compartments of the human umbilical cord by enzymatic and tissue explant methods

P129-İnsan Adipoz Dokusundan Mezenkimal Kök Hücrelerinin Eksplant Kültür Tekniğiyle İzolasyonu/Isolation of Mesenchymal Stem Cells from Human Adipose Tissue Using Explants Culture Method

P130-Resveratrol ortak kültüre edilmiş A549 akciğer kanser hücreleri ve yağ doku kaynaklı mezenşimal kök hücrelerde IL-6 ve VEGF salınımını azaltmaktadır/Resveratrol reduces IL-6 and VEGF secretion from co-cultured A549 lung cancer cells and adipose-derived mesenchymal stem cells

P131-Sığır yağ doku kaynaklı kök hücreler ile hücreleri uzaklaştırılmış yağ dokusu ve fibroini içine alan hidrojel doku iskelesi/Hydrogel scaffolds incorporating decellularized adipose tissue and fibroin with bovine adipose derived stem cells

P132-Göbek Kordonu Stromasından elde edilen mezenkimal kök hücrelerin karakterizasyonu/Characterization of mesenchymal stem cells isolated from umbilical cord stroma

P133-Bor İçeren Nano Hidroksiapatit Seramikler, Mezenkimal Kök Hücrelerle Osteoporozlu Tavşan Uzun Kemiklerinde İyileştirici Etki Göstermektedir/Boron containing Nano Hydroxyapatite Ceramics and Mesenchymal Stem Cells Stimulate Bone Regeneration in Osteoporotic Rabbit Long Bones

P134-Vankomisin İçeren Biyoseramik/Polimer Kompozitlerin Biyofilim Engellemesi, Biyouyumluluğu Ve Mezenkimal Kök Hücrelerin Osteojenik Farklılaşmasına Etkilerinin Analizi/Analyzing The Effects Of Vancomycin Containing Bioceramic/Polymer Composites On Biofilm Prevention, Biocompatibility And Osteogenic Modification Of Mesenchymal Stem Cells

P135-Hipoksik koşulların insan göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerinde kök hücre özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması/The effects of hypoxic conditions on the behaviour of human umbilical cord derived mesenchymal stem cell

P136-Östrojen reseptörleri, mitokondri ve hormon tedavisi cevabı/Estrogen receptors, mitochondria and hormone therapy response

P137- {Prostat kanserli sıçan testislerinde metforminin anti-oksidatif etkisi} / {Anti-oxidative effects of metformin on rat testes bearing prostate cancer}

P138- {In vivo} metastatik fare meme kanseri modelinde primer tümör ve organ metastazlarında nefronektin ekspresyonu azalmaktadır/Nephronectin is decreased in metastatic breast carcinoma and related to metastatic organs

P139-Endometriyal kanser hücre hatlarında EZH2 proteininin moleküler yöntemlerle değerlendirilmesi/Investigating the EZH2 protein in endometrial cancer cell lines by using molecular methods

P140-p97/VCP (Valosin içeren protein) ve etkileşimde olduğu proteinlerin insan adrenal tümörlerindeki ekspresyonu/Expression of p97/VCP (Valosin containing protein) and interacting proteins in human adrenal tumors

P141-Ehrlich Solid Tümörlerinde Kanser Kök Hücre Varlığının İmmunohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi/Immunohistochemical Investigation of Availability of Cancer Stem Cells in Ehrlich Solid Tumors

P142-Deneysel hepatokarsinoma modelinde arı zehrinin hücresel ve moleküler mekanizmalarının araştırılması/Investigation of the molecular and cellular mechanisms of bee venom in experimental model of hepatocarcinoma

P143-Normal, Prostatik İntraepitelyal Neoplazi (PIN) ve Malignant Prostat Dokularında Notch Sinyal Yolu Üyelerinin İmmunohistokimyasal Lokalizasyonlarının Belirlenmesi/Determination of Immunohistochemical localizations of Notch pathway members in normal, prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) and malignant prostate tissues

P144-Hipoksi Nöroblastoma Hücrelerinde miRNA Ekspresyonunu Tetikler mi?/Can Hypoxia Induced miRNA Expression in Neuroblastoma Cell Line?

P145-Kanser Kök Hücrelerinde Otofaji İlişkili Gen Ekspresyon Analizi/Analysis of Autophagy Related Gene Expression in Cancer Stem Cells

P146-Meme kanserine bağlı oluşan inflamatuvar yanıtta c-fos aktivasyonunun değerlendirilmesi/The evaluation of c-fos activation on inflammatory response depending on breast cancer

P147-Farklı Metastatik Potansiyeli Olan Meme Kanser Hücre Hatlarında Tedavinin Yan Yüz Bağlantı Molekülleri Üzerine Etkisi/Effects of Treatment on Cell-Cell Adhesion Molecules on Breast Cancer Cell Lines which have Different Metastatic Potentials

P148-Fare Meme Kanseri Modeli Metastatik ve Non Metastatik Tümörlerde ve Hücre Hatlarında FoxO1, FoxO3 ve FoxO4 Ekspresyonlarının in vivo ve in vitro Değerlendirilmesi/Evaluation the Expression of FoxO1, FoxO3, and FoxO4 in Metastatic and Non Metastatic Tumors and Cell Lines from Mouse Breast Cancer Model in vivo and in vitro

P149-Benign ve Malign Ovaryum Kanserlerinde EF2-Kinaz Dağılımı/EF2-Kinase Distribution in Benign and Malign Ovarian Cancer

P150-Fare Embriyonik Kök Hücresi, KLN205 Akciğer Kanser Hücresi Hattı ve Fibroblast Hücre Hattı Floresan Fotoğraflarının VEGF ve NFKB Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırma Analizi/Analysis of Mouse Embryonic Stem Cell, KLN 205 Lung Carcinoma Cell Line and Fibroblast Cell Line fluorescence images for comparison of VEGF and NFKB Expression level

P151-Metastatik ve non-metastatik fare meme kanseri modelinde serebral kavernoza malformasyon proteinlerinin (CCM1, CCM2 ve CCM3) ekspresyonlarının değerlendirilmesi/Cerebral cavernous malformation (CCM1, CCM2 and CCM3) proteins expressions in mice breast cancer model by using metastatic and non-metastatic cell lines

P152-Ehrlich solid tümörlerinde netrin 1 ve faktör 8 ekspresyonu üzerine paklitaksel'in etkisinin incelenmesi/investigating of effect of paclitaxel on netrin 1 and factor 8 in ehrlich solid tumors

P153-Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde Cl-amidin'in antikanserojenik etkinliği/Anticarcinogenic activity of Cl-amidine on non-small cell lung cancer

P154-Kolon Karsinoma Kök Hücrelerinde Thymus Capitatus un Etkisi/The Effect of Thymus Capitatus on Colon Carcinoma Stem Cells

P155-Geldanamisin ve Flavopiridol'un Prostat Kanserinde Sinerjistik Sitotoksikite ve Apoptotik Etkilerinin İncelenmesi/Combination of Flavopiridol and Geldanamycin Induces Synergistic Cytotoxicity and Apoptosis in Prostat Cancer

P156-Glioblastoma YKG1 hücre hattı üzerine İrinotekan'ın sitotoksik etkilerinin Borax tarafından potansiyalizasyonunun incelenmesi/Investigation of potentiation effect of Borax on cytotoxic effects of Irinotecan on YKG1 glioblastoma cell line

P157-MFE-319 Endometriyum Kanseri Hücre Hattında Sisplatin, Paklitaksel ve Metformin'in Apoptoz Üzerine Etkileri/Effects of Cisplatin, Paclitaxel and Metformin on Apoptosis in MFE-319 Endometrium Cancer Cell Line

P158-İvesi Irkı Erkek Kuzularda Farklı Besleme Programları ve Ghrelin Enjeksiyonunun Plazma Ghrelin Konsantrasyonu ve Abomasumda Ghrelin Pozitif Hücre Dağılımı Üzerine Etkileri/Effects of Different Feeding Programs and Ghrelin Injection on Plasma Ghrelin

Concentrations and Distribution of the Ghrelin Positive Cells in the Abomasum of Awassi Male Lambs

P159-Compact organ electrophoresis system (CORES): kolay, hızlı, ucuz organ elektroforezi*/Compact organ electrophoresis system (CORES): easy, fast, cheap organ electrophoresis*

P160-Hücre dışı matriksin iki boyutlu ve üç boyutlu primer nöron kültürlerinin oluşturulmasındaki etkisinin Taramalı Elektron Mikroskop ile incelenmesi/Scanning electron microscopic investigation of the effect of extracellular matrix on construction of 2D and 3D primary neuronal cultures

P161-*{Pinus brutia}* Ekstresi İçeren Krem Formülasyonun Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi: Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Çalışma/Evaluation of The Effect of *{Pinus brutia}* Containing Cream on Wound Healing: A Histochemical and Immunohistochemical Study

P162-Aselüler Doku İskelelerinin Geliştirilmesi ve Histolojik Değerlendirilmesi/Development of Acellular Scaffolds and Histological Evaluation

P163-Beyin dokusuna uygulanan polimerizasyon ve şeffaştırma tekniğinde ortam şartlarının şeffaştırma üzerine etkisi*/The impact of environmental conditions on transparency in the polymerization and transparency techniques applied to the brain tissue*

P164-Hyaluronik Asit Uygulamasının Perisilikon Kapsül Yapısına Etkisi/The Effect of Hyaluronic Acid Application On The Perisilicon Capsul Structure

P165-Aksolotl *{Ambystoma maxicanum}* Kuyruk Dokusunda Nestin, NF200 ve Akt1 Ekspresyonu/The Expression of Nestin, NF200 and Akt1 in Axolotl's *{Ambystoma maxicanum}* Tail Tissue

P166-Anne Sütü Kaynaklı Mikrokimerizm/Breastmilk Induced Microchimerism

P167-Tümesent İnfiltrasyonunun Adipositlerdeki Perilipin Ekspresyonu Üzerine Etkisi/Effect of Tumescient Infiltration on the Perilipin Expression of Adipocytes

P168-Nigella sativa tohum yağının, deneysel diyabet modelinde ovaryum hacmi, oksidan sistemler, XIAP ve NF-kB ekspresyonuna etkisi/Effects of Nigella sativa oil on ovarian volume, oxidant systems, and XIAP and NF-kB expression in an experimental model of diabetes

P169-Östrojen ve Aşırı Egzersizin Erkek Sıçan Adrenal Bezleri Üzerine Olan Etkileri/Effects of Estrogen and Excentric Exercise on Adrenal Glands of Male Rats

P170-Streptozotosin kaynaklı karaciğer hasarı ve hepatik stellat hücreler trans-ayrımında kurkumin rolü/The role of curcumin in streptozotocin-induced hepatic damage and the trans-differentiation of hepatic stellate cells

P171-Siklofosomid ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında Oleuropeinin İyileştirici Etkisi/Oleuropein Ameliorates Cyclophosphamide Induced Hepatic Injury in Rats

P172-Alfa Lipoik Asitin İskemi-Reperfüzyon Sonucu Oluşan Böbrek Hasarını Önlemedeki Olası Etkilerinin Araştırılması/Investigation of Possible Protective Effects of Alpha Lipoic Acid on Ischemia-Reperfusion Induced Kidney Injury

P173-Sıçanlarda akrilamid ile oluşturulan tetis hasarı üzerine L-sisteinin etkisi/Effects of L-cysteine on acrylamide induced testicular toxicity in rats

P174-Yüksek Şiddetli-Aralıklı Kronik Koşu Egzersizi Uygulanan Sıçanlarda Motor Korteks Ve Omurilik Ön Boynuz Motor Nöronlarındaki Ultrastrüktürel Ve Moleküler Değişiklikler/The Ultrastructural And Molecular Changes In Motor Cortex And Spinal Cord Ventral Horn Motor Neurons Of Rats Exposed To Chronic High Intensity-Intermittent Running Exercise

P175-Miyokardiyum ve Akciğer Alveollerinde İskemi-Reperfüzyon Hasarına Karşı Ticagrelorun Koruyucu Etkisi/The Protective Effect Of Ticagrelor On Lung Alveoli and Myocardium Against Ischemia-Reperfusion Injury

P176-Sıçanlarda Sisplatinin Neden Olduğu Böbrek Hasarına Kurkuminin Etkisi/The Effect of Curcumin Against Cisplatin-Caused Kidney Damage in Rats

P177-Genç Ve Yaşlı Sprague-Dawley Sıçanlarda Parsiyel Hepatektomi Sonrası Melatoninin Karaciğer Rejenerasyonuna Etkisi/The Effects Of Melatonin On Hepatic Regeneration After Partial Hepatectomy In Young And Aged Sprague-Dawley Rats

P178-Kıkırdak hasarlarında geometrik şeklin iyileşmeye etkisinin histolojik olarak incelenmesi/Investigating the effect of geometric shape on healing of cartilage defects by using histological techniques

P179-Deneysel Fasial Sinir Yaralanmasından Sonra Anastomoz ve Agmatin Tedavisinin Sinir Rejenerasyonuna Etkileri/Effects of anastomosis and agmatine therapy on nerve regeneration following experimental facial nerve injury

P180-Titanyum Dioksit Nanopartiküllerin YAC-1 Lenfoma Hücre Soyu Üzerine Etkileri/Effects of Titanium Dioxide on YAC-1 Lymphoma Cell Line

P181-Ratlarda Doksorubisin Karditoksitesinde Taurinin Koruyucu Etkisi/Cardioprotective effect of taurine against doxorubicin cardiotoxicity in rats

P182-Kabazitaksel doza bağımlı olarak karaciğer toksisitesine neden oluyor/Cabazitaxel Causes a Dose-dependent Liver Toxicity in Rats

P183-Streptozotocin ile İndüklenmiş Diyabetik Farelerde Sunitinib ile Notch Yoluğu'nun Baskılanması Karaciğer Hasarını Engeller/Repression of the Notch pathway Prevents Liver Damage By Sunitinib in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice

P184-Modifiye edilmiş ve melatonin eklenmiş Wisconsin Üniversitesi solusyonunun (mod uw+m) böbrek koruma süresine etkisi ve etkinliği/Modified university of wisconsin solution with melatonin and the its efficacy of kidney preservation time

P185-Botulinum A toksininin yağ yamalarının yaşamsallığına etkisi/The effect of Botilinium toxin A on the survival of fat grafts

P186-Mirtazapin'in diyabetik karaciğer üzerine etkisi/The effects of mirtazapine on diabetic liver

P187-Obez Sıçanlarda Etanersptin Vasküler Düz Kasta Enos Ekspresyonu Üzerine Etkilerinin İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması/Immunohistochemical Analyses of Etanercept's Effects on Vascular Smooth Muscle eNOS Expression in Obese Rats

P188-Sisplatin ile indüklenen testiküler hasara karşı kurkumin, Vit-E ve kombinasyonunun koruyucu etkilerinin araştırılması/The investigation of protective effect of curcumin, Vit-E and combination in cisplatin-induced testicular injury

P189-Orman gülü balı nın fare testis dokusu na etkisi/The effect of Mad Honey in Mice Testes Tissue

P190-Sıçanlarda Bupivakain ve Levobupivakain İntraartiküler Enjeksiyonunun Eklem Kıkırdağı Matrisi ve Kondrosit Apoptozu Üzerine Etkisi/The Effects of Intraarticular Bupivacaine and Levobupivacaine Injection on Rat Articular Cartilage Matrix and Chondrocyte Apoptosis

P191-Metil metan sülfonatın fare böbreğinde yaptığı hasara kurkuminin etkileri/Effects of curcumin on methyl methanesulfonate damage to mouse kidney

P192-Çörek Otu tohumu yağının diyabetik sıçan aortunda intima-media kalınlığı ve Bax ve Kaspaz 3 ekspresyonuna etkisi/Effects of Nigella sativa L. seed oil on intima–media thickness and Bax and Caspase 3 expression in diabetic rat aorta

P193-Siklofosfamidin Neden Olduğu Mesane Hasarına Karşı Curcuminin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi/Protective Effect of Curcumin Against Cyclophosphamide-Induced Bladder Damage

P194-Metotreksat İle İndüklenen Testis Hasarında Proantosiyanidin Koruyucu Etkisi/Protective Effect of Proanthocyanidin on Methotrexate Induced Testicular Damage in Rats

P195-Cisplatin Kaynaklı Karaciğer Hasarında CAPE'nin Antiapoptotik Rolünün Belirlenmesi/Determining of the Antiapoptotic Role of CAPE on Cisplatin-Induced Liver Damage

P196-Cisplatin Uygulanan Ratların Karaciğeri Üzerine Amifostinin Olası Koruyucu Etkisinin Değerlendirilmesi: Histopatolojik, İmmünohistokimyasal ve Stereolojik Bir Çalışma/Evaluation of Possible Protective Effects of Amifostine on Cisplatin Treated Rat Liver: A Histopathological, Immunohistochemical and Stereological Study

P197-Wistar Albino Sıçanlarda Sisplatinin İndüklediği Testis Hasarına Karşı Kurkuminin Koruyucu Etkisi/Protective Effect Of Curcumin On Cisplatin Induced Testicular Damage İn Wistar Albino Rats

P198-{Curcuma longa} (Zerdeçal) Kökü Ekstraktının Cisplatin Kaynaklı Karaciğer Toksisitesi Üzerine Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması/Investigation of Possible Protective Effects of {Curcuma longa} (turmeric) Root Extract on Cisplatin-Induced Hepatotoxicity

P199-Wistar Albino Sıçanlarda Sisplatinin İndüklediği Akciğer Hasarına Karşı Kurkuminin Koruyucu Etkisi/Protective Effect Of Curcumin On Cisplatin Induced Lung Damage İn Wistar Albino Rats

P200-kemik defekti iyileşmesinde sistemik timokinon uygulamasının etkilerinin histomorfometrik olarak incelenmesi/Histomorphometric examination of the effect of systemic administration of timokinon in the bone defect healing

P201-Preeklampsili Gebelerin Göbek Kordonunda Anjiyogenezisin Araştırılması/İnvestigation Of Angiogenesis İn The Umbilical Cord Of Preeclamptic Women

P202-Testiste Oluşturulan İskemi / Reperfüzyon Modelinde Montelukast'ın Koruyucu Etkisi/Protective Effect of Montelukast on Ischemia / Reperfusion Injury in Rats

P203-Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Jejunal Mukoza Hasarında E Vitamininin Koruyucu Etkisi/Protective Effects of Vitamin E on Methotrexate-Induced Jejunal Mucosal Damage in Rats

P204-Diyabetik böbrekte oksidatif hasara karşı Alfa Lipoik Asidin koruyucu etkisi/The protective effect of Alpha Lipoic Acid against oxidative damage in diabetic kidney

P205-Serebellumda Diyabetik Oksidatif Hasara Karşı Alfa Lipoik Asitin Koruyucu Etkileri/The Protective Effect Of Alpha Lipoic Acid (Ala) Against Oxidative Damage İn Diabetic Cerebellum

P206-Benzo(a)piren'in böbrek dokusu üzerinde etkisi ve Curcumin'in olası koruyucu özelliğinin incelenmesi/Investigation of the possible protective effects of Curcumin against the effects of Benzo(a)pyrene in kidney tissue

P207-Maternal diyabeti olan fetal testislerde Rapamisin uygulamasının Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi/Evaluation of impact on Endoplasmic Reticulum (ER) stress application of Rapamycin in fetal testes with maternal diabetes

P208-Maternal Diyabeti Olan Fetal Ovaryumlarda Rapamisin Uygulamasının Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi/Application Of Rapamycin Evaluation Of Effects On Endoplasmic Reticulum (ER) Stress Maternal Diabetes İn Fetal Ovary

P209-Prokain ve serum fizyolojik eklem kıkırdığı ve sinovyum üzerinde benzer etki gösterir/Procaine and saline have similar effects on articular cartilage and synovium in rat knee

P210-Deneysel Hayvan Modelinde Oluşturulan Akut Mezenter İskeminin Erken Tanısında D-Dimer, L-Laktat, IFABP'in Yeri ve Prognostik Değeri/Evaluation of L-Laktat, D-Dimer, IFABP Levels in The Early Diagnosis of Acute Mesenteric Ischemia in an Experimental Study

P211-Sıçan Gracilis Kas Fleplerinde İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Sistemik Apokinin Uygulamasının Etkinliğinin Araştırılması/Study of The Protective Effects of Apocynin on Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Gracilis Muscle Flaps

P212-Streptozotosinle indüklenmiş diyabetik ratlarda aortun histolojik yapısında oluşan değişikliklere karşı alfa lipoik asitin koruyucu ve iyileştirici etkileri/Ameliorative effects of alpha lipoic acid on damage of aorta in streptozotocin induced diabetic rats

P213-Capsaicinin Ovaryum Granulosa Hücrelerinin Proliferasyonu ve Apoptozisi Üzerine Etkisi/Effects of Capsaicin on Ovarium Granulosa Cell Proliferation and Apoptosis

P214-Domuz Timusunda Apoptozisin İnce Yapısı/Fine Structure of Apoptosis in Pig Thymus

P215-Oksitosinin L-Name ile Oluşturulan Hipertansiyon Deneysel Modelinde Apoptoz Üzerindeki Rolü/The role of Oxytocin treatment on apoptosis in a L-NAME induced animal model of Hypertension

P216-Dental Restoratif Dolgu Materyalleri ile Beyin Hasarı Arasındaki İlişkinin İncelenmesi: Bir in-vivo çalışma/The Examination of the Relationship between Brain Damage and Dental Restorative Filling Materials: An In-vivo Study

P217-Diş Dolgu Materyalleri ile Karaciğer ve Böbrek Hasarı Arasındaki İlişki/The Relationship among Dental Restorative Filling Materials, Kidney and Liver Damage

P218-Metoksiklor ile Oluşturulan Oksidatif Stresin Karaciğer Dokusu Üzerine Etkisi/The Effect of Oxidative Stress Which is Formed by Methoxychlor on the Liver Tissue

P219-Oksidatif stresin böbrek dokusu üzerinde meydana getirdiği hasarın incelenmesi/observation of the damage generated by oxidative stress on kidney tissue

P220-Kuersetin Analöğü olan CHNQ in vitro ve in vivo Uygulamalarında Oksidatif Stresi ve Otofajiyi Tetiklemektedir/Treatment With The Quercetin Analog Chnq Induces Oxidative Stress And Autophagy Both in Vitro And in Vivo

P221-Agomelatin Uygulamasının Işık Stresine Maruz Bırakılan Sıçan Karaciğeri Üzerine Etkilerinin Araştırılması/Investigation of the Light Stress Effects on the Livers Of Agomelatin Administered Rats

P222-Doğal bir polifenol bileşik olan Apigenin'in polimikrobiyal sepsis modeli ile indüklenmiş böbrek hasarı üzerine olan koruyucu etkilerinin incelenmesi/The Protective Effects of a Natural Compound, Apigenin, on Polymicrobial Sepsis-induced Kidney Damage

P223-Spinal Kord İskemi Reperfüzyon Hasarına Karşı Reseratrol ve CAPE'nin Koruyucu Etkileri/Protective Effects of Resveratrol And CAPE Against Spinal Cord Ischemia Reperfusion Injury

P224-Agomelatin ve Gallik Asidin STZ ile İndüklenmiş Diyabetik Sıçan Testislerindeki Oksidatif Stres Üzerine Antioksidan Etkisi/Antioxidant Role of Agomelatine and Gallic Acid on Oxidative Stress in Stz Induced Type 1 Diabetic Rat Testes

P225-Erkek Sıçanlarda Poliklorlu Bifenillerin (Aroklor 1254) Neden Olduğu Reprodüktif Hasara Karşı Tetrandrinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması/The Investigation of Potential Protective Effects Of Tetrandrine Against Reproductive Damage Induced By Aroclor 1254 In Male Rats

P226-Etanolün oluşturduğu böbrek hasarı üzerine boron koruyucu etkisinin araştırılması/Investigation of preventive effects of boron on the ethanol induced kidney damage

P227-Ratlarda Sinir Sisteminde Cisplatinin Sebep Olduğu Yan Etkilere Karşı β -glukanın Koruyucu Etkileri/Beneficial Effects of β -Glucan against Cisplatin Side Effects on The Nervous System in Rats

P228-Karbondioksit ve Karbonmonoksite Maruz Bırakılan Sıçanlarda Histolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Değişimi/Changes of Histological and Biochemical Parameters in Carbon dioxide and Carbon monoxide Exposed In Rats

P229-Kobaylarda Rekombinant Kemik Morfogenik Proteini-2 (rhBMP-2) ve Rekombinant Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörünün (rhPDGF) Kemik Rejenerasyonuna Etkisinin Histolojik ve Histomorfometrik Analizi/Histologic And Histomorphometric Comparison Of Bone Regeneration Between Bone Morphogenetic Protein-2 And Platelet-Derived Growth Factor-BB In Guinea Pigs

P230-Yara İyileşme Modelinde {Foeniculum vulgare} Bileşiklerinden Fenchone ve Limonene'in Etkileri/Efficiency of {Foeniculum vulgare} essential oil compounds Fenchone and Limonene in experimental wound healing

P231-Sıçan siyatik sinirinin kronik konstriksiyon hasarında dekompresyonun ultrastrüktürel yapı üzerine etkisi/The effect of decompression as a treatment tool on ultrastructure in chronic constriction injury of rat sciatic nerve

P232-Deneysel Yara Modelinde ACTH ile Oluşturulan Stresin ve Royal Jelly'nin Yara İyileşme Sürecine Etkileri/Effects of ACTH-Induced Stress and the Royal Jelly on Wound Healing Process in the Experimental Wound Model

P233-Shea Yağının Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi/Effect of Shea Butter on Wound Healing

P234-İpek Serisinin, sıçan dorsal deri flebi üzerinde oluşturulan kesi modeli üzerine etkileri/Effects of Silk Sericin on Incision Wound Healing in a Dorsal Skin Flap Wound Healing Rat Model

P235-Sıçan Aşil Tendonu Hasarında Taurinin Etkisi/Effect of Taurine on Rat Achilles Tendon Healing

P236-Tavşanlarda Korneadaki Asit Yanıklarda Angiogenik Sitokinler ve Reseptörleri Eptelial Repair ve Neovaskularizasyonu Uyarır/Angiogenic Cytokines and Receptors in Acid Burn of the Rabbit Corneas Stimulates Epithelial Repair and Neovascularization

P237-Maternal Hipotiroidinin Prepubertal ve Pubertal Dönemlerde Yavru Rat Hipokampusünde MAP-2 İmmunreaktivitesi Üzerine Etkileri/The Effects of Maternal Hypothyroidism on the Immunoreactivity of MAP-2 in Pup Rats' Hippocampus at the Prepubertal and Pubertal Periods

P238-Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dallarında Yapılan Tezlerin Genel Profili/General View to Thesis of Histology and Embryology Department

P239-Kolon, Meme ve Prostat Kanseri Hücre Hatlarında Ökse Otu Ekstraktının Terapötik Etkisi/Therapeutic Effects Of Mistletoe Extract On Colon, Breast And Prostate Cancer Cell Lines

P240-Histoloji pratiğinde dijital dönem/Digital age of histology practice

P001

Sistemik ve Lokal Minosiklinin Yağ Grefti Sağkalımı ve Apoptotik Yolak İnhibisyonu Üzerine Etkisi

Kırdar Güney¹, Serhan Tuncer¹, Bora Özel¹, Çiğdem Elmas², Cemile Merve Seymen², Seyhan Çenetoğlu¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

AMAÇ: Yağ grefti uygulamaları son dönemde yağın iyi bir yumusak doku dolgusu olması, ucuz ve kolay elde edilebilir olması ve otolog olmasından dolayı herhangi yan etkisinin olmaması nedeni ile plastik cerrahide oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak yağ grefti sağkalım oranları net olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı antiapoptotik, antiinflamatuvar ve antibakteriyel ajan olan minosiklin uygulaması ile erken dönemde yağ hücrelerinin kaybına yol açan iskemi sonucu yağ hücre apoptozunu engellemek ve yağ sağ kalımını arttırmaktır.

METOD: Çalışmada 48 adet Wistar Albino sıçan her bir grupta 6 adet olacak şekilde toplam 8 gruba ayrıldı. Grup 1 ve 5 kontrol grubu olup, hiçbir ilaç verilmeden sıçanların inguinal bölgelerinden yağ pakeleri eksize edilip, ense bölgesinde açılan ceplere nakledildi. Grup 2 ve 6 sistemik minosiklin uygulaması olup yağları aynı şekilde nakledildi. Grup 3 ve 7 lokal minosiklin uygulaması sonrası yağları nakledildi. Grup 4 ve 8 ise lokal ve sistemik minosiklin uygulaması sonrasında yağları nakledildi. 90 gün sonra grup 1, 2, 3 ve 4 sakrifiye edildi ve yağ pakeleri ensesinden eksize edildi. Grup 5, 6, 7 ve 8 ise 9. gün sakrifiye edildi ve deney sonunda tüm gruplardan elde edilen yağ pakeleri tüm gruplar için Hematoksilen Eozin, 90. gün deney grupları için Oil Red O histokimyasal boyaları ve 9. gün deney grupları için TUNEL yöntemi kullanılarak boyandı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak da değerlendirildi.

BULGULAR: Minosiklinin lokal ve sistemik olarak bir arada verildiği grupta hacim değişim değerlerinin en az, tüm alan boyut miktarlarının ve lipid içeriği sağlam olan yağ hücrelerinin en fazla olduğu görüldü ($p<0,05$). Bunu sırası ile sistemik ilaç uygulaması, lokal ilaç uygulaması ve kontrol grubu takip etti. Apoptozise giden hücre sayısının en fazla kontrol grubunda iken en az lokal ve sistemik ilacın beraber verilen grupta olduğu görüldü ($p<0,05$).

SONUÇ: Sonuç olarak; 90. gün sakrifiye edilen grupların 9. gün sakrifiye edilen gruplara oranla çok daha kötü histolojik bulgular sergilediği, kahverengi yağ dokusu oluşumunun tüm gruplarda 90.günde, dokunun etken kaldığı stres nedeni ile meydana geldiği ve beyaz yağ dokusu hücrelerinin morfolojik özelliklerinin en iyi sistemik minosiklin uygulamasında korunduğu gözlemlendi. Sistemik veya lokal minosiklin uygulamasının erken dönemde apoptozisi azaltmış olması ile ileri dönemde yaşayan ve lipid içeriği korunmuş yağ hücrelerinin elde edilmesini sağlandı. İki uygulamanın kombine edilmesi ile etkileri potansiyelize olup yağ grefti uygulaması sonrası kalıcılığa katkısı oldu.

Anahtar Kelimeler: Yağ grefti, Minosiklin, Oil red O, TUNEL

The Effect Of Systemic And Local Minocycline On The Fat Graft Survival And The Inhibition Of Apoptotic Pathway

Kırdar Güney¹, Serhan Tuncer¹, Bora Özel¹, Çiğdem Elmas², Cemile Merve Seymen², Seyhan Çenetoğlu¹

¹Gazi University Faculty of Medicine, Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Ankara, Turkey

²Gazi University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

AIM: Recently use of fat grafting has been popularized in plastic surgery. Because it is a good soft tissue filler, cheap and easily obtained and has no side effects so these are the main reasons for popularized using. But the survival rate of fat grafts is unknown. The purpose of this study to increase fat graft survival rate and to inhibit early stage apoptosis that cause fat cell death after ischemia by using minocycline.

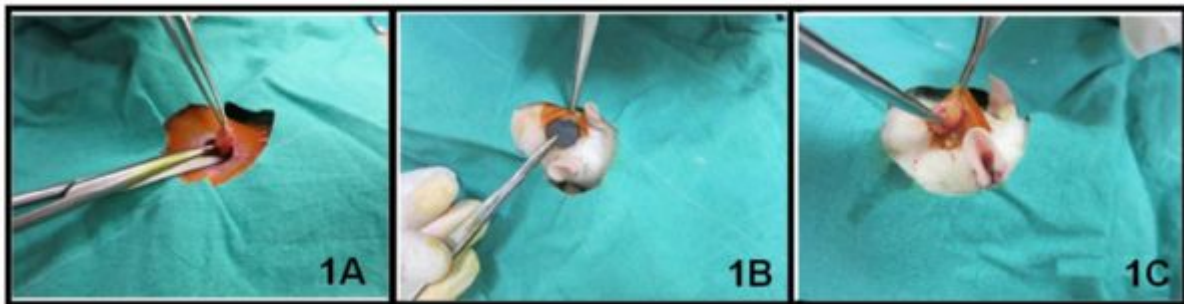
METHODS: 48 Wistar Albino rats were divided into 8 groups. Group 1 and 5 are control groups and minocycline was not use in this group. Group 2 and 6 are systemic minocycline groups. Group 3 and 7 are local minocycline groups. Group 4 and 8 are local and systemic minocycline groups. In every group, inguinal fat pads were got and after systemic, local or both minocycline application, fat pads transplanted animal's back. Group 1, 2, 3 and 4 were sacrifice after 90 days later. Group 5, 6, 7 and 8 were sacrifice after 9 days later and all fat pads determined by Hematoxylin Eosine, 90. days groups stained by Oil Red O and 9. days groups examined by TUNEL stainings for all groups. Results also analysed using statistical methods.

RESULTS: Grafts treated with local and systemic minocycline group, changes in volume values are very low, the amount of size in all areas and lipid contents in intact fat cells was very high ($p < 0.05$). It was followed by systemic drug administration, local drug administration and the control group. The maximum number of cells going into apoptosis were observed in control group, the minimum numbers were observed in the systemic and local drug administration group ($p < 0.05$).

CONCLUSION: In conclusion; degenerative histological changes and "brite adipocyte" formation were seen in 90.days groups due to the stress and the morphological features of white adipose cells were mostly protected by systemic minocyclin administration. Using systemic or local drug administration is prevent apoptosis in early stages and they increase the number of living fat cells with intact lipid contents. By combining using systemic and local minocycline are potentiated and they effects the retention of fat volume.

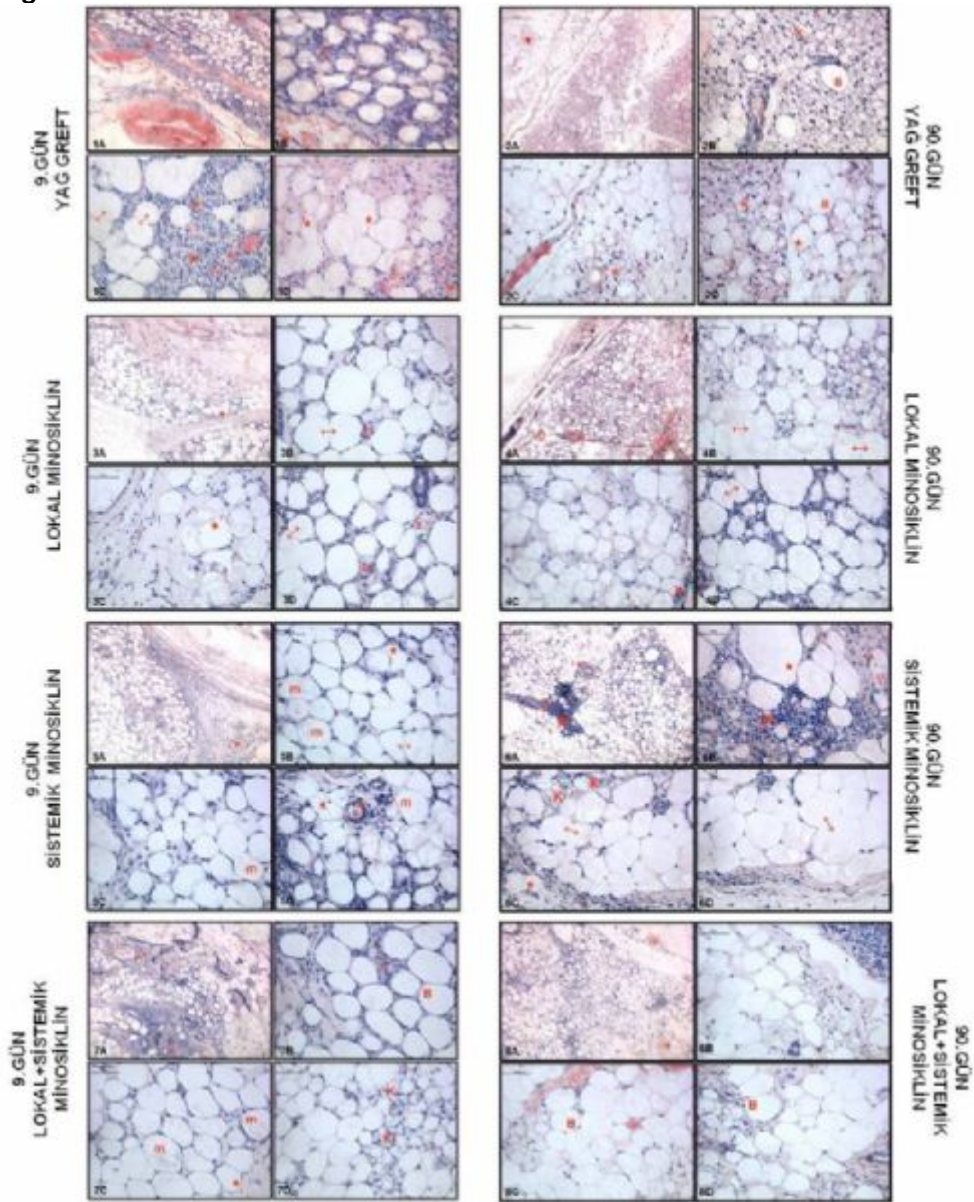
Keywords: Fat pads, Minocycline, Oil red O, TUNEL

Resim 1
Figure 1



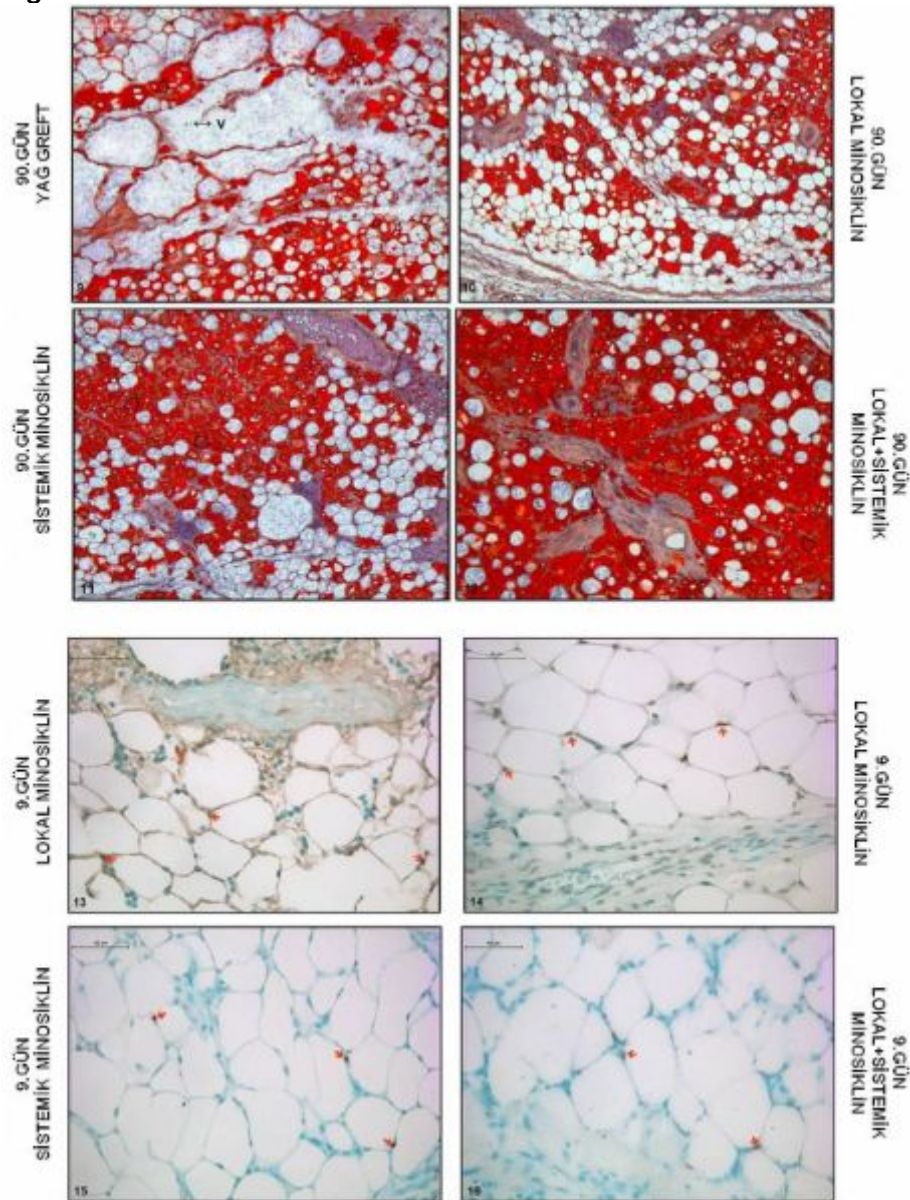
Deney düzeneği
Experimental design

Resim 2
Figure 2



Tüm gruplara ait Hematoksilen Eozin boyamaları
Hematoxylen Eosine stainings of all groups

Resim 3
Figure 3



90. gün grupları için Oil Red-O ve 9. gün grupları için TUNEL boyamaları
Oil Red-O staining for the groups of 90. days and TUNEL staining for the groups of 9. days.

P002

Hiperbarik oksijen tedavisinin kalp kasına etkisi

Yusuf Nergiz¹, Celal Yavuz², Orhan Tezcan², Şeyhmus Arı¹, Fırat Aşır¹

¹Dicle üniversitesi tıp fakültesi histoloji ve embriyoloji anabilim dalı, Diyarbakır.

²Dicle üniversitesi tıp fakültesi kalp ve damar cerrahisi anabilim dalı, Diyarbakır.

GİRİŞ-AMAÇ: Hiperbarik oksijen tedavisi sık kullanılan bir tedavi yöntemidir. Özellikle diyabetes mellitus komplikasyonlarının ve CO zehirlenmesinin tedavisi başta olmak üzere bir çok klinik durumda yıllardan beri kullanılmaktadır. Bu tedavinin uygulama biçimi kapalı bir ortamda deniz seviyesinden daha yüksek bir basınç oluşturularak oksijenin kullanılması esasına dayanır. Bu çalışmada, uygulamada çok sık kullanılan hiperbarik oksijenin kalp kasına etkisini ışık mikroskobu düzeyinde ortaya koymayı amaçladık.

MATERYAL-METOD: Çalışmada 7 si kontrol ve 7 si deney olmak üzere toplam 14 Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanıldı. Kontrol grubuna hiçbir işlem uygulanmadı. Deney grubuna ise 28 gün boyunca, her gün 90 dakika 2,5 ATA hiperbarik oksijen basıncına maruz bırakıldı. Basınç uygulanan ortam için %100 oksijenli çelik silindir kafes kullanıldı. Bu ortama tek tek tavşanlar 90 dakika kalacak şekilde yerleştirildiler. Tavşanlar yerleştirildikten sonra kademeli olarak basınç artırılıp 2,5 ATA lık bir basınca yükseltildi. Bu basınçta 90 dakika boyunca sabit bırakılıp yine kademeli olarak basıncı düşürülüp işlem sonlandırıldı. 28 günlük deney bitiminden sonra alınan kalp dokuları %10 luk nötral formalinde fikse edilerek rutin parafin takibine alındı. Parafin bloklardan elde edilen seri histolojik kesitlere Hematoksilin-Eozin ve Periodik Asit Schiff boyaları uygulandı. Elde edilen preparatlar Zeiss imager2 ışık mikroskobunda değerlendirilerek mikrografları alındı.

BULGULAR: Kontrol grubu tavşan miyokard kesitlerinde normal histolojik görünüm izlendi. Günde 90 dakika süreyle 2,5 atmosfer basınç altında hiperbarik oksijen uygulanan tavşanların miyokard kesitlerinde fokal hemorajik alanlar, kalp kası hücrelerinde vakuolizasyon ve hidropik değişiklikleri yanısıra interstisyumda polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu izlendi.

SONUÇ: Uzun süre hiperbarik oksijene maruz kalan tavşanların kalp kası hücrelerinde minimal düzeyde yapısal değişikliklerin oluşabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Hiperbarik oksijen tedavisi, kalp kası, tavşan, ışık mikroskobu.

Effects of Hyperbaric Oxygen Therapy on Cardiac Muscle

Yusuf Nergiz¹, Celal Yavuz², Orhan Tezcan², Şeyhmus Arı¹, Fırat Aşır¹

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of Dicle Diyarbakır.

²Department of Cardiovascular Surgery, Faculty of Medicine, University of Dicle, Diyarbakır.

Introduction and AIM: Hyperbaric oxygen therapy (HBOT) is a frequent treatment technique which has been used for years in clinical cases, especially in diabetes mellitus and carbon monoxide (CO) poisoning. HBOT is performed based on usage of oxygen where a closed system is established of which pressure is higher than sea level. In this study, we aim to show effects of hyperbaric oxygen therapy by light microscope on cardiac muscle.

MATERIAL-METHOD: In this study, totally 14 New Zealand white rabbits were utilized. 7 of them were used as control group and remaining 7 ones were used as experimental group. No application was performed on control group. Experimental group was exposed to 2.5 ATA hyperbaric oxygen pressure 90 minutes per day for 28 days. Pressure chamber was established by using steel cylindrical cage. Rabbits were one by one placed and left into this chamber for 90 minutes, and then pressure was gradually increased up to 2.5 ATA pressure. After holding the pressure constant for 90 minutes, it was gradually decreased and experiment was finished. Cardiac tissues taken after 28 days-experimental process were fixed in neutral 10% formalin solution. Later, tissues were embedded in paraffin and section were cut for routine Hematoxylin-Eosin and Periodic Acid Schiff staining. After staining, mounted slides were examined under Zeiss Imager 2 light microscope and micrographic images of them were taken.

RESULTS: Normal histologic appearance was observed in myocardial sections of rabbits of control group. In myocardial sections of rabbits which exposed to hyperbaric oxygen applied for 90 minutes per day under 2.5 atmosphere pressure, there were focal hemorrhagic areas, and vacuolization and hydrophobic changes in their cardiac muscle cells. Besides, polymorph-nuclear leukocyte infiltration in interstitial space was also observed.

CONCLUSION: It was concluded that structural changes at minimal level can be seen in cardiac muscle cells of rabbits which were long-time exposed to hyperbaric oxygen therapy.

Keywords: Hyperbaric oxygen therapy, cardiac muscle, rabbit, light microscope

P003

Koroner Trombusun Neden Olduğu Akut Koroner Sendromlu 3 Olgunun Değerlendirilmesi

Aysel Güven Bağla¹, Meltem İçkin Gülen², Bahadır Kırılmaz³, Serkan Saygı⁴, Ertuğrul Ercan⁴

¹SANKO Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD. Gaziantep, Türkiye

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD. Çanakkale, Türkiye

³Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD. Çanakkale, Türkiye

⁴İzmir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD. Medical Park Hastanesi, İzmir, Türkiye

AMAÇ:

Koroner trombus formasyonu, akut miyokard enfarktüsü, angina ve akut koroner sendromlara neden olan en önemli etiyolojik mekanizmadır. Koroner anjiyografi teknikleri, akut miyokard enfarktüsünde koroner trombus oluşumunun ne kadar sık ve önemli yer tuttuğunu ortaya koymuştur. Koroner anjiyoplasti ve trombus aspirasyonu gibi girişimsel teknikler koroner trombusün akut tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

YÖNTEM-GEREÇLER:

Göğüs ağrısı ile başvuran akut koroner sendromlu 3 olgu, hiperakut ST elevasyonlu anterior miyokard infarktüsü tanısıyla hospitalize edildi. Acil olarak koroner anjiyografi laboratuvarına alınıp invaziv girişim uygulandı ve birlikte trombus aspirasyonu yapıldı. Tüm olgulardan işlem öncesi, miyokard hasarının bir göstergesi troponin-T ve yeni bir inflamatuvar gösterge olan pentraxin 3 (PTX3) plazma düzeyleri tayini için kan örnekleri alındı. Ayrıca trombus materyalleri histopatolojik ve immünohistokimyasal (PTX3, CD68) olarak incelendi.

SONUÇ:

3 olguda da aspire edilen trombus materyallerinin, büyük ve kırmızı trombus olduğu gözlemlendi. Bu 3 olgunun ilginçliği muhtemel trombus oluşum mekanizmalarının farklı olmasıydı; 1. Olgu; genç bir hastada nativ koroner arterde trombus olması, 2. Olgu; nativ damar içerisine yerleştirilmiş stent içi trombus olması (ikili antiplatelet tedavisine rağmen), 3. olguda ise venöz damar yapısı içerisinde trombus oluşmasıydı.

1. Olgu; 4 saatlik göğüs ağrısı ile başvuran bu olgunun trombusu, sol ön koroner arterin proksimalinde izlendi. Trombus aspirasyonu sonrasında olguya başarılı direkt stent implantasyonu yapıldı. Plazma troponin: 130 mg/dl ve PTX3: 0,897 ng/mL. Trombus PTX3 immunboyanması ise score 3 ve CD68 immunboyanması ise score 2'ydı.

2. Olgu; 10 saatlik göğüs ağrısı ile başvuran, 3 gün öncesinde elektif olarak sol anterior koroner artere stent implantasyonu yapılan bir olguydu. Yapılan koroner anjiyografi sonucunda stent içinde trombus formasyonu saptandı. Trombus aspirasyonu sonrası başarılı anjiyoplasti işlemi uygulandı. Plazma troponin: 168 mg/dl ve PTX3: 18,421 ng/mL. Trombus CD 68 ve PTX3 immunboyanması score 3'tü.

3. Olgu; 16 saatlik göğüs ağrısı ile başvuran, 7 yıl önce 3'lü bypass cerrahisi uygulanan bu olguya yapılan acil koroner anjiyografi sonrasında, sirkumfleks koroner artere bağlanan safen greftinin trombusla tıkalı olduğu izlendi. Başarılı trombus aspirasyonu sonrasında stent işlemi yapıldı. İşlem sonrası distal akım çok düşüktü. Plazma troponin: 12 mg/dl ve PTX3: 2,168 ng/mL. Trombus PTX 3 ve CD68 immunboyanması score 3'tü.

Sonuç olarak; Plazma troponin ve PTX 3 değerleri ile birlikte trombus aspirasyon örneklerinin histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmesi, akut koroner sendrom hakkında bize önemli bilgiler verebilir.

Anahtar Kelimeler: akut koroner sendrom, pentraksin 3, CD 68, koroner trombus

Evaluation of 3 Cases With Acute Coronary Syndrome Caused by Coronary Thrombus

Aysel Güven Bağla¹, Meltem İçkin Gülen², Bahadır Kırılmaz³, Serkan Saygı⁴, Ertuğrul Ercan⁴

¹SANKO University, School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Gaziantep, Turkey

²Çanakkale Onsekiz Mart University, School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Çanakkale, Turkey

³Çanakkale Onsekiz Mart University, School of Medicine, Department of Cardiology, Çanakkale, Turkey

⁴İzmir University, School of Medicine, Department of Cardiology, Medical Park Hospital, Izmir, Turkey

OBJECTIVE:

Coronary thrombus formation is the most important etiologic mechanism that cause acute myocardial infarction, angina and acute coronary syndrome. Coronary angiography techniques have displayed the high frequency and importance of coronary thrombosis in acute myocardial infarction. Coronary angioplasty and interventional techniques such as thrombus aspiration are widely used in acute treatment of coronary thrombosis.

MATERIAL-METHODS:

Three patients with acute coronary syndrome who referred with chest pain, were hospitalized with a diagnosis of anterior myocardial infarction with hyperacute ST-elevation. They were taken immediately to coronary angiography laboratory and thrombus was aspirated. Blood samples were taken before the procedure from all cases for determination of plasma levels of troponin-T as an indicator of myocardial injury and Pentraxin 3 (PTX3) as a new inflammatory marker. Thrombus materials were examined histopathologically and immunohistochemically (PTX3, CD68).

RESULTS:

The aspirated thrombus materials were observed to be big and red-thrombus in all 3 of cases. The interesting aspect of these 3 cases was that thrombus formation occurred by probably different mechanisms in each one; Case 1: Young patient with thrombus in native coronary artery, Case 2: Patient with in-stent thrombosis in native coronary artery (while having dual antiplatelet treatment), Case 3: Patient with venous thrombus.

Case 1: The patient had chest pain for 4 hours and thrombus was observed in the proximal portion of left anterior coronary artery. Direct stenting was performed successfully after thrombus aspiration. Plasma troponin: 130 mg/dl and PTX3: 0,897 ng/mL. Thrombus PTX3 immunostaining was scored as 3 and CD68 immunostaining as 2.

Case 2: The patient had chest pain for 10 hours and had elective left anterior coronary artery stent implantation 3 days before. Coronary angiography revealed thrombus formation within the stent. Angioplasty was performed after thrombus aspiration successfully. Plasma troponin: 168 mg/dl and PTX3: 18,421 ng/mL. Both PTX3 and CD68 immunostainings were scored as 3.

Case 3: The patient had chest pain for 16 hours and had triple bypass heart surgery 7 years before. Coronary angiography revealed occlusion with thrombus in saphenous vein graft connected to the circumflex coronary artery. Stent implantation was performed successfully after thrombus aspiration. The distal flow reduced after the procedure. Plasma troponin: 12 mg/dl and PTX3: 2,168 ng/mL. Both PTX3 and CD68 immunostainings were scored as 3.

Consequently; Histopathological and immunohistochemical evaluation of thrombus aspiration samples together with plasma troponin and PTX3 levels may give us important information about acute coronary syndrome.

Keywords: acute coronary syndrome, pentraxin 3, CD 68, coronary thrombus

Kaynakça / References: • John AA, Michael W. Thrombosis in ischemic heart disease. Arch Intern Med 1996; 156: 1382-94. • Ambrose JA, Winters SL, Stern A, et al. Angiographic morphology and the pathogenesis of unstable angina pectoris. J Am Coll Cardiol 1985; 5: 609-16. • Monsen CE, Borrico S, Gorlin R, Fuster V. Angiographic demonstration of a common link between unstable angina pectoris and non-Q wave acute myocardial infarction. Am J Cardiol 1988; 61: 244-7. • Ambrose JA. Plaque disruption and the acute coronary syndromes of unstable angina and myocardial infarction: If the substrate is similar, why is the clinical presentation different? J Am Coll Cardiol. 1992; 19: 1653-8. • Mabin TA, Holmes DR, Smith HC, et al. Intracoronary thrombus: Role in coronary occlusion complicating percutaneous transluminal coronary angioplasty. J Am Coll Cardiol 1985; 5: 198-202. • Inoue K, Kodama T, Daida H. Pentraxin 3: a novel biomarker for inflammatory cardiovascular disease. Int J Vasc Med. 2012; 2012: 657025. • Matsubara J, Sugiyama S, Nozaki T, et al. Pentraxin 3 is a new inflammatory marker correlated with left ventricular diastolic dysfunction and heart failure with normal ejection fraction. J Am Coll Cardiol. 2011 Feb

15;57(7):861-9. • Savchenko A, Imamura M, Ohashi R, et al. Expression of pentraxin 3 (PTX3) in human atherosclerotic lesions. *J Pathol.* 2008 May; 215(1):48-55. • Latini R, Maggioni AP, Peri G, et al. Prognostic significance of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction. *Circ* 2004, 110:2349-2354. • Kotooka N, Inoue T, Fujimatsu D, et al. Pentraxin3 is a novel marker for stent-induced inflammation and neointimal thickening. *Atherosclerosis* 2008, 197:368-374

P004

İntrauterin Okskarbazepin ve Gabapentin maruziyetinin postnatal dönemde beyin dokusunda apoptotik etkisinin flow sitometrik incelemesi

Züleyha Erişgin¹, Yavuz Tekelioğlu²

¹Giresun Üniversitesi Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji AD.

²KTÜ Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji AD.

AMAÇ: Kadınların önemli dönemlerinden biri olan gebelik süreci, epilepsi hastası olan kadınlar için ayrı bir önem arz etmektedir. Bu önemli süreç, nöbetsiz dönem ile antiepileptik ilaç kullanımı arasındaki dengeyi içermektedir. İlk nesil antiepileptik ilaçların yan etkilerine karşı piyasaya sürülen 2. nesil antiepileptik ilaçlardan ve farklı iki etki mekanizmasına sahip olan Okskarbazepin (OXC) ve Gabapentin (GBP)'nin gebeliğin farklı dönemlerinde kullanımının beyin dokusu üzerinde apoptotik etkisini akım sitometri ile analiz etmeyi amaçladık.

MATERYAL-METOD: Çalışmada 21 adet gebe ratdan elde edilen 35 adet Wistar albino rat (45 günlük) kullanıldı. Her birinde 5'er adet olmak üzere hayvanlar 6 gruba bölündü. İlk 3 grup prenatal dönemde 1. – 5. Günler (pre-implantasyon-implantasyon dönemi), diğer 3 grup ise gebeliğin 6. – 15. günlerinde (organogenez) sırasıyla üzere OXC (100 mg/kg/gün), GBP (50 mg/kg/gün) ve serum fizyolojik (SF) maruz kalan ratlardan oluşturuldu. Prenatal dönemde SF'e maruz kalanlar kontrol grubu olarak değerlendirildi. 30 adet yenidoğan rat (45 günlük) ketamin (70 mg/kg) ve ksilazin (0,5 mg/kg) ile anestezi sağlanarak, beyin doku çıkarılarak formalin içerisine konuldu. Formalin solüsyonu içerisine alınan beyin doku örnekleri, mekanik ve enzimatik parçalama yöntemi ile PBS tamponu ile süspansiyon haline getirilerek akım (flow) sitometri ile incelenmesi yapıldı.

BULGULAR: Bu çalışmadaki verilerin analizinde SPSS 13.0 programı kullanılmıştır.

Tedavi grupları ve zaman gruplarına göre normal dağılım test edildiğinde üç tedavi grubunun her iki zaman diliminde verilerin normal dağılıma uyduğu belirlenmiştir (Shapiro-Wilk testi, tüm p değerleri 0.05'ten büyüktür). Gebeliğin 1-5.günlerinde apoptozis oranı OXC grubunda tüm gruplara göre anlamlı şekilde arttığı görülürken ($p<0.001$), GBP'de ile SF karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p=0.004$). 6-15.günlerde OXC grubunda SF grubuna göre ($p<0.001$) ve GBP grubuna göre ($p<0.001$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek değerler bulunmuştur. Aynı period için GBP ile SF grubu arasındaki fark anlamlı değildir ($p=0.012$). Her üç tedavi grubu kendi içinde zamanın etkisine bakıldığında SF ve GBP gruplarında fark anlamlı değilken ($p=0.847$ ve $p=0.934$), OXC grubunda ise 6-15. günlerde 1-5.günlere göre değerler istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir ($p<0.001$).

SONUÇ: Çalışmamız sonucunda gebeliğin henüz fark edilmediği dönem ile organogenez döneminde AEİ'lerden OXC nörotoksisteye neden olurken, GBP'de böyle bir etki gözlenmemiştir. Ayrıca OXC kullanım süresinin artışı ve nörogenez sürecindeki maruziyet nörotoksisteye neden olabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gebelik, Okskarbazepin, Gabapentin, Apoptozis, Akım Sitometri

Investigation of apoptotic effect of intrauterin exposure to Oxcarbazepin and Gabapentinon on brain by flowcytometry

Züleyha Erişgin¹, Yavuz Tekelioğlu²

¹Giresun University School of Medicine Department of Histology and Embryology

²Blacksea Technical University School of Medicine Department of Histology and Embryology

OBJECTIVE: Pregnancy is one of the important period for women and is particularly important for women with epilepsy. This important period includes the balance between seizure-free period with antiepileptic drug usage. Second generation antiepileptic drugs such as Oxcarbazepine (OXC) and Gabapentin (GBP) have been produced to prevent side and teratogenic effects of the first generation antiepileptic drugs. In this study we aimed to analyze apoptotic effects of prenatal usage of OXC and GBP on brain tissue by flow cytometry.

MATERIAL-METHOD: In this study, thirty five rats (45 days) were used that have obtained from 21 pregnant Wistar albino rats and divided up 6 groups. The first three group were exposure to OXC (100 mg/kg/day), GBP (50 mg/kg/day) and Saline during 1st-5th gestational days (pre-implantation-implantation periods), respectively. Other three groups were exposure to OXC (100 mg/kg/day), GBP (50 mg/kg/day) and Saline during 6th-15th gestational days (organogenesis period). Saline groups were accepted as control groups. Thirty offspring female rats were anesthetized with ketamine (70 mg/kg) and xylazine (0,5 mg/kg). The brains were removed and placed in phosphate-buffered formalin. After that all brain tissues were broken in PBS until becoming to solution with mechanic and enzymatic method.

RESULT: All data were analyzed with SPSS 13. All data have shown normal distribution in treatment groups and treatment periods (Shapiro-Wilk test, all p values < 0.05). When all treatment groups at the 1st-5th gestational periods compared with each other, apoptosis increased in OXC group compared with GBP and Control (p<0.001). there was no difference between GBP and Control groups (p=0.004). When all treatment groups compared with each other at the 5th-16th gestational periods, there was a significantly difference in OXC Group compared with GBP and Control groups (p<0.001), but there was no difference between GBP and Control groups (p=0.012). According to comparison of treatment times, there was no difference for GBP and Control groups (p=0.847 ve p=0.934), but for OXC group, apoptosis significantly increased at the 6 th-15 th treatment periods compare with the 1st -5 th treatment periods (p<0.001).

Keywords: Pregnancy, Oxcarbazepine, Gabapentin, Apoptosis, Flow cytometry

Apoptozis % Oranı

Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
OXC (1-5.günler)	5,6200 a	0,90388
GBP (1-5.günler)	1,5000	0,31623
SF (1-5.günler)	0,3000	0,14142
OXC (6-15.günler)	11,4333 b	0,50332
GBP (6-15.günler)	1,5333	0,70946
SF (6-15.günler)	0,3750	0,09574

a. 1-5.günlerde oxc grubunda sf grubuna göre (p<0.001)ve oxc grubunda gbp grubuna göre (p<0.001) istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek değerler bulunmuştur. Sf ve gbp grubu arasındaki fark anlamlı değildir (p=0.004). b. 6-15.günlerde oxc grubunda sf grubuna göre (p<0.001)ve oxc grubunda gbp grubuna göre (p<0.001) istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek değerler bulunmuştur. Sf ve gbp grubu arasındaki fark anlamlı değildir (p=0.012).

Apoptosis (%)

Groups	Average	Std.Deviation
OXC (1st-th days)	5,6200 a	0,90388
GBP(1st-th days)	1,5000	0,31623
Control (1st-th days)	0,3000	0,14142

OXC (5th-16th days)	11,4333	b	0,50332
GBP (5th-16th days)	1,5333		0,70946
Control (5th-16th days)	0,3750		0,09574

a. At the 1st-5th gestational periods compared with each other, apoptosis increased in OXC group compared with GBP and Control ($p < 0.001$). there was no difference between GBP and Control groups ($p = 0.004$). b. All treatment groups compared with each other at 5th-16th gestational periods, there was a significantly difference in OXC Group compared with GBP and Control groups ($p < 0.001$), but there was no difference between GBP and Control groups ($p = 0.012$)

Apopitozis % Oranı (Uygulama süresine göre karşılaştırma)

Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
OXC(1-5. günler)	5,6200	a 0,90388
OXC (6-15.günler)	11,4333	a 0,50332
GBP (1-5.günler)	1,5000	b 0,31623
GBP(6-15.günler)	1,5333	b 0,70946
SF(1-5. günler)	0,3000	b 0,14142
SF(6-15.günler)	0,3750	b 0,09574

a. OXC grubunda ise 6-15. günlerde 1-5.günlere göre değerler istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksektir ($p < 0.001$). b. SF ve GBP gruplarında fark anlamlı değil ($p = 0.847$ ve $p = 0.934$),

Apopitosis (%) Rate Comparison of treatment time

Groups	Average	Std.Deviation
OXC(1-5. günler)	5,6200	0,90388
OXC (6-15.günler)	11,4333	0,50332
GBP (1-5.günler)	1,5000	0,31623
GBP(6-15.günler)	1,5333	0,70946
SF(1-5. günler)	0,3000	0,14142
SF(6-15.günler)	0,3750	0,09574

a. In the OXC group, apoptosis significantly increased at the 6 th-15 th treatment periods compare with the 1st -5 th treatment periods ($p < 0.001$). b. there was no difference for GBP and Control groups ($p = 0.847$ ve $p = 0.934$),

Kaynakça / References: Afshar M, Hassanzadeh-Taheri MM, Moallem SA, Tamizi A, Golalipour MJ. Teratogenic effects of gabapentin on the skeletal system of Balb/C mice fetuses. Neurosciences (Riyadh). 2009; 14(3): 239-44. Araújo IM, Ambrósio AF, Leal EC, Verdasca MJ, Malva JO, Silva PS, Carvalho AP, Carvalho CM. Neurotoxicity Induced by Antiepileptic Drugs in Cultured Hippocampal Neurons: A Comparative Study between Carbamazepine, Oxcarbazepine, and Two New Putative. Antiepileptic Drugs, BIA 2-024 and BIA 2-093. Epilepsia. 2004; 45(12): 1498–1505. Bittigau P, Sifringer M, Genz K, Reith E, Pospischil D, Govindarajalu S, Dzierko M, Pesditschek S, Mai I, Dikranian K, Olney JW, Ikonomidou C. Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002; 12;99(23): 15089-94. Bittigau P, Sifringer M, Ikonomidou C. Antiepileptic drugs and apoptosis in the developing brain. Ann N Y Acad Sci. 2003 May; 993: 103-14; discussion 123-4. Fiszman ML, Borodinsky LN, Neale JH. GABA induces proliferation of immature cerebellar granule cells grown in vitro. Brain Res Dev Brain Res. 1999 Jun 8; 115(1): 1-8.

P005

Urtica Dioica L.'nin Sıçanlarda Histolojik Hasar, Oksidatif Stres ve Lipid Peroksidasyonunu Baskılayarak Doksorubisine Bağlı Kardiyotoksisiteye Karşı Etkileri

Cevat Aktaş¹, Mustafa Erboğa¹, Yeliz Bozdemir Dönmez², Umit Sener³, Zeynep Fidanol Erboğa¹, Mehmet Kanter⁴

¹Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Tekirdağ

²Trakya Üniversitesi, Teknoloji Araştırma ve Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, Edirne

³Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Tekirdağ

⁴İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

AMAÇ: Doksorubisin (DOX) son derece etkili bir anti-kanser ilacı olmasına karşın, klinik kullanımı ciddi kardiyotoksik etkiler nedeniyle sınırlı kalmaktadır. Urtica dioica L. tohumları (UD) geleneksel tıpta özellikle ileri evreli kanser hastalarının tedavisinde yaygın biçimde kullanılmaktadır ve güçlü anti-oksidan özelliklere sahiptir. Bu çalışma UD'nin DOX'a bağlı gelişen kardiyotoksisite üzerindeki kardiyoprotektif etkilerini araştırmak amacıyla düzenlenmiştir. MATERYAL-METOD: UD-tedavi grubundaki sıçanlara intraperitoneal yolla 2 ml/kg UD verilmiştir. Kardiyotoksisiteye yol açmak amacıyla, intraperitoneal yolla tek doz olarak 30 mg/kg DOX enjeksiyonu yapılmış ve sıçanların yaşamı 48 saat sonra sonlandırılmıştır. BULGULAR: Bu çalışmada UD'nin DOX'a bağlı gelişen kardiyotoksisiteye karşı koruyucu rolü olduğu ilk kez gösterilmiştir. DOX kullanımından kaynaklanan ve ileti bozuklukları, vakuolizasyon, enflamatuvar hücre infiltrasyonu, hemoraji ve miyofibril düzeninde bozukluğa yol açan kardiyotoksisiteye karşı UD tedavisi önemli koruma sağlamıştır. Oksidatif stres göstergelerine bakıldığında, DOX tedavisinin anlamlı düzeyde lipid peroksidasyonu artışına ve antioksidan enzimlerin (süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz) aktivitelerinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. UD tedavisi DOX'a bağlı oksidatif hasarı da anlamlı ölçüde azaltmıştır. TARTIŞMA: Bu çalışma UD'nin DOX'un toksik etkilerine karşı kardiyoprotektif etkilerde bulunabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, Urtica dioica, kardiyotoksite, oksidatif stres, sıçan

Effect of *Urtica Dioica* L. Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity in Rats Through Suppression of Histological Damage, Oxidative Stress and Lipid Peroxidation

Cevat Aktas¹, Mustafa Erboğa¹, Yeliz Bozdemir Dönmez², Umit Sener³, Zeynep Fidanol Erboğa¹, Mehmet Kanter⁴

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Namik Kemal University, Tekirdag

²Technology Research and Development Application and Research Center, University of Trakya, Edirne

³Department of Physiology, Faculty of Medicine, Namik Kemal University, Tekirdag

⁴Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Istanbul Medeniyet University, Tekirdag

OBJECTIVES: Doxorubicin (DOX) is a highly effective anti-cancer drug with limited clinical use due to its serious cardiotoxicity. *Urtica dioica* L. seeds (UD), have been widely used in folk medicine, particularly in the therapy for advanced cancer patients, possesses a potent anti-oxidant properties. The goal of present study was to investigate the cardioprotective effects of UD on DOX-induced cardiotoxicity. **MATERIALS-METHODS:** The rats in the UD treated group were given intraperitoneally 2 ml/kg UD. To induce cardiotoxicity, 30 mg/kg DOX was injected intraperitoneally by a single dose and the rats were sacrificed after 48 h. **RESULTS:** The present study revealed for the first time a protective role of UD against DOX-induced cardiotoxicity. UD therapy significantly protected against DOX-induced myocardial damage which was characterized by conduction abnormalities, vacuolization, inflammatory cell infiltration, hemorrhages, and myofibrillar disarrangement. As indicators of oxidative stress, DOX caused significant lipid peroxidation and reduction in activities of antioxidant enzymes; superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase. UD treatment significantly attenuated DOX-induced oxidative injury. **CONCLUSIONS:** The present study showed that UD may be a suitable cardioprotector against toxic effects of DOX.

Keywords: Doxorubicin, *Urtica dioica*, cardiotoxicity, oxidative stress, rat

P006

Postnatal Dönemdeki Sıçan Testis ve Epididimislerinde Hücre Proliferasyonu

Mehmet Özbek¹, Emel Ergün¹, Ahmet Ceylan¹, Feyzullah Beyaz², Levent Ergün¹, Nuh Yıldırım¹, Füsün Erhan¹, Özge Özgenç¹

¹Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Hücrelerin çoğalması ya da proliferasyonu hücre bölünmesi üzerinden gerçekleşmekte ve hücrelerin iki yavru hücreye bölünmesi işlemi hücre bölünmesi olarak adlandırılmaktadır. Hücre proliferasyon sürecinde hücrelerde bazı özel antijenler görülür, bu antijenler proliferasyon olmayan hücrelerde görülmemektedir. Prolifere hücre çekirdek antijeni (PCNA) ekspresyonu üzerinden hücrelerin bölünme döngüsündeki konumları belirlenebilir.

Bu çalışma, postnatal dönemdeki Wistar Albino ırkı sıçanların testis ve epididimislerindeki hücresel proliferasyonun PCNA primer antikorunu kullanarak immunohistokimyasal yöntemle ortaya konulması amacıyla planlanmıştır. Araştırmada materyal olarak farklı postnatal gelişim aşamalarından oluşan 4 grup Wistar albino ırkı sıçanların testis ve epididimisleri materyal olarak kullanıldı. Alınan testis ve epididimis örnekleri, Bouin solüsyonu ile tespit edilip rutin histolojik prosedürlerden geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. İmmunohistokimyasal incelemede, primer antikor olarak anti-PCNA (Klon; PC10) kullanılarak Strept-avidin Biotin Kompleksi (Strept-ABC) immunoperoksidaz tekniği uygulandı.

İncelemeler sonucunda; 5 günlük sıçanlarda, immatüre seminifer tubülünü oluşturan Sertoli hücrelerinin çekirdeklerinde yoğun pozitif immun reaksiyon gözlenirken, seminifer tubülünün merkezinde yer alan iri çekirdekli gonositlerde herhangi bir reaksiyon gözlenmedi. Epididimis incelendiğinde epiteli oluşturan hücrelerin büyük çoğunluğunda ve bağ dokudaki hücrelerin çekirdeklerinde pozitif reaksiyon belirlendi. 20 günlük sıçanlarda, seminifer tubülünün periferindeki spermatogoniumların, Sertoli hücrelerinin, tubülünün merkezindeki primer spermatositlerin ve peritubuler miyoid hücrelerin çekirdeklerinde pozitif reaksiyon dikkati çekti. Epididimiste, prensipal ve bazal hücrelerde pozitif reaksiyon gözlenirken, bu immun pozitif hücrelerin sayısının 5 günlük sıçanlarınkine kıyaslandığında önemli bir şekilde azaldığı belirlendi. 50 ve 70 günlük sıçanların testislerinde 14 farklı spermatojenik safhayı içeren seminifer tubüller incelendi ve spermatojenik safhalara bağımlı olmaksızın spermatogonyum ve primer spermatositlerin çekirdeklerinde pozitif reaksiyonun olduğu, Sertoli hücrelerinde ise reaksiyonun negatif olduğu dikkat çekti. Başlangıç segmenti, kaput, korpus ve kauda olmak üzere 4 ana bölümden oluştuğu görülen sıçan epididimisinde, kaput bölgesindeki immun reaksiyonun göreceli olarak diğer epididimis bölümlerinden daha belirgin olduğu gözlemlendi.

Sıçanlarda postnatal hayatın erken dönemlerinde seminifer kordonları oluşturan hücrelerin büyük çoğunluğunda görülen proliferatif aktivite pubertal dönemden sonra spermatogonyumlar ile primer spermatositlerde yoğun bir şekilde devam etmektedir. Sertoli hücrelerinde 5 ve 20 günlük dönemde görülen proliferatif aktivitenin 50 ve 70 günlük dönemde görülmemesi, puberteye birlikte Sertoli hücrelerinde proliferatif aktivitenin durup bu hücrelerin birbirleriyle sıkı bağlantılar kurup kan testis bariyerinin oluşumuna katılmasıyla ilişkilendirilebilir. Doğumdan sonraki erken dönemde epididimide ve bağ dokuda gözlenen yoğun PCNA reaksiyonunun organ büyümesine paralel olduğu düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Epididimis, PCNA, Postnatal dönem, Sıçan, Testis.

Cell Proliferation in The Testis and Epididymis of Postnatal Rat

Mehmet Özbek¹, Emel Ergün¹, Ahmet Ceylan¹, Feyzullah Beyaz², Levent Ergün¹, Nuh Yıldırım¹, Füsün Erhan¹, Özge Özgenç¹

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey

²Departments of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes Universty, Kayseri, Turkey

The term of cell division which is the way of cell proliferation refers to mother cell grows and divides to produce two daughter cells. Proliferating cells have some specific antigens which have not in non-proliferating cells. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression rate can be used to detect of the cell division phase.

The aim of this research was to demonstrate cell proliferation in the testis and epididymis of postnatal Wistar Albino rats with immunohistochemistry by using PCNA primary antibody. Testis and epididymis samples were fixed in Bouin's solution and passed through the standart histological procedures, and then embedded in paraffin. Immunohistochemical staining was performed with the primary antibody to PCNA (clon: PC10) by using StreptAvidin Biotin (Strep-ABC) method.

At five days old rats, we observed strong positive reaction in nuclei of Sertoli cells but we did not observe any positive reaction of gonocyte which were located at the center of the seminiferous tubules. In epididymis, most of the epithelial and connetive tissue cell population showed a positive reaction. At twenty days old rats, we detected a positive reaction in nuclei of spermatogonium, Sertoli cells, primary spermatocytes and peritubuler myoid cells. In epididymis, while we were observing positive reaction in principal and basal cells but we also observed a significantly reduced numbers of positive cells as compared with a five days old rats. During spermatogenesis in seminiferous tubules of fifty and seventy days old rats, spermatogonium and primary spermatocytes have shown positive reaction but Sertoli cells have shown negative reaction independent on spermatogenic stages. Epididymis consists of four different parts which are called initial part, caput, corpus and cauda. We observed more prominent immune reaction in caput region than the other parts of the epididymis, respectively.

In rats, during the earliest stages of postnatal life, proliferative activity, have shown most of the cell population in tubulus seminiferous (cords) continues intensely in spermatagonia and primary spermatocytes after the pubertal period. Proliferative activity is observed Sertoli cells of the 5 and 20 days old rats but not 50 and 70 days old rats. It halt in the Scells along with puberty. This might be associated with once spermatogenesis has begun, no more Sertoli cells are created. In other words fully differentiated Sertoli cells lose their prolifretion capacity. Dense PCNA reaction observed in epididymis and connective tissue at the early postnatal stage can be correlated with organ growth.

Keywords: Epididymis, PCNA, Postnatal, Rat, Testis

P007

Plantago major'un hiperkolesterolemik diyetle ateroskleroz oluşturulan tavşanlarda ateroskleroz ve aterosklerotik risk faktörleri üzerine etkileri

Özkan Özer¹, Deniz Billur², Şule Kızıl², Pınar Bayram², Masoud Afshani², Nurten Türközkan³, Hasan Serdar Öztürk¹

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Ankara, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD, Ankara, Türkiye

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Ankara, Türkiye

Ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkmasından sorumlu olan, damar duvarlarında aterosklerotik plak olarak adlandırılan ve damar lümenine doğru uzanan intimal lezyonlarla karakterize kronik bir süreçtir. Günümüzde tedavisi ile ilgili olarak tıbbın önerebildiği seçenekler sınırlıdır. Cerrahi seçenekler dışında, oluşmuş plakların anlamlı derecede geriletilmesi ya da ortadan kaldırılması, tedavi seçenekleri arasında bulunmamaktadır. Plantago major (P.majör), yaprakları ve tohumları geleneksel tıpta solunum ve gastrointestinal sistem rahatsızlıkları gibi oldukça geniş bir yelpazedeki hastalık ve rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu çalışma ile P.majör yaprağı ekstresinin (PME) hiperkolesterolemik diyetle beslenen hayvanlarda ateroskleroz oluşumu, bazı aterosklerotik risk faktörleri ve oksidan/antioksidan sistem üzerine etkilerinin histolojik ve biyokimyasal yöntemlerle gösterilmesi amaçlanmıştır.

26 adet Yeni Zelanda ırkı albino erkek tavşan 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubu, kolesterol grubu ve 3 farklı dozda PME + kolesterol grupları olarak beş gruba ayrıldı. 12 hafta boyunca kontrol grubuna serum fizyolojik verilirken kolesterol grubu hayvanlarına 1g/kg/gün dozunda kolesterol verildi. PME gruplarına 1 g/kg/gün kolesterole ek olarak sırasıyla 0,1 (düşük), 0,5 (orta) ve 1,0 (yüksek) g/kg/gün dozda PME 12 hafta süreyle verildi. 12 haftanın sonunda kontrol ve çalışma gruplarının aortik arkından alınan dokular rutin ışık mikroskobu tespit ve takip işlemleri sonrasında Hematoksilin Eozin ve Mallory Azan boyaları ile boyandı. Tunika intima ve tunika medya tabakalarının kalınlıkları ölçüldü ve intima/medya oranları hesaplandı. Torasik aorta örnekleri longitudinal olarak açılarak Sudan IV ile boyanıp atherosklerotik lezyon alanının analizi yapıldı. İnce-yapı değerlendirmeleri için glüteraldehit solüsyonuna alınan örnekler rutin işlemler sonrası transmisyon elektron mikroskobunda incelendi. Biyokimyasal testlerle serum örneklerinde total kolesterol, ateroskleroz risk faktörü olan asimetrik dimetilarginin (ADMA) ile anti-aterosklerotik faktörler olan nitrik oksit sentaz (NOS) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri ölçüldü. Kolesterol seviyesinin PME gruplarında kolesterol grubuna göre yüksek olduğu, PME grupları içinde ise doz arttıkça serum kolesterol seviyesinin azaldığı gözlemlendi. PME gruplarında ADMA seviyelerinin düştüğü, NO seviyesi ile NOS aktivitesinin arttığı saptandı. Sudan IV boyaması ile kırmızıya boyanan aterosklerotik plak alanı/tüm yüzey alanı oranları açısından istatistiksel bir fark bulunmazken, bu oranın yüksek doz PME'li tavşanlarda en yüksek olduğu görüldü. Gruplar arasında intima ve medya tabakalarının kalınlıkları ve birbirlerine oranları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunamadı. Örneklerin ince-yapı değerlendirilmesinde kolesterol grubunda ekstraselüler matrikste lipid damlacıkları birikimi, PME gruplarında ise lipid damlacıklarıyla birlikte elastik lamellerde bozulma dikkat çekti. Çalışmamızda PME'nin biyokimyasal olarak ateroskleroz risk faktörünü düşürdüğü, anti-aterosklerotik faktörlerde artışa yol açtığı gösterilmiş olmakla birlikte serum kolesterol seviyesi üzerine olumsuz etki yaptığı, histolojik incelemelerde kolesterol grubu ile PME grupları arasında anlamlı bir fark oluşturmadığı görülmüştür. Bu çalışma AÜ-BAP 13L333002 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: ateroskleroz, hiperkolesterolemi, Plantago major

The effects of *Plantago major* on risk factors and development of atherosclerosis in hypercholesterolemia-induced atherosclerotic rabbits

Özkan Özer¹, Deniz Billur², Şule Kızıl², Pınar Bayram², Masoud Afshani², Nurten Türközkan³, Hasan Serdar Öztürk¹

¹Ankara University Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara, Turkey

²Ankara University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

³Gazi University Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara, Turkey

Atherosclerosis is a chronic course characterized with intraluminal proceeding intimal lesions known as atherosclerotic plaque which is a common cause of cardiovascular disease. Surgical interventions seems to be the only treatment at present. *Plantago major* is being used as a cure for disease like gastrointestinal and pulmonary disorders in traditional medicine. In this study, the effects of *Plantago major* extract on atherosclerosis, atherosclerotic risk factors and oxidant/antioxidant system in hypercholesterolemia induced atherosclerotic rabbits are investigated.

Thus, twenty six male albino New Zealand rabbits were divided into five groups as control, cholesterol and 3 cholesterol groups with different PME doses. Saline to the control and cholesterol (1gr/Kg/day) to the cholesterol group was administered, additionally PME groups were also treated with same dose of cholesterol and three different doses of PME 0,1 (low), 0,5 (mid) ve 1,0 (high) gr/kg/day for 12 weeks. Tissues were fixed and prepared by routine histochemistry methods following collection from aortic arcus then stained with Hematoxiline Eosin and Mallory Azan. Tunica media/intima diameter ratio was calculated following measurements. Atherosclerotic lesion analysis were done after thoracic aorta tissues dissected longitudinally and stained with Sudan IV. Tissues were fixed with glutaraldehyde and treated by routine procedures in order to evaluate with transmission electron microscope (TEM). Total cholesterol, asymmetric dimethylarginine (ADMA) as an atherosclerotic risk factor, nitric oxide synthase (NOS) as an anti-atherosclerotic factor and nitric oxide were measured via biochemical tests of serum samples.

Serum total cholesterol levels in PME groups were found to be higher than cholesterol group, while in PME groups, the levels of serum total cholesterol were gradually decreased as the dose of extract increases. ADMA levels were decreased while NO levels and NOS activities were up graded in PME groups. There was no significant statistical difference between atherosclerotic plaque and total surface ratio when stained red with Sudan IV however the rate was maximum in the group with the highest PME dose. There was no significant difference between tunica media and intima diameters among the groups. According to TEM analysis Lipid droplets were found in extracellular matrix of cholesterol groups and elastic lamellas were disrupted additionally in PME groups.

According to this study, PME reduces atherosclerotic risk factor and increases anti-atherosclerotic factors biochemically while serum cholesterol levels are affected negatively. Histological evaluations reveals no significant difference between cholesterol and PME groups.

Recent investigation is supported by AÜ-BAP 13L333002 project.

Keywords: atherosclerosis, hypercholesterolemia, *Plantago major*

P008

17-beta Östradiolün Erkek Rat Aortasında Apoptoz ve Oksidatif DNA Hasarı Üzerine Etkisi

Duygu Dursunoğlu, Seda Atay, Merve Solmaz, Özlem Şahin
Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

Premenopozal kadınların, erkeklerden ve postmenopozal kadınlardan daha düşük oranda koroner kalp hastalığı (KKH) riski taşımaları, kardiyovasküler sistem (KVS)'de östrojenlerin koruyucu etkilerine dikkat çekmektedir. Bununla birlikte, KKH olan erkeklere uygulanan östrojen replasman tedavisinin olumsuz etkilere yol açması, seks hormonlarının kadın ve erkeklerde zit yönde etkiye sahip olabileceği görüşüne yol açmıştır. Ancak literatürde seks hormonlarının kardiyovasküler etkileri ile ilgili oldukça çelişkili görüşler mevcuttur ve bu etkilerin altında yatan moleküler mekanizmalar da tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı, erkek rat aortasında, dişi seks hormonu 17-beta östradiol (E2)'ün, aterosklerozda rol oynadığı bilinen apoptoz ve oksidatif DNA hasarı üzerindeki etkisini araştırmaktır.

Deneylede 28 adet, 3 aylık Wistar Albino türü erkek rat kullanıldı. Planlanan amaç için, 3 deney grubu oluşturuldu; kontrol (Kon), kastrasyon yapılan grup (E-), kastrasyon sonrası E2 verilen grup (EX). Tüm gruplar 30 gün sonunda sakrifiye edilerek thoracic aortaları çıkarıldı. Doku kesitleri, apoptozu göstermek amacıyla caspase-3 ve oksidatif DNA hasarı belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiganosin (8-OHdG) için primer antikolar kullanılarak immunohistokimyasal olarak boyandı. Işık mikroskopunda değerlendirilen aort kesitlerinin intima ve media tabakalarında, total hücrelerin, caspase-3 ve 8-OHdG-pozitif hücrelerin sayısı 20 alanda (40 x büyütmede) belirlendi. Caspase-3 ve 8-OHdG-pozitif hücrelerin yüzdeleri hesaplandı. Ortalama molekül yüzdeleri, deney grupları arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Caspase-3 ve 8-OHdG-pozitif hücre yüzdelerinin, E- grubunda Kon grubuna göre anlamlı derecede arttığı, EX grubunda ise E- grubuna göre anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi. EX ve Kon grupları arasında molekül yüzdelerinde herhangi bir fark yoktu. Sonuç olarak, E2 erkek aortasında apoptozu ve oksidatif DNA hasarını azaltmaktadır. E2'nin anti-apoptotik ve anti-oksidatif etkisi, onun kardiyovasküler koruyucu etkisinin mekanizmalarından olabilir. Çalışmamız, aynı zamanda E2'nin erkek KVS'nde de koruyucu etkilere sahip olduğunu göstermesinden dolayı önemlidir ve erkeklerde KKH'nın tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: 17-beta Östradiol, Orşiektomi, Aorta, Apoptoz, Caspase-3, 8-OHdG

The Effect of 17-beta Estradiol on the Apoptosis and Oxidative DNA Damage on the Male Rat Aorta

Duygu Dursunoğlu, Seda Atay, Merve Solmaz, Özlem Şahin

Department of Histology-Embryology, Selcuk University, Medicine Faculty, Konya, Turkey

Pre-menopausal women have a significantly lower risk of coronary artery disease (CAD) than men or postmenopausal women, suggesting that estrogens have protective effects on the cardiovascular system (CVS). However, it has been reported that estrogen replacement therapy administered to men with CAD has led to the negative effects. This has led to the idea that sex hormones can have opposite effects in men and women. But, there are highly contradictory reviews about the cardiovascular effects of sex hormones in the literature and molecular mechanisms underlying these effects are not known exactly. The aim of this study is to investigate the effects of female sex hormone 17-beta estradiol (E2) in the male rat aorta on the apoptosis and oxidative DNA damage that known to play role in atherosclerosis.

Experiments were carried out on three mounts old 27 male Wistar Albino rats. In order to achieve the planned purpose, 3 experimental groups were organized: control (Con), castrated (M-) and E2 given to castration (MX). All groups were sacrificed after 30 days and thoracic aorta was removed. The tissue sections were stained immunohistochemically using primer antibodies for caspase-3 to indicate apoptosis and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) as oxidative DNA damage marker. The numbers of total cells, caspase-3 and 8-OHdG-positive cells were determined in 20 fields (40 x magnifications) in intima and media layers of aorta rings evaluating by light microscopy. The percentages of caspase-3 and 8-OHdG-positive cells were estimated. The mean percentages of the molecules were compared statistically between experimental groups.

The percentages of caspase-3 and 8-OHdG-positive cells were found to increase in M- group compared to Con group, to decrease in MX group compared to M- group. There was no any difference between MX and Con groups for the molecule percentages. Consequently E2 reduced apoptosis and oxidative DNA damage in the male aorta. Anti-apoptotic and anti-oxidative effect of E2 could be from the mechanisms of its cardioprotective effect. Also, our study is important because it showed that E2 has protective effect also on the male CVS. In the treatment of CAD in men may contribute to the development of new strategies.

Keywords: 17- beta Estradiol, Orchiectomy, Aorta, Apoptosis, Caspase-3, 8-OHdG

P009

Öğrenme Ve Antidepresan Tedavinin Hippokampal Nörogenez Üzerine Etkisinin İmmunohistokimyasal Yöntemle Değerlendirilmesi

Mahmud Mustafa Özkut¹, Sevinç İnan¹, Nuran Ekerbiçer², Lütfiye Kanit³

¹Celal Bayar Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Manisa

²Celal Bayar Üniversitesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Manisa

³Ege Üniversitesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

Embriyonik dönemin üçüncü haftasında gastrulasyon adı verilen üç germ yaprağının oluşması (trilaminer germ diski) aşamasında başlayan nörogenez, ikinci trimesterin sonunda nöronların büyük kısmının oluşması ile devam etmektedir. Nörogenez, çoğalma, nöronal farklılaşma, göç, aksonal gelişme ve sinaptogenez aşamalarını içermektedir. Bugün için nöronların yenilenme ve onarım hızlarının azalmış olsa da devam ettiği kanıtlanmıştır.

Bu çalışmada öğrenme ve antidepresan kullanımının sıçan hipokampusunda erişkin nörogenez üzerine olan etkilerinin immunohistokimyasal yöntemle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Spasyal öğrenmenin Morris su tankı kullanılarak değerlendirilen bu çalışmada, santral nöronlarda seçici serotonin geri emilimi inhibitörü (Selective Serotonine Reuptake Inhibitor -SSRI) etkili bir antidepresan ilaç olan fluoksetin kullanımı ile, öğrenme modeli ve fluoksetinin birlikte kullanılmasının hipokampusta erişkin nörogenez üzerine etkileri moleküler düzeyde değerlendirilmiştir.

Çalışmada, 40 adet, 180-200 gr ağırlığında, genç erişkin erkek Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Deneysel 4 grup altında yürütülmüştür (n:10, herbiri). 1) Kontrol grubu, 2) Öğrenme grubu, 3) Fluoksetin grubu 5 mg/kg i.p. verilen grup, 4) Öğrenme + fluoksetin birlikte uygulanan grup. Deneysel hayvanları genel anestezi altında kraniumları açılarak beyin örnekleri çıkarılmıştır.

Hipokampusu içeren beyin kısımları rutin parafin doku takibi protokolüne uygun olarak takip edilmişlerdir. Poli lizin ile kaplı lamlara 5 µm kalınlığında alınan kesitler Hematoksilin-Eosin boyaması ile histolojik olarak değerlendirildikten sonra, hipokampusdan geçen seri kesitler c-kit, ZO-2, NeuN, ve S-100 primer antikoları kullanılarak öğrenme ve fluoksetin kullanımının indirek immunohistokimyasal yöntemle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. İmmunoreaktivite skorları, pozitif boyanan hücreler ile boyanma şiddetleri H-Score ile belirlenip, sonuçlar ANOVA istatistik testi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada fluoksetin verilen grupta bulunan sıçanların, Morris su tankında diğer gruplara göre daha hızlı oldukları izlenmiştir. Hipokampusta ve ventriküle yakın alanlarda c-KİT pozitif boyanan hücrelerin fluoksetin verilen grupta istatistiksel olarak fazla olduğu izlenmiştir. c-KİT immunoreaktivitesi fluoksetin grubunda nöronlarda şiddetli olarak izlenirken, öğrenme ve fluoksetin verilen grupta ve öğrenme grubunda orta, kontrol grubunda hafif olarak izlenmiştir. NeuN ve ZO-2 immunoreaktivitesi nöronlarda ve S-100 ile pozitif boyanan nöroglial hücreler fluoksetin verilen grupta diğer gruplara göre artmış olarak gözlenmiştir.

Bu çalışma sonucunda erişkin nörogenez üzerine antidepresan kullanımının ve öğrenmenin nöron ve nöroglial hücreler üzerinde etkili olduğu moleküler düzeyde araştırılmış olup, SSRI ilaçların etkilerinin beyinde nörotrofik faktörlerin artışını aktive ettiği izlenmiştir.

Yaşlı nüfusunun giderek arttığı günümüzde, yaşın ilerlemesine bağlı olarak gelişen nörodejeneratif hastalıklarının önlenmesinde ve tedavisinde erişkin nörogenezi arttırıcı faktörlerin kullanılması ile nörogenezin aktive edilmesinin önemli olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Nörogenez, SSRI, Morris Su Tankı, Sıçan, Hipokampus, İmmunohistokimya

The Analysing of Immunohistochemical Roles of Learning and SSRI Therapy on Hippocampal Neurogenesis

Mahmud Mustafa Özkut¹, Sevinç İnan¹, Nuran Ekerbiçer², Lütfiye Kanit³

¹Department of Histology and Embryology, Celal Bayar University, Manisa

²Department of Physiology, Celal Bayar University, Manisa

³Department of Physiology, Ege University, İzmir

Neurogenesis, starts on the third week of the embryonic period which is called gastrulation, at the end of the second trimester, when most all the neurons are formed. Neurogenesis includes the stages of proliferation, neuronal differentiation, migration, axonal development and synaptogenesis. Even though it slows down, it has been proven that the rate of regeneration and repair of neurons never ceases.

The aim of this study was to research whether learning and use of the antidepressant drugs has effect on the adult neurogenesis in the rat hippocampus. Spatial learning was evaluated by using Morris's water maze. The use of the one of the antidepressant drug fluoxetine, which has selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) and its effect of learning alone and combined.

In this study 180-200 gr weight, month old, 40 male Wistar Albino rats were used. In this study, rats were divided into 4 groups (n: 10, each). 1) Control group, 2) Learning group 3) Fluoxetine group; that were given Fluoxetine 5 mg/kg i.p. 4) Learning & Fluoxetine group. Under general anesthesia, rats were sacrificed and their craniums were dissected so that their brain samples could be taken out. The right brain samples containing the hippocampus were prepared according routine paraffin tissue protocol. Serial sections were stained Hematoksilen-Eosin staining and immunohistochemical technique. In the samples, c-KIT, NeuN, ZO-2 and S100 primary antibodies were used to determine the whether learning and the usage of fluoxetine had an effect on the immunohistochemical distributions. The results were compared with the ANOVA statistical test. We observed that the group that was given fluoxetin acquired skills of learning in Morris's water much faster than other groups. It was observed that c-KIT positive cells increased the Fluoxetine group in the hippocampus and the cells located near the ventricle. While c-KIT immunoreactivity was strong the neurons in the fluoxetine group; it was moderate in the learning & fluoxetin and learning groups and mild the control group. Also, NeuN, ZO-2 were positively stained neurons and S-100 were positively stained neuroglial cells. Immunoreactivities increased the fluoxetine group compared to other groups.

The elder population grows much faster nowadays and associated to aging process, the prevention of the neurodegenerative disease and therapy and the importance of using these factors that increase adult neurogenesis, would play role in the prevention and cure of this illness, and the decrease of dementia activated molecular mechanisms of adult neurogenesis were explained.

Keywords: Neurogenesis, SSRI, Morris Water Tank, Rat, Hippocampus, Immunohistochemistry

Kaynakça / References: Taupin P, C R Biol, 329 (2006) 465-475. Valente T, Hidalgo J, Bolea I, et al., J Alzheimer's Dis. 3 (2009) Aizawa K, Ageyama N, Yokoyama C, et al., Exp Anim. 58 (2009) 403-407

P010

Akrilamidin neden olduğu renal hasara karşı N-asetilsisteinin koruyucu etkisi

Azibe Yıldız¹, Mehmet Mustafa Erdoğan¹, Emrah Zayman¹, Semir Gül¹, Eyyüp Altınöz², Nigar Vardi¹
¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya
²Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Karabük

Gıdaların işleme süreci ve muhafazası boyunca uygulanan ısı işlemler, akrilamid gibi toksik bileşiklerin oluşumuna neden olmaktadır. Akrilamid, glukoz gibi monosakkaritler ile asparajin gibi aminoasitler arasında oluşan Maillard reaksiyondan sonra ortaya çıkmaktadır. Akrilamid'in bir metaboliti olan glisidamin DNA'ya bağlanarak hücre hasarına neden olmaktadır. Bu nedenle akrilamidin oksidan-antioksidan dengesi ve enzim aktivitesinde bozukluklara neden olabileceği düşünülmektedir.

N-acetyl-cystein antioksidan etkinliği olan bir glutasyon prekürsörüdür. İn vivo ve in vitro ortamlarda hidroksil ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen radikallerini elimine ederek hücreleri oksidan hasara karşı koruduğu bildirilmektedir.

Bu çalışmanın amacı; akrilamidin neden olabileceği renal hasara karşı N-acetyl-cystein'in koruyucu etkisinin olup olmadığının araştırılmasıdır.

Materyal Metod

Sıçanlar her grupta 10 sıçan olacak şekilde rastgele seçilip; kontrol (günlük 1 ml saline), AC (25 mg/kg AC), NAC (250 mg/kg NAC) ve AC+NAC (25 mg/kg AC ve 250 mg/kg NAC) olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

AC ve NAC, 21 gün boyunca gavaj yoluyla uygulandı. Deney sonunda hayvanlar anestezi altında sakrifiye edildi. Elde edilen dokulardan alınan kesitlere H-E ve PAS boyama metodları uygulandı. Kesitler, tübüler (epitelyal dökülme, şişme ve mikrovillus kaybı), glomerüler ve interstisyel değişiklikler olarak semikantitatif olarak değerlendirildi ve skorlandı. Ayrıca Leica DFC-280 araştırma mikroskopu ve Leica Q Win görüntü analiz sistemi kullanılarak glomerül çapı ve Bowman mesafesi ölçüldü.

Sonuçlar

Kontrol ve NAC gruplarında tübüller, hafif epitelyal dökülme dışında normal olarak izlendi. Glomerül çapları (sırasıyla 105.6±16.9, 109.1±12.3) her iki grupta istatistiksel olarak birbirine benzer bulundu (P>0.05). AC grubunda, tübüllerde epitelyal dökülme (2.0±0.7), hidropik değişiklikler (1.0±1.1) ve mikrovillus kaybı (2.8±0.5) izlendi. Ayrıca kortiko-medullar bölgede, tübüller arasında konjesyon ve hemoraji odakları dikkat çekiciydi. Bu grupta glomerüllerin ortalama çapı (113.9±17.3), kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmış olarak tespit edildi (P<0.05). NAC verilmesi, tübüler değişiklikleri AC grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede hafifletti (P<0.05). AC+NAC grubunda, glomerül çapının (105.9±9.6) AC grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede azaldığı tespit edildi (P<0.05). Diğer yandan Bowman mesafesi bütün gruplarda istatistiksel olarak birbirine benzer bulundu (P>0.05).

Çalışmanın sonuçları, NAC'ın AC kaynaklı böbrek hasarının önlenmesinde yararlı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, Antioksidan, Renal hasar

The protective effects of N-acetylcysteine against acrylamide induced renal damage

Azibe Yıldız¹, Mehmet Mustafa Erdoğan¹, Emrah Zayman¹, Semir Gül¹, Eyyüp Altınöz², Nigar Vardi¹

¹Inonu University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Malatya

²Karabuk University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Karabuk

Heat treatment applied during the process and preservation of foods results in the formation of toxic agents like acrylamide (AC). It was shown that AC might be formed through the Maillard reaction from amino acids (asparagine) and reducing sugars (glucose). Glycidamide, a metabolite of AC, binds to DNA and can cause damage. For this reason, it is thought that AC may disrupt the oxidative balance and proper enzyme activities.

N-Acetylcysteine (NAC) is a synthetic precursor of GSH as it also protects the cell against oxidative damage in vitro and in vivo by direct reaction between ROS such as hydroxyl radical and hydrogen peroxide.

The aim of this study was to investigate whether NAC has protective effect or not over renal damage caused by AC.

Material Method

The rats were equally divided into four groups as; control (daily 1 ml saline), AC (25 mg/kg AC), NAC (250 mg/kg NAC) and AC + NAC (25 mg/kg AC and 250 mg/kg NAC). AC ve NAC were administered with gavage during 21 days. At the end of the experiment, animals were sacrificed under anesthesia. Sections were applied with H-E and PAS staining methods. Sections were evaluated and scored as semiquantitatively as tubular (epithelial desquamation, swelling and loss of microvilli), glomerular and interstitial changes. Additionally, glomeruli diameter and Bowman distance was measured using Leica DFC280 light microscope and Leica Q Win image analysis system.

Results

In the control and NAC groups, tubules were normal except for slight epithelial desquamation. Glomeruli diameter (105.6 ± 16.9 , 109.1 ± 12.3 , respectively) was statistically similar in both groups. AC group, in the tubules, the epithelial desquamation (2.0 ± 0.7), hydropic changes (1.0 ± 1.1) and loss of microvilli (2.8 ± 0.5) were observed. Also, in the cortical-medullary region, the local congestion and hemorrhage were noticed in this group. The average diameter of the glomeruli (113.9 ± 17.3) were found to be statistically significant increased in the AC group when compared with control group ($P < 0.05$). NAC administration were statistically significantly reduced tubular damage when compared with AC group ($P < 0.05$). Also, in the AC+NAC group, glomerular diameter (105.9 ± 9.6) was found to be statistically significant decrease according to the AC group ($P < 0.05$). On the other hand, Bowman distance was statistically similar in all groups ($P > 0.05$).

As a conclusion, these data indicate that NAC may be useful for preventing AC induced renal damage.

Keywords: Acrylamide, Antioxidant, Renal damage

P011

C-myc inhibisyonunun insan ve fare hematopoetik kök hücre/hücre progenitorlerinin ex vivo çoğalmasını arttırıcı etkisi

Merve Aksöz¹, Esra Albayrak¹, Dolay Damla Çelik¹, Emre Can Tüysüz², Serli Canikyan³, Fatih Kocabaş¹

¹Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

²Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

³Onkim Stem Cell Technologies, Istanbul Technical University- KOSGEB, Istanbul, Turkey

Hematopoetik kök hücre (HKH) dormansi regülatörlerinin susturulması HKH'lerin sadece hücre döngülerine katılmalarını sağlamakla kalmaz aynı zamanda HKH'lerin çoğalmasını sağlamaktadır [1-3]. İlgili çekici bir şekilde, bir onkogen olan c-myc geninin kemik iliğindeki fonksiyon kaybı beklenin aksine hematopoetik kök hücre/hücre progenitorlerinin in vivo'da 4-kata kadar artmasına öncülük etmiştir [4]. Böylece c-myc onkogeninin geçici inhibisyonu hematopoetik kök hücre/hücre progenitorlerinin ex vivo'da çoğalabilmesine olanak sağlayacaktır. Bu amaçla, çalışmamızda hematopoetik küçük molekülleri olan c-myc inhibitörü 10074-G5 ve bununla beraber tauroursodeoxycholik asit (TUDCA) [5], α -Tocopherol [6], i-NOS inhibitörü L-NIL kullandık [7]. Hematopoetik küçük moleküllerle yedi günlük muamele sonunda 10074-G5 ve diğer hematopoetik küçük moleküller LSKCD34low popülasyonunu yaklaşık 2 kata kadar arttırmıştır. Hücre döngüsünün Go fazında bulunan fare hematopoetik kök hücre/hücre progenitorlerinin azalması, artan proliferasyona kanıt niteliğinde olmuştur. Ayrıca, insan kordon kanı hücreleri c-myc inhibitörünün farklı dozlarıyla muamele edilmiştir. Denediğimiz diğer hematopoetik küçük moleküllere benzer olarak, c-myc inhibisyonu CD34+, CD133+ hematopoetik kök hücre/hücre progenitorlerini ve ALDHhi hücre içeriğini kontrole göre 2 kata kadar arttırmıştır. Bunun dışında c-myc inhibisyonu kemik iliği ve adipoz-kökenli mezenkimal kök hücreleri proliferasyon kinetiğini etkilememiştir. Çalışmalarımızın sonucu gösteriyor ki c-myc inhibitörü 10074-G5 ve α -Tocopherol ve L-NIL hematopoetik kök hücre/hücre progenitorlerinin çoğalmasına spesifiktir. Bu bulgular sonraki dönemlerde hematopoetik kök hücre/hücre progenitorlerini çoğaltmak ve transplantasyon verimini arttırmak için kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: small molecules, hematopoiesis, bone marrow, UCB stem cells, HSC, MSC

C-myc inhibition allows ex vivo expansion of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells

Merve Aksöz¹, Esra Albayrak¹, Dolay Damla Çelik¹, Emre Can Tüysüz², Serli Canikyan³, Fatih Kocabaş¹

¹Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

²Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

³Onkim Stem Cell Technologies, Istanbul Technical University- KOSGEB, Istanbul, Turkey

We have previously showed that targeting HSC quiescence regulators not only lead to cell cycle entry but also induce HSC expansion [1-3]. Intriguingly, an oncogene, c-myc, opposed to what has been expected following loss of function in bone marrow leads to accumulation of HSPCs upto 4 fold in vivo [4]. Thus, transient inhibition of c-myc could provide a mean to expand HPSCs ex vivo. To this end, we have utilized c-myc inhibitor 10074-G5 along with several hematopoietic small molecules (HSMs), namely tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) [5], α -Tocopherol [6], i-NOS inhibitor L-NIL [7]. 10074-G5 and tested HSMs led to about 2-fold increase in murine LSKCD34low compartment post 7 days of treatment. Increased HSPC proliferation was also evident by decreased murine HSPC content in Go phase of the cell cycle. Furthermore, we treated human umbilical cord blood (UCB) cells with different doses of c-myc inhibitor. Similar to other HSMs we tested, c-myc inhibition increased CD34+, CD133+ HSPC ratio and ALDHhi cell content up to 2-fold compared to control. In addition, we found that c-myc inhibition does not alter proliferation kinetics of bone marrow or adipose derived mesenchymal stem cells. These findings suggest that c-myc inhibitor 10074-G5 and HSMs TUDCA, α -Tocopherol, and L-NIL are specific to induction of HSPCs proliferation. This could be further exploited to increase ex vivo HPSC expansion and eventually transplantation efficiency.

Keywords: Hematopoietic stem cells, mesenchymal stem cells, stem cell quiescence, hematopoietic inhibitors, small molecules, hematopoiesis

Kaynakça / References: References: 1. Kocabas, F., et al., Hypoxic metabolism in human hematopoietic stem cells. *Cell Biosci*, 2015. 5: p. 39. 2. Kocabas, F., et al., Meis1 regulates the metabolic phenotype and oxidant defense of hematopoietic stem cells. *Blood*, 2012. 120(25): p. 4963-72. 3. Simsek, T., et al., The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche. *Cell Stem Cell*, 2010. 7(3): p. 380-90. 4. Wilson, A., et al., c-Myc controls the balance between hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation. *Genes Dev*, 2004. 18(22): p. 2747-63. 5. Miharada, K., V. Sigurdsson, and S. Karlsson, Dppa5 improves hematopoietic stem cell activity by reducing endoplasmic reticulum stress. *Cell Rep*, 2014. 7(5): p. 1381-92. 6. Nogueira-Pedro, A., et al., alpha-Tocopherol induces hematopoietic stem/progenitor cell expansion and ERK1/2-mediated differentiation. *J Leukoc Biol*, 2011. 90(6): p. 1111-7. 7. Reykdal, S., C. Abboud, and J. Liesveld, Effect of nitric oxide production and oxygen tension on progenitor preservation in ex vivo culture. *Exp Hematol*, 1999. 27(3): p. 441-50.

Acknowledgments: This study has been funded by Co-Funded Brain Circulation Scheme by The Marie Curie Action COFUND of the 7th Framework Programme (FP7) of the European Commission and The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) [grant number 115C039] and The Science Academy Young Scientist Award Program (BAGEP-2015, Turkey). MA has been funded by TÜBİTAK 1001 program [grant number 115S185]. EA has been supported by TÜBİTAK-BİDEB 2211 program. DDÇ has been supported by TÜBİTAK 1001 program [grant number 215Z069].

P012

Hiperoksik Akciğer Hasarı Oluşturulan Yenidoğan Ratlarda Vitamin D'nin Etkisi

Mehmet Fatih Sönmez¹, Mehmet Köse², Osman Baştuğ², Hande Yahşi¹, Emin Kaymak¹

¹Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri

Prematüre bebekler akciğer gelişim geriliği sebebiyle sıklıkla oksijene maruz kalmaktadırlar. Bu bebeklerin oksijenin zararlı etkilerinden korunma mekanizmaları da çok iyi gelişmediği için oksijen toksisitesine ait istenmeyen problemler ortaya çıkabilmektedir. BPD multifaktöryel etiyolojiyle ortaya çıkan klinik bir durumdur. Etiyolojisindeki en önemli faktörlerden biri de oksijen toksisitesidir. Çalışmamızda, yenidoğan hiperoksik akciğer hasarının hayvan modelinde vitamin D'nin tedavi edici etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Full term yavrular 12-24. saatleri arasında çalışmaya alındı. Her grupta 10 yavru rat olacak şekilde dört gruba ayrıldı; normoksi kontrol grubu (NC), hiperoksi kontrol grubu (HC), hiperoksi+Vitamin D grubu (HD) ve normoksi vitamin D grubu (NL). Normoksi grupları oda havasında, hiperoksi grupları ise >%85 O₂'de takip edildi. HD ve ND gruplarına 5ng/g/gün vitamin D i.p. yolla, diğer gruplara ise aynı miktarda mısır yağı i.p. verildi. 11. günde yavru ratların akciğerleri çıkarılarak MLI, PCNA, apoptoz, IGF-1, MMP-9, IL-10, TNF- α , IFN- γ , MDA, VEGF, değerlendirmeleri yapıldı.

Hiperoksi grubunda MLI, apoptotik indeks, IGF-1, MDA ve VEGF değerlerinin kontrol grubuna göre arttığı; PCNA indeks, IL-10, MMP-9, TNF- α ve IF- γ değerlerinin ise kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi. Vitamin D tedavisinin özellikle histolojik parametrelerde anlamlı iyileşme sağladığı gözlemlendi.

Sonuç olarak, hiperoksi akciğer dokusunda çok ciddi hasara neden olmaktadır ve D vitamini bu hiperoksik akciğer hasarını iyileştirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hiperoksik akciğer hasarı, Vitamin D, Apoptozis

Effects of Vitamin D on Hyperoxic Lung Injury In The Newborn Rats

Mehmet Fatih Sönmez¹, Mehmet Köse², Osman Baştuğ², Hande Yahşi¹, Emin Kaymak¹

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

²Department of Peditary, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Premature newborns are often exposed to oxygen due to the retardation of lung development. In these babies, oxygen toxicity may occur due to impaired antioxidant systems which is the protect the cells against to harmful effects of oxygen. BPD is a clinical condition associated with multifactorial etiology. Oxygen toxicity is the most important factors for BPD.

In our study, we aimed to evaluate the therapeutic effects of vitamin D in hyperoxic lung injury of rat pups. METHODS: Forty full term rat pups enrolled the study within the first day of their life.

Subjects divided to four groups (n:10). As follow: normoxia control group (NC), hyperoxia control group (HC), hyperoxia plus vitamin D group (HD), and normoxia vitamin D group (ND). Normoxia and hyperoxia groups were followed room air and > 85% O₂, respectively. Vitamin D was given at 5ng/g/day by the intraperitoneal (i.p.) route. Other groups were given in the same volume of corn oil (i.p.). On day 11, the animals were sacrificed and the lungs were processed for histology and biochemical analysis. Lung morphology was assessed by the mean linear intercept (MLI), apopitosis and PCNA. The degree of lung inflammation and antioxidant capacity were assessed by quantifying lung homogenate IGF-1, MMP-9, IL-10, TNF- α , IFN- γ , MDA and VEGF levels.

It was determinde that increased MLI, apoptotic index, IGF-1, MDA and VEGF levels and decreased PCNA index, IL-10, MMP-9, TNF- α and IF- γ levels in the HC group. However, curative effect was determined with the administration of vitamin D in the HD group.

As a result, hyperoxy gives rise to serious damage in lung and vitamin D is a potent antioxidant agent in preventing hyperoxic lung injury.

Keywords: Hyperoxic Lung Injury, Vitamin D, Apoptosis

P013

Siçanlarda İnfrarenal Abdominal Aorta İskemi-Reperfüzyonu İle Oluşturulan Akut Akciğer Hasarına Karşı Alfa-Kristalin'in Koruyucu Etkisi

Seda Koçak¹, Tuğba Ekiz Yılmaz², Elif Güzel², Gülderen Şahin¹, Nermin Yelmen¹, Onur Yaman¹, İbrahim Güner¹

¹İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

İnfrarenal abdominal aortanın (IAA) akut oklüzyonu ve reperfüzyonu, periferik vasküler cerrahide sıklıkla uygulanan bir yöntemdir, ancak bu yöntem sırasında önemli derecede iskemik-reperfüzyon (IR) hasarı oluşmaktadır (1). IR hasarı, bir doku veya organa kan akımının engellenmesini takiben reperfüzyonun ve bunun sonucu olarak oksijenasyonun yeniden sağlanması ile karakteristik patolojik bir durumdur; çoklu organ yetmezliği sendromu (MODS) olarak adlandırılan, uzak organların da hasarlanmasına neden olabilir (2,3). MODS'da görülen ölüm nedenlerinden biri de akut akciğer hasarıdır (AAH) (4,5). Aortik IR ile oluşturulan akciğer hasarının patogenezinde oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz rol oynamaktadır (6,7,8). Bu çalışmada, IR'nin neden olduğu AAH'a karşı alfa kristalinin koruyucu etkisinin oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz parametreleri üzerinden değerlendirilmesi amaçlandı.

24 adet erkek siçan sham kontrol, IR ve alfa-kristalin+IR olmak üzere üç gruba ayrıldı. Sham kontrol grubundaki hayvanlara IAA diseksiyonu uygulanarak insizyon yeri kapatıldı. IR grubu hayvanlar IAA klemplenerek 90 dk. iskemiye ve klemp uzaklaştırılarak 180 dk. reperfüzyona maruz bırakıldı. IR+alfa kristalin grubundaki hayvanlara IR'den bir saat önce alfa kristalin (50µg/100g) verildi ve IR protokolü uygulandı. IR süresinin bitiminde bronkoalveolar lavaj sıvısı ve kan örnekleri alınıp ötenazi uygulandı. Akciğerler histolojik ve biyokimyasal incelemeler için alındı. Alınan örneklerde ELISA yöntemiyle reaktif oksijen ürünleri (ROS), malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), total oksidan durumu (TOS), total antioksidan durum (TAS), tümör nekrozis faktör (TNF-α), interlökin (IL)-1β, interlökin (IL)-10, nükleer faktör kappa-β (NF-κβ), kaspaz-9 ve 8-OHdG seviyeleri ölçüldü. Akciğer dokusu histolojik inceleme amaçlı rutin yöntemlerle takip edilerek Hematoksilen-Eozin ile boyandı ve histolojik skorlama sistemi kullanılarak incelendi. Tüm parametreler istatistiksel olarak analiz edildi.

IR grubunda oksidatif parametrelerden ROS, TOS, MDA değerleri ile proinflamatuvar sitokin (TNF-α, IL-1β) seviyeleri kontrole kıyasla anlamlı olarak artarken, alfa-kristalinin bu artışı azalttığı gözlemlendi. IR sonucu azalan SOD ve TAS seviyeleri ise alfa-kristalin grubunda anlamlı derecede arttı. Anti-inflamatuvar sitokin IL-10, IR grubunda anlamlı olarak azalırken, alfa-kristalin grubunda IR grubuna göre anlamlı olarak arttı. NF-κβ, apoptotik faktör kaspaz-9 ve DNA hasar göstergesi 8-OHdG IR grubunda artarken alfa-kristalin grubunda IR grubuna göre anlamlı olarak azaldı. Histolojik incelemede kontrol grubunda önemli bir histolojik değişim gözlenmezken IR grubunda intra-alveolar makrofaj, nötrofil infiltrasyonu, alveoler hasar ve alveoler duvar kalınlaşmasının yanı sıra intra-alveoler bölgelerde az sayıda eritrosit gözlemlendi. Örneklerin yarısında damar dilatasyonu ve staz görüldü. Total akciğer hasarı IR grubunda kontrole göre anlamlı derecede artış gösterirken alfa kristalin uygulamasının IR kaynaklı intra-alveolar infiltrasyonu, alveoler hasarı ve alveoler duvar kalınlığını azalttığı belirlendi.

Sonuç olarak histolojik ve biyokimyasal bulgularımız alfa kristalinin IR'ye bağlı olarak gelişen akut akciğer hasarını önleyebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: İskemi-Reperfüzyon Hasarı, Oksidatif Stres, İnflamasyon, Akut Akciğer Hasarı, Apoptozis

Investigation of Protective Effects of Alpha-Crystallin Against Ischemia-reperfusion Induced Acute Lung Injury

Seda Koçak¹, Tuğba Ekiz Yılmaz², Elif Güzel², Gülderen Şahin¹, Nermin Yelmen¹, Onur Yaman¹, İbrahim Güner¹

¹Department of Physiology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

Acute occlusion and reperfusion of infrarenal abdominal aorta (IAA) is commonly performed method in peripheral vascular surgery. However, significantly ischemia-reperfusion (IR) injury occurs during this method (1). IR injury is pathological condition characterized by restoring oxygenation as a result of perfusion following the prevention of tissue/organ blood flow. It may lead to injury of distant organs called as multiple organ dysfunction syndrome (MODS) (2,3). Acute lung injury (ALI) is one of the common causes of death in MODS (4,5). Oxidative stress, inflammation and apoptosis play role in the pathogenesis of lung injury induced by aortic IR (6,7,8). This study aimed to investigate the protective effect of α -crystallin against ALI via oxidative stress, inflammation and apoptosis parameters.

24 rats divided into sham-control, IR and α -crystallin+IR groups. In control group incision area was covered after IAA dissection. In IR group 90 minutes occlusion and 180 minutes reperfusion were applied after IAA dissection. In α -crystallin+IR group α -crystallin (50 μ g/100g) was applied intraperitoneally one hour before IR and IR was applied. After bronchoalveolar lavage fluid and blood samples were taken rats euthanized. Lung tissues were collected for histological and biochemical investigation. In all samples reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), total oxidant status (TOS), total antioxidant status (TAS), tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β , (IL)-10, nuclear factor kappa-B (NF- κ B), caspase-9 levels and 8-OHdG were measured by ELISA. Lung tissues were stained with Hematoxylin-Eosin after routine histological preparation and investigated by histological scoring system. All parameters were statistically analyzed.

While oxidative stress parameters; ROS, TOS, MDA and proinflammatory cytokine (TNF- α , IL-1 β) levels were increased significantly in IR group compared to control, α -crystallin reduced these levels. Decreased levels of SOD, TAS and anti-inflammatory cytokine IL-10 in IR group, increased significantly by α -crystallin. While NF- κ B, caspase-9 and DNA damage biomarker 8-OHdG levels increased in IR group, decreased significantly in α -crystallin group compared to IR group. Histologically, it was not observed any histological alterations in control group. In IR group, besides intra-alveolar macrophage, neutrophil infiltration, alveolar damage and alveolar wall thickness, reasonable amount of erythrocytes were observed in intra-alveolar areas. Half of the samples showed blood vessel dilatation and stasis. While the total lung injury scores was significantly higher in IR group compared to control, α -crystallin reduced IR-induced intra-alveolar infiltration, alveolar damage and alveolar wall thickness.

In conclusion our histological and biochemical findings show that α -crystallin may prevent infrarenal abdominal aorta-IR induced acute lung injury.

Keywords: Ischaemia-Reperfusion Injury, Oxidative Stress, Inflammation, Acute Lung Injury, Apoptosis

Kaynakça / References: 1. Kim GS, Hyun JA, Won HK, Min JK, Sang HL (2011). Risk Factors for Postoperative Complications after Open Infrarenal Abdominal Aortic Aneurysm Repair in Koreans *Yonsei Med J* 52(2), 339-346. 2. Eltzschig HK, Eckle T (2011). Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nature Medicine* volume 17, number 11, pp 1391-401. 3. de Souza PM, Lindsay MA (2005). Apoptosis as a therapeutic target for the treatment of lung disease, June, *Current Opinion in Pharmacology* Volume 5, Issue 3 Pages 232–237. 4. Chen KH, Chao D, Liu CF, Chen CF, Wang D (2010). Ischemia and Reperfusion of the Lung Tissues Induced Increase of Lung Permeability and Lung Edema Is Attenuated by Dimethylthiourea (PP69) Transplantation *Proceedings*, 42, 748–750. 5. Johnson RE, Matthay AM (2010). Acute Lung Injury: Epidemiology, Pathogenesis, and Treatment *Journal Of Aerosol Medicine And Pulmonary Drug Delivery*, Volume 23, Number 4: 243-52. 6. Guner I, Yaman MO, Aksu U, Uzun D, Erman H, Inceli M, Gelisgen R, Yelmen N, Uzun H, Sahin G (2014). The effect of fluoxetine on ischemia reperfusion after aortic surgery in a rat model. *Journal Surgical Research* 189, 96-95. 7. Goodman RB, Pugin J, Janet SL, Matthay MA (2003). Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury. *Cytokine & Growth Factor Reviews*; 14: 523–535. 8. de Perrot M, Liu M, Waddell TK, Shaf K (2003). Ischemia–Reperfusion–induced Lung Injury *Am J Respir Crit Care Med* Vol 167. pp 490–511.

P014

{*Nigella sativa*}’nın sıçanlarda inflamasyon, fibrozis ve indüklenebilir nitrik oksit sentezini baskılayarak bleomisine bağlı gelişen pulmonar fibroze karşı etkileri

Mustafa Erboğa¹, Zeynep Fidanol Erboğa¹, Yeliz Bozdemir Dönmez², Cevat Aktaş¹, Mehmet Kanter³

¹Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ

²Trakya Üniversitesi, Teknoloji Araştırma Geliştirme ve Uygulama Merkezi, Edirne

³İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Bu çalışmada *Nigella sativa*’nın (NS) bleomisin (BLC) ile deneysel olarak oluşturulan pulmonar fibrozis üzerine anti-oksidan, anti-inflamatuar ve anti-fibrotik etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. 18 adet erkek Sprague-Dawley sıçandan her grup 6 hayvan içermek üzere üç grup oluşturuldu: Kontrol, BLC, BLC+NS. Pulmonar fibrozis tek doz 2.5 mg/kg BLM’in intratrakeal enjeksiyonu ile oluşturuldu. BLC+NS grubundaki sıçanlara ise çalışmanın 1. gününden 28. gününe kadar intragastrik yoldan 400 mg/kg dozunda NS verildi. Deney süresi sonunda akciğer dokuları histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için çıkarıldı. Çıkarılan akciğer dokularına histolojik inceleme için hematoksilin-eozin ve Masson Trikrom boyamaları yapıldı. Ayrıca, immünohistokimyasal olarak indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) boyaması yapıldı. BLC’nin indüklediği akciğer inflamasyonu ve fibrozisinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığını tespit ettik. NS’nin ise akciğer dokusunda BLC’ye bağlı gelişen histolojik değişiklikleri iyileştirdiği ve inflamatuar hücre infiltrasyonunu azalttığı görüldü. NS’nin fibrozis skoruyla paralel olarak kollajen birikimini de azalttığı tespit edildi. Ayrıca, NS’nin iNOS pozitif hücre sayısını azalttığı da görüldü. Çalışmamız NS’nin inflamasyon skoru, fibrozis skoru ve iNOS ekspresyonunu inhibe ederek BLC’nin indüklediği pulmonar fibrozisi iyileştirdiğini göstermektedir. Bu nedenle, NS akciğer fibrozisi tedavisinde potansiyel bir terapötik madde olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Bleomisin, iNOS, *Nigella sativa*, Pulmonar fibrozis, Sıçan

{*Nigella sativa*} attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats by inhibition of inflammation, fibrosis, and inducible nitric oxide synthase

Mustafa Erboğa¹, Zeynep Fidanol Erboğa¹, Yeliz Bozdemir Dönmez², Cevat Aktaş¹, Mehmet Kanter³

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of Namık Kemal, Tekirdağ, Turkey

²Technology Research and Development Application and Research Center, University of Trakya, Edirne, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of Istanbul Medeniyet, Istanbul, Turkey

The present study investigated the anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-fibrotic potential of *Nigella sativa* (NS) against bleomycin (BLC)-induced lung injury and fibrosis, an experimental animal model. A total of 18 male Sprague-Dawley rats were divided into three groups: Control, BLC, BLC+NS; each group consist of 6 animals. Pulmonary fibrosis was induced by a single intratracheal instillation of 2.5 mg/kg BLC. BLC+NS group rats were intragastric administered daily 400 mg/kg of NS from day 1 to 28. At the end of the study, lung tissues were removed for histopathological and immunohistochemical investigation. Lung tissues were stained with hematoxylin-eosin and Masson’s Trichrome for histological evaluation. Moreover, the inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in the lung tissues was determined by immunohistochemical staining. BLC-induced histological changes including lung inflammation and lung fibrosis were significantly detected compared to the control group. NS treatment significantly ameliorated the BLC mediated histological changes and reduced the inflammatory cell infiltrate in lung tissues. NS significantly blocked collagen accumulations with parallel reduction in the fibrosis score. In addition, NS also markedly decreased the positive staining of iNOS in lung tissues. Our study provides evidence that NS significantly ameliorated BLM-induced pulmonary fibrosis in rats via the inhibition of inflammation score, fibrosis score, and iNOS expression. Therefore, NS may be a potential therapeutic reagent for the treatment of pulmonary fibrosis.

Keywords: Bleomycin, iNOS, *Nigella sativa*, Pulmonary fibrosis, Rat

P015

Postnatal gelişim sürecindeki sıçanların akciğerinde Toll-like reseptörlerinin (TLR-2, TLR-4, TLR-5 ve TLR-9) lokalizasyonları ve ekspresyonları*

Narin Liman, Emel Alan

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

GİRİŞ-AMAÇ: Toll-like reseptörler (TLR) bakteriyel, fungal ve viral patojenler tarafından üretilen patojenle ilişkili moleküler yapıları (Pathogen Associated Molecular Pattern, PAMP) tanıma yeteneğinde olan transmembran proteinlerdir. TLR'ler doğal immun yanıtı başlatılmasında ve aynı zamanda enfeksiyona karşı kazanılmış immun yanıtın düzenlenmesinde anahtar rol oynarlar. TLR proteinlerinin erişkin insan ve memeli hayvanların akciğerlerinde ifadelendiği ve çeşitli akciğer hastalıklarında akciğer ile ilişkili immun yanıtların oluşturulmasında rol oynadığı bilinmektedir. Ancak neonatal gelişim sürecinde TLR'nin ekspresyonları hakkında herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, patojenleri tanıyan reseptörler ailesine ait olan TLR-2, -4, -5 ve -9'un postnatal gelişim periyodunun neonatal evresinde sıçan akciğerindeki yerleşimleri ve ekspresyonlarında oluşabilecek olası değişikliklerin ortaya konması amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD: Çalışmada 30 adet neonatal dönemin 1., 3., 5., 10. ve 15. günlerindeki yavru sıçanların akciğerleri immunohistokimyasal ve western blot analiz yöntemleri için uygun prosedüre göre hazırlandı. Doğum sonrası 1-3. günler sakkular, 5, 10 ve 15. günler ise alveolar periyod olarak tanımlandı.

BULGULAR: Sakkuler ve alveolar periyodlardaki sıçan akciğerinde TLR-2, TLR-5 ve TLR-9'un membransel, sitoplazmik ve nükleer, TLR-4'ün ise membransel lokalizasyon gösterdikleri belirlendi. Sakkular ve alveolar evrelerdeki sıçanların akciğerlerinde sakkulus/alveol epitel hücrelerinde, bronşiyollerin epitelinde, fibroblastlar gibi interstisyel bağdoku hücrelerinin çekirdeklerinde, ayrıca kan damarı endotelini ile medya katmanlarında ve alveol duvarındaki kapillar damar endotelinin çekirdekleri ile hücre membranlarında TLR-2, TLR-5 ve TLR-9 için pozitif reaksiyon gözlemlendi. TLR-4'ün ise sakkulus ve alveol epitelini ile endotel hücrelerinin membranlarında, bronşiyol epitel hücrelerinin bazal sitoplazmaları ile apikal yüzeylerinde pozitif reaksiyon verdiği gözlemlendi. Doğum sonrası birinci günden itibaren TLR-2, TLR-4, TLR-5 ve TLR-9'un rat akciğer dokusunda ekspresyonu olduğu ve neonatal süreçte ekspresyonda istatistiksel açıdan önemli bir değişikliğin bulunmadığı saptandı.

SONUÇ: Bu bulgular sıçan akciğerinin postnatal döneme adaptasyonu için prenatal dönemde TLR'leri ile donatıldığını göstermektedir.

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSA-11-3604 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer, Postnatal gelişim, Rat, Toll-like reseptör

The localizations and expressions of Toll-like receptors (TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-9) in rat lung during the postnatal development period*

Narin Liman, Emel Alan

Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Erciyes, Kayseri, Turkey

OBJECTIVE: Toll-like receptors (TLRs) are the transmembrane proteins, which recognize highly conserved structural motifs known as pathogen-associated microbial patterns (PAMPs), which are exclusively expressed by bacterial, fungal and viral pathogens. TLRs play key role in both in initiating the innate immune response and in the regulation of adaptive immune response against infections. It is known that TLRs are expressed by lung of humans and many other animals and play pivotal role in the pulmonary immune response in the pulmonary disorders. However, there are no studies describing the TLR expression during the neonatal lung development process. This study was conducted to demonstrate the possible changes in expression and localization of Toll-like receptors -2, -4, -5, and -9 belonging to pathogen recognition receptors family in rat lung during the neonatal stage of postnatal development period.

MATERIALS-METHODS: In this study, 30 neonatal rat at 1st,3rd, 5th, 10th and 15th days of

postnatal period were used for immunohistochemical and western blot analysis. After birth, the 1st and 3rd days of neonatal stage are defined as saccular stage, whereas the 5th, 10th and 15th days are defined as alveolar stage.

RESULTS: In rat lungs during the saccular and alveolar periods, it was determined that TLR-2, TLR-5 and TLR-9 immunoreactivity exhibited membranous, cytoplasmic and nuclear localization, whereas TLR-4 immunoreactivity showed membranous localization. In the rat lungs of saccular and alveolar stages, the nuclei and membranes of saccular/alveolar epithelium, bronchiolar epithelium and interstitial connective tissue cells as well as vascular endothelium and smooth muscle cells and the endothelial cells of the alveolar capillaries exhibited positive reactions for TLR-2, TLR-5 and TLR-9. Whereas, TLR-4 immunoreactivity was found in the membranes of saccular and alveolar epithelial cells, vascular endothelial cells and in the basal cytoplasm and apical surfaces of bronchiolar epithelial cells. Following the first day to 15th days after birth, it was determined that TLR-2, TLR-4, TLR-5 and TLR-9 proteins were expressed in the lung tissue from the saccular stage of development to the alveolar stage and their protein levels did not change significantly with postnatal development.

CONCLUSION: These findings indicate that for normal postnatal adaptation to extrauterine life, the rat lung was equipped by TLRs during the prenatal period.

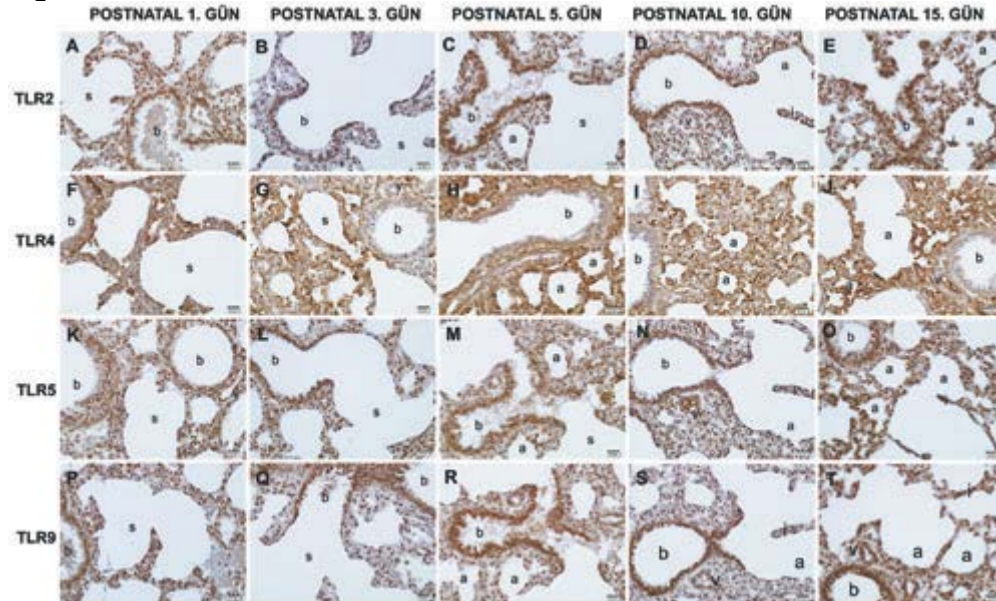
*Acknowledgement

This study was financially supported by Scientific Research Council of Erciyes University (Project No: TSA-11-3604).

Keywords: Lung, Postnatal development, Rat, Toll-like receptor

Figür 1

Figure 1

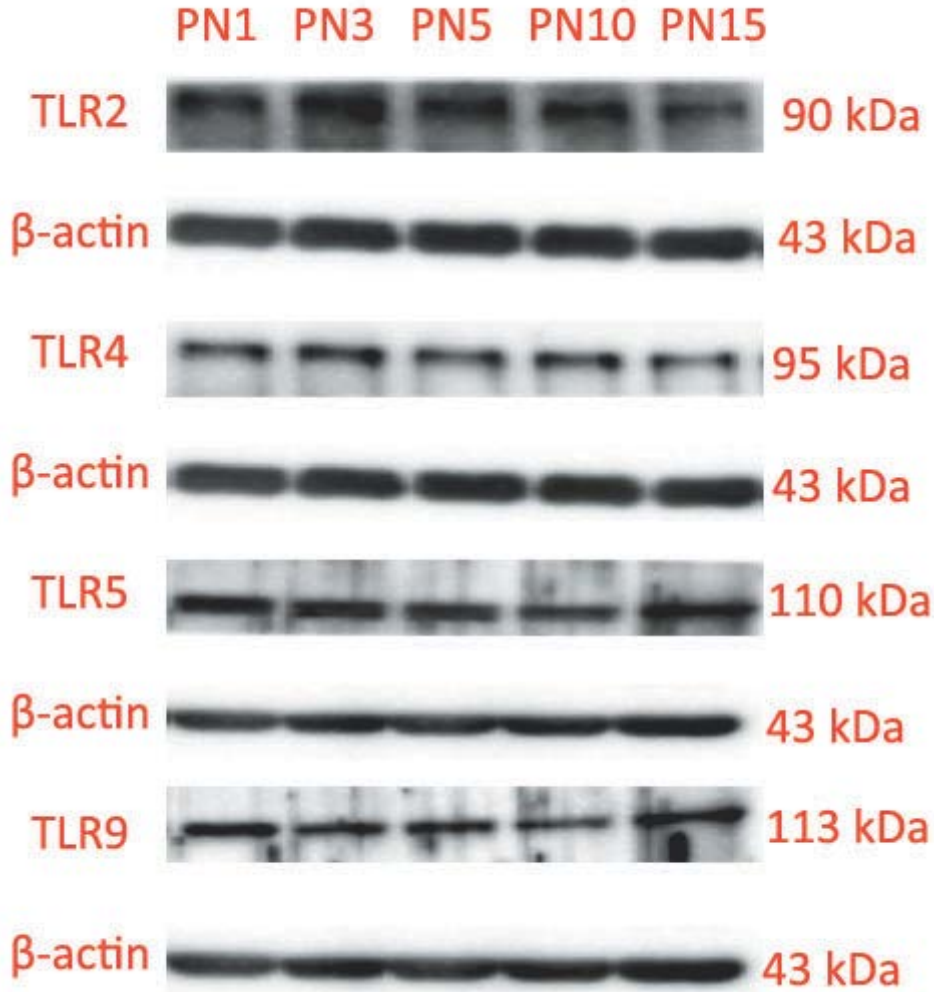


Figür 1. Postnatal dönemdeki rat akciğerinde TLR-2 (A-E), TLR-4 (F-J), TLR-5 (K-O) ve TLR-9 (P-T) proteinlerinin lokalizasyonları. a, alveol; b, bronşiyol; i, interalveolar septum; s, sakkulus; v, kan damarı.

Figure 1. The immunolocalizations of TLR-2 (A-E), TLR-4 (F-J), TLR-5 (K-O) ve TLR-9 (P-T) in the rat lungs during the postnatal development period. a, alveoli; b, bronchiol; i, interalveolar septum; s, sacculus; v, blood vessel.

Figür 2

Figure 2



Figür 2. Postnatal dönemdeki rat akciğerinde TLR-2, TLR-4, TLR-5 ve TLR-9 proteinlerinin postnatal yaşa bağlı ekspresyonlarının western blot analizi ile gösterimi.

Figure 2. Western blot analysis of TLR-2, TLR-4, TLR-5 ve TLR-9 in total protein extracts of the rat lungs during postnatal development period.

Kaynakça / References: Armant MA, Fenton MJ. (2002) Toll-like receptors: a family of pattern-recognition receptors in mammals. *Genome Biol* 3: REVIEWS3011. Droemann D, Goldmann T, Branscheid D, et al. (2003) Toll-like receptor 2 is expressed by alveolar epithelial cells type II and macrophages in the human lung. *Histochem Cell Biol* 119: 103–108 Hoppstadter J, Diesel B, Zarbock R, et al. (2010) Differential cell reaction upon Toll-like receptor 4 and 9 activation in human alveolar and lung interstitial macrophages. *Respir Res* 11: 124–139. Sukkar MB, Xie S, Khorasani NM, et al. (2006) Toll-like receptor 2, 3 and 4 expression and function in human airway smooth muscle. *J Allergy Clin Immunol* 118: 641–648.

P016

Ormangülü Balının (Deli bal) Fare Karaciğer Dokusuna Etkisi

Aysel Kükner¹, Gizem İlter¹, Gizem Söyler¹, Pınar Göç Rasgele², Meral Kekeçoğlu³, Merve Kanbur³

¹AİBÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

²Düzce Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyosistem Mühendisliği Bölümü, DÜZCE

³Düzce Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, DÜZCE

GİRİŞ: Özellikle Karadeniz Bölgesinde yetişen orman gülünden (Rhododendron) elde edilen deli bal içinde toksik etkili graynotoksin (GTX) maddesi bulunmaktadır. Rhododendron'dan elde edilen GTX'in 25 adet izoformu bilinmektedir, bunlardan GTX-III toksik etkiye sahiptir (LD50 908mg/kg). Deli balın etkisi doza bağlı olup, kardiyak aritmi, fibrilasyon, miyokardiyal infarktüs gibi ciddi etkileri neden olmaktadır. Çalışmanın amacı, farklı dozlarda uygulanan Düzce yöresine ait ormangülü balının karaciğer dokusuna etkilerinin incelenmesidir.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmada 8-12 haftalık 20-25 gram ağırlığında erkek fareler kullanıldı. Distile su, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg Düzce Yöresi ormangülü balı ve 0,01 mg/kg graynotoksin uygulanan gruplar oluşturuldu. Uygulamalardan 24 ve 48 saat sonra karaciğer doku örnekleri alınarak %10'luk nötral formalin ile tespit edildi. Hazırlanan kesitler hematoksilin-eozin ve PAS ile boyandı, histopatolojik skorlama yapıldı.

BULGULAR: Bal grupları ile kontrol grubu arasında, konjesyon, vakuolizasyon sinüs dilatasyonu ve inflamasyon yönünden istatistik olarak anlamlı farklılıklar tespit edildi. Işık mikroskopik incelemede kontrol grubunda normal karaciğer yapısı izlenirken, GRx uygulanan 24 saatlik grupta sinüzoidlerdeki genişlemeler ve konjesyon, 48 saatlik grupta ise artmış konjesyon, vakuolizasyon, inflamatuvar hücreler gözlemlendi. Bu grupta sinüzoidlerde çok çekirdekli dev hücreler tespit edildi. 25mg bal uygulanan 24 saatlik ve 48 saatlik grup bulguları benzerlik göstermekteydi, konjesyon ve vakuolizasyon 48 saatlik grupta daha belirgindi (Şekil 1). 50mg bal uygulanan 48 saatlik grupta vena sentralis çevresindeki hepatositlerde yoğun vakuolizasyon görüldü (Şekil 2). 75 mg bal uygulanan 24 saatlik ve 48 saatlik gruplarda hepatositlerde nekroz, konjesyon, vakuolizasyon, inflamatuvar hücrelerde artış tespit edildi (Şekil 3). Bal verilen gruplar ve GRx uygulanan gruplar, kontrol ile karşılaştırıldığında hepatositlerde PAS (+) boyanmanın azaldığı görüldü. Doza ve süreye bağlı olarak uygulanan orman gülü balının fare karaciğer dokusunda değişik derecede toksik etkileri gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Ormangülü balı, fare, karaciğer

The Effect of Mad Honey in Mice Liver Tissue

Aysel Kükner¹, Gizem İlter¹, Gizem Söyler¹, Pınar Göç Rasgele², Meral Kekeçoğlu³, Merve Kanbur³

¹University of Abant İzzet Baysal, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology

²University of Düzce, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, Department of Biosystems Engineering, DÜZCE

³University of Düzce, Faculty of Science, Department of Biology, DÜZCE

INTRODUCTION: Mad honey, extracted from the Rhododendron plant growing in the Black Sea region, consists of toxic grayanotoxin (GTX) substance. There are 25 types of GTX isoforms that are extracted from Rhododendron, where GTX-III has the toxic impacts (LD50 908mg/kg). Depending on the dose, the poisonous honey can result in serious effects such as the cardiac arrhythmia, fibrillation, myocardial infarction. The purpose of this study is to investigate the effects of the poisonous honey extracted from the Rhododendron in Düzce region on the liver tissue depending on dose and duration.

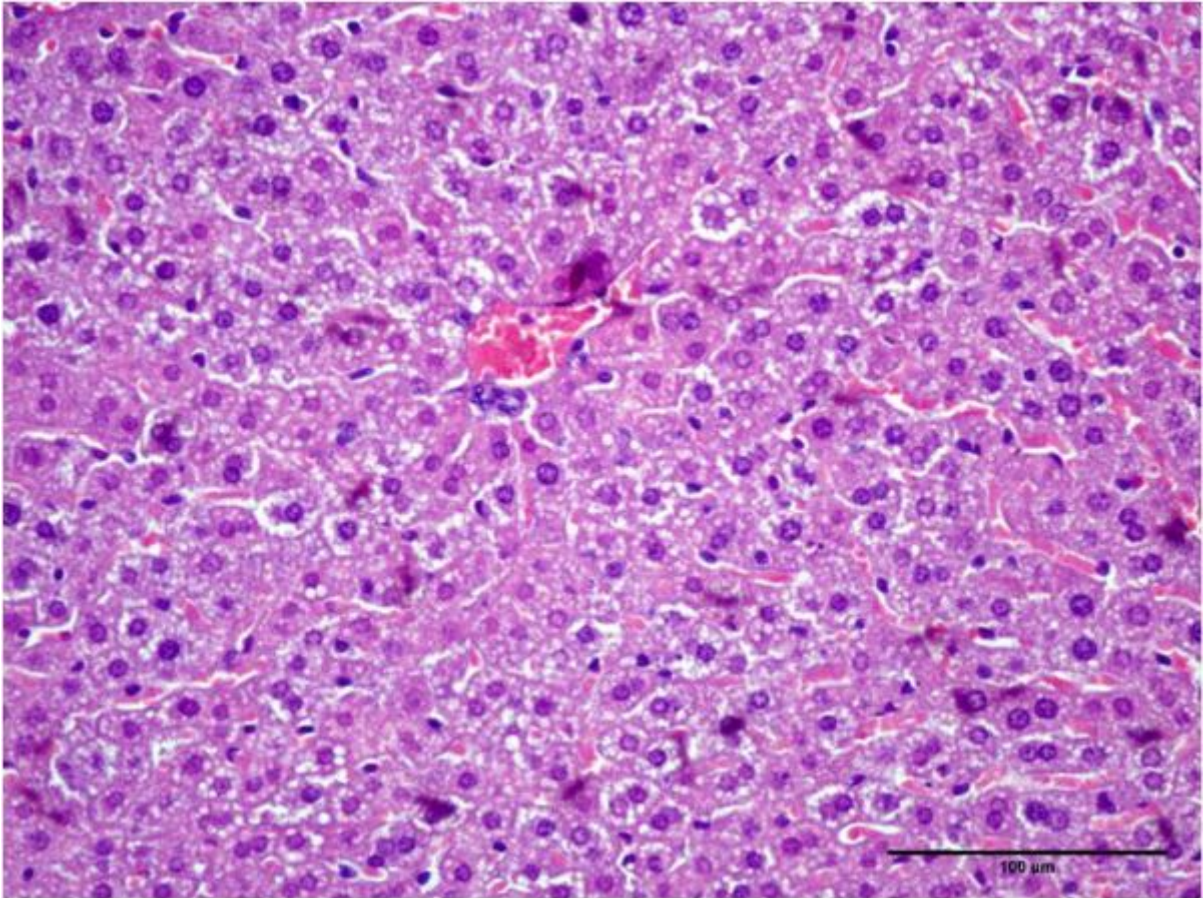
MATERIAL-METHODS: In this study, 8 to 12 weeks old, 20-25 gram weight male mice were used. Mice were organized in 5 groups based on the applied substance and dose level as: 1) distilled water, poisonous honey of 2) 25 mg/kg, 3) 50 mg/kg, 4) 75 mg/kg, and 5) 0,01 mg/kg grayanotoxin. Liver tissues were collected 24 and 48 hours later and were fixed with 10% neutral formalin. The prepared cross-sections were stained with hematoxylin and eosin and PAS, then the histopathological score was performed.

RESULTS: Significant statistical differences were observed between the honey and control groups in terms of congestion, vacuolization, sinus dilatation, and inflammation (Table 1). The control group

demonstrated a normal liver structure in the light microscopy, while the GRx applied 24 hour group exhibits expansions in the sinusoids and congestion. Higher levels of congestion, vacuolization, inflammatory cells were seen in the GRx applied 48 hour-group. In the latter group, giant cells consisting many nucleus were observed in the sinusoids. The results of the 25 mg honey applied groups were similar in 24 and 48 hours, histopathological score levels were increased slightly, congestion and vacuolization were much prominent in the 48 hour group (Figure 1). Dense vacuolization was seen in the hepatocytes around the vena centralis in 50mg honey applied 48 hour-group (Figure 2). Necrosis, congestion, vacuolization and an increase of inflammatory cells were observed in the hepatocytes in 75 mg honey applied 24 and 48 hour groups (Figure 3). PAS (+) stained hepatocytes were decreased in the honey and GRx applied groups. The toxic effects of the mad honey were observed on the mice liver tissue depending to with respect to dose and time.

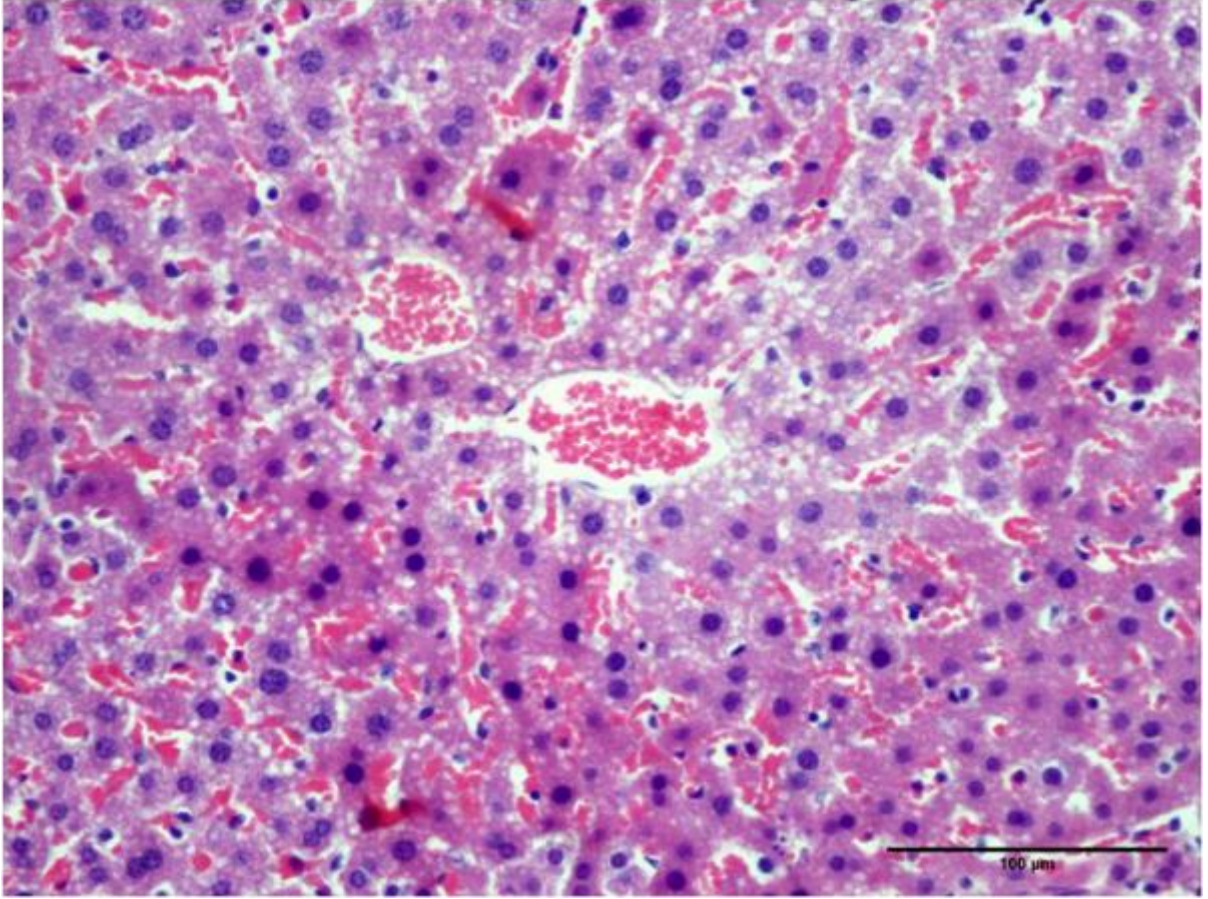
Keywords: Mad honey, mice, liver

Şekil 1.
Figure 1.



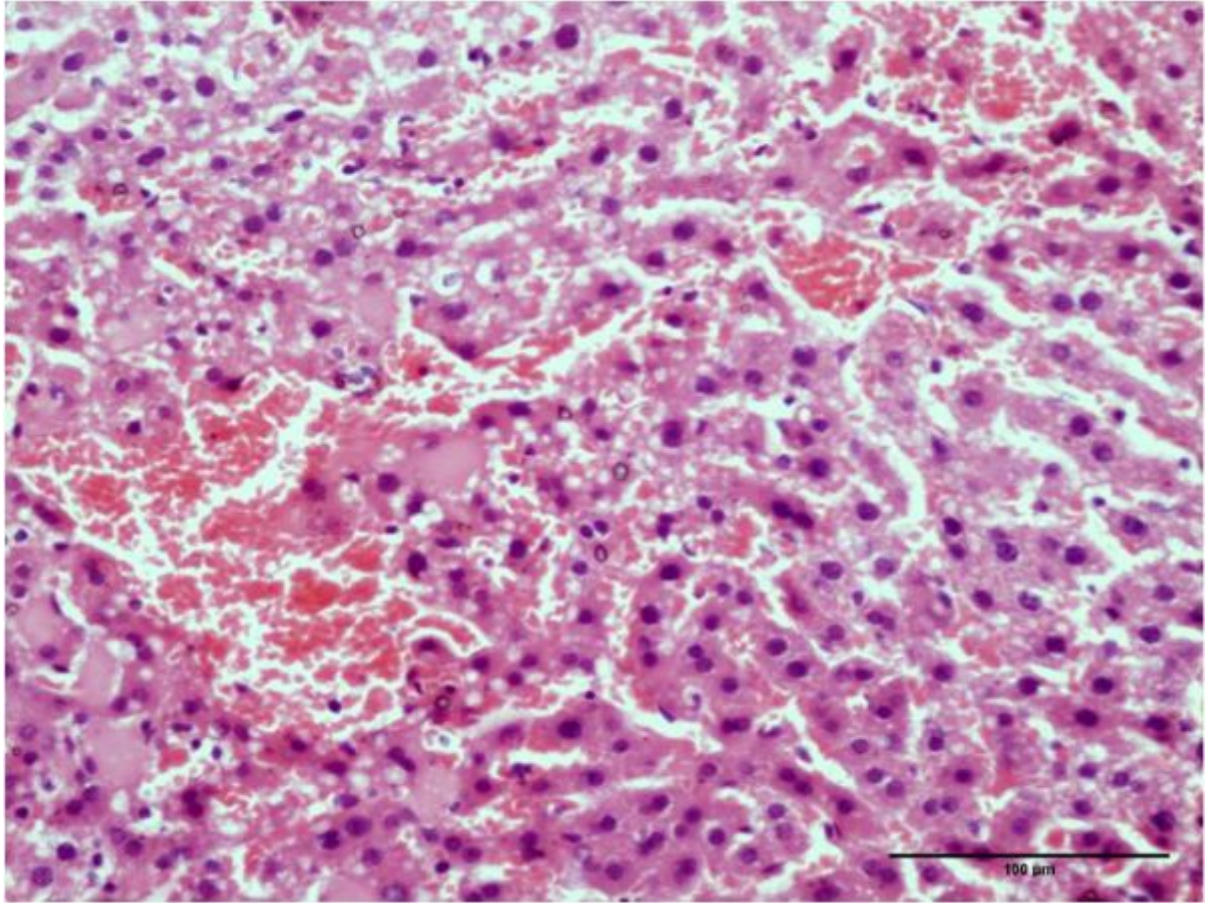
25 mg deli bal verilen 48 saatlik gruba ait karaciğer dokusunda hafif derecede konjesyon görülmektedir.

Şekil 2.
Figure 2



50 mg deli bal verilen 48 saatlik grupta hepatositlerde artmış vakuolizasyon ve konjesyon görülmektedir.

Şekil 3.
Figure 3.



75 mg deli bal verilen 48 saatlik grupta bulguların şiddetli olduğu, nekrotik hücrelerin (*) ortaya çıktığı görülmektedir.

Tablo 1

Gruplar	Nekroz	Konjesyon	Hepatosir vakuolizasyonu	Sinüzoid dilatasyonu	İnflamatuvar hücre artışı
Kontrol	0	0	0	0	0
25mg bal/24 saat	0	0.50 ± 0.548	0 ± 0.516	0 ± 0.516	0
25mg bal/48 saat	0	1 a	1 ± 0.516	0 ± 0.516	0 ± 0.516
50mg bal/24 saat	0	1 a	1 ± 0.516 b	0 ± 0.516	0 ± 0.516
50mg bal/48 saat	0 ± 0.516	1 ± 0.408 c	1 ± 0.753 c	0 ± 0.516 c	2 ± 1.169 c
75mg bal/24 saat	0 ± 0.516	1 ± 0.408 d	1.50 ± 1.049 d	1 ± 0.408 d	1 ± 0.983 d
75mg bal/48 saat	0.50 ± 0.548	1 e	1 ± 0.753 e	1 ± 0.408 e	1.50 ± 1.378 e
24 saat GRX	0	0.50 ± 0.548	0 ± 0.516	0 ± 0.516	0 ± 0.408
48 saat GRX	0	1 ± 0.408 f	1 ± 0.516	0 ± 0.516	0 ± 0.408

Gruplarda histopatolojik skorlama değerleri a, b, c, d, e, f Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $P < 0.05$

Table 1

Kaynakça / References: 1. Silici, S., Atayoglu, A.T., Mad Honey Intoxication: A Systematic Review on the 1199 cases, Food and Chemical Toxicology (2015), doi: 10.1016/j.fct.2015.10.018
2. Silici Sibela, Yonar M. Enis, Sahin Hüseyin, Atayođlu A. Timucin, Ozkok Duran. Analysis of grayanatoxin in Rhododendron honey and effect on antioxidant parameters in rats. Journal of Ethnopharmacology 156 (2014) 155–161156
3. Kleiner DE, Brunt EM, VanNatta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2005;41:1313–21.

P017

Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) uyarımlı sıçan kolit modelinde Th17 ilişkili sitokinlerin (IL-17 ve IL-22) ifadelerinin değişimi

İhsan Karaboğa¹, Turan Karaca², Selim Demirtaş²

¹Namık Kemal Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Tekirdağ, Türkiye

²Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

İnflammatuar bağırsak hastalıkları (İBH) gastrointestinal sisteme hasar verici bir hastalık grubudur. Kolonda inflamasyonla karakterize olan Ülseratif kolit, crohn hastalığı ve indetermine kolit hastalıklarını kapsar (1).Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) uyarımlı kolit modeli klinik ve patolojik özellikleri insan ülseratif kolitine benzerliğinden dolayı deneysel çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır (2). Bu çalışmada TNBS-uyarımlı sıçan kolit modelinde IL-17 ve IL-22 sitokinlerinin ifadeleri immünohistokimyasal ve Western blot yöntemleriyle incelenmesi amaçlanmıştır. On altı adet dişi Wistar albino kontrol (n=8) ve kolit (n=8) olarak iki gruba ayrıldı. Kontrol grubu hayvanlara fizyolojik saline uygulanırken kolit grubuna TNBS (25 mg/sıçan dozda, %50 thanol içinde çözülmüş, inrtakolonik, toplamda 1 ml) solüsyonu anestezi altında uygulandı. TNBS kolona plastik katater yardımıyla Trendelenburg pozisyonunda 45 s süreyle uygulandı. Sonrasında TNBS'nin aşırı maruziyetini önlemek için colon 5 d süre serum fizyolojik serum ile yıkandı (2). Kontrol grubuna aynı yolla serum fizyolojik verildi. İndirek immünohistokimya yöntemi ile immunohistokimyasal işaretleme yapıldı (Anti-IL-17; Abcam, ab79056, Anti-IL-22; Abcam, ab106773). Western blot yönteminde Anti-Beta aktin (Bioss, bs-0061R) Anti-IL-17 (Abcam, ab79056) ve Anti-22 (Bioss, bs-2623R) antikorları kullanıldı. Th17 hücreler ve IL-17 ilişkili IL-22 sitokin üreten hücreler her iki grubun kolonik mukozasında da izlendi. IL-17 ve IL-22 pozitif boyanmış hücreler kontrol grubunda lamina propiyada izlenirken, kolit grubunda ise inflamasyon alanlarında yerleşmişti. Hem IL-17 hem de IL-22 pozitif boyanmış hücrelerin kolit grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak arttığı belirlendi (p<0,05).

Kolonik IL-17 ve IL-22 sitokin ifadesi Western blot metodu ile ölçüldü. Kolit grubunda kontrole göre anlamlı olarak artmış IL-17 ve IL-22 sitokin ifadesi gözlemlendi. İmmünohistokimyasal ve Western blot bulguları da uyumluydu.

Sonuç olarak, TNBS-uyarımlı kolit modelinde artmış kolonik IL-17 ve IL-22 sitokin ifadesi immünohistokimyasal ve Western blot yöntemiyle belirlendi.

Anahtar Kelimeler: TNBS, Th17, IL-22, Kolit

Change of expressions of Th17-related cytokines (IL-17 and IL -22) in TNBS-induced rat colitis

İhsan Karaboğa¹, Turan Karaca², Selim Demirtaş²

¹Namık Kemal University, School of Health, Tekirdag, Turkey

²Trakya University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embriology, Edirne, Turkey

Inflammatory bowel diseases (IBD) an irritable disorder groups in gastrointestinal system are included; Ulcerative Colitis (UC), Crohn's Disease (CD) and Indetermine Colitis (IC) and it characterized by inflammation of the gut (1). Trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS)-induced colitis model have been frequently used in experimental colitis model because of its clinical and pathological features like to human ulcerative colitis (2). In this study IL-17 and IL-22 expressions were examined in TNBS-induced rat colitis by immunohistochemical and Western blot method. Sixteen female Wistar albino rats divided into two groups as control (n=8) and colitis (n=8). Control groups received saline solution and colitis group was administered TNBS (25 mg/rat, intracolonic, dissolved in %50 ethanol, totaly 1 ml) solution, under sedation. TNBS was administered into the colon with a rubber catheter in a Trendelenburg position for 45 sec. To protect excessive exposure of TNBS, colon washed saline solution for 5 min (2). Control gorup received 1ml saline solution in the same way. Indirect immunohistochemical staining method was used in immunohistochemical staning (Anti-IL-17; Abcam, ab79056, Anti-IL-22; Abcam, ab106773). Anti-Beta actin (Bioss, bs-0061R) Anti-IL-17 (Abcam, ab79056) and Anti-22 (Bioss, bs-2623R) were used in Western blot analysis.

Th17 cells and IL-17-related cytokine IL-22 producing cells were detected in colonic mucosa in both

group by immunohistochemically. IL-17 and IL-22 positive stained cells were observed in lamina propria in control group but in colitis group they are located in inflammation areas. Both IL-17 and IL-22 cytokine expressions were a significantly higher in colitis group compared to control group ($p<0.05$).

Colonic IL-17 and IL-22 protein expressions were quantified by Western blot. In colitis group, we observed that a significantly increased IL-17 and IL-22 expressions in colonic tissue compared to control group ($p<0.05$). Also, IL-17 and IL-22 immunohistochemical findings were supported to the Western blot results.

Finally, enhanced colonic IL-17 and IL-22 cytokine expressions were observed in TNBS-induced colitis model by immunohistochemical and Western blot method.

Keywords: TBNS, Th17, IL-22, Colitis

Kaynakça / References: 1.Azuma, K., et al., Anti-inflammatory effects of orally administered glucosamine oligomer in an experimental model of inflammatory bowel disease. Carbohydrate polymers, 2015. 115: p. 448-456. 2.Karaca, T., et al., Protective effect of royal jelly in 2, 4, 6 trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. Iranian journal of basic medical sciences, 2015. 18(4): p. 370.

P018

İyonizan radyasyonun neden olduğu jejunal mukozal hasara karşı {*Nigella sativa*}’nın koruyucu etkilerinin incelenmesi

Zeynep Nur Orhon¹, Cem Uzal², Mehmet Kanter³, Mustafa Erboğa⁴, Murat Demiroğlu⁵

¹İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İstanbul

²Trakya Üniversitesi, İp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Edirne

³İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ

⁵İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Bu çalışmanın amacı, gama radyasyonunun zararlı etkilerine karşı jejunal mukozanın korunmasında *Nigella sativa*’nın (NS) etkinliğini araştırmaktır. Radyasyon hasarı oluşturmak üzere kontrol grubu dışındaki tüm deneklere fizyolojik salin ile birlikte abdominal olarak 15 Gy gamma ışını uygulandı. Radyoterapi+NS grubuna ise abdominal olarak 15 Gy gamma ışınına ilaveten 400 mg/kg NS verildi. Radyoterapiden 3 gün sonra tüm denekler sakrifiye edildiler. Daha sonra sıçanların barsak dokularının jejunum kısımları mukozal hasarı değerlendirmek amacıyla biyokimyasal ve histolojik incelemeler için çıkarıldı. NS tedavisinin jejunal dokuda artmış olan malondialdehit seviyesini azalttığı, azalan glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismütaz seviyelerini ise arttırdığı görüldü. Tek doz 15 Gy gamma ışınının jejunal mukozada belirgin hasara yol açtığı tespit edildi. Radyasyon uygulamasından 3 gün sonra villus ve Lieberkühn bezlerinin erozyona uğradığı ve villus yüksekliğinin azaldığı gözlemlendi. Bunlara paralel olarak atrofik hale gelen mukozada inflamatuvar hücre artışı, ülserasyon ve kapillerlerde tıkanık görüldü. NS tedavisinin ise radyasyonun indüklediği histolojik hasarları önemli ölçüde azalttığı tespit edildi. NS’nin radyasyon hasarına karşı görülen koruyucu etkileri klinikte kullanımın mümkün olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, Jejunal mukoza hasarı, *Nigella sativa*, Oksidatif stres, Radyasyon

Protective effects of {*Nigella sativa*} on gamma radiation-induced jejunal mucosal damage in rats

Zeynep Nur Orhon¹, Cem Uzal², Mehmet Kanter³, Mustafa Erboğa⁴, Murat Demiroğlu⁵

¹Department of Anesthesiology and Reanimation, Istanbul Medeniyet University Goztepe Training and Research Hospital, Istanbul, Turkey

²Department of Radiation Oncology, Faculty of Medicine, Trakya University, Edirne, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Istanbul Medeniyet University, Istanbul, Turkey

⁴Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Namık Kemal University, Tekirdag, Turkey

⁵Department of Orthopaedics and Traumatology, Istanbul Medeniyet University Goztepe Training and Research Hospital, Istanbul, Turkey

The aim of this study was to compare the efficacy of *Nigella sativa* (NS) in protection of jejunal mucosa against harmful effects of gamma radiation. Radiotherapy group received abdominal gamma radiation of 15 Gy in addition to physiological saline. Radiotherapy + NS treatment group received abdominal gamma radiation of 15 Gy in addition to NS treatment in the amount of 400 mg/kg. Radiotherapy and treatment groups were sacrificed 3 days after the exposure to irradiation. Then, jejunum samples were harvested for biochemical and histological assessment of mucosal injury. NS treatment was found to significantly lower elevated tissue malondialdehyde levels and, to raise reduced glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity in intestinal tissues samples. Single dose 15 Gy gamma-irradiation was noted to result in a marked jejunal mucosal injury. Three days after exposure to irradiation, the villi and Lieberkühn crypts were observed as denuded, and villous height diminished. Concomitantly with inflammatory cell invasion, capillary congestion and ulceration were observed in the atrophic mucosa. NS treatment significantly attenuated the radiation induced morphological changes in the irradiated rat jejunal mucosa. NS has protective effects against radiation-induced damage, suggesting that clinical transfer is feasible.

Keywords: Apoptosis, Jejunal mucosal damage, *Nigella sativa*, Oxidative stress, Radiation injury

P019

Sıçanlarda D-Galaktozamin ile Oluşturulmuş Karaciğer Hasarına Karşı Vitamin D3'ün Koruyucu Etkileri

Neriman Çolakoğlu, Tuncay Kuloglu, Enver Ozan, Nevin Kocaman, Durrin Ozlem Dabak, Gozde Parlak

Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji & Embriyoloji AD. Elazığ

Bu çalışmada D-Galaktozamin (D-GaIN) toksisitesi ile oluşturulmuş karaciğer hasarı üzerine vitamin D3'ün koruyucu etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. D-GaIN spesifik hepatotoksik ajanlardandır. Hepatotoksik etkisini uridin trifosfat havuzunu tüketip makromolekül sentezini inhibe ederek göstermektedir (1). Vitamin D ise apoptosis, inflamasyon, immünmodulasyon, detoksifikasyon ve otofaji gibi önemli olaylarda etkin rol oynamaktadır.

Çalışmada 20 adet Wistar albino cinsi sıçan kullanıldı. Grup I'de yer alan sıçanlar kontrol olarak kullanıldı. Grup II'deki sıçanlara tek doz intraperitoneal yolla 500mg/kg D-GaIN enjekte edildi. Grup III'teki sıçanlara tek doz 500mg/kg D-GaIN ile birlikte 5 gün süresince intramusküler yolla vitamin D3 enjekte edildi. Grup IV'teki sıçanlara ise 5 gün süresince sadece vitamin D3 enjekte edildi. Deney sonunda sıçanlar servikal dekapitasyonla ötenazi edildi, sıçanlara midsaggital insizyon yapıp, karaciğer dokuları alındı. Dokular %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi ve TUNEL ve histokimyasal boyama tekniklerinin uygulanması için hazırlandı.

Işık mikroskop incelemelerinde kontrol grubuna ait kesitler normal yapıda ayırt edildi. D-GaIN uygulanan grup II'ye ait karaciğer kesitlerinde inflammatuar hücre infiltrasyonu, sinüzoidal dilatasyon ve apoptotik cisimler gözlemlendi. Ayrıca hepatositlerin glikojen içeriklerinin önemli oranda tükendiği saptandı. Bu grupta TUNEL pozitif hücrelerin oldukça yaygın olduğu dikkat çekiciydi. D-GaIN ile birlikte vitamin D3 uygulanan grup III'e ait sıçanların karaciğer kesitlerinde yapısal bütünlüğün korunduğu gözlemlendi. Vitamin D3 tedavisi, grup III'te TUNEL pozitif hücrelerde de azalmaya sebep oldu. Sadece vitamin D3 uygulanan grup IV'e ait karaciğer dokuları ise kontrol grubu ile benzerlik göstermekteydi.

Bu çalışma sonunda elde edilen bulgular, D-GaIN'nin karaciğerde inflamasyona sebep olduğunu ve oluşan bu inflamasyonun ise apoptozisi tetiklediğini düşündürdü. Vitamin D3 uygulamasının ise D-GaIN ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı profilaksi sağladığı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: D-galaktozamin, karaciğer hasarı, vitamin D3, apoptozis, TUNEL

Protective Effects Of Vitamin D3 Against D-Galactosamine-Induced Liver Injury In Rats

Neriman Çolakoğlu, Tuncay Kuloglu, Enver Ozan, Nevin Kocaman, Durrin Ozlem Dabak, Gozde Parlak

Fırat University, Medical Faculty, Histology & Embryology Department. Elazığ

In this study, we examined liver damage induced by D-galactosamine (D-GaIN) and the protective effects of vitamin D3 in relation to D-GaIN toxicity. D-GaIN is a spesific hepatotoxicant that exhaustes the uridine triphosphate pool and then inhibits macromoleculu synthesis. Vitamin D play important role in various process including apoptosis, inflammation, immunomodulation, detoxification, and autophagy (2).

Twenty Wistar albino rats were used in this study. The rats were divided into four groups. GroupI rats were used as the control group. GroupII rats were given a single intraperitoneal injection of D-GaIN. GroupIII rats were given a single intraperitoneal injection of D-GaIN, intramuscular vitamin D3 for five days. GroupIV rats were given intramuscular vitamin D3 for five days. All of rats were euthanized by cervical decapitation on the fifth day of experiment. Upon completion of the experiment, a midsaggital incision was performed, and the livers of all rats were removed and fixed. The livers were processed to perform TUNEL technique and histochemical staining.

During the microscope examination, we observed inflammatory cell infiltration, sinusoidal dilatation, and apoptotic bodies due to D-GaIN exposure. In addition, glycogen content of the groupII hepatocytes was significantly decreased. Vitamin D3 treatment provided better structural apperance of the livers in groupIII. TUNEL positive cells were extremly pervasive in the groupII livers. The study found groupIII TUNEL positive cells at a reduced rate in relation to groupII due to vitamin D3 treatment.

This findings indicates that D-GalN causes inflammation in the liver. This inflammation triggers the apoptotic process gradually. Vitamin D3 has potency to decrease the severity of D-GalN-caused structural liver damage.

Keywords: D-galactosamine, liver injury, vitamin D3, apoptosis, TUNEL

Kaynakça / References: 1) Bao XQ, Liu GT. Bicyclol protects HepG2 cells against D-galactosamine-induced apoptosis through inducing heat shock protein 27 and mitochondria associated pathway. *Acta Pharmacol Sin.* 2010 Feb; 31(2): 219-26. 2) Yang J, Chen Q, Tian S, Song S, Liu F, Wang Q, Fu Z. The role of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in mouse liver ischemia reperfusion injury: regulation of autophagy through activation of MEK/ERK signaling and PTEN/PI3K/Akt/mTORC1 signaling. *Am J Transl Res.* 2015 Dec 15; 7(12): 2630-45.

P020

DeneySEL Diyabette Melatonin Tedavisinin Böbrek Dokusu Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Esin Ak¹, Burcin Alev², Hazal Ipekci², Sehkar Oktay², Unsal Veli Ustundag², Sule Cetinel³, Ebru Alturfan², Göksel Sener⁴, Aysen Yarat², Tugba Tunalı Akbay²

¹Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji BD, İstanbul, Türkiye,

²Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Biyokimya BD, İstanbul, Türkiye,

³Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AbD, İstanbul, Türkiye

⁴Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji AbD, İstanbul, Türkiye

AMAÇ: Melatonin güçlü serbest radikal süpürücü ve geniş spektrumlu bir antioksidandır. Tip II diyabette melatonin seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmanın amacı deneysel diyabette melatoninin böbrek dokusu üzerine etkilerini incelemektir.

MATERYAL-METOD: Çalışmamızda 35 adet erkek sıçan 5 gruba ayrıldı: Kontrol grubu (n=7): 12 hafta süreyle serum fizyolojik verilen, Diyabet grubu (n: 7): tek doz streptozotosin (STZ, 60 mg/kg, intraperitoneal (ip)) uygulanarak diyabet oluşturulan ve 12 hafta süresince her gün taşıyıcı (melatonin çözücüsü) uygulanan, Diyabet + İnsülin grubu (n=7): STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlara 12 hafta süresince her gün insülin (6 U/kg subkutan (sc)) uygulanan, Diyabet+ Melatonin grubu (n=7): STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlara 12 hafta süresince melatonin (10 mg/kg/gün, ip) uygulanan, Diyabet+ İnsülin + Melatonin grubu (n=7): STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlara 12 hafta süresince insülin ve melatonin (aynı dozlarda) uygulanan gruplardır. Deney sonunda dekapite edilen hayvanlardan alınan böbrek doku örnekleri histolojik ve biyokimyasal olarak incelendi. Böbrek dokularında genel morfolojiyi göstermek amacıyla Hematoksilen-Eozin (H-E) boyası ve glomerül ve tübül bazal membran yapısını incelemek amacıyla Periyodik Asit Schiff (PAS) boyası uygulandı. Oksidan -antioksidan sistemin incelenmesi için malondialdehid (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyleri tayin edildi.

BULGULAR: Diyabet grubunda glomerül ve tübül bazal membranında kalınlaşma, interstisyel alanda ödem ve konjesyon, tübüllerde genişleme, tübül hücrelerinde hipertrofi ve dökülme izlenmiştir. Diyabet+İnsülin grubunda glomerül ve tübül bazal membranlarında kalınlaşmanın gerilediği, tübül hücrelerin hipertrofik yapısında ve dökülmesinde gerileme saptanmıştır. Diyabet+Melatonin grubunda ise yer yer glomerül ve tübül bazal membranlarında devam eden kalınlaşma ve tübüllerde hafif genişlemeyle birlikte tübül hücre hasarında gerileme izlenmiştir. Diyabet+İnsülin +Melatonin grubunda, glomerül ve tübül bazal membranlarında kalınlaşmanın gerilediği, yer yer konjestif alanlar gözlenmekle birlikte tübül hücre hipertrofisi ve dökülmesinde azalma saptanmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabet grubuna ait MDA seviyesinde anlamlı bir artış ve GSH seviyesinde anlamlı bir azalma izlendi. İnsülin, melatonin ve insülin+melatonin tedavisinin diyabet grubu ile karşılaştırıldığında MDA seviyesini anlamlı derecede düşürdüğü ve GSH seviyesini anlamlı derecede arttırdığı saptandı.

SONUÇ: Bu çalışmada melatonin tedavisinin diyabetin yol açtığı böbrek hasarı üzerine koruyucu etkisi olabileceği gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, İnsülin, Melatonin, Böbrek

Investigation of the Effect of Melatonin Treatment on Kidney in Experimental Diabetes

Esin Ak¹, Burcin Alev², Hazal Ipekci², Sehkar Oktay², Unsal Veli Ustundag², Sule Cetinel³, Ebru Alturfan², Göksel Sener⁴, Aysen Yarat², Tugba Tunalı Akbay²

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Dentistry, Marmara University, Istanbul, Turkey,

²Department of Biochemistry, Faculty of Dentistry, Marmara University, Istanbul, Turkey,

³Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Marmara University, Istanbul, Turkey

⁴Department of Pharmacology, Marmara University, Faculty of Pharmacy, Istanbul, Turkey

AIM: Melatonin is a strong free radical scavenger and a broad spectrum antioxidant. It is shown that melatonin level decreases in Type II diabetes. The aim of this study is to examine the effect of melatonin on kidney in experimental diabetes.

MATERIAL-METHODS: Thirty five male rats were allocated to 5 groups; Control group (n=7):

serum physiologic was applied for 12 weeks, Diabetic group (n:7): after induction of diabetes by injecting single dose streptozotocin (STZ, 60mg/kg, intraperitoneally (ip)) and a vector (melatonin solvent) was applied for 12 weeks, Diabetic + Insulin group (n=7): after inducing diabetes by STZ, insulin (6 U/kg, subcutaneous (sc) was applied for 12 weeks, Diabetic+ Melatonin group (n=7): after inducing diabetes by STZ, melatonin (10 mg/kg/day, ip) was applied for 12 weeks, Diabetic+ Insulin + Melatonin group (n=7): after inducing diabetes by STZ, insulin and melatonin (same doses) were applied for 12 weeks. After animals were decapitated, renal tissues were examined by histological and biochemical analysis. For histological analysis, Hematoxylin - Eosin (H-E) staining was used for the general morphology and Periodic Acid Schiff (PAS) staining for glomerular and tubular basement membrane. Malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels were studied for the evaluation of oxidant-antioxidant system.

RESULTS: In Diabetic group, we observed thickening of basement membrane of the glomeruli and tubules, edema and congestion in the interstitial area. Dilation in tubules, desquamation and hypertrophy in tubular cells were detected. In Diabetic+Insulin group, reduction in thickening of basement membrane of the glomeruli and tubules, regression in tubular cell desquamation and hypertrophy were observed. In Diabetic+Melatonin group, we observed a partial reduction in thickening of basement membrane of the glomeruli and tubules besides a slight dilation. A regression in degeneration and desquamation in tubular cells was also detected. In Diabetic+Insulin + Melatonin group, in addition to rare congestive areas, reduction in thickening of basement membrane of both glomeruli and tubules was observed. A regression in tubular desquamation and hypertrophy was prominent. Biochemical analysis showed that MDA levels significantly increased and GSH levels significantly decreased in diabetic group when compared to control group. Insulin, melatonin and insulin+melatonin treatments significantly decreased MDA levels and increased GSH levels in diabetic group.

CONCLUSION: Our study revealed that melatonin treatment may have a protective effect against the kidney injury caused by diabetes.

Keywords: Diabetes, Insulin, Melatonin, Kidney

P021

Levetirasetam'ın Neonatal Sıçanlarda Serebral Hipoksi-İskemi Nedenli Periferik Sinir Hasarı Üzerindeki Koruyucu Etkilerinin Elektron Mikroskopik Olarak İncelenmesi

Tuba Özcan Metin¹, Ebru Ballı¹, Belgin Büyükkılıç², Serkan Gürgül³, Mustafa Kömür⁴, Çetin Okuyaz⁴

¹Mersin Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Mersin

²Mersin Üniversitesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Mersin

³Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Tokat

⁴Mersin Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Mersin

AMAÇ: Neonatal dönemde oluşan hipoksi-iskeminin akut ve kronik süreçte başta beyin olmak üzere birçok dokuda kalıcı hasarların oluşmasına neden olduğu bilinmektedir(1, 2). Levetirasetam (LEV) ise birçok ülkede 1 aylıktan itibaren epilepsili çocuklarda güvenle kullanılan yeni kuşak antiepileptik bir ilaçtır (3). Ancak, yetişkinlerde periferik sinir üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Çalışmamızda, doğumdan sonraki 7. günde hipoksi-iskemiye maruz bırakılan yetişkin dönemdeki (16 haftalık) sıçanların periferik siniri üzerine LEV'in iyileştirici etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmaya 40 adet 7 günlük Wistar-Albino cinsi erkek sıçan alınarak; Sham (SH), Hipoksi-İskemi (HI), LEV100 ve LEV200 olmak üzere dört gruba ayrıldı. HI, LEV100 ve LEV200 gruplarındaki sıçanlarda deneysel HI modeli oluşturuldu. HI grubuna ait sıçanlara sadece serum fizyolojik verilirken, LEV100 ve LEV200'dekilere sırasıyla 100 mg/kg ve 200 mg/kg levetirasetam intraperitoneal enjeksiyonla uygulandı. SH grubundaki sıçanların ise karotid arterleri bulundu, fakat bağlanmadı. Elektron mikroskopik inceleme için alınan siyatik sinir örneklerine rutin elektron mikroskopik doku takip yöntemi uygulandı. İnce kesitler transmisyon elektron mikroskop ile incelendi. Sinir liflerinde miyelin hasarını değerlendirmek için daha önceden tanımlanan skorlama sistemine göre miyelinli akson skorlaması yapıldı (4). Her bir gruptan toplam 500 miyelinli akson değerlendirildi.

BULGULAR: Sham grubuna ait siyatik sinirler ince yapı düzeyinde incelendiğinde; Schwann hücrelerinin, miyelinli sinir liflerinin miyelin kılıflarının ve aksoplazmalarının normal yapıda olduğu izlendi (Şekil 1A). HI grubuna ait miyelinli sinir liflerinin miyelin kılıflarında ve aksoplazmalarında belirgin derecede dejeneratif değişiklikler gözlemlendi (Şekil 1B). Miyelin kılıflarında ayrılma, kesinti ve miyelin ovoid oluşumları izlendi. LEV100 ve LEV200 grubuna ait miyelinli sinir liflerinin miyelin kılıflarında ve aksoplazmalarında SH grubuna benzer morfolojik özellikler gözlemlendi. Bununla birlikte, HI grubunda gözlenen benzer dejeneratif değişiklikler de izlendi (Şekil 1C ve 1D). Bu dejeneratif değişikliklerin HI grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi (Şekil 2, Tablo 1).

SONUÇ: Neonatal HI'nin miyelinli aksonlarda dejeneratif değişikliklere neden olduğu ve levetirasetam tedavisinin demiyelinizasyon ve aksonal nöropati üzerinde koruyucu bir rol oynayabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Hipoksi-İskemi, Levetirasetam, Neonatal Sıçan, Periferik Sinir Hasarı

Ultrastructural Examination of the Protective Effects of Levetiracetam in Neonatal Rats with Cerebral Hypoxia-Ischemia Induced Peripheral Nerve Injury

Tuba Özcan Metin¹, Ebru Ballı¹, Belgin Büyükkılıç², Serkan Gürgül³, Mustafa Kömür⁴, Çetin Okuyaz⁴

¹Department of Histology and Embryology, Mersin University, Mersin, Turkey

²Department of Biophysics, Mersin University, Mersin, Turkey

³Department of Biophysics, Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey

⁴Department of Child Health and Diseases, Mersin University, Mersin, Turkey

PURPOSE: In acute and chronic processes, hypoxia-ischemia occurring in the neonatal period is known to cause permanent damage in many tissues particularly brain (1, 2). Levetiracetam (LEV), the new generation antiepileptic drug is used in epileptic children beginning from the first month safely in many countries (3). However, its effects on peripheral nerves in adults is not known

exactly. In the current study, our aim was to examine whether the therapeutic effect of LEV on peripheral nerves of rats in adulthood (16 weeks) which were exposed to hypoxia ischemia on the postnatal 7th days.

MATERIAL-METHODS: In this study 40 7-days old male Wistar-Albino rats were used and divided into four groups as follows; Sham (SH), Hypoxia-Ischemia (HI), LEV100 and LEV200. Experimental HI model was generated in rats of HI, LEV100 and LEV200 groups. Rats of group HI only normal saline was given, LEV100 and LEV200 were administered 100mg/kg and 200 mg/kg of levetiracetam by intraperitoneal injection, respectively. The carotid arteries of rats in SH were located, but not were ligated. Electron microscopic examination of the sciatic nerve samples was performed by routine electron microscopy processing. Ultra thin sections were examined by transmission electron microscopy. For the evaluation of damage in myelinated nerve fibers, a previously described grading system was used for the scoring of myelinated axons (4). 500 myelinated axons from each group were evaluated.

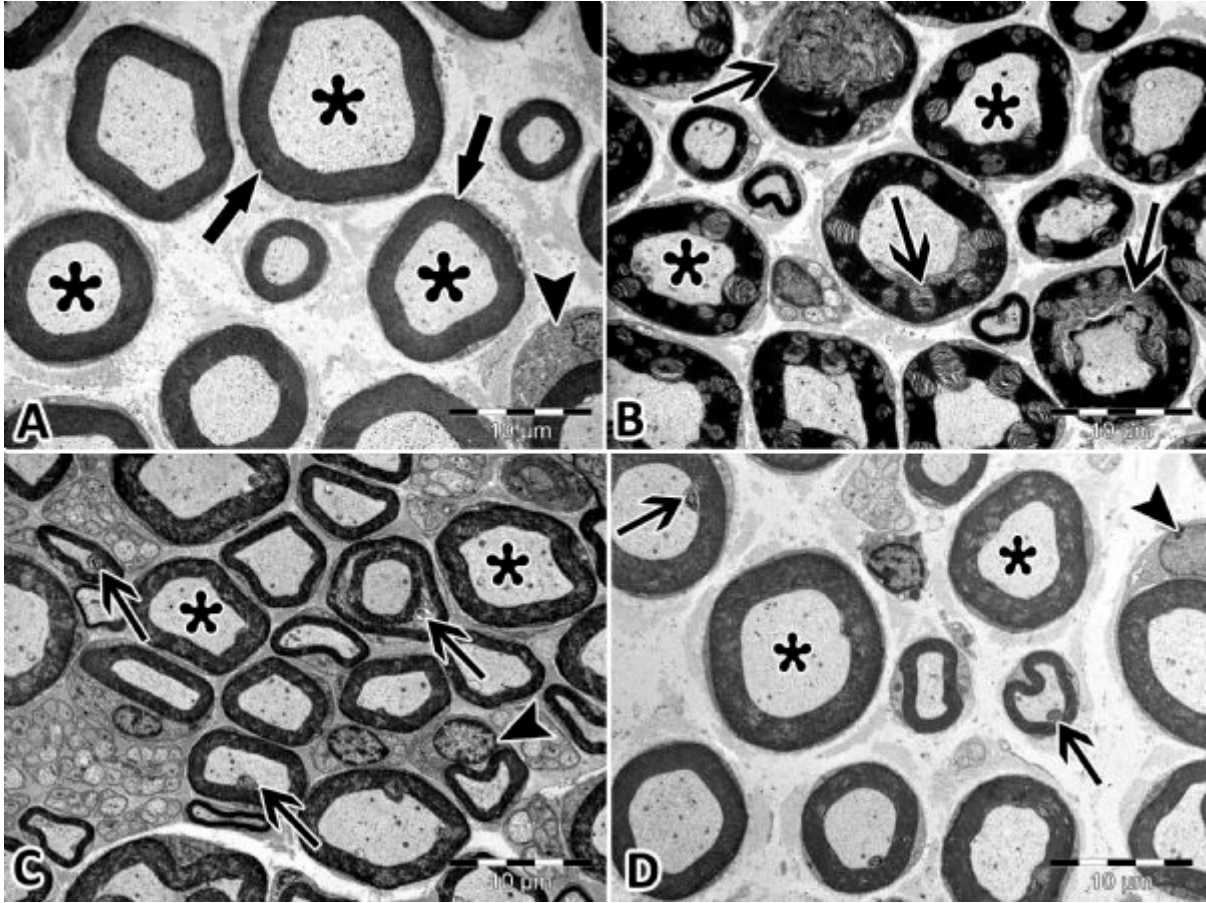
RESULTS: Sciatic nerves of SH group was examined ultrastructurally; Schwann cells, the myelin sheaths of the myelinated nerve fibers and axoplasm were found to be normal in structure (Figure 1A). In the myelin sheath of nerve fibers and axoplasms of HI group significant degenerative changes were observed (Figure 1B). Separation of the myelin sheath, interrupted myelin and ovoid formations were observed. The myelin sheath of myelinated nerve fibers and the axoplasms of LEV100 and LEV200 groups were demonstrated normal morphologic features similar to the SH group. However, these groups have a few similar degenerative changes that were observed in the HI group (Figure 1 C and 1D). Compared with HI group, these degenerative changes were found to be reduced significantly statistically (Figure 2, Table 1).

CONCLUSION: It is concluded that neonatal HI may cause degenerative changes in the myelinated axons and levetiracetam therapy may play a protective role on demyelination and axonal neuropathy

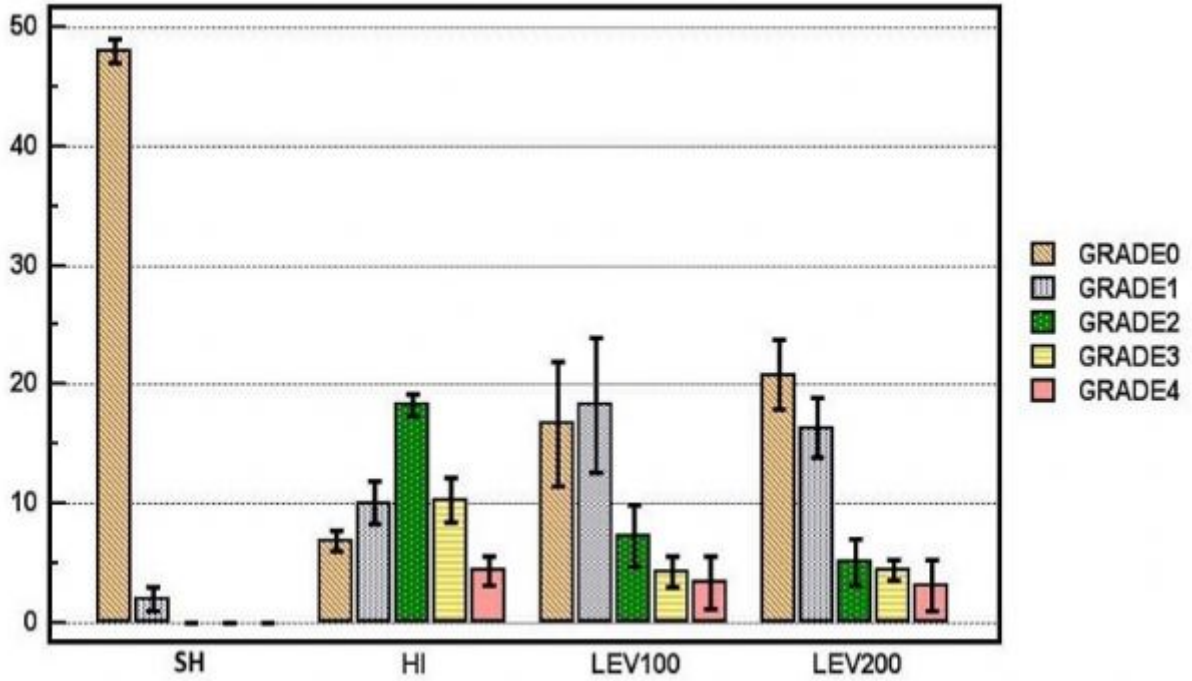
Keywords: Hypoxia-Ischemia, Levetiracetam, Neonatal rat, Peripheral Nerve Injury

Şekil 1: (A) SH grubu. Schwann hücresi (ok başı), miyelinli sinir liflerinin miyelin kılıfları (ok) ve aksoplazmaları (asterisk), (B) HI, (C) LEV100 ve (D) LEV200 grupları; dejenere miyelin kılıfları (ince ok) ve aksoplazmaları (asterisk) (X3,000).

Figure 1: (A) SH group. Schwann cell (arrowhead), myelin sheaths (arrows), axoplasms (asterisks) of myelinated nerve fibers, (B) HI, (C) LEV100 and (D) LEV200 groups; axoplasms (asterisks) and the degenerated with myelin sheaths (thin arrows) (X3,000).



Şekil 2: Grupların miyelinli akson skorlaması
Figure 2: Myelinated axon scores of the groups



Tablo 1: (a) SH ile farkı anlamlı olanlar, (b) HI ile farkı anlamlı olanlar

SH (n=10) HI (n=10) LEV100 (n=10) LEV200 (n=10) P

	Ort+SD	Ort+SD	Ort+SD	Ort+SD	
Skor 0	48,00±1,49	(a) 6,90±1,19	(a,b) 16,70±7,25	(a,b) 20,80±4,10	<0,0001
Skor 1	2,00±1,49	(a) 10,10±2,60	(a,b) 18,30±7,95	(a,b) 16,40±3,43	<0,0001
Skor 2	0,00	(a) 18,30±1,33	(a,b) 7,30±3,65	(a,b) 5,10±2,76	<0,0001
Skor 3	0,00	(a) 10,30±2,58	(a,b) 4,30±1,76	(a,b) 4,40±1,17	<0,0001
Skor 4	0,00	(a) 4,40±1,71	(a) 3,40±3,09	(a) 3,20±2,97	0,001

Table 1: (a) which are significantly different with SH, (b) which are significantly different with HI

	SH (n=10) Mean+SD	HI (n=10) Mean+SD	LEV100 (n=10) Mean+SD	LEV200 (n=10) Mean+SD	P
Grade 0	48,00±1,49	(a) 6,90±1,19	(a,b) 16,70±7,25	(a,b) 20,80±4,10	<0,0001
Grade 1	2,00±1,49	(a) 10,10±2,60	(a,b) 18,30±7,95	(a,b) 16,40±3,43	<0,0001
Grade 2	0,00	(a) 18,30±1,33	(a,b) 7,30±3,65	(a,b) 5,10±2,76	<0,0001
Grade 3	0,00	(a) 10,30±2,58	(a,b) 4,30±1,76	(a,b) 4,40±1,17	<0,0001
Grade 4	0,00	(a) 4,40±1,71	(a) 3,40±3,09	(a) 3,20±2,97	0,001

Kaynakça / References: 1. Hill A. Hypoxic-İschemic Cerebral Injury in the Newborn. In: Swaiman KF, Ashwal S, Ferriero DM (eds). Pediatric Neurology. 4th ed. Philadelphia: Elsevier 2006, 279-297. 2. Mwaniki MK, Atieno M, Lawn JE, Newton CR. Long-term neurodevelopmental outcomes after intrauterine and neonatal insults: a systematic review. Lancet 2012, 379, 445-52. 3. Ramantani G, Ikonomidou C, Walter B, Rating D, Dinger J. Levetiracetam: safety and efficacy in neonatal seizures. Eur J Paediatr Neurol. 2011, 15, 1-7 4. Kaptanoglu E, Palaoglu S, Surucu HS, Hayran M, Beskonakli E: Ultrastructural scoring of graded acute spinal cord injury in the rat. J Neurosurg. 2002, 97, 49-56

P022

Adolesan dönemde uzun süreli, kesintisiz uygulanan 900 megahertz elektromanyetik alanın 60 günlük Sprague Dawley erkek sıçanların hipokampus morfoloji ve biyokimyası üzerine zararlı etkileri

Gökçen Kerimoğlu¹, Orhan Baş², Ali Aslan³, Hatice Hancı¹, Hüseyin Serkan Erol⁴, Alpgiray Turgut⁴, Haydar Kaya⁵, Ersan Odacı¹

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon

²Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Ana Bilim Dalı, Ordu

³Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Ordu

⁴Atatürk Üniversitesi Veteriner Hekimliği Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Erzurum

⁵Karadeniz Teknik Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Bölümü, Trabzon

Limbik sistemin yön bulma, hafızaya alma ve tutma gibi farklı fonksiyonları için en önemli parçası hipokampusdur (1, 2).Merkezi sinir sisteminin intrauterin dönemde başlayan gelişimi erişkin döneme kadar sürmektedir. Bundan dolayı adolesan dönem boyunca maruz kalınan kimyasal maddeler, ilaçlar, elektromanyetik alan (EMA) gibi faktörler; beyincik, omurilik gibi merkezi sinir sistemine ait yapıların morfolojik gelişimlerini bozabilir (3,4,5). Adolesan dönem boyunca aşırı miktarda EMA etkisine maruz kalma, erişkin döneme göre hem hipokampus morfolojisinde hem de onun ana fonksiyonlarında daha fazla zarara neden olabilir. Cep telefonu gibi EMA etkisi oluşturan cihazları erişkinlere göre daha fazla kullanmaları nedeniyle, çocuklar ve adolesanlar yetişkinlerden daha fazla EMA etkisine maruz kalmaktadırlar ve adolesan dönem boyunca maruz kalınan EMA'nın etkileri ile ilgili yeterli bilgi hala mevcut değildir. Bu nedenle çalışma tüm adolesan dönemleri boyunca 900 megahertz (MHz) EMA etkisine maruz kalmayı takiben 60 günlük olan erkek sıçanların hipokampusunun histopatolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak araştırılması amacıyla düzenlenmiştir. Çalışmaya 18 adet 21 günlük Sprague Dawley cinsi erkek sıçan ile başlandı ve sıçanlar kontrol, sham ve EMA grubu olmak üzere eşit sayıda 3 gruba bölündü. Kontrol grubu sıçanlara herhangi bir işlem yapılmadı. EMA grubu (EG) sıçanlar, tüm adolesan dönemleri boyunca hergün aynı saatte 1 saat süreyle EMA etkisine maruz bırakıldılar. Sham grubu (SG) sıçanlar ise EMA etkisine maruz bırakılmaksızın, tüm adolesan dönemleri boyunca her gün günde 1 saat süreyle EMA kafesi içinde tutuldular. Tüm gruplara ait sıçanların postnatal 60. günlerinde beyinleri çıkarıldı ve ikiye bölündü. Sol hemisferler biyokimyasal analizler için sağ hemisferler ise histopatolojik değerlendirmeler için kullanıldı. Histopatolojik olarak Krezil viyoletille boyanmış EG kesitlerinde siyah veya koyu mavi sitoplazmalı piknotik nöronlarda artış olduğu görüldü. Biyokimyasal analizlerde ise, EG'un malondialdehid ve glutatyon seviyelerinin arttığı, ancak katalaz seviyelerinin düştüğü belirlendi. Sonuçlar tüm adolesan dönemleri boyunca 900 MHz EMA etkisine maruz kalan erkek sıçanların hipokampuslarında oksidatif strese bağlı morfolojik hasar ve piramidal nöron kaybı olabileceğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: hipokampus, elektromanyetik alan, cep telefonu, erkek sıçan

Pernicious effects of long-term, continuous 900-megahertz electromagnetic field throughout adolescence on the hippocampus morphology and biochemistry of 60-day-old Sprague Dawley male rats

Gökçen Kerimoğlu¹, Orhan Baş², Ali Aslan³, Hatice Hancı¹, Hüseyin Serkan Erol⁴, Alpgiray Turgut⁴, Haydar Kaya⁵, Ersan Odacı¹

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey

²Department of Anatomy, Ordu University, Faculty of Medicine, Ordu, Turkey

³Department of Physiology, Ordu University, Faculty of Medicine, Ordu, Turkey

⁴Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Atatürk University, Erzurum

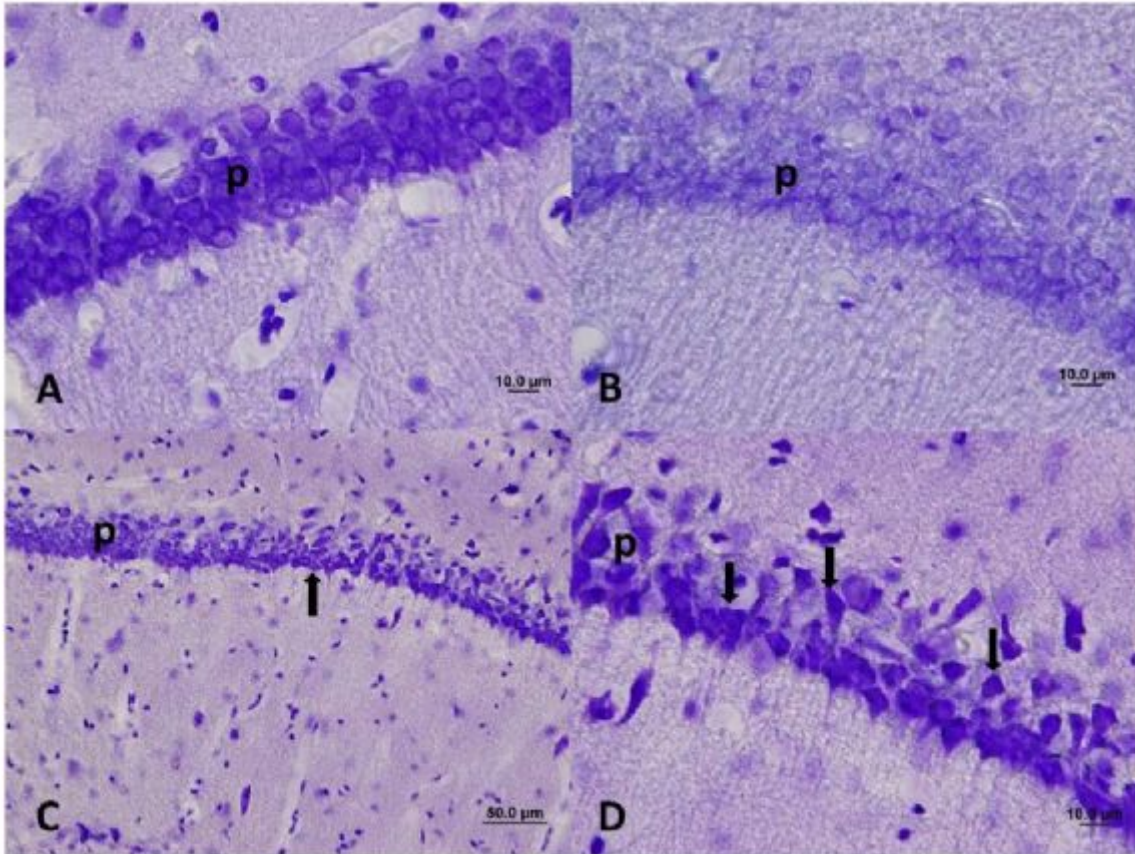
⁵Department of Electrical and Electronic Engineering, Faculty of Engineering, Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey

The hippocampus is a vital part of the limbic system and essential to such different functions as memory acquisition and consolidation and spatial navigation (1,2) Development of the central

nervous system begins in the intrauterine period and continues until adulthood. Exposure to chemical substances, drugs or any environmental factors such as electromagnetic field (EMF) during adolescence can therefore disrupt development of the morphological structures of the organs of the central nervous system (such as the cerebellum or spinal cord) (3,4,5). EMF can cause more damage to both the morphology of the hippocampus and its main functions during adolescence. Unfortunately, children and adolescents are more exposed to EMF than adults, and sufficient information regarding the effects of exposure to EMF during the adolescent period is still unavailable. This study was performed to investigate the 60-day-old male rat hippocampus following exposure to 900 megahertz (MHz) EMF throughout the adolescent period using histopathological and biochemical analysis methods. Eighteen male Sprague Dawley rats aged 21 days were used. Rats were randomly divided into control, sham and EMF groups. No procedure was performed on the control group (CG) rats. The EMF group (EG) was exposed to 900 MHz EMF for 1 hour each day during the adolescent period. The sham group (SG) rats were held in the EMF box without EMF exposure. All rats were sacrificed at 60 days of age. Brains were extracted and halved. The left hemispheres were used for biochemical analyses and the right hemispheres for histopathological evaluation. Histopathologically, increased numbers of pyknotic neurons with black or dark blue cytoplasm were determined on EG slides stained with cresyl violet. Biochemical analyses revealed increased malondialdehyde and glutathione levels, but decreased catalase levels in EG. Our results show that morphological damage and pyramidal neuron loss may occur in the hippocampus due to oxidative stress when rats are exposed to 900 MHz EMF throughout the adolescent period.

Keywords: hippocampus, electromagnetic field, cell phone, male rat

Şekil 1
Figure 1:



Kontrol (A), sham (B) ve EMA (C,D) gruplarının hipokampus kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri. Kontrol ve sham gruplarına ait hipokampusta piramidal nöronlar normal görünümdeyken EMA grubunda farklı büyütmelerde siyah veya koyu mavi sitoplazmalı piknotik nöronlar kolaylıkla dikkati çekmekte (oklar). Krezil viyole boyası; EMA, Elektromanyetik alan; p, piramidal hücreler.

Light microscopic micrographs of hippocampus sections from the control (A) sham (B) and EMF

exposed (C, D) groups. While the morphology of pyramidal cells of hippocampus in the control and sham groups was normal, pyknotic neurons with black or dark blue cytoplasm can be easily seen in the EMF exposed groups at different magnifications (arrows). Cresyl violet staining; EMF, electromagnetic field; p, pyramidal cells.

Tablo 1: CG, SG and EG sıçanların sol beyin hemisferine ait biyokimyasal veriler

Biyokimyasal veriler	CG	SG	EG
MDA (nmol/mg doku)	16.35±1.16	17.86±0.50	19.42±1.12a
SOD (mmol/min/mg doku)	0.34±0.08	0.36±0.02	0.36±0.01
CAT (mmol/min/mg doku)	93.06±13.28	52.73±8.31b	24.81±5.42c
GSH (nmol/mg doku)	0.70±0.02	0.68±0.03	0.77±0.02d

Veriler mean±SDolarak verilmiştir. MDA, malondialdehid; GSH, glutatyon; CAT, katalaz; SOD, süperoksit dismutaz; CG, kontrol grup; SG, sham grup; EG, EMF grup a EG MDA seviyeleri CG'a göre artmıştı ($p=0.005$). b SG CAT seviyeleri CG'a göre azalmıştı ($p=0.004$). c EG CAT seviyeleri CG ve SG'a göre azalmıştı (sırasıyla $p=0.004$ ve $p=0.004$). d EG GSH seviyeleri CG ve SG'a göre artmıştı (sırasıyla $p=0.004$ ve $p=0.004$).

Table 1: Biochemical analysis results for left brain hemisphere tissues from CG, SG and EG rats

Biochemical parameters	CG	SG	EG
MDA (nmol/mg doku)	16.35±1.16	17.86±0.50	19.42±1.12a
SOD (mmol/min/mg tissue)	0.34±0.08	0.36±0.02	0.36±0.01
CAT (mmol/min/mg tissue)	93.06±13.28	52.73±8.31b	24.81±5.42c
GSH (nmol/mg tissue)	0.70±0.02	0.68±0.03	0.77±0.02d

The data represent mean±SEM. MDA, malondialdehyde; GSH, glutathione; CAT, catalase; SOD, superoxide dismutase; CG, control group; SG, sham group; EG, EMF group a EG MDA levels increased significantly compared to CG ($p=0.005$). b SG CAT levels decreased significantly compared to CG ($p=0.004$). c EG CAT levels decreased significantly compared to CG and SG ($p=0.004$ and $p=0.004$, respectively). d EG GSH levels increased significantly compared to CG and SG ($p=0.004$ and $p=0.004$, respectively).

Kaynakça / References: 1. Squire, L. R. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, vol. 82, no. 3, pp. 171–177, 2004. 2. Yau SY, Li A, So KF. Involvement of Adult Hippocampal Neurogenesis in Learning and Forgetting. *Neural Plast.* 2015;2015:717958. doi: 10.1155/2015/717958. 3. Bas O, Odacı E, Kaplan S, Acer N, Uçok K, Colakoglu S. 2009a. 900 MHz electromagnetic field exposure affects qualitative and quantitative features of hippocampal pyramidal cells in the adult female rat. *Brain Research* 1265: 178–185. 4. Baş O, Sönmez OF, Aslan A, İkinci A, Hancı H, Yıldırım M, Kaya H, Akça M, Odacı E. 2013. Pyramidal cell loss in the cornu ammonis of 32-day-old female rats following exposure to a 900 megahertz electromagnetic field during prenatal days 13-21. *NeuroQuantology* 11:591–599. 5. Odacı E, İkinci A, Yıldırım M, Kaya H, Akça M, Hancı H, Sönmez OF, Aslan A, Okuyan M, Baş O. 2013. The effects of 900 megahertz electromagnetic field applied in the prenatal period on spinal cord morphology and motor behavior in female rat pups. *Neuroquantology* 11:573-581.

P023

Nesfatin-1 Nöronlarında Glukokortikoid Reseptör Ekspresyonunun İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması

Gulcin Ekizceli¹, Zehra Minbay², Özhan Eyigör²

¹Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

²Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

GİRİŞ: Merkezi sinir sisteminde stres yanıtının düzenlenmesinde birçok nöropeptit etkin rol oynamaktadır. Stres hormonu olarak da bilinen glukokortikoidler, reseptörleri üzerinden (GR) etkilerini gösterirler. Çalışmamızda, besin alımını baskılayan nesfatin-1 nöronlarının stres sinyal moleküllerini bağlayacak reseptörleri sentezleyip sentezlemediğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, periventriküler, paraventriküler ve arkuat çekirdekler başta olmak üzere hipotalamik alanlardaki nöronlarda nesfatin-1 ve GR ko-lokalizasyonu ikili immünohistokimya yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmada genç erişkin Sprague Dawley tipi erkek (n=5) ve dişi (n=5) sıçanlar kullanılmıştır. Perfüzyon fiksasyonun ardından beyin örneklerinden vibratomla alınan 40 mikrometre kalınlığındaki kesitlerde ikili yüzen kesit immünohistokimyası yöntemi ile nesfatin-1 ve GR işaretlemeleri yapılmıştır. Periventriküler, paraventriküler ve arkuat çekirdeklerdeki immünopozitif hücrelerin lokalize edilmesini takiben, bu alanlarda nesfatin-1 içeren nöronlar sayılmış ve bu nöronlardan GR eksprese eden hücrelerin sayıları belirlenmiştir. Dişi ve erkek deneklerde GR pozitif olan nesfatin-1 nöronlarının tüm nesfatin-1 nöronlarına oranı her hipotalamik bölge için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

BULGULAR: Periventriküler ve paraventriküler alanlardaki nesfatin-1 nöronlarının dişi deney hayvanlarında % 33.22'si, erkek deney hayvanlarında ise %36.34'ü GR pozitif immüno-reaktivite göstermiştir. Arkuat nukleusta işaretlenen nöronlar değerlendirildiğinde dişi deney hayvanlarında nesfatin-1 nöronlarının %26.9'unun, erkek deney hayvanlarında ise % 21.14'ünün GR-pozitif immüno-reaktivite gösterdiği ortaya çıkmıştır. Nesfatin-1 nöronlarının lokalize olduğu diğer bölgelerden supraoptik çekirdek ve lateral hipotalamik alanlarda ikili işaretlenme belirlenmemiştir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda erkek ve dişi deney hayvanları arasında GR eksprese eden nesfatin-1 nöron sayıları bakımından anlamlı farklılık görülmemiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ: Çalışmada belirtilen hipotalamik alanlarda nesfatin-1 nöronlarının yaklaşık üçte birinin stres moleküllerini bağlayan reseptörlerden biri olan GR içerdiği ve böylece stres durumunda periferik glukokortikoid sinyalleri ile uyarılabileceği anlaşılmıştır. Stres adaptasyonunda cinsiyete bağlı farklılıkların olduğu bilinmekle birlikte GR eksprese eden nesfatin-1 nöronları açısından böyle bir durumun söz konusu olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak stresin, nesfatin-1 nöronları üzerinden GR reseptörleri aracılığıyla besin alımını belli bir oranda baskılayabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Nesfatin-1, Glukokortikoid reseptörü, Stres, Besin alımı

Immunohistochemical Assessment of Glucocorticoid Receptor Expression in Nesfatin-1 Neurons

Gulcin Ekizceli¹, Zehra Minbay², Özhan Eyigör²

¹Uludag University, Institute of Health Science, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey.

²Uludag University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey.

INTRODUCTION: Various neuropeptides act efficiently in regulation of the stress response in central nervous system. Glucocorticoids are known as stress hormones and show their effects through their receptors (GR). In our study, we aimed to investigate the possibility of stress signal molecule-binding receptor synthesis in nesfatin-1 neurons which inhibit the food intake. For this aim, nesfatin-1 and GR co-localization was investigated in the hypothalamic area neurons mainly including periventricular, paraventricular and arcuate nuclei by using dual immunohistochemical technique.

MATERIALS-METHODS: In this study, young adult male (n=5) and female (n=5) Sprague-Dawley rats were used. After perfusion fixation, nesfatin-1 and GR were stained with dual-immunohistochemistry on free-floating, 40-micrometer-thick coronal vibratome sections. The

immuno-positive cells were localized in periventricular, paraventricular and arcuate nuclei and the number of nesfatin-1-positive cells as well as the number of GR-expressing nesfatin-1 neurons were determined in these areas. The ratio of GR-positive nesfatin-1 neurons to all nesfatin-1 neurons were calculated separately for each hypothalamic area.

RESULTS: GR immunoreactivity was determined in nesfatin-1 neurons mainly localized in periventricular, paraventricular and arcuate nuclei of hypothalamus. In the periventricular and paraventricular nuclei, the percentage of nesfatin-1 neurons expressing GR protein was 33.22% in female rats and 36.34% in male rats. In the arcuate nucleus of hypothalamus the percentage of nesfatin-1 neurons expressing GR protein was 26.9% in female rats and 21.14% in male rats. GR immunoreactivity was not detected in nesfatin-1 neurons of the supraoptic nucleus and lateral hypothalamic area where other nesfatin-1 neurons are localized. As a result of statistical evaluation, there was no significant differences between female and male groups for the number of GR-positive nesfatin-1 neurons.

DISCUSSION AND CONCLUSION: In this study, the analyses of the aforementioned hypothalamic areas revealed that nearly one-third of nesfatin-1 neurons possess glucocorticoid receptors, as one of the binding receptors for stress molecules and that these neurons can be stimulated by peripheral glucocorticoid signals. Although it is known that there are sexually dimorphic differences in the adaptation to stress, no such differences were applicable for the number of GR-positive nesfatin-1 neurons. In conclusion it is suggested that stress can repress food intake, in part, through the GR receptors expressed in nesfatin-1 neurons.

Keywords: Nesfatin-1, Glucocorticoid receptor, Stress, Food intake

Kaynakça / References: KAYNAKLAR Oh I., Shimizu H., Satoh T., Okada S., Adachi S., Inoue K., Eguchi H., Yamamoto M., Imaki T., Hashimoto K., Tsuchiya T., Monden T., Horiguchi K., Yamada M., Mori M. 2006. "Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus", *Nature*, 443, 709-12. Stengel A., Tache Y. 2010. "Nesfatin-1-Role as possible new potent regulator of food intake", *Regul Pept*, 163, 18-23. Calvez J, Fromentin G, Nadkarni N, Darcel N, Even P, Tome D, Ballet N, Chaumontet C. 2011. "Inhibition of food intake induced by acute stress in rats is due to satiation effects", *Physiol Behav*, 104, 675-683. Goebel M, Stengel A, Wang LX, Tache Y. 2009b. "Restraint stress activates nesfatin-1-immunoreactive brain nuclei in rats", *Brain Res*, 1300, 114-24. Goebel M., Stengel A., Wang L. X., Lambrecht N. W. G., Tache Y. 2009a. "Nesfatin-1 immunoreactivity in rat brain and spinal cord autonomic nuclei", *Neurosci Lett*, 452, 241-6. Morimoto M, Morita N, Ozawa H, Yokoyama K, Kawata M. 1996. "Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: an immunohistochemical and in situ hybridization study", *Neurosci Res*, Nov;26(3):235-69. Oitzl MS, Champagne DL, van der Veen R, de Kloet ER. 2010. "Brain development under stress: hypotheses of glucocorticoid actions revisited", *Neurosci Biobehav Rev*, 34:853-66.

P024

Non-Pregangliyonik Edinger-Westphal Çekirdeğinin Besin Alımı Üzerine Etkisinde Glutamatın Düzenleyici Rolü

Kıymet Zülal Uygul¹, Duygu Gök Yurtseven¹, Zehra Minbay², Özhan Eyigör²

¹Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Bursa.

²Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Bursa.

GİRİŞ: Supraokülomotor alanda bulunan Edinger-Westphal çekirdeği (EW) fonksiyonel ve anatomik olarak 2 farklı bölgeye ayrılır. Bu nöron grubunun ilk parçası pregangliyonik nöronlar içerir ve lens uyumu, koroidal kan akımı ve siliyer kasların kontrolü gibi oküler fonksiyonların sağlanmasında rol alan kolinerjik hücrelerden oluşur. Non-pregangliyonik (npEW) ikinci nöron grubu merkezi uzantılar içerir ve beslenme davranışı ile strese yanıtın düzenlenmesinde yer alır. Beslenme ve enerji metabolizmasında rol oynadığı bilinen nesfatin-1 peptidinin npEW'de yerleşik nöronlarda eksprese edildiği bilinmektedir. Merkezi sinir sisteminin en önemli eksitator aminoasit nörotransmitterleri olan glutamatın EW nöronlarını inerve ettiği ve bu nöronlarda glutamat reseptör ekspresyonunun var olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda; glutamaterjik sistemin, EW'de besin alımını düzenleyen nesfatin-1 nöronları üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak non-NMDA glutamat agonistlerinin (kainik asit ve AMPA), npEW'de lokalize nesfatin-1 nöronları üzerindeki aktive edici etkileri ikili immünohistokimyasal yöntem kullanılarak belirlenmiştir.

GEREÇ-YÖNTEM: Glutamat agonistleri için kainik asit (2.5 mg/kg) ve AMPA (5 mg/kg), kontrol grupları için salin kullanılarak dişi sıçanları içeren deney grupları oluşturulmuştur. Enjeksiyondan (i.p) 90 dk. sonra perfüzyonla fikse edilen dokulardan alınan yüzen kesitlerde, c-Fos (nöronal aktivasyon belirteci) ve nesfatin-1 antikoru ile ikili immünohistokimyasal boyamalar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen preparatlarda ikili işaretlenen nöronların tüm nesfatin-1 nöronlarına oranı belirlenerek kontrol ve deney grupları arasında istatistiki karşılaştırma yapılmıştır.

BULGULAR: Dişi deneklerde, kainik asit enjeksiyonu sonrası non-pregangliyonik Edinger-Westphal çekirdeğinde yerleşik nesfatin-1 nöronlarının yaklaşık %18'i c-Fos'u eksprese ederken bu oran AMPA enjeksiyonu sonrası %63 olarak belirlenmiştir. Aktive nöron sayıları kontrol deneklerle karşılaştırıldığında her iki agonistin de nöronal aktivasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olduğu görülmüştür. Glutamat agonistleri kainik asit ve AMPA'nın etkileri birbirleriyle karşılaştırıldığında AMPA etkisiyle daha çok sayıda nesfatin-1 nöronunun aktive olduğu anlaşılmıştır. EW'de yer alan nesfatin-1 nöronlarında, literatüre uyumlu olarak, hipotalamik nöronlara göre daha yüksek oranda bir bazal c-Fos ekspresyonu (kontrol gruplarında) gözlenmiştir.

Tartışma ve SONUÇ: Çalışmamızda, non-pregangliyonik Edinger-Westphal çekirdeğinde lokalize olan nesfatin-1 nöronlarının önemli bir bölümünün glutamat agonistleri etkisiyle aktive oldukları anlaşılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, Edinger-Westphal çekirdeğinin beslenme davranışının düzenlenmesindeki baskılayıcı etkisinin, bu alanda yerleşik nesfatin-1 nöronları üzerinden glutamaterjik sistem tarafından kontrol edildiğini düşündürmektedir. (TÜBİTAK 113S377 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.)

Anahtar Kelimeler: Edinger-Westphal çekirdeği, Nesfatin-1, Glutamat, Kainik asit, AMPA, c-Fos.

The Regulatory Role of Glutamate on the Food Intake Effects of the Non-Preganglionic Edinger-Westphal Nucleus

Kıymet Zülal Uygul¹, Duygu Gök Yurtseven¹, Zehra Minbay², Özhan Eyigör²

¹Uludag University, Institute of Health Science, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey.

²Uludag University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey.

INTRODUCTION: Edinger-Westphal nucleus is localized in the supraoculomotor area and divided into two distinct parts. The first part of this neuronal population include preganglionic neurons which is consist of cholinergic cells controlling the ocular functions. The second group of neurons are non-preganglionic (npEW) and send projections to the central brain structures and regulate the feeding behavior as well as the response to the stress. Nesfatin-1 is a peptide which is known to play an important role in the feeding and energy metabolism, is shown to be expressed in the neurons localized in npEW in addition to hypothalamus. It is reported that as the most important

excitatory amino acid neurotransmitter in the central nervous system, glutamate innervates the EW neurons and these neurons express glutamate receptors. In this study we aimed to assess the effect of the glutamatergic system on the nesfatin-1 neurons localized in EW and regulate food intake. For this aim we determined the activating effects of non-NMDA glutamate agonists (kainic acid and AMPA) on the nesfatin-1 neurons by using dual-immunohistochemical technique.

MATERIALS-METHODS: Experimental groups of female rats were prepared by kainic acid (2.5 mg/kg), AMPA (5 mg/kg) and saline (control) administration. Ninety minutes after the injections (i.p) the animals were sacrificed by perfusion fixation and dual-immunohistochemistry was performed on floating sections using c-Fos (as the activation marker) and nesfatin-1 antibodies. Slides were analyzed to determine the proportion of dual-labeled neurons to the all nesfatin-1 neurons and the results were statistically compared between control and experimental groups.

RESULTS: In female rats, while about %18 of nesfatin-1 neurons in the non-preganglionic Edinger-Westphal nucleus express c-Fos following kainic acid injection, this ratio was found to be about %63 after AMPA injection. When the effects of glutamate agonists kainic acid and AMPA were compared between each other, it is shown that more nesfatin-1 neurons were activated by AMPA. As in agreement with the literature, nesfatin-1 neurons in the EW seemed to have higher levels of basal c-Fos expression when compared to hypothalamic neurons.

Discussion and CONCLUSION: In this study we assessed that an important part of the nesfatin-1 neurons in the non-preganglionic Edinger-Westphal nucleus are activated by the glutamatergic agonists. These results suggested that the suppressing effect of the Edinger-Westphal nucleus on the regulation of feeding behavior is under control by the glutamatergic system through nesfatin-1 neurons.

(Supported by TUBITAK through a research grant to OE. Project No:113S377)

Keywords: Edinger-Westphal nucleus, Nesfatin-1, Glutamate, Kainic acid, AMPA, c-Fos.

Kaynakça / References: GOEBEL M., Stengel A., Wang L. X., Lambrecht N. W. G., Tache Y, Nesfatin-1 immunoreactivity in rat brain and spinal cord autonomic nuclei, *Neurosci Lett*, 452, 241-6, (2009) OH I., Shimizu H., Satoh T., Okada S., Adachi S., Inoue K., Eguchi H., Yamamoto M., Imaki T., Hashimoto K., Tsuchiya T., Monden T., Horiguchi K., Yamada M., Mori M., Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus, *Nature*, 443, 709-12, (2006). SHIMIZU H., Ohsaki A., Oh I., Okada S., Mori M., A new anorexigenic protein, nesfatin-1, *Peptides*, 30, 995-8, (2009). HOLLMANN M., Heinemann S., Cloned glutamate receptors, *Annu Rev Neurosci*, 17, 31-108, (1994) BRANN D. W., Glutamate: a major excitatory transmitter in neuroendocrine regulation, *Neuroendocrinology*, 61, 213-25, (1995). HOFFMAN G. E., Smith M. S., Verbalis J. G., c-Fos and related immediate early gene products as markers of activity in neuroendocrine systems, *Front Neuroendocrinol*, 14, 173-213, (1993).

P025

Koroid Pleksusda Aquaporin-1 (AQP1), Aquaporin-2 (AQP2) ve Aquaporin-4(AQP4) Ekspresyonları: Cinsiyet ve Siklus Bağımlı Farklılıklar

Berna Sözen, Sayra Dilmaç, Asiye Kübra Göksu, Necdet Demir, Gamze Tanrıöver
Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya, Türkiye

Aquaporinler (AQP) hücre membranında yer alan, plazma membranı içinden seçici geçirgen su ve iyon taşınmasında rol alan proteinlerdir. Su kanalları olarak bilinen Aquaporinler (AQP-1,2,4,5,8) özellikle su için geçirgendirler; aquagliseroporinler (AQP-3,7,9,10) ise por büyüklüğüne bağlı olarak, gliserol, karbondioksit, amonyak ve üre gibi bazı küçük polar olmayan iyonların membrandan geçişine izin verirler. AQP ailesinin her alt tipinin hücresel dağılımları ve ayrı düzenleyici mekanizmalara sahip oldukları beyin ve çeşitli dokularda gösterilmiştir. Önceki çalışmalara göre, cinsiyet-steroid hormonları özellikle AQP1 ve AQP4 ekspresyonunu etkileyerek iyon hareketi ve suyun regülasyonuna katkıda bulunarak bir çok yönden beyin fonksiyonlarını etkilemektedir. AQP'lerin merkezi sinir sistemindeki fonksiyonları tanımlandığından beri, beyin omurilik sıvısındaki fonksiyonları araştırma konusu haline gelmiş ve literatürde yeterince tanımlanamamıştır.

Bu çalışmanın amacı, immünohistokimya metodu kullanılarak yetişkin dişi ve erkek farelerin koroid pleksus hücrelerinde AQP1, AQP2 ve AQP4 proteinlerinin ekspresyonlarını araştırmaktır. Çalışmamızda, dişi fareler smeardeki hücre tiplerinin oranlarına göre sıkluslara ayrıldı. Bu sıkluslar; 4 kategoride; proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus olarak sınıflandırıldı. Daha sonra fareler sakrifiye edildi ve beyin dokuları çıkartılarak parafine gömüldü.

AQP-1'in ekspresyonu dişi ve erkek farelerin koroid pleksuslarında ependim hücrelerinin sitoplazmasında belirgindi. AQP-2, erkekte ve dişinin proöstrus, östrus ve metöstrus fazlarında proöstrusa nazaran daha güçlü bir immunoreaktivite sergilemekteydi. AQP-4 immünreaksiyonu ise, erkekte ve dişi proöstrus, diöstrusta diğer fazlardan daha yoğun görüldü. Sonuçlarımız, koroid pleksusun ependim hücrelerinde AQP'lerin ekspresyonunun düzenlenmesinde ovaryum hormon seviyelerinin doğrudan ilişkili olabileceğini ve bu proteinlerin ekspresyonlarının cinsiyete bağlı olarak da değişebileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, koroid pleksusda AQP1, 2 ve 4 proteinlerinin varlığı ve dağılımı hakkındaki literatür eksikliği bu proteinlerin rolünün yorumlanmasını zorlaştırmaktadır. Ancak bu çalışmayla, beyin omurilik sıvısında bu proteinlerin olası bilinmeyen rollerinin tanımlanması araştırılmaya başlanmıştır

Anahtar Kelimeler: AQP1, AQP2, AQP4, immünohistokimya

Expression of Aquaporin-1 (AQP1), Aquaporin-2 (AQP2) and Aquaporin-4 (AQP4) in Plexus Choroideus Cells: Evidence for Sex and Cycle-Linked Differences

Berna Sözen, Sayra Dilmaç, Asiye Kübra Göksu, Necdet Demir, Gamze Tanrıöver
Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Antalya, Turkey

Aquaporins (AQPs) are proteins embedded in the cell membrane and they selectively transport water and some small solutes across plasma membranes. Known as water channels, aquaporins (AQP-1,2,4,5,8) specifically permeable for water, and aquaglyceroporins (AQP-3,7,9,10), which are permeable for water and small nonpolar solutes such as glycerol, CO₂, ammonia and urea across the membrane, depending on the size of the pore. It has been showed that each subtype of AQP channel family has its own cellular distribution and distinct regulatory mechanisms of their expression in various tissues and the brain. According to previous studies, sex-steroid hormones affect the brain function in many respects, such as contributing the regulation of water and ion movement by affecting especially AQP1 and AQP4 expression. Since, AQP proteins have arising novel functions in central nervous system and due to the lack of literature related to their possible involvement in cerebrospinal fluid functions.

The aim of this study was to investigate AQP1, AQP2 and AQP4 proteins expressions in plexus

choroideus cells of adult female and male mice by using immunohistochemistry. In our study female mice were separated into the groups of estrus cycle stages were determined according to the ratio of cell types found in the smears. The stages of cycle were classified into four categories: proestrus, estrus, metestrus and diestrus. They were sacrificed and their brains were embedded in paraffin.

Immunohistochemical localization of AQP1 was prominent in cytoplasm of ependymal cells in plexus choroideus of female and male mice. There was a strong positive immunoreactivity for AQP2 in male than female proestrus, estrus, metestrus stages. Additionally, AQP4 immunoreaction was clearly seen in male and female proestrus, diestrus than the other stages. Our results indicated that ovarian hormone levels may directly involve in regulation of AQPs expression in ependymal cells of plexus choroideus and also the expression pattern might be altered in sexuality.

In conclusion, the lack of literature on the presence and distribution of AQP 1, 2 and 4 proteins in plexus choroideus makes it difficult to interpret the roles of these proteins. However, this study is starting to investigate possible unknown roles of these proteins in cerebrospinal fluid flow

Keywords: AQP1, AQP2, AQP4, immunohistochemistry

P026

PRP'nin Sinir greftleriyle Yeniden Yapılanmaya Etkisi

Hakan Teymur¹, Yiğit Özer Tiftikçioğlu¹, Türker Çavuşoğlu², Bedile İrem Tiftikçioğlu³, Oytun Erbaş⁴, Kubilay Doğan Kılıç⁵, Yasemin Adalı⁵, Yiğit Uyanıkgil²

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Ana Bilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı & Ege Üniversitesi, Kordon Kanı, Hücre- Doku Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir

³Sağlık Bakanlığı Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Ana Bilim Dalı, İzmir

⁴İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁵Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

AMAÇ: Periferik sinir hasarları ve rejenerasyonunun anlaşılmasında yol alınmasına ve cerrahi tekniklerdeki gelişmelere rağmen, periferik sinir hasarları hala rekonstrüktif cerrahlar için başarı sonuçlarının yeterli olmaması sebebiyle önemini korumaktadır. Birçok farklı dokunun iyileştirilmesinde pozitif etki gösterdiği rapor edilen trombositçe zengin plazmanın (PRP) son yıllarda sinir rejenerasyonunda da pozitif etki gösterdiği rapor edildi. Bizim çalışmamız, sinir boşluğunun sinir grefti ile yeniden yapılanmasında PRP'nin etkilerini değerlendirmek üzere tasarlandı.

YÖNTEMLER: Cerrahi prosedürlerde her grupta 7 sıçan olan 4 grup Sprague-Dawley sıçanı kullanıldı. Üst uyluk seviyesinde 1 cm uzunluğunda sinir hasarı oluşturuldu ve sinirin kendisinden elde edilen sinir otogrefti ile sinir yeniden oluşturuldu.

BULGULAR: 10 haftanın ardından ıslak kas ağırlığı alındı, sinir ve sinir greftindeki elektromikrografik bulgular ve histomorfolojik değişimler değerlendirildi. PRP'nin uygulandığı 3.gruptaki hem elektromikrografik (p <0.001) hem de histomorfolojik sonuçlar (p <0.001) kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı sonuçlar verdi.

SONUÇ: Sonuç olarak nörotrofik faktörlerin bir kısmını içeren PRP'nin sinir grefti ile sinir boşluğunun yeniden oluşturulması üzerinde pozitif etkisi olduğu ve klinik vakalarda uygulanabilir bir yöntem olduğu belirtildi. Bu çalışma, primer onarımın aksine uzun sinir segmentlerinin PRP ile rejenerasyonunu değerlendiren özgün bir çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: Sinir boşluğu yeniden oluşturulması, Sinir grefti, Trombositten zengin plazma, Mikrocerrahi

Effect of PRP on Reconstruction with Nerve grafts

Hakan Teymur¹, Yiğit Özer Tiftikçioğlu¹, Türker Çavuşoğlu², Bedile İrem Tiftikçioğlu³, Oytun Erbaş⁴, Kubilay Doğan Kılıç⁵, Yasemin Adalı⁵, Yiğit Uyanıkgil²

¹Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Ege University School of Medicine, Izmir, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Ege University School of Medicine & Cord blood Cell-Tissue Research and Application Center, Ege University, Izmir, Turkey

³Department of Neurology, Ministry of Health Tepecik Education and Research Hospital, Izmir, Turkey

⁴Department of Physiology, Faculty of Medicine, Istanbul Bilim University, Istanbul, Turkey

⁵Department of Histology and Embryology, Ege University School of Medicine, Izmir, Turkey

BACKGROUND: Despite the advances on understanding peripheral nerve injuries and regeneration, also in surgical techniques, peripheral nerve injuries still maintaining its importance for reconstructive surgeons as a matter that the successful results still cannot be sufficient. With positive effects that have been reported on healing of many other tissues, in recent years it also had been reported that platelet-rich plasma (PRP) has positive effects on nerve regeneration. Our study is designed to evaluate the effect of PRP for the nerve gap reconstruction with a nerve graft.

METHODS: At surgery procedures 4 group of Sprague-Dawley rats, which had 7 rats in each group, had been used. A 1 cm long nerve defect was created at the level of the upper thigh again reconstructed with nerve autograft obtained from nerve itself.

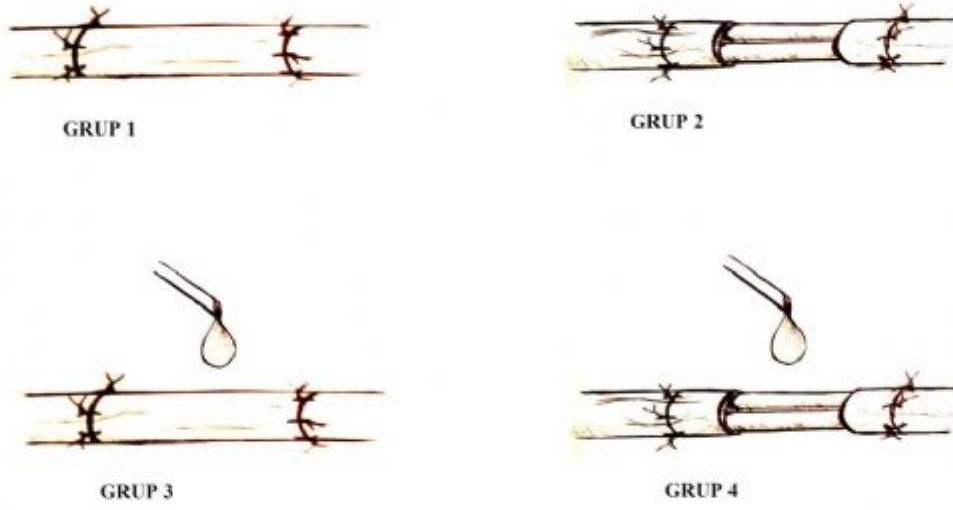
RESULTS: After 10 weeks wet muscle weights, electromyographic findings and histomorphological changes in the nerves and nerve grafts had been evaluated. Both electromyographic (p <0.001),

as well as histomorphological findings ($p < 0.001$) of the Group 3, which PRP applied, was significant compared to the control group.

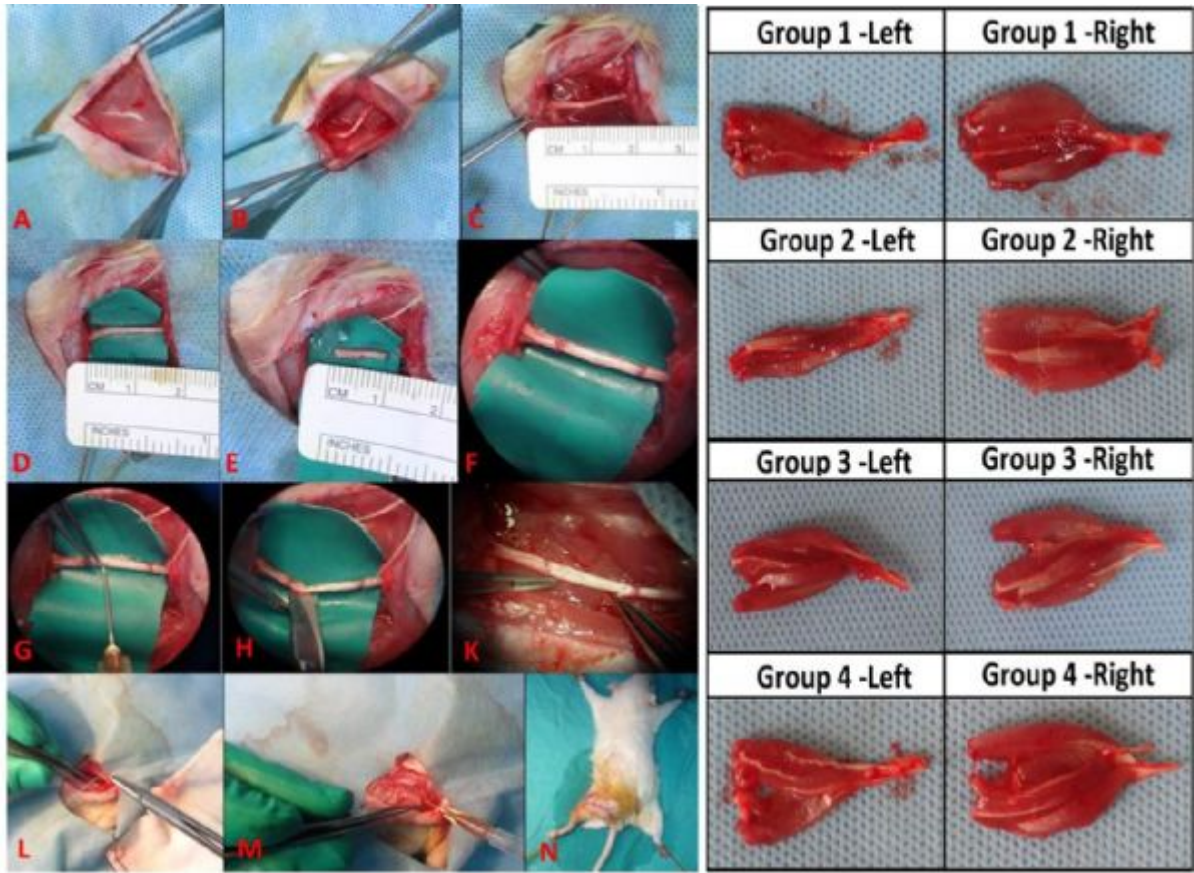
CONCLUSION: As a result, PRP which contains a portion of neurotrophic factors provided positive effects on nerve gap reconstruction with nerve graft and suggested that it is a method which can also be applied in the clinical cases. This is a novel study in terms of evaluating the regeneration with PRP of a long nerve segment unlike primary repair.

Keywords: Nerve gap reconstruction, Nerve graft, Platelet Rich Plasma, Microsurgery

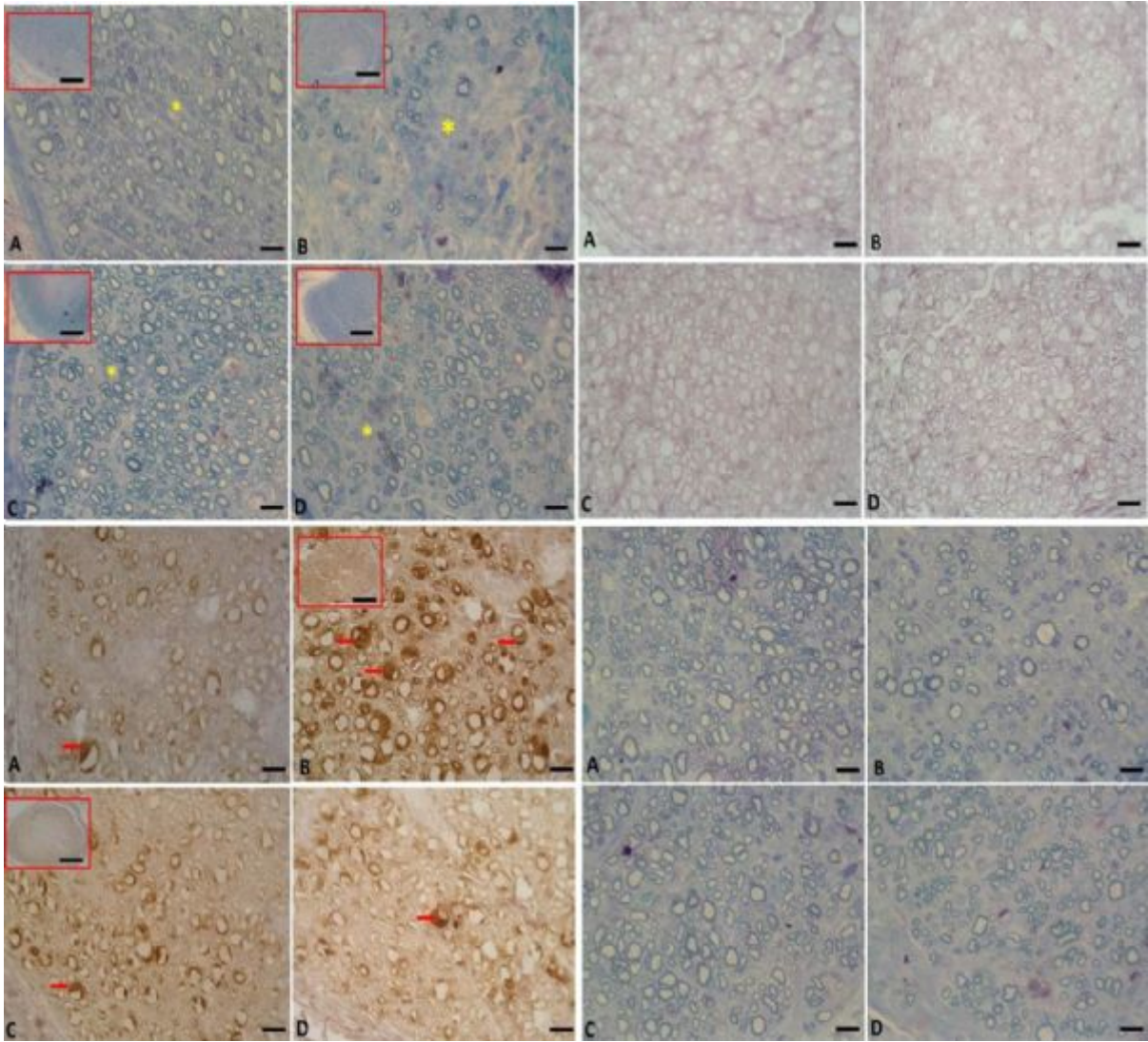
Figür 1
Figure 1



Figür 2
Figure 2



Figür 3
Figure 3



Kaynakça / References: 1) Siemionow M, Demir Y, Mukherjee AL. Repair of peripheral nerve defects with epineural sheath grafts. *Ann Plast Surg* 2010; 65(6):546-54. 2) Pabari A, Yang SY, Seifalian AM, Mosahebi A. Modern surgical management of peripheral nerve gap. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2010; 63(12):1941-8. 3) Kanje M, Skottner A, Sjoberg J, Lundborg G. Insulin-like growth factor I (IGF-I) stimulates regeneration of the rat sciatic nerve. *Brain Res* 1989; 486(2), 396-8. 4) Pabari A, Yang SY, Seifalian AM, Mosahebi A, Modern surgical management of peripheral nerve gap. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2010; 63(12):1941-8. 5) Siemionow M, Brzezicki G. Chapter 8: Current Techniques and Concepts in Peripheral Nerve Repair. *Int Rev Neurobiol* 2009; 87: 141-72. 6) Best TJ, Mackinnon SE, Midha R, Hunter DA, Evans PJ. Revascularization of peripheral nerve autografts and allografts. *Plast Reconstr Surg* 1999; 104(1): 152-60. 7) Siemionow M, Zielinski M, Meirer R. The single-fascicle method of nerve grafting. *Ann Plast Surg* 2004; 52(1): 72-9. 8) Kotulska K, Larysz-Brysz M, Marcol W, Józwiak J, Grajkowska W, Lewin-Kowalik J. The influence of trkB deficiency on long-term outcome of peripheral nerve injury in mice. *Folia Neuropathol.* 2007; 45(2):82-92. 9) Esposito B, De Santis A, Monteforte R, Baccari GC. Mast cells in Wallerian degeneration: morphologic and ultrastructural changes. *J Comp Neurol* 2002; 8, 445(3): 199-210. 10) Chung MS, Baek GH, Oh JH, Lee YH, Bin SW, Gong HS. The effect of muscle length and excursion on muscle contracture after tendon injury: A study in rabbit soleus muscles. *Injury* 2007; 38(10): 1139-45.

P027

Cep Telefonları Kaynaklı Elektromanyetik Dalgaların Sıçan Trigeminal Siniri Üzerine Etkileri

Dilek Akakin¹, Olgu Enis Tok², Nükhet Dağbaşı¹, Damla Anıl¹, Akın Akakin³, Serap Şirvancı¹, Feriha Ercan¹

¹Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul

Cep telefonu kullanımı ve telefonda harcanan süre her yıl artmakta, cep telefonu kullanım yaşı da gittikçe azalmaktadır. Bununla birlikte, cep telefonundan yayılan elektromanyetik dalgaların termal ve elektromanyetik dalga (EMD) etkileri konusunda yapılan çalışmalar beyin dokusu üzerinde yoğunlaşmaktadır (1-3). Cep telefonlarından kaynaklanan EMD'lerin fasiyal ve kohlear sinir gibi kranial sinirler üzerinde de olumsuz etkileri gösterilmiş (4-6), kablosuz telefonların (cep telefonu da dahil) artmış glioma ve akustik nöroma riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (7). Ayrıca, çocuklarda kafatası kalınlığı ince olduğu için EMD emilim oranı erişkinlere göre daha fazladır (8). Dolayısıyla, bu çalışmada cep telefonlarının yaydığı EMD'lerin fetal dönemden itibaren trigeminal sinir üzerine etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Çalışmada, Wistar albino sıçanlar (5 grup; her grupta 6 hayvan) kullanıldı. Cep telefonları benzer SAR (specific absorption rate -özgül emilim oranı-) değerinde başka bir telefonu arar ve konuşur halde (EMD grupları) veya stand-by (bekleme grupları) halinde bırakıldı. Cep telefonu, bekleme fetal ve EMD fetal gruplarında fetal 14. günden doğuma kadar, bekleme ve EMD gruplarında ise fetal 14. günden doğumdan sonraki 60. güne kadar günde 2 saat uygulandı. Kontrol grubuna ait sıçanlarda herhangi bir EMD maruziyeti olmadı. İkinci ayın sonunda %4 paraformaldehit ile perfüze edilen sıçanlardan elde edilen trigeminal sinir örnekleri rutin elektron mikroskopik takibe alındı. Epon bloklardan alınan yarı-ince kesitler toluidin mavisi boyası ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelenerek fotoğraflandı. Image J programı ile trigeminal sinir alanları ölçüldü ve her trigeminal sinir için çekilen dört fotoğrafta (x100 büyütme) miyelinli aksonlar sayıldı. Elektron mikroskopik inceleme için alınan ince kesitler kontrastlama sonrası geçirimli elektron mikroskobu ile incelenerek fotoğraflandı.

Trigeminal sinir alanları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark olmadığı izlendi. EMD grubunda miyelinli akson sayısının kontrole göre anlamlı ölçüde azaldığı görüldü. Trigeminal sinirlerin elektron mikroskobu ile incelenmesinde, kontrol grubunda normal görünümde nörofilamanlar içeren düzgün akson morfolojisi izlenmekteydi. Bekleme, EMD fetal ve EMD gruplarında myelin kılıf hasarı, EMD grubunda aksoplazmada vakuol oluşumu dikkat çekmekteydi.

Bu çalışmadan elde ettiğimiz bulgular, cep telefonlarından yayılan EMD'lerin fetal dönemden erişkin döneme dek trigeminal sinir üzerine etkili olabileceğini, uzun süreli kullanımda potansiyel ciddi sonuçlar oluşturabileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmamız, intrauterin ve çocukluk, gençlik dönemlerinde cep telefonu maruziyeti ile ilişkili EMD'lerin kranial sinirler üzerine etkilerini ortaya koymak açısından önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: cep telefonu, elektromanyetik dalga, trigeminal sinir, akson

Effects of Electromagnetic Waves Emitted by Cell Phones on Rat Trigeminal Nerve

Dilek Akakin¹, Olgu Enis Tok², Nükhet Dağbaşı¹, Damla Anıl¹, Akın Akakin³, Serap Şirvancı¹, Feriha Ercan¹

¹Department of Histology and Embryology, Marmara University School of Medicine, İstanbul

²Department of Histology and Embryology, Bezmialem Vakıf University School of Medicine, İstanbul

³Department of Neurosurgery, Bahcesehir University School of Medicine, İstanbul

Use of mobile phones and the time spent on phones increase every year, at the same time the age of mobile phone users decreases. Besides, studies on thermal and electromagnetic wave (EMW) effects of mobile phones are focused mostly on brain tissue (1-3). Adverse effects of EMWs emitted

by mobile phones have been shown on facial and cochlear nerves (4-6). Wireless phones (including cellular phones) were reported to be associated with increased risk of glioma and acoustic neuroma (7). In addition, because the skull is thin, EMW absorption rate in children is higher than that of adults (8). Therefore, we aimed to study the effects of EMWs emitted by mobile phones on trigeminal nerve beginning from fetal period.

Wistar albino rats (5 groups; 6 animals in each group) were used in the present study. Mobile phones were either on call to another cell phone of similar SAR (specific absorption rate) value (EMW groups) or on stand-by mode (stand-by groups) for 2 hrs/day. Rats in stand-by and EMW groups were exposed to cell phones starting from intrauterine 14th day to postnatal 60th day. Rats in stand-by fetal and EMW fetal groups were exposed to cell phones starting from intrauterine 14th day to birth. Rats in the control group were not exposed to any EMWs. At the end of the 2nd month, rats were perfused with 4% paraformaldehyde and trigeminal nerve samples were obtained and processed for electron microscopic evaluation. Semi-thin sections cut from epon blocks were stained with toluidine blue and photographed under photomicroscope. Nerve areas were measured and myelinated axons were counted in four micrographs (100x magnification) from each animal using Image J programme. Thin sections were evaluated and photographed by a transmission electron microscope.

Trigeminal nerve areas showed no statistical difference between experimental groups. Number of myelinated axons were observed significantly decreased in EMW group compared to control group. Electron microscopic examination of the trigeminal nerves showed normal axon morphology in control group. Myelin sheath disturbance in stand-by, EMW fetal and EMW groups and vacuole formation in axoplasm in EMD group were seen.

The findings of this study revealed that EMWs emitted by mobile phones may have effects on trigeminal nerve from fetal period until adulthood and may create potentially serious consequences in long-term use. Our study is important to show EMW effects associated with mobile phone exposure on the cranial nerves during intrauterine life, childhood and adolescence.

Keywords: cell phone, electromagnetic wave, trigeminal nerve, axon

Kaynakça / References: 1) Tang J, Zhang Y, Yang L, Chen Q, Tan L, Zuo S, Feng H, Chen Z, Zhu G. Exposure to 900 MHz electromagnetic fields activates the mep-1/ERK pathway and causes blood-brain barrier damage and cognitive impairment in rats. *Brain Res.* 2015 Mar 19;1601:92-101. doi: 10.1016/j.brainres.2015.01.019. Epub 2015 Jan 15. 2) Şahin A, Aslan A, Baş O, İkinci A, Özyılmaz C, Sönmez OF, Çolakoğlu S, Odacı E. Deleterious impacts of a 900-MHz electromagnetic field on hippocampal pyramidal neurons of 8-week-old Sprague Dawley male rats. *Brain Res.* 2015 Oct 22;1624:232-8. doi: 10.1016/j.brainres.2015.07.042. Epub 2015 Jul 31. 3) Güler G, Ozgur E, Keles H, Tomruk A, Vural SA, Seyhan N. Neurodegenerative changes and apoptosis induced by intrauterine and extrauterine exposure of radiofrequency radiation. *J Chem Neuroanat.* 2015 Oct 28. pii: S0891-0618(15)00075-7. doi: 10.1016/j.jchemneu.2015.10.006. [Epub ahead of print] 4) Acar GO, Yener HM, Savrun FK, Kalkan T, Bayrak I, Enver O. Thermal effects of mobile phones on facial nerves and surrounding soft tissue. *Laryngoscope.* 2009;119(3):559-62. 5) Yan JG, Agresti M, Zhang LL, Yan Y, Matloub HS. Qualitative effect on mRNAs of injury-associated proteins by cell phone like radiation in rat facial nerves. *Electromagn Biol Med.* 2009;28(4):383-90. 6) Colletti V, Mandalà M, Manganotti P, Ramat S, Sacchetto L, Colletti L. Intraoperative observation of changes in cochlear nerve action potentials during exposure to electromagnetic fields generated by mobile phones. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2011;82(7):766-71. 7) Hardell L, Carlberg M, Hansson Mild K. Use of mobile phones and cordless phones is associated with increased risk for glioma and acoustic neuroma. *Pathophysiology.* 2013 Apr;20(2):85-110. doi: 10.1016/j.pathophys.2012.11.001. Epub 2012 Dec 21. 8) Kaplan S, Deniz OG, Önger ME, Türkmen AP, Yurt KK, Aydın I, Altunkaynak BZ, Davis D. Electromagnetic field and brain development. *J Chem Neuroanat.* 2015 Dec 12. pii: S0891-0618(15)00095-2. doi: 10.1016/j.jchemneu.2015.11.005.

P028

Nesfatin-1 Nöronlarının Açlık Sonrası Beslenmeye veya Glukoz Enjeksiyonuna Bağlı Aktivasyonu ve Glutamaterjik Sistemin Rolü

Cihan Çakır¹, Sema Serter¹, Zehra Minbay², Özhan Eyigör²

¹Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

GİRİŞ: Nesfatin-1, hipotalamusun paraventriküler (PVN), supraoptik (SON) ve arkuat çekirdeklerinde yerleşim gösteren nöronlarca sentezlenen aneroksijenik bir peptittir. Yapılan çalışmalarda, nesfatin-1'in hipotalamusta besin alımını baskıladığı gösterilmiştir. Fakat, nesfatin-1 yoluyla besin alımının baskılanma mekanizması henüz açıklık kazanmamıştır. Hipotalamustaki çekirdeklerde lokalize nöronların glutamat reseptörü eksprese ettikleri bilinmektedir. Bu çalışmada 48 saat açlık sonrası beslenme gibi fizyolojik faktörlerin ve glukoz gibi metabolik faktörlerin nesfatin-1 eksprese eden nöronlar üzerine etkilerinin incelenmesinin yanı sıra nesfatin-1 nöronlarının bu aktivasyonunda glutamaterjik regülasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Beslenmenin etkilerini belirlemek üzere; 48 saat açlık sonrası, 2 saat süreyle beslenen grup (beslenme grubu), besleme yapılmayan grup (açlık grubu) ve 2 saatlik beslenme öncesi glutamat antagonisti (CNQX) enjeksiyonu yapılan grup (beslenme antagonist grubu) olmak üzere erkek sıçanlardan oluşan 3 deney grubu oluşturuldu. Glukozun etkilerini belirlemek üzere ise; 48 saat açlık sonrası, intraperitoneal glukoz (2gr/kg) enjeksiyonu yapılan grup (glukoz grubu), aynı miktarda intraperitoneal serum fizyolojik enjeksiyonu yapılan grup (kontrol grubu) ve intraperitoneal glukoz enjeksiyonu öncesi CNQX enjeksiyonu yapılan grup (glukoz antagonist grubu) olmak üzere erkek sıçanları içeren 3 deney grubu oluşturuldu. Tüm gruplarda, SON'da nesfatin-1 nöronlarının aktivasyonu, c-Fos ve nesfatin-1 ile ikili immünohistokimyasal işaretleme yapılarak gösterildi. İkili işaretlenen nesfatin-1 nöronlarının tüm SON nöronlarına oranları belirlenerek, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

BULGULAR: Supraoptik çekirdekte yerleşim gösteren nesfatin-1 nöronlarının açlık gruplarında %0,3 olan aktivasyon oranının, beslenme gruplarında, 2 saatlik beslenme sonrası yaklaşık %72'ye yükseldiği görüldü. Bu oranın CNQX enjeksiyonu etkisiyle %9'a düştüğü belirlendi. Gruplar karşılaştırıldığında, beslenme gruplarında nöronal aktivasyon gösteren nesfatin-1 nöronlarının oranının, antagonist ve açlık gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış içerdiği saptandı.

Açlık sonrası glukoz enjeksiyonu yapılan grupta, SON'te yerleşik nesfatin-1 nöronlarının %71'i c-Fos eksprese ederken, bu oranın CNQX enjeksiyonu sonrası %20'ye gerilediği ve kontrol gruplarında ise %1 olduğu belirlendi. Glukoz enjeksiyonu yapılan gruplarda aktif nesfatin-1 nöronlarının sayısındaki artışın, antagonist ve kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlam taşıdığı görüldü.

TARTIŞMA ve SONUÇ: Çalışma sonuçları açlık sonrası beslenmenin nesfatin-1 nöronlarında aktivasyona neden olduğunu ve dolayısıyla organizmanın besin alımını baskılayıcı yolları devreye soktuğunu göstermiştir. Benzer regülasyon açlığı takiben kan glikoz düzeyinin yükselmesi sonrasında da belirlenmiştir. Nesfatin-1 nöronlarının bu aktivasyonda glutamat reseptörlerinin rol aldığı anlaşılmıştır. Sonuç olarak hipotalamik nesfatin-1 nöronlarının hem besin alımıyla hem de kan glukoz düzeylerinin artmasıyla ortaya çıkan periferik sinyaller ile uyarılarak besin alımını inhibe etmek üzere aktive oldukları ve bu aktivasyonda glutamaterjik sistemin etkin rol oynadığı düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Glukoz, Nesfatin-1, Besin alımı, c-Fos, CNQX, Glutamat.

Activation of Nesfatin-1 Neurons Induced by Re-feeding or Glucose Injection after Fasting and the Role of the Glutamatergic System

Cihan Çakır¹, Sema Serter¹, Zehra Minbay², Özhan Eyigör²

¹Uludag University Institute of Health Science, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey.

²Uludag University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey.

INTRODUCTION: Nesfatin-1 is an anorexigenic peptide synthesized by neurons located in paraventricular, supraoptic (SON) and arcuate nuclei of hypothalamus. Previous studies showed that nesfatin-1 inhibits food intake in hypothalamus. However, the suppression mechanisms of food

intake by nesfatin-1 have not been clarified yet. It's known that the neurons localized in hypothalamus express glutamate receptors. This study aimed to investigate the effects of metabolic factors like glucose and physiological factors like re-feeding after 48 hours of fasting on nesfatin-1 neurons and glutamatergic regulatory effects on this activation.

MATERIALS-METHODS: Three experimental groups were formed, containing male rats, to determine the effects of food intake. After 48 hours of fasting; group-1 (feeding) was allowed to eat ad-libitum for 2 hours, group-2 (fasting) was unfed, group-3 (feeding+antagonist) was injected intraperitoneal glutamate antagonist (CNQX) before feeding. Experimental groups were also formed, to determine the effects of glucose. After 48 hours of fasting; group-4 (glucose) was injected glucose, group-5 (control) was injected saline and group-6 (glucose+antagonist) was injected glutamate antagonist (CNQX) before glucose injection. For all groups, the activation of nesfatin-1 neurons was assessed by dual immunohistochemical staining for nesfatin-1 and c-Fos in SON and results were statistically analyzed.

RESULTS: In SON, 0.3% activation ratio of nesfatin-1 neurons in fasting group increased to 72% in feeding group after 2 hours. This was reduced to 9% by CNQX injection. Ratio of activated nesfatin-1 neurons in feeding group was significantly higher than fasting or antagonist groups. In the group which received glucose injection after fasting, 71% of the SON nesfatin-1 neurons were detected to express c-Fos, while this ratio was decreased to 20% in antagonist and 1% in control groups. The increase in the number of nesfatin-1 neurons in the glucose-injected group was statistically significant when compared to the antagonist or control groups.

DISCUSSION and CONCLUSION: The results of the study revealed that the re-feeding after fasting caused activation in nesfatin-1 neurons suggesting that the organism triggers the pathways to suppress feeding. Similar regulation was seen following the increase in the blood glucose levels. It is understood that the glutamate receptors take part in this regulation. In conclusion, it is suggested that, in order to inhibit the food intake, the hypothalamic nesfatin-1 neurons are activated by the stimulation of peripheral signals due to the re-feeding or the increase of blood glucose levels and the glutamatergic system plays a distinct role in this activation.

Keywords: Glucose, Nesfatin-1, Food intake, c-Fos, CNQX, Glutamate

Kaynakça / References: Oh I., Shimizu H., Satoh T., Okada S., Adachi S., Inoue K., Eguchi H., Yamamoto M., Imaki T., Hashimoto K., Tsuchiya T., Monden T., Horiguchi K., Yamada M., Mori M. 2006. "Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus", *Nature*, 443, 709-12. Stengel A., Tache Y. 2010. "Nesfatin-1-Role as possible new potent regulator of food intake", *Regul Pept*, 163, 18-23. Shimizu H., Ohsaki A., Oh I., Okada S., Mori M., A new anorexigenic protein, nesfatin-1, *Peptides*, 30, 995-8, (2009). Hollmann M., Heinemann S., Cloned glutamate receptors, *Annu Rev Neurosci*, 17, 31-108, (1994).

P029

Açlık Sonrası Beslenme ile Uyarılan Nöronostatin Nöronlarında pSTAT5 ve c-Fos Ekspresyonunun Araştırılması

Sema Serter¹, Zehra Minbay², Özhan Eyigör²

¹Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

GİRİŞ: Somatostatin geni tarafından kodlanan 13-aminoasitli bir peptit olan nöronostatin anterior hipotalamus seviyesinde periventriküler nukleusta yerleşik nöronlar tarafından eksprese edilir. Hipotalamusun lateral ve üçüncü ventrikül bölgelerine nöronostatin verilmesiyle besin alımının baskılandığının gösterilmesi, nöronostatinin, iştah ve besin alımının kontrolünde rolü olan anoreksinerjik bir peptit olduğunu düşündürmektedir. Çalışmadaki hipotezimiz "besin alımı nöronostatin nöronlarını aktive eder" dir. Bu doğrultuda amacımız, beslenme ile nöronostatin nöronlarının uyarılıp uyarılmayacağını gösterilmesi ve bu aktivasyonda yer alan sinyal yollarının araştırılmasıdır.

GEREÇ-YÖNTEM: Beslenmenin nöronostatin nöronları üzerindeki etkilerini belirlemek için 3 aylık, Sprague Dawley cinsi sıçanlar 2 gruba ayrıldı: 1. grup (beslenme grubu), 48 saatlik açlık sonrası karanlık periyot başlangıcından itibaren 2 saat süreyle beslenen ve perfüzyon fiksasyonla sakrifiye edilen, 2. grup (açlık grubu) ise, 48 saatlik açlık sonrası karanlık periyot başlangıcında beslenmeden direk sakrifiye edilen deneklerden oluşturuldu. Nöronostatin nöronlarındaki aktivasyonu değerlendirmek amacıyla çekirdekte lokalize c-Fos veya pSTAT5 protein ekspresyonunun varlığı nöronal aktivasyon belirteci olarak kullanıldı. 40 µm kalınlığındaki yüzen kesitlere nöronostatin ve c-Fos veya nöronostatin ve p-STAT5 ikili immünohistokimyasal boyamalar uygulandı. İkili işaretlenen nöronostatin nöronlarının tüm nöronostatin nöronlarına oranları belirlenerek, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

BULGULAR: Dişi deneklerde, beslenme grubunda anterior hipotalamusun periventriküler zonunda yerleşik nöronostatin nöronlarının yaklaşık %40.31'i pSTAT5 ekspresyonu gösterirken bu oran açlık grubunda %14.96 idi. Erkek deneklerde ise bu değerler beslenme grubunda %28.39 iken açlık grubunda %7.76 olarak belirlendi. c-Fos ekspresyonu açısından değerlendirildiğinde dişi deneklerin beslenme grubunda nöronostatin nöronlarının yaklaşık %8.89'u c-Fos immünoreaktivitesi gösterirken bu oran açlık grubunda %9.45 idi. Erkek deneklerde ise bu değerler beslenme grubunda %2.78, açlık grubunda %2.26 olarak belirlendi. Her iki cinsiyette de beslenme gruplarındaki pSTAT5-pozitif nöronostatin nöronlarının oranındaki artış açlık gruplarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulundu. c-Fos eksprese eden nöronostatin nöronlarında ise beslenme ve açlık grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.

TARTIŞMA VE SONUÇ: Yapılan çalışmada 48 saatlik açlık periyodunu takip eden beslenmenin nöronostatin nöronlarını uyardığı ve bu uyarılmanın STAT5 proteininin ekspresyonu ve fosforillenmesi ile belirlenen JAK/STAT hücre içi sinyal yolağını tetikleyerek gerçekleştiği gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Nöronostatin, pSTAT5, Beslenme, Açlık, c-Fos

Investigation of the pSTAT5 and c-Fos expression in Neuronostatin Neurons by Refeeding after Fasting

Sema Serter¹, Zehra Minbay², Özhan Eyigör²

¹Uludag University Institute of Health Science, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey.

²Uludag University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey.

INTRODUCTION: Neuronostatin is a 13-amino-acid-peptide encoded by the somatostatin gene and expressed by the neurons localized in the anterior hypothalamic periventricular nucleus. Previous reports showing the suppression of food intake by the administration of neuronostatin into the lateral or third ventricle suggested that neuronostatin is an anorexigenic peptide which plays an important role in the control of feeding and appetite metabolism. The hypothesis of this study is stated as: "feeding activates neuronostatin neurons". In order to test this hypothesis, we analyzed the activation of neuronostatin neurons after feeding and assessed the signaling pathways in this activation.

MATERIALS-METHODS: To determine the effects of refeeding on the neuronostatin neurons, two experimental groups consisting of 3-month-old Sprague Dawley rats were designed. In group-1 (refeeding group), animals were fed for 2 h at the beginning of the dark period following 48 h fasting and sacrificed by perfusion fixation; in group 2 (fasting group), animals were unfed and sacrificed at the beginning of the dark period. In order to assess the activation in neuronostatin neurons, the presence of c-Fos and/or pSTAT5 expression in the nucleus was used as the neuronal activation marker. Dual immunohistochemical staining for neuronostatin and either c-Fos or pSTAT5 was employed on 40-micrometer-thick floating sections. The ratio of dual-labeled neuronostatin neurons to all neuronostatin neurons was statistically compared.

RESULTS: In female refeeding group, approximately 40.31% of neuronostatin neurons localized in periventricular zone of anterior hypothalamus was pSTAT5-positive, while this ratio was 14.96% in fasting group. In the male rats these values were 28.39% in refeeding and 7.76 % in fasting groups. When analyzed for c-Fos expression, in female, about 8,89% neuronostatin neurons in the refeeding group showed c-Fos immunoreactivity, while in the fasting group this ratio was 9,45%. In the males these percentages were found to be 2.78% in refeeding and 2.26% in fasting groups. In both gender, the increase in the ratio of pSTAT5-positive neuronostatin neurons in the refeeding groups of was statistically significantly when compared to the fasting group. For the number of c-Fos-expressing neuronostatin neurons, no significant differences between refeeding and fasting groups were detected.

DISCUSSION and CONCLUSION: The results of the study suggested that the neuronostatin neurons were activated by refeeding following a 48-hour fasting and that this activation was carried out by the JAK/STAT intracellular signaling pathway through the expression and phosphorylation of STAT5 protein.

Keywords: Neuronostatin, pSTAT5, Refeeding, Fasting, c-Fos

Kaynakça / References: BROMBERG J, DARNELL JE. The role of STATs in transcriptional control and their impact on cellular function. *Oncogene*, 19: 2468-73, 2000. DUN SL, BRAILOIU GC, TICA AA, YANG J, CHANG JK, BRAILOIU E, DUN NJ. Neuronostatin is co-expressed with somatostatin and mobilizes calcium in cultured rat hypothalamic neurons. *Neuroscience*, 166:455-63, 2010. ERIKSSON M, CECCATELLI S, UVNÄS-MOBERG K, IADAROLA M, HÖKFELT T. Expression of Fos-related antigens, oxytocin, dynorphin and galanin in the paraventricular and supraoptic nuclei of lactating rats. *Neuroendocrinology*, 63: 356-67, 1996. SAMSON WK, ZHANG JV, AVSIAN-KRETCHMER O, CUI K, YOSTEN GL, KLEIN C, LYU RM, WANG YX, CHEN XQ, YANG J, PRICE CJ, HOYDA TD, FERGUSON AV, YUAN XB, CHANG JK, HSUEH. Neuronostatin encoded by the somatostatin gene regulates neuronal, cardiovascular, and metabolic functions. *Journal of Biological Chemistry*, 283:31949-59, 2008.

P030

Kaolin ile Hidrosefali Modeli Oluşturulmuş İnfant Sıçanlarda Serebellum Üzerine Melatoninin Etkileri: Histokimyasal ve immünohistokimyasal Bir Çalışma

Yiğit Uyanıkgil¹, Mehmet Turgut², Meral Baka¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AbD & Kordon kanı, Hücre-Doku Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir

²Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji AbD

Hidrosefali, beyin ventrikülleri içinde anormal beyin omurilik sıvısı nedenli gelişimsel bir bozukluktur. Bu nedenle büyük kafatası ve sinir sistemi ile ilgili birçok işlev bozukluklarına yol açmaktadır. Bu çalışmada, ekzojen melatonin uygulamasının infant sıçanlarda kaolin kaynaklı hidrosefalinin klinik özelliklerinin geri dönüp dönemeyeceği araştırılmıştır. Kontrollü çift-kör olarak dizayn edilen çalışmada 2 haftalık, 45 adet Wistar albino sıçan üç gruba ayrılmıştır: Grup A, kontrol, sadece intrasisternal iğne yerleştirilen sham enjeksiyon grubu; Grup B, hidrosefali grubu, kaolin enjeksiyon yapıp, i.p izotonik NaCl enjeksiyonu yapılan; Grup C, hidrosefali + melatonin grubu, kaolin enjeksiyondan sonra 0.5 mg /100 g dozunda ekzojen melatonin i.p. uygulanan. Histolojik ve immünohistokimyasal analizler hidrosefali ve melatonin indüksiyonundan sonra yapıldı. Glial fibriler asidik protein immünohistokimyasal olarak boyandı. TUNEL metodu, serebellar dokularda apoptotik değerlendirme için yapıldı. İstatistiksel analizler non-parametrik Kruskal-Wallis H testi ve post-hoc ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır. Melatonin uygulanan infant sıçanlarda serebellar gri cevher/ beyaz cevher alanları oranında düzelleme saptandı. Histolojik olarak, kaolin kaynaklı hidrosefali grubunda melatonin uygulamasına bağlı olarak serebellar apoptotik hücrelerin sayısında önemli bir azalma oldu ($p < 0.05$). Bu sonuçlar eşliğinde kaolin kaynaklı hidrosefali infant sıçanlarda sistemik melatonin uygulamasının serebellum üzerinde histopatolojik değişiklikleri geri döndürdüğü görülmüştür. Bununla birlikte, hidrosefali çocuklarda aday koruyucu ilaç olarak melatonin önermek için ileri çalışmalar gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Serebellum, infant sıçan, Kaolin kaynaklı hidrosefali, Melatonin

Effects of Melatonin on the Cerebellum of Infant Rat Following Kaolin-Induced Hydrocephalus: A Histochemical and Immunohistochemical Study

Yiğit Uyanıkgil¹, Mehmet Turgut², Meral Baka¹

¹Department of Histology and Embryology, Ege University, School of Medicine & Cord Blood, Cell-Tissue Research and Application Center, Ege University, İzmir, Turkey.

²Department of Neurosurgery, Adnan Menderes University School of Medicine, Aydın, Turkey.

Hydrocephalus is a developmental disorder causing abnormally collected cerebrospinal fluid within the cerebral ventricles. It leads to bigger skulls and many dysfunctions related to the nervous system. Here, we addressed whether exogenous melatonin administration could reverse the clinical features of kaolin-induced hydrocephalus in infantile rats. A controlled double-blinded study was conducted in two weeks old forty-five Wistar albino rats, which were divide into three groups: Group A, the control group received intracisternal sham injection with solely the needle insertion; Group B, the hydrocephalus group was treated with i.p. isotonic NaCl after kaolin injection; and Group C, the hydrocephalus+melatonin group was given i.p exogenous melatonin at a dose of 0.5 mg/100 g body weight after kaolin injection. Histological and immunohistochemical analyses were performed after the induction of hydrocephalus and melatonin administration. Glial fibrillary acidic protein was stained by immunohistochemical method. TUNEL method was used to define and quantitate apoptosis in the cerebellar tissues. Statistical analysis was performed by nonparametric Kruskal-Wallis H test and once significance was determined among means, post-hoc pairwise comparisons were carried out using Mann-Whitney U test. We found that melatonin administration significantly ameliorated ratio of substantia grisea area/substantia alba area in the cerebellum of infantile rats. Histologically, there was a significant reduction in the number of cerebellar apoptotic cells after the hydrocephalus induced by kaolin ($P < 0.05$). Our results clearly revealed that the histopathological changes on cerebellum were reversed after systemic melatonin administration in infantile rats with kaolin-induced hydrocephalus. Nevertheless, further studies are needed to suggest melatonin as a candidate protective drug in children with hydrocephalus.

Keywords: Cerebellum, Infant rat, Kaolin-induced hydrocephalus, Melatonin

Kaynakça / References: 1. Turgut M, Erdogan S, Ergin K, Serter M. Melatonin ameliorates blood-brain barrier permeability, glutathione, and nitric oxide levels in the choroid plexus of the infantile rats with kaolin-induced hydrocephalus. *Brain Res.* 2007; 1175:117-125. 2. Kondziella D, Lüdemann W, Brinker T, Sletvold O, Sonnewald U. Alterations in brain metabolism, CNS morphology and CSF Dynamics in adult rats with kaolin-induced hydrocephalus. *Brain Res.* 2002; 927(1):35-41. 3. Williams MT, Braun AA, Amos-Kroohs RM, McAllister JP 2nd, Lindquist DM, Mangano FT, et al. Kaolin-induced ventriculomegaly at weaning produces long-term learning, memory, and motor deficits in rats. *In J Dev Neurosci.* 2014; 35:7-15.

P031

Deneysel diyabet oluşturulan ratlarda östrojen reseptörü taşıyan hücrelerde, proliferatif hücrelerde ve apoptotik hücrelerde meydana gelen değişimler ve bu değişimler üzerine likopenin etkisi

Mustafa Sandıkçı¹, Levent Karageç¹, Mustafa Yıldız²

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji- Embriyoloji Anabilim Dalı, Aydın

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çan Uygulamalı Bilimler Yüksek Okulu, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü, Çanakkale

Çalışmada, deneysel diyabet oluşturulan erişkin ratların pankreasındaki östrojen reseptörü taşıyan hücrelerde (östrojen reseptör α), proliferatif hücrelerde (Ki-67 ekspresyonu) ve apoptotik hücrelerde meydana gelen değişikliklerin belirlenmesi ve oral olarak verilen likopenin bu değişiklikler üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada erişkin 42 adet dişi rat kullanıldı. Tek doz 50 mg/kg streptozotosin verilerek 30 adet ratta deneysel diyabet oluşturuldu. Deneysel diyabet oluşturulduktan 3 hafta sonra hayvanlar kontrol+mısır yağı (n=6), kontrol+likopen (n=6), diyabet+mısır yağı (n=15) ve diyabet+likopen (n=15) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Kontrol+likopen ve diyabet+likopen gruplarına gavaj yoluyla 4 hafta boyunca her gün, 4 ml/kg mısır yağında çözdürülerek 4 mg/kg likopen verilirken, kontrol+mısır yağı ve diyabet+mısır yağı gruplarına 4 ml/kg mısır yağı verildi. Deney sonunda alınan pankreas örneklerinden elde edilen kesitlerde östrojen reseptör α , Ki-67 ve malondialdehit ekspresyonları immunohistokimyasal olarak, apoptotik hücreler ise TUNEL metoduyla demonstre edildi. Yapılan incelemelerde, diyabet gruplarında, adacıklarda östrojen reseptör α ekspresyon şiddetinin arttığı ve ekzokrin bölümlerde ekspresyonun daha yaygın olduğu görüldü. Proliferatif hücre sayılarının (Ki-67 pozitif hücreler) diyabetli gruplarda attığı, TUNEL pozitif hücrelerin ise sadece diyabet+likopen grubunda lokal bir artış gösterdiği belirlendi. Likopen uygulamalarının ise söz konusu parametrelere genel olarak etkisinin olmadığı görüldü. Sunulan çalışmada, diyabetik hayvanların pankreasında adacıklarının etrafında östrojen reseptör α pozitif hücrelerin varlığı ilk kez ortaya konmuştur. Diyabetik hayvanlarda likopenin dozunu ve uygulama süresini artırarak yapılacak çalışmaların pankreas üzerinde likopenin antioksidan etkisini ortaya çıkarabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Deneysel diyabet, pankreas, östrojen reseptör α , proliferatif hücre, likopen

Changes in the pancreas as for the cells carrying estrogen receptors, proliferating cells and apoptotic cells in experimentally induced diabetes mellitus in rats and the effect of lycopene on these changes

Mustafa Sandıkçı¹, Levent Karageç¹, Mustafa Yıldız²

¹Department of Histology-Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey

²Department of Occupational Health and Safety, School of Applied Sciences at Çan, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, Turkey

The aim of the present study was to investigate changes occurring in estrogen receptor α positive cells, proliferating cells (Ki-67 expression) and apoptotic cells in pancreas of experimentally-induced adult diabetic rats and to determine the effect of orally-administered lycopene on these changes. To this end, a total of 42 rats were used in the study. Rats were induced to become diabetic through administration of 50 mg/kg streptozotocin. Following the administration of streptozotocin, four groups of animals were established: Control+corn oil (n=6), Control+lycopene (n=6), Diabetic+corn oil (n=15) and Diabetic+lycopene (n=15). Corn oil at a dose of 4 ml/kg was given to animals in the Control+corn oil and diabetic+corn oil groups, whereas animals in the Control+lycopene and Diabetic+lycopene groups received 4 mg/kg lycopene dissolved in corn oil (4 ml/kg) every day for a period of four weeks. The expression of estrogen receptor α , Ki-67 and malondialdehyde were determined through immunohistochemistry in sections taken from pancreas tissue samples at the end of the experiment. Apoptotic cells were determined through the TUNEL method. In the diabetic groups, the expression of estrogen receptor α was increased in the islands and the expression was predominant in the exocrine pancreas. Whereas the number of proliferating Ki-67 positive cells was higher in the diabetic groups, the number of TUNEL-positive cells increased

only locally in the Diabetic+lycopene group. Lycopene in general did not have any effect in any of the parameters analyzed in the present study. The presence of estrogen receptor α positive cells around the islands was demonstrated for the first time in the present study. It would appear from these observations that it is possible to demonstrate the antioxidant effects of lycopene in the pancreas of diabetic rats by increasing the dose and/or the duration of lycopene.

Keywords: Experimental diabetes, pancreas, estrogen receptor α , proliferating cell, lycopene

P032

Gebe, Ergin ve Yavru Ankara Kedilerinin Periferal Kan Lökositlerinde Alfa-Naftil Asetat Esteraz Aktivitesinin Belirlenmesi

Aytül Kürüm¹, Alev Gürol Bayraktaroğlu², Özkan Şimşek³, Şevket Arıkan³, Emel Ergün²

¹Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale, Türkiye

Bu çalışmada Ankara kedilerinde gebe, yavru ve ergin dönemdeki periferal kan lökositlerinin alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) aktivitelerinin belirlenmesi amaçlandı. Materyal olarak her grupta 9 adet sağlıklı gebe, yavru ve ergin Ankara kedisi kullanıldı. ANAE boyamasında en iyi reaksiyon pH 5.8'te 3 saatlik inkübasyon sonucunda elde edildi. ANAE (+) T lenfositlerde iki tip reaksiyon gözlemlendi. İlki iri tip granülün verdiği dot-like pozitifite; diğeri ise 3-5 adet küçük çaplı granülün olduğu granüler pozitifiteydi. B lenfositler ANAE boyamasına negatif reaksiyon verdi. Gebe, yavru ve erginlerde ANAE (+) lenfositlerin oranı (%) sırasıyla, 62.89 ± 1.29 , 68.37 ± 1.22 ve 77.71 ± 1.63 idi. Sonuç olarak, gebelerde hormonal mekanizmalarla desteklenen maternal immun tolerans sebebiyle en düşük oran, sonrasında yavru dönem ve yetişkinlerde immun sistemin gelişmesiyle en yüksek oranda ANAE pozitif lenfositlerin bulunduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: ANAE aktivitesi, Ankara kedisi, lenfosit, gebelik

Determination of alpha naphthyl acetate esterase (ANAE) activity in peripheral blood leukocytes of pregnant, adult and kitten Angora cats

Aytül Kürüm¹, Alev Gürol Bayraktaroğlu², Özkan Şimşek³, Şevket Arıkan³, Emel Ergün²

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Kırıkkale, Kırıkkale, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ankara, Ankara, Turkey

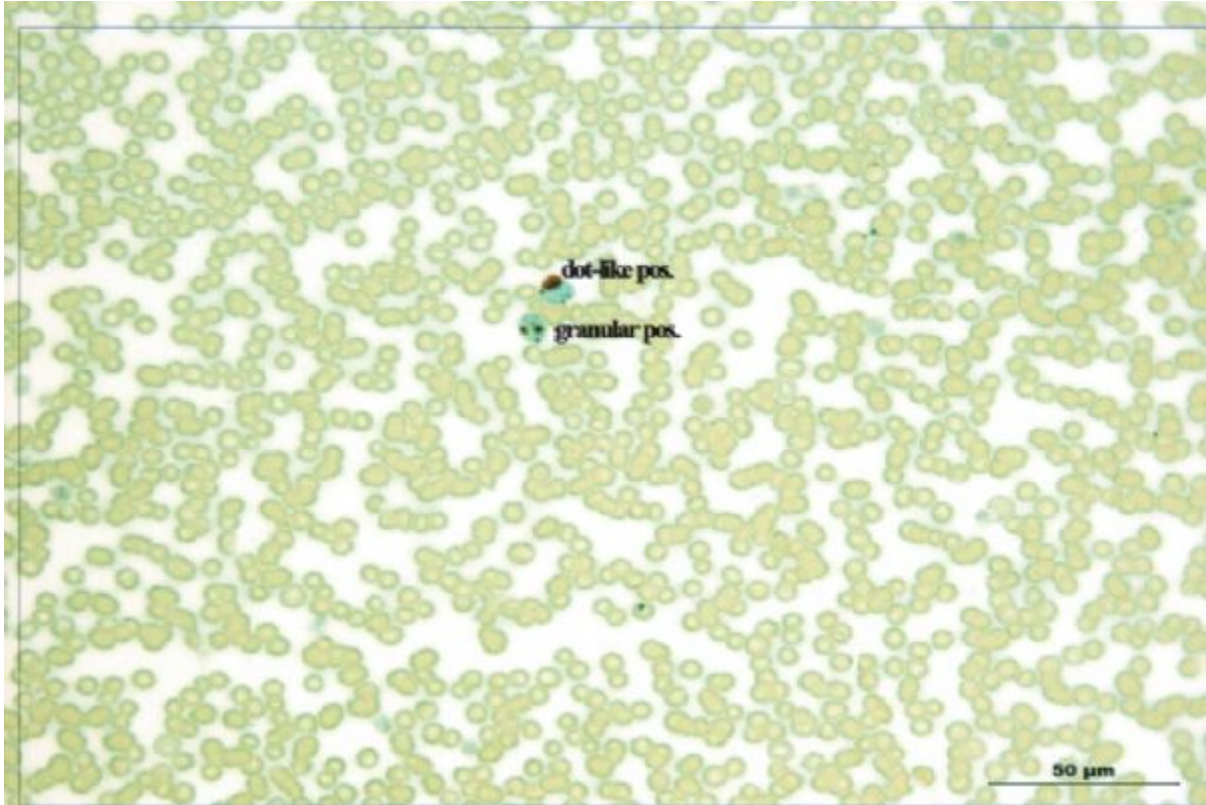
³Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Kırıkkale, Kırıkkale, Turkey

This study was aimed to determine the alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE) activity of peripheral blood leukocytes in pregnant, kitten and adult Angora cats. For each group nine healthy pregnant, adult and kitten Angora cats were constituted as the material of the study. Optimum reaction was achieved at the 3 h incubation period at pH level of 5.8 while performing ANAE staining. Two types of reaction were observed in ANAE (+) T lymphocytes. The first reaction was a dot-like positivity pattern characterized by the presence of large granules, while the other was a granular positivity pattern characterized by the presence of 3 to 5 small granules. B lymphocytes were react negatively for ANAE staining. The rate of ANAE (+) lymphocytes in pregnant, kitten and adult Angora cats were $62.89 \pm 1.29\%$, $68.37 \pm 1.22\%$ and $77.71 \pm 1.63\%$, respectively. In conclusion, the lowest rate of ANAE-positive lymphocytes were detected in the pregnant animals, depending on the maternal immune tolerance supported by hormonal mechanisms, while an increased rate of ANAE-positive lymphocytes was detected in kittens, and the highest rate was measured in the adults, in parallel with the development of the immune system.

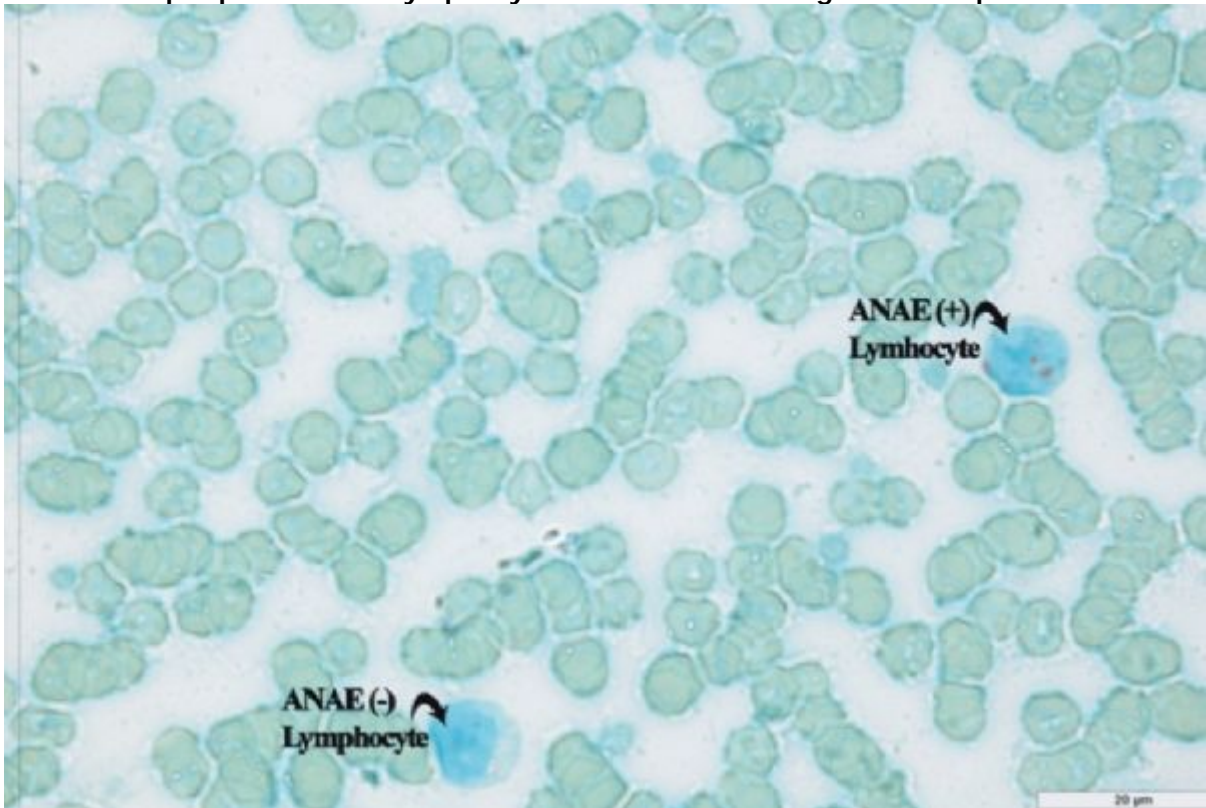
Keywords: ANAE activity, Angora cats, Lymphocyte, Pregnancy

ANAE staining positivity types. Bar = 50 µm.

ANAE boyamasında pozitif çeşitleri. Bar = 50 µm.



periferal kan lökositlerinin ANAE ile boyandığında aktiviteleri
Reaction of peripheral blood lymphocytes with ANAE staining. Bar = 20 µm.



Kaynakça / References: 1. Aydın MF, Celik I, Sur E, Oz nurlu Y, Telatar T. Enzyme histochemistry of the peripheral blood lymphocytes in Arabian horses. J Anim Vet Adv 2010; 9: 920–924. 2. Maiti

- NK, Saini SS, Sharma SN. Histochemical studies on chicken peripheral blood lymphocytes. *Vet Res Commun* 1990; 14: 207–210. 3. Asti RN, Alabay B, Kurtdede N, Altunay H, Ergun L. Determination of alpha-naphthyl acetate esterase activity in peripheral blood leukocytes in the different animal species. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 1996; 43: 129–133. 4. Yoruk M, Asti RN, Kurtdede N, Agaoglu Z, Altunay H. Light and electron microscopic studies on alpha naphthyl acetate esterase activity of the peripheral blood T lymphocytes in Van cats. *Anat Histol Embryol* 1998; 27: 289–292. 61 5. Sandıkçı M, Kum S, Eren U. Develerin (*Camelus dromedarius*) perifer kan lökositlerinde alfa-naftil asetat esteraz aktivitesinin belirlenmesi. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2005; 52: 13–16 (in Turkish). 6. Bergmann F, Rimón S. The effect of pH variations on the activities of c-esterase. *Biochem J Oct* 1958; 70: 339–344. 7. Baycu C, Niemi M. Alpha-naphthyl acetate esterase activity of Percoll-isolated rat Leydig cells: electron and histochemical study. *Turk J Med Res* 1995; 13: 172–175. 8. Pearse G. Normal structure, function and histology of the thymus. *Toxicol Pathol* 2006; 34: 504–514. 9. Donmez HH, Sur E. Hematology and enzyme histochemistry of the peripheral blood leukocytes in rock partridges (*Alectoris graeca*). *Poultry Sci* 2008; 87: 56–60. 10. Kajikawa DVM, Koyama H, Yushikawa T, Tsubaki S. Use of alpha naphthyl acetate esterase staining to identify T lymphocytes in cattle. *Am J Vet Res* 1983; 44: 1549–1552. 11. Mueller J, Brun del Re G, Buerki H, Keller HU, Hess MW, Cottier H. Nonspecific acid esterase activity: a criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymph nodes. *Eur J Immunol* 1975; 5: 270–274. 12. Aşti RN, Kurtdede N, Ozen A. Light and electron microscopic studies on alpha naphthyl acetate esterase activity of peripheral blood T lymphocytes in chicken. *Dtsch Tierarztl Wschr* 1999; 106: 397–399. 13. Sur E, Celik I, Oznurlu Y, Aydin MF. Determination of the ratio of peripheral blood lymphocytes and α -naphthyl acetate esterase (ANAE) activity in the lymphocytes of young and adult pheasants (*Phasianus colchicus*). *Vet Bil Derg* 2004; 20: 87–93. 14. Ergun E, Ergun L, Ozen A, Asti RN. Determination of α -naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of ostrich (*Struthio camelus masaiicus*). *Rev Vet Med* 2004; 155: 147–150. 15. Ergun L, Ozen A, Ergun E, Asti RN. Alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of turkeys. *Ind Vet J* 2004; 81: 431–434. 16. Özcan Z. Determination of α -naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes in Angora rabbits. *Turk J Vet Anim Sci* 2005; 29: 881–884. 17. Donmez HH, Sur E, Boydak M. Determination of alpha naphthyl acetate esterase activity in peripheral blood leukocytes of Kangal fish (*Garra rufa*). *Vet Bil Derg* 2007; 21: 81–84. 18. Altunay H, Harem IS, Harem MK, Asti RN, Kurtdede N. Determination of acid α -naphthyl acetate esterase enzyme activity in peripheral blood leukocytes of gazelles (*Gazella subgutturosa*). *Biotechnic and Histochemistry* 2008; 83: 279–283. 19. Sur E, Aydin I, Oznurlu Y, Ozaydin T, Celik I, Kadiralieva N. Merinos ırkı sağlıklı gebe koyunların perifer kan lenfositlerinde alfa naftil asetat esteraz ve asit fosfataz aktivitelerinin belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2013; 19: 483–488 (in Turkish). 20. Nasar A, Rahman A. Hormonal changes in the uterus during pregnancy-lessons from the ewe: a review. *J Agric Rural Dev* 2006; 4: 1–7. 21. Cuello F, Martinez R, Grosso C, Vivas A. Peripheral lymphocytes response to progesterone during early pregnancy in pig. *Redvet* 2006; 7: 1–6. 22. SPSS 10.0 for Windows. SPSS Inc., Chicago, IL, USA. 1999. 23. Osbaldiston GW, Sullivan RJ. Cytochemical demonstration of esterases in peripheral blood leukocytes. *Am J Vet Res* 1978; 39: 683–685. 24. Sen I, Turgut K, Celik I, Kiran MM. The importance of lymphocyte enzyme profile, inclusion bodies in circulating leukocytes conjunctival smear samples in the diagnosis on canine distemper virus infection. *Indian Vet J* 2002; 79: 213–217. 25. Agricola R, Carvallao H, Barbosa M, Pereira M, Medeiros JAS, Ferreira-Dias G. Blood lymphocyte subpopulations, neutrophil phagocytosis and proteinogram during late pregnancy and postpartum in mares. *Reprod Domest Anim* 2008; 43: 212–217. 26. Sur E, Aydin I, Öznurlu Y, Telatar T, Çelik İ. Sağlıklı gebe sığırların perifer kan lenfositlerinde alfa naftil asetat esteraz ve asit fosfataz aktivitelerinin belirlenmesi. *Vet Bil Derg* 2008; 24:5–12 (in Turkish). 27. Pisek L, Travnicek J, Salat J, Kroupova V, Soch M. Changes in white blood cells in sheep blood during selenium supplementation. *Veterinarni Medicina* 2008; 53: 255–259. 28. Çelik I, Aşti RN, Boyraz MU. Sığır fetal perifer kan lenfositlerinin alfa-naftil asetat esteraz aktivitesi üzerinde ışık mikroskopik çalışmalar. *SÜ Vet Fak Derg* 1992; 8: 41–44. 29. Çelik I, Aşti RN, Kadak R, Işık MK. Farklı yaşlardaki sığırların perifer kan T-lenfosit oranlarında görülen değişiklikler. *Hayvancılık Araş Derg* 1994; 4: 68–72.

P033

Apelin makrofajların fonksiyonunu azaltır

İlknur Birsen¹, Nuray Acar², V. Nimet İzgüt Uysal¹, İsmail Üstünel²

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

G protein-ilişkili APJ reseptörünün endojen bir ligandı olan ve ilk kez siğir midesinde saptanmış olan apelin biyoaktif bir peptittir. Apelin ve APJ'nin varlığı santral sinir sistemi ve periferik dokularda gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı periton makrofajlarının fonksiyonlarına apelinin etkisini araştırmaktır. Sıçanlardan elde edilen periton makrofajları kontrol, apelin ve apelin+F13A olarak üç gruba ayrılmıştır. Periton makrofajlarında APJ reseptörünün ekspresyonunun belirlenmesinde çift boyama immunofloresans teknolojisi kullanılmıştır. Makrofajların apelin ile inkübasyonu sonucunda fagositik ve kemotaktik aktivitede belirgin azalma saptanmıştır. Makrofajların apelin ve APJ reseptör antagonisti F13A (20 ng/mL) ile inkübasyonu, apelinin fagositik ve kemotaktik aktivite üzerine olan baskılayıcı etkisini önlemiştir. Sonuç olarak, apelin inflamasyon cevabında makrofaj fonksiyonlarını inhibe eden bir mediyatör olabilir.

Anahtar Kelimeler: Apelin, APJ reseptörü, Makrofaj

Apelin attenuates the function of macrophages

İlknur Birsen¹, Nuray Acar², V. Nimet İzgüt Uysal¹, İsmail Üstünel²

¹Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, Antalya

²Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Antalya

Apelin is a bioactive peptide originally identified from bovine stomach extracts as the endogenous ligand of the orphan G protein-coupled receptor, APJ. The expression of apelin and APJ has been shown in the central nervous system and peripheral tissues. The aim of the present study was to investigate the effect of apelin on peritoneal macrophage function. Rat peritoneal macrophages were randomly divided into three groups: control, apelin and apelin+F13A. A double staining immunofluorescence technique was used to determine the expression of APJ in peritoneal macrophages. A significant decrease in phagocytic activity of peritoneal macrophages resulted when the macrophages were incubated with apelin (10 ng/mL). Incubation of macrophages with apelin and the APJ antagonist F13A (20 ng/mL) prevented the suppressive effect of apelin on phagocytic activity. Peritoneal macrophages incubated with apelin exhibited a decrease in chemotactic capacity compared to the control macrophages. Incubation of peritoneal macrophages with F13A prevented the decrease in chemotactic activity by apelin. In conclusion, apelin may be a mediator that inhibits macrophage function during the inflammatory response.

Keywords: Apelin, APJ receptor, Macrophage

P034

Di (n-bütül) fitalat (DBP) ile indüklenmiş nefrotoksisite üzerine resveratrol'ün koruyucu etkisi: İmmunohistokimyasal ve Elektron Mikroskopik Çalışma

Ciğdem Elmas¹, Cemile Merve Seymen¹, Dila Şener², Güleser Göktaş³, Tayfun Göktaş⁴, Ayten Türkkani⁵

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Okan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁴Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁵TOBB Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

GİRİŞ-AMAÇ: Çalışmamızın amacı, di (n-bütül) fitalat (DBP) ile hasar görmüş sıçan böbreği üzerinde resveratrol'ün doğal böbrek koruyucu etkisini uygun işaretleyiciler kullanılarak immünohistokimyasal düzeyde ve elektron mikroskopi ile de ince yapı düzeyinde inceleyerek ortaya koymaktır. Buna ilaveten çalışmamızda, lipid peroksidasyon (Malondialdehit, MDA) ve toplam sülfidril grup (RSH) düzeyleri de incelenmiştir.

METOD: Çalışmada, 36 adet 20-günlük Wistar albino cinsi dişi sıçan 6 eşit gruba ayrılmıştır (n=6). İlk grup kontrol grubu olarak belirlenirken, diğer gruplara sırası ile 500 mg/kg/gün DBP (düşük doz grup), 1000 mg/kg/gün DBP (yüksek doz grup) mısır yağında çözünerek 4 hafta süresince oral yoldan verilmiştir. Resveratrol'ün olası koruyucu etkisini görmek için diğer gruplara sırası ile çözücü Karboksimetil selüloz (CMC) 10 mg/kg, 500 mg/kg/gün DBP+20 mg/kg/gün resveratrol ve 1000 mg/kg/gün DBP+20 mg/kg/gün resveratrol yine oral yoldan uygulanmıştır. Deney bitiminde alınan böbrek dokuları uygun takip yöntemlerinden geçirilerek ET-1 ve Kaspaz-3 primer antikorları ile immünohistokimyasal olarak, ayrıca SEM ve TEM ile de elektron mikroskopik olarak incelenmiştir. **BULGULAR:** Yapılan biyokimyasal testler sonucunda DBP ve CMC uygulamalarının renal lipid peroksidasyonunu arttırırken, RSH düzeyini azalttığı belirlenmiş; yüksek doz DBP uygulanan grupta yapılan TEM ve SEM incelemeleri sonucunda bazal membranda silinme, katlanma ve kalınlaşma ile mezengial ve intramembranöz alanda elektron yoğun bölgeler tespit edilmiştir. Resveratrol ve düşük doz DBP uygulanan grupta dejeneratif değişimlerin düzelmiş olduğu görülmesine karşın, yüksek doz DBP ile birlikte uygulanan resveratrol'ün koruyucu olarak yetersiz kaldığı ya da daha az etkili olduğu belirlenmiştir. Resveratrol uygulamalarının, DBP ve CMC'nin neden olduğu histolojik ve biyokimyasal değişiklikleri gidermede etkili olduğu görülürken, yapılan immünohistokimyasal boyamaların da elektron mikroskopik bulguları desteklediği tespit edilmiştir. DBP ve CMC uygulamaları ile böbrek dokusunda en çok etkilenen bölgenin distal tübül ve glomerular yapılar olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ: Yapılan incelemeler sonucunda DBP'nin, böbrek üzerinde lipid peroksidasyonuna yol açarak renal toksisiteye ve böbrekte yapısal değişikliklere neden olduğu ve resveratrol kullanımının DBP ile indüklenmiş nefrotoksisite üzerinde koruyucu etki gösterdiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: DBP, Böbrek, Kaspaz-3, ET-1, Resveratrol, TEM-SEM

The protective effect of resveratrol in di(n-butyl) phthalate (DBP) induced nephrotoxicity. An immunohistochemical and ultrastructural studies

Ciğdem Elmas¹, Cemile Merve Seymen¹, Dila Şener², Güleser Göktaş³, Tayfun Göktaş⁴, Ayten Türkkani⁵

¹Gazi University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

²Okan University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, İstanbul, Turkey

³Baskent University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

⁴Gazi University Faculty of Medicine, Department of Physiology, Ankara, Turkey

⁵TOBB University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

Introduction and AIM: The purpose of present study to explore the renoprotective nature of resveratrol by assessing markers antioxidant competence in di(n-butyl) phthalate (DBP) injured rats kidneys with immunohistochemistry and electron microscopic techniques. In addition we examined the lipid peroxidation (measured as malondialdehyde, MDA) and total sulphhydryl groups (RSH) levels.

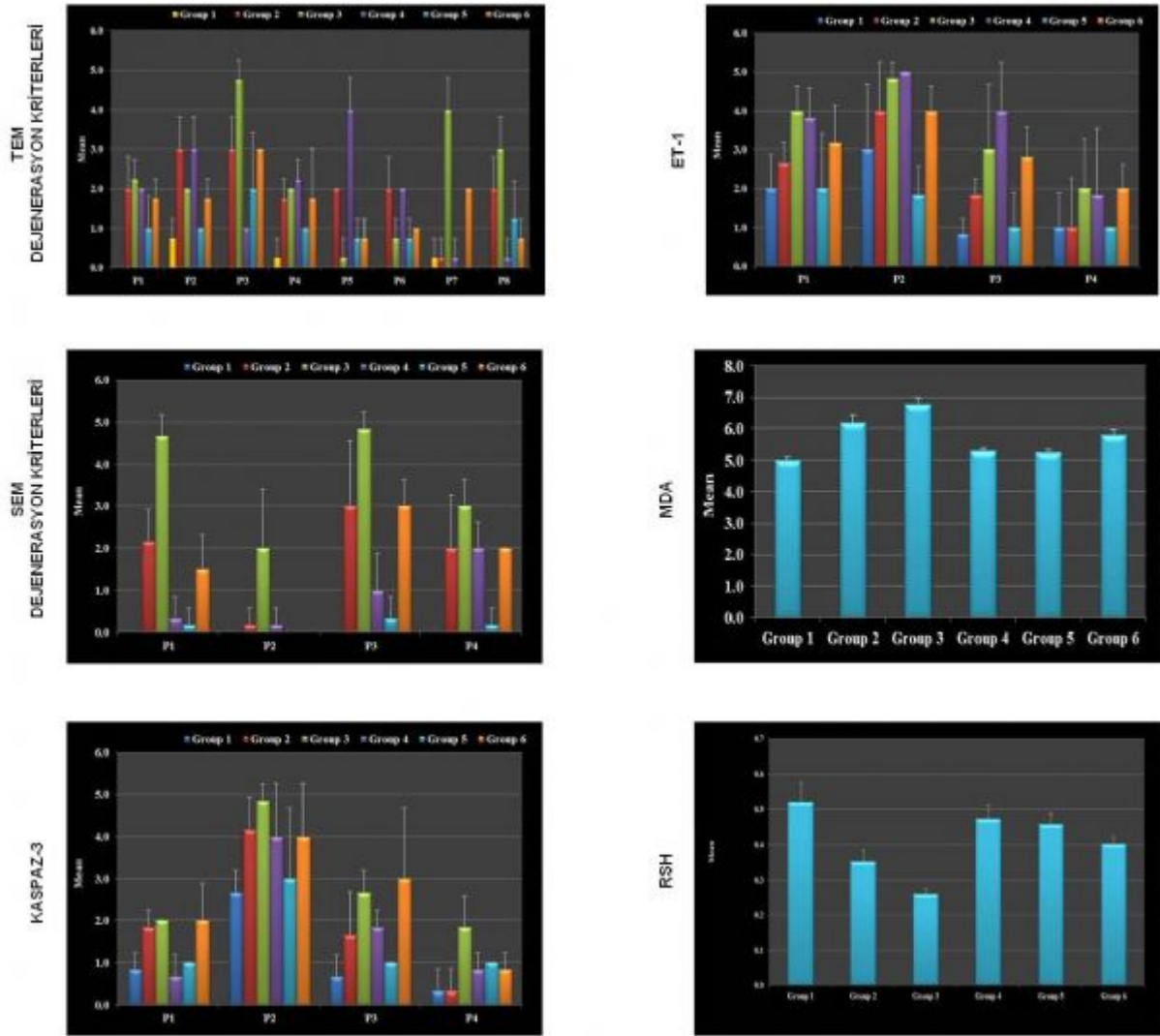
METHODS: To generate an experimental condition reflecting possible renal damage caused from DBP, adult female 20-day-old Wistar albino rats were given a diet containing 500 mg/kg/day DBP (low dose group), 1000 mg/kg/day DBP (high dose group); dissolved in corn oil for 4 weeks. To see the possible protective effects of resveratrol and effects of solvent for resveratrol other groups were used as control and given solvent [Carboxymethyl cellulose (CMC), 10 ml/kg], 500 mg/kg/day DBP+20 mg/kg/day resveratrol, 1000 mg/kg/day DBP+20 mg/kg/day resveratrol. Total number of animals were 36 and each group had 6 rats (n=6). At the end of the experiment, kidney tissues were taken from subjects which was sacrificed under high-dose anesthesia; ET-1, Caspase-3 immun stainings and SEM-TEM examinations were performed.

RESULTS: The results showed that DBP and CMC treatments increased renal lipid peroxidation significantly and decreased the RSH level. In addition, TEM and SEM results showed degenerative changes such as deletion, folding and thickening of basement membrane, appearance of an electron dense intramembranous and mesangial deposits, deletion of foot processes in high dose DBP treated group. Resveratrol treatment with low dose DBP significantly recovered degenerative changes however, compared to low dose group, resveratrol was found to have less protective effect while treated with high dose DBP. Treatment with resveratrol led to an improvement in both biochemical and histological alterations induced by DBP or CMC. Immunohistochemical results also supported our electron microscopic findings. Distal tubule and glomerular structures were considered as the most affected parts in kidney by DBP and CMC treatment.

CONCLUSION: These results indicated that DBP caused renal toxicity by inducing lipid peroxidation and morphological alterations. In conclusion, these results suggest that resveratrol protects against DBP-induced nephrotoxicity.

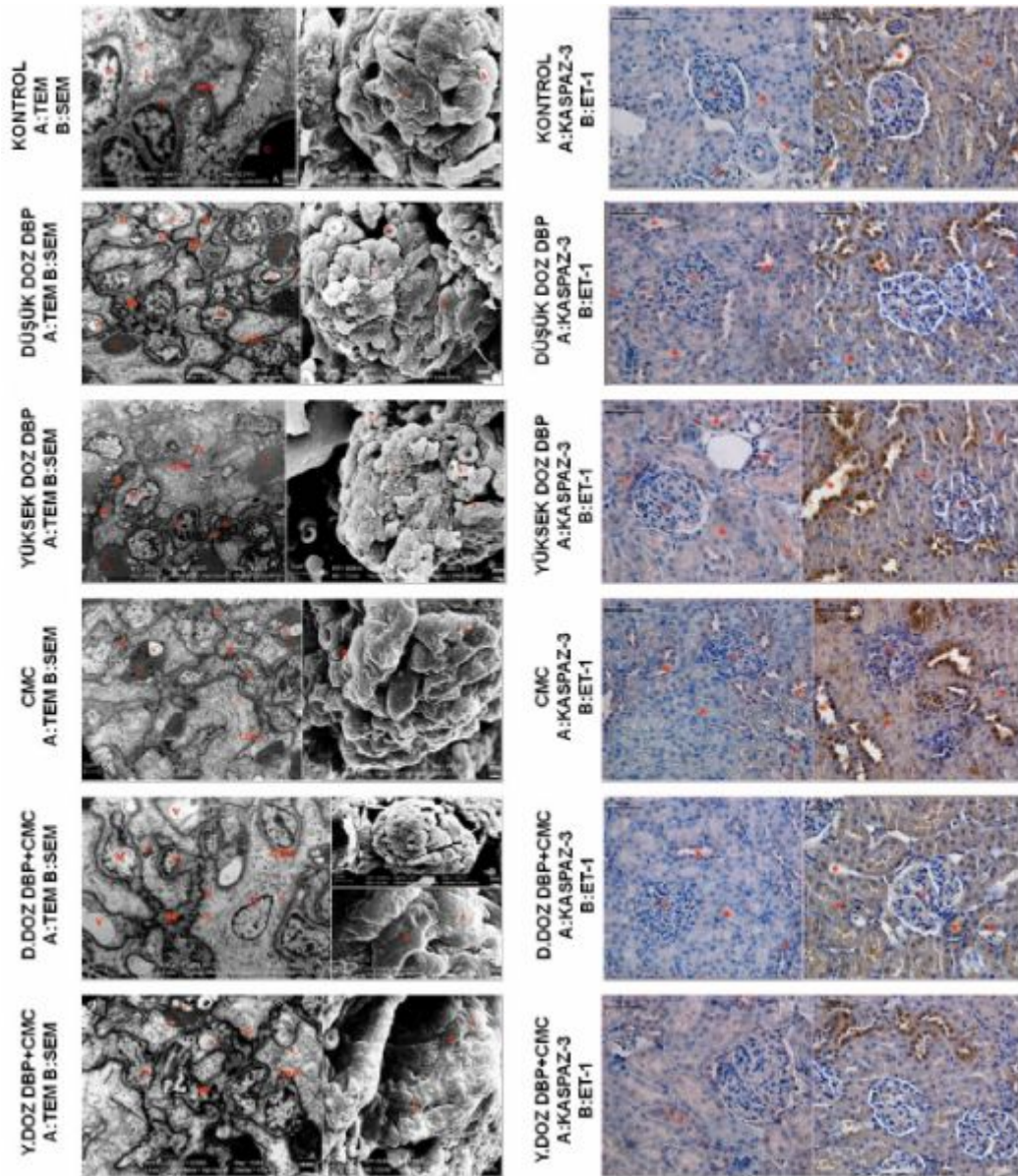
Keywords: DBP, Kidney, Caspase3, ET1, Resveratrol, TEM-SEM

Grafik 1
Graphic 1



İstatistiksel grafikler
Statistical graphics

Resim 1
Figure 1



*Tüm gruplara ait TEM-SEM incelemeleri ile Kaspaz-3 ve ET-1 boyamaları
TEM-SEM examinations and Caspase-3, ET-1 stainings of all groups*

P035

Ratlarda İdrar Alkalinizasyonunun Kolistine Bağlı Nefrotoksisiteyi Önlemedeki Etkisinin İnvivo Olarak Değerlendirilmesi

Berfu Korucu¹, Işık Ünal², Mert Pekcan³, Mehmet Alper Cetinkaya⁴, Fevziye Figen Kaymaz², Kadir Mutlu Hayran⁵, Mustafa Tuğrul Demir⁶, Ahmet Çağkan Inkaya⁷, Murat Akova⁷, Serhat Ünal⁷, Yunus Erdem⁸

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁴Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara, Türkiye

⁵Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁶Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye

⁷Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁸Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nefroloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Kolistin, dirençli hastane enfeksiyonlarında kullanılan yaşamsal önemi olan bir antibiyotiktir. En önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. Böbrek tübüllerinde akut tübüler nekroza neden olur. Kimyasal olarak zayıf asit özellik gösterir. Bu çalışmada, zayıf asit ilaçların toksisitesini azaltmada kullanılan idrar alkalinizasyonunun, kolistin nefrotoksisitesindeki koruyuculuğunun araştırılması hedeflendi. Sprague Dawley ratlar dört gruba ayrıldı. Grup I'e (kontrol); sadece intramusküler steril distile su enjekte edildi. Grup II'ye (kolistin); günlük tartılarına göre intramusküler kolistin enjeksiyonu yapıldı. Grup III'ün (kolistin-bikarbonat); idrar pH düzeyi >7 olana kadar, sodyum bikarbonat verildi. Günlük idrarları pH ve dansite açısından tahlil edildi. Grup IV (kolistin-NaCl)'nun, grup III'ün idrar dansitesini yakalayacak şekilde hidrate edildikten sonra aynı dozda kolistin uygulandı. Çalışma başında ve sonunda idrar örnekleri, çalışma sonunda kan alındıktan sonra, nekropsi yapılarak, böbrekler çıkarıldı. Serum üre değerinde sınırdan anlamlı fark görülmekle birlikte (p=0,046), histolojik değerlendirme ile karşılaştırıldığında klinik olarak korele bulunmadı. Serum kreatinin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,131). Tübüler dejenerasyon Tablo-1'deki skorlama sistemi kullanılarak (0-5) derecelendirildi.

Kontrol grubuna ait böbrek materyallerinde normal yapıda tübül epitel hücreleri izlenirken; kolistin grubunda orta-ağır (3-5 derece) arasında tübüler dejenerasyon, lümene dökülmüş tübül epitel hücreleri, epitelde incelmeye, vakuolizasyon, silendir, damarlarda konjesyon, piknotik nükleuslar izlendi. Kolistin-bikarbonat grubunda daha az tübülün etkilendiği, epitel hücrelerinde dökülme, bazal membrandan ayrılma, tübül lümenlerinde soluk bazofilik boyanan birikimler, az sayıda silendir varlığı, vakuolizasyon ve nekroz saptandı. Tübüllerde hafif- ılımlı artmış (1-4 derece) dejenerasyon izlendi.

Kolistin-hidrasyon uygulanan grupta az sayıda tübülde dilatasyon, epitel hücreleri arasında ayrışma, bazı alanlarda tübül lümenine dökülmüş hücrelere ait piknotik çekirdekler interstisyel ödem izlendi.

Bikarbonat ve NaCl gruplarında kendi aralarında üstünlük saptanmadı (p=0,601). Gruplardan bağımsız olarak idrar dansiteleri ile tübüler dejenerasyon skorları arasında istatistiksel korelasyon saptandı. İdrar dansitesi ne kadar düşükse tübül skorunun o kadar düşük olduğu görüldü (p=0.001). Kolistin nefrotoksisitesinden korumada, idrar alkalinizasyonunun, NaCl ile hidrasyona üstünlüğü yoktur ve benzer şekilde etkindir. İdrar dansitesindeki düşüş ile tübüler koruma korelasyon göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: kolistin, nefrotoksisite, idrar alkalinizasyonu, hidrasyon, idrar dansitesi

In Vivo Evaluation Of Protective Effect Of Hydration With Sodium Chloride Versus Urine Alkalinisation On Colistin Induced Nephrotoxicity In Rats

Berfu Korucu¹, Işık Ünal², Mert Pekcan³, Mehmet Alper Cetinkaya⁴, Fevziye Figen Kaymaz², Kadir Mutlu Hayran⁵, Mustafa Tuğrul Demir⁶, Ahmet Çağkan Inkaya⁷, Murat Akova⁷, Serhat Ünal⁷, Yunus Erdem⁸

¹Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Ankara, Turkey

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara,

Turkey

³Ankara University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biyochemistry, Ankara, Turkey

⁴Hacettepe University Laboratory Animal Research Center, Ankara, Turkey

⁵Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Preventive Oncology, Ankara, Turkey

⁶Hacettepe University Faculty of Medicine, Medical Student, Ankara, Turkey

⁷Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases, Ankara, Turkey

⁸Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Nephrology, Ankara, Turkey

Colistin is a vital antibiotic that is used in drug-resistant nosocomial infections. The most important side effect is nephrotoxicity (Acute tubular necrosis). Colistin is a weak acid. The aim of this study is to evaluate the possible protection of urine alkalinisation that is used in toxicities of weak acids. Sprague Dawley rats were divided into four groups. Group I (control) were injected intramuscular distilled water. Group II (colistin) were injected 750000 IU/kg/day of colistin. Group III (colistin-bicarbonate) were injected same dose of colistin, after they reach urinary pH >7 by addition of bicarbonate in their drinking water. Group IV (colistin-NaCl) were injected the same dose of colistin after reaching Group III's urine density by adding NaCl in their drinking water. Serum urea levels showed borderline statistical difference ($p=0,046$) but, it was not clinically correlated when compared histopathologically. Serum creatinine values showed no statistical difference ($p=0,131$). The tubular degeneration evaluated by light microscopy. According to histological tubular degeneration average scores (scored 0-5, Table-1); Group I scored "0", Group II scored "4,25±0,89", Group III scored "2±1,26", and Group IV scored "1,5±0,55". In Group III and Group IV, protection was achieved against nephrotoxic agent ($p<0,001$).

Normal renal tubule epithelium were observed in the control group.

Mild-marked tubular degeneration was detected in colistin-treated rats, the tubules had pyknotic nuclei, vacuolation in the cytoplasm and sloughed cells were seen within tubular lumina (protein casts).

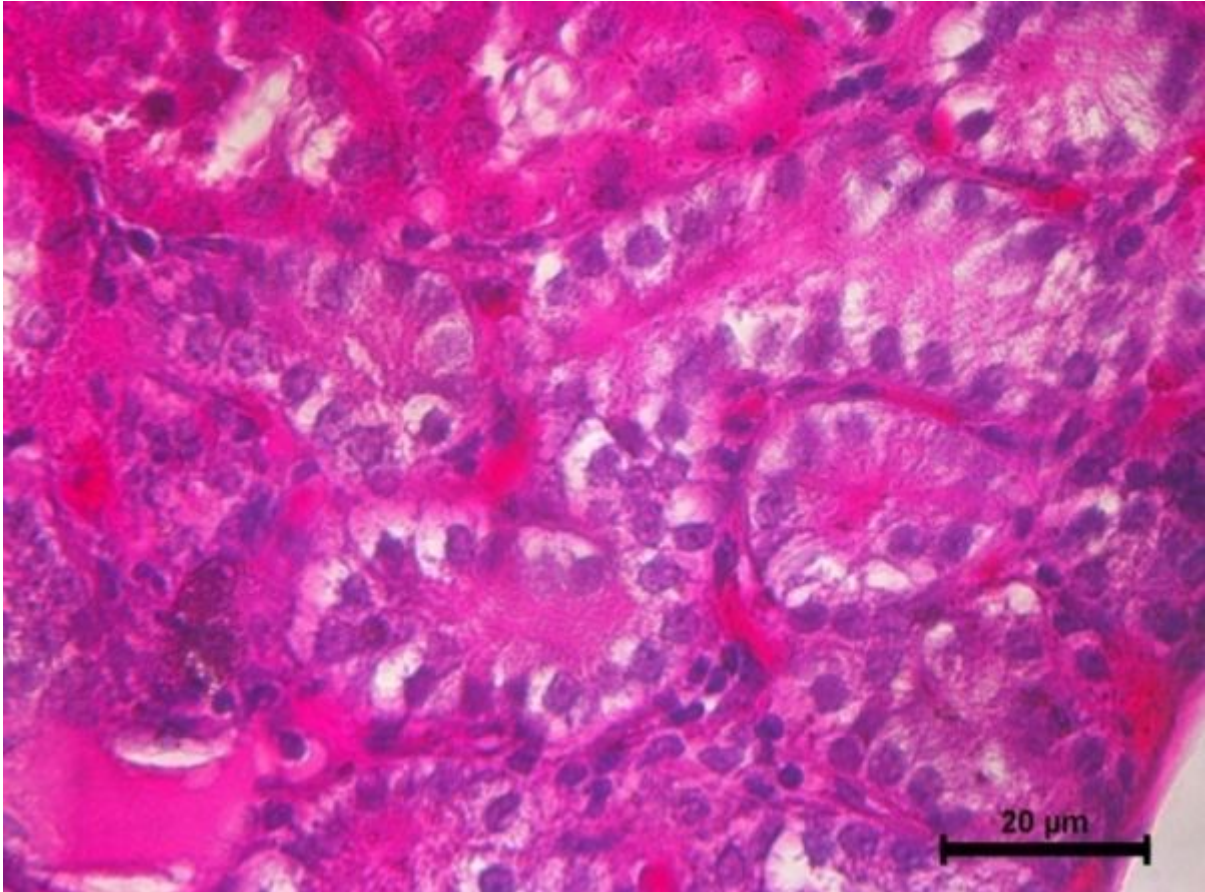
In colistin-bicarbonate group, less tubules were affected, and a small number of protein casts, vacuolization and necrosis were detected (Grade 1-4 tubular degeneration). In some areas pale basophilic accumulations were seen in tubule lumen, loss of epithelial cells and basal membrane separation were detected.

In colistin-NaCl group there were a few dilated tubules with separated epithelial cells. Interstitial edema and pyknotic nuclei of the spilled cells were observed in some of the tubule's lumen.

Bicarbonate group was not superior to NaCl group ($p=0,601$). Urine densities and tubular degeneration scores were statistically correlated independent of the groups. The lower the urine density was, the lower the tubular score ($p=0,001$). Bicarbonate hydration is not superior to NaCl hydration, and both are effective similarly. Decrease in urine density is correlated with tubular protection.

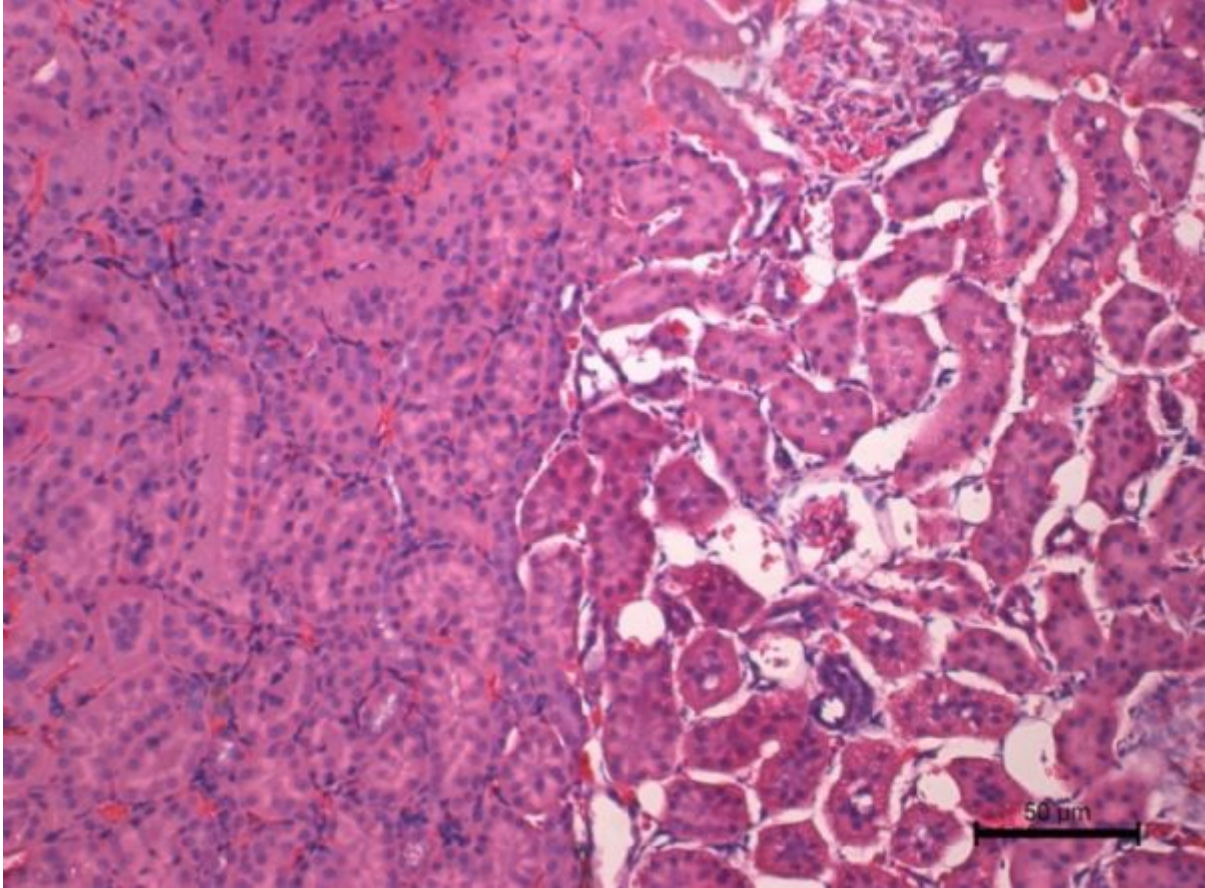
Keywords: colistin, nephrotoxicity, urine alkalinisation, hydration, urine density

Resim-1
Figure-1



Vakuolizasyon, renal korteks. ×63 objektif H&E
Vacuolation of the cytoplasm, renal cortex. Original magnification×63 H&E

Resim-2
Figure-2



Mikrograftta sağ alanda belirgin interstisyel ödem, böbrek biyopsi ×20 objektif H&E
Significant interstitial edema in the right, kidney biopsy ×20 objective H&E

Tablo-1

Skor	Tübül Dejenerasyon Derecesi	Histolojik Bulgular
0	Normal	Normal yapıda böbrek tübül epitel hücreleri
1	Minimal	Parlak eozinofilik sitoplazma, piknotik nükleus içeren hücreler
2	Hafif	Tübül lümenine dökülmüş hücreler ve protein silendirler, piknotik nükleus içeren hücreler
3	Orta	Piknotik nükleusu olan, 2-3 dejenere hücreden oluşan kümeler ve protein silendirler
4	İlımlı	Dejenere hücrelerin oluşturduğu büyük kümeler ve kordonlar, kromatinin tamamen kaybı, birçok tübülün etkilendiği hasar
5	Belirgin- Ağır	Tübüllerin çoğu dejenere hücre kordonları tarafından etkilenmiş ya da bütün tübüllerde dejenerasyon

Tübül dejenerasyon skorlama sistemi, Keirstead ve ark.

Table-1

Score	Tubuler Degeneration Grade	Histopathological Findings
0	Normal	Normal renal tubular epithelial cells
1	Minimal	Tubular cells with brightly eosinophilic cytoplasm and pyknotic nuclei;
2	Slight	Occasional degenerate cells with pyknotic to karyorrhectic nuclei and sloughed cells within tubular lumina (protein casts)

3	Mild	Small clusters of 2–4 degenerate cells with pyknotic nuclei and protein casts
4	Moderate	Larger clusters and chains of degenerate cells, some with complete loss of chromatin, affecting numerous tubules
5	Marked	Majority of tubules affected by chains of degenerate cells, or entire tubular segments affected by degeneration.

The histopathological grading scheme for tubular degeneration, Keirstead et al.

Kaynakça / References: 1. Trinchieri A, Esposito N, Castelnuovo C. Dissolution of radiolucent renal stones by oral alkalinization with potassium citrate/potassium bicarbonate. *Arch Ital Urol Androl* 2009; 81:188. 2. Ghlissi Z, Hakim A, Sila A, et al, Evaluation of efficacy of natural astaxanthin and vitamin E in prevention of colistin-induced nephrotoxicity in therat model. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2014 May; 37(3):960-6 3. Ghlissi Z, Hakim A, Mnif H, et al, Evaluation of colistin nephrotoxicity administered at different doses in therat model. *Ren Fail*. 2013 Sep; 35(8):1130-5 4. Keirstead ND, Wagoner MP, Bentley P, et al, Early prediction of polymyxin-induced nephrotoxicity with next-generation urinary kidney injury biomarkers, *Toxicol Sci*. 2014 Feb; 137(2):278-91 5. W. Patrick Burgess and Phillip J. Walker, Mechanisms of Contrast-Induced Nephropathy Reduction for Saline (NaCl) and Sodium Bicarbonate (NaHCO₃), *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 510385

P036

Renal iskemi reperfüzyon hasarına karşı {*Nigella Sativa*}'nın koruyucu etkisinin incelenmesi

Turhan Çaşkurlu¹, Mehmet Kanter², Mustafa Erboğa³, Zeynep Fidanol Erboğa³, Mustafa Özgül⁴, Gökhan Atış¹

¹İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ

⁴Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Tekirdağ

Bu çalışmada *Nigella sativa*'nın (NS), renal iskemi reperfüzyon (I/R) hasarına karşı etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. 24 adet erkek Sprague-Dawley sıçan üç gruba ayrıldı: Kontrol, I/R, I/R+NS. Renal I/R hasarı oluşturmak için 45 dakika bilateral renal pedikül bağlandı ve 24 saat reperfüze edildi. NS grubuna ise gastrik gavaj yoluyla tek doz 400 mg/kg NS verildi. Renal I/R hasarı sonucunda böbrek tübüllerinde hasar, atrofi ve dilatasyon meydana geldiği, tübül duvarındaki hücrelerin dejenerasyona uğradığı ve fırçamsı kenar yapılarının bozulduğu, böbrek cisimciklerinin atrofiye uğradığı, glomerülerde büzülme ve belirgin mononükleer hücre infiltrasyonunun olduğu görüldü. NS tedavisinin ise renal I/R hasarını iyileştirdiği ve tübülointerstisyel hasar skorunu azalttığı gözlemlendi. Böbrek korteks kesitlerinde PCNA, NFkB p65 ve TUNEL boyamaları yapıldığında pozitif hücre sayılarının I/R grubunda oldukça artmış olduğu görüldü. NS tedavisi sonucunda ise artan PCNA, NFkB p65 ve TUNEL pozitif hücrelerin sayısının I/R grubuna göre azaldığı tespit edildi. Ayrıca NS tedavisi ile renal I/R'ye bağlı olarak artan malondialdehit seviyesinin azaldığı, azalan glutatyon peroksidaz ve katalaz seviyelerinin ise arttığı görüldü. NS tedavisi renal I/R hasarına karşı koruyucu bir etkiye sahiptir. Bu koruyucu etki NS'nin, I/R kaynaklı böbrek hasarını, apoptozisi ve hücre çoğalmasını inhibe etme yeteneğinden gelmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, *Nigella sativa*, Oksidatif stres, Renal iskemi/reperfüzyon hasarı, Sıçan

Protective effect of {*Nigella Sativa*} on renal ischemia/reperfusion injury in rat

Turhan Çaşkurlu¹, Mehmet Kanter², Mustafa Erboğa³, Zeynep Fidanol Erboğa³, Mustafa Özgül⁴, Gökhan Atış¹

¹Department of Urology, Faculty of Medicine, Istanbul Medeniyet University, Istanbul, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Istanbul Medeniyet University, Istanbul, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Namik Kemal University, Tekirdag, Turkey

⁴Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Namik Kemal University, Tekirdag, Turkey

This study was designed to investigate the effect of *Nigella sativa* (NS), in I/R induced renal injury. A total of 24 male Sprague-Dawley rats were divided into three groups: control, I/R and I/R+NS. A rat model of renal I/R injury was induced by 45-min occlusion of the bilateral renal pedicles and 24-h reperfusion. In the NS group, a single dose NS (400 mg/kg orally) was administered by gastric gavage. Renal I/R caused severe histopathological injury including tubular damage, atrophy dilatation, loss of brush border and hydropic epithelial cell degenerations, renal corpuscle atrophy, glomerular shrinkage, markedly focal mononuclear cell infiltrations in the kidney. NS treatment significantly attenuated the severity of renal I/R injury and significantly lowered tubulointerstitial damage score than the I/R group. When kidney sections were PCNA, NFkB p65 and TUNEL stained, there was a clear increase in the number of positive cells in the I/R group rats in the renal cortical tissues. However, there is a significant reduction in the number of PCNA, NFkB p65 and TUNEL positive cells in kidney tissue of renal injury induced by renal I/R with NS therapy. Treatment of renal I/R injury with NS, decreased the elevated tissue malondialdehyde levels and increased the reduced activities of the enzymatic antioxidants glutathione peroxidase and catalase. NS treatment has a protective effect against renal damage induced by renal I/R. This protective effect is possibly due to its ability to inhibit I/R induced renal damage, apoptosis and cell proliferation.

Keywords: Apoptosis, Nigella sativa, Oxidative stress, Rat, Renal ischemia/reperfusion injury

P037

BALB/C türü farelerde TAA indüklü-böbrek hasarına karşı Lipoksin A4'ün koruyucu etkileri

Birgül Yiğitcan¹, Mehmet Gül¹, Elçin Kurtoğlu², Başak Kayahan²

¹İnönü Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Malatya

²İnönü Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Malatya

Lipoksinler in vivo ve iv vitro şartlarda hem anti-inflamatuar hem de çözücü özellikleriyle bilinen lipid mediatörlerinden köken alırlar. Lipoksin A4, gastrointestinal, böbrek, respiratuar, vasküler inflamatuvar hastalıkları içeren hayvan modellerinde ve hastalıkların in vitro modellerindeki anlamlı etkileri, insan hastalıklarının tedavisinde olası kullanımlarını desteklemektedir.

Thioacetamide (TAA), tek dozu ile fibrosiz, nekroz ve inflamasyona sebep olabilen, deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan toksik bir ajandır. TAA indüklü-böbrek hasarı oksidatif stres mekanizması oluşturarak gerçekleştirir.

MATERYAL-METOD: böbrek hasarı için TAA grubuna; TAA, her hayvana 100 mg/kg konsantrasyonda TAA olacak şekilde 12 hafta süresince haftada 3 gün i.p. olarak uygulandı. 14. haftanın sonunda hayvanlar sakrifiye edildi. LXA4 ile tedavi grubunda ise 12 hafta TAA uygulanan farelere 0,5 ug/100ul dozunda LXA4, iki hafta boyunca haftada 2 kez i.p. olarak uygulandı. LXA4'ün son enjeksiyonundan sonraki gün deney sonlandırıldı. Hayvanlardan böbrek organları alınarak %10' luk formaldehit içinde tespit edildi. Histolojik incelemeler için parafine gömülü böbrek bloklarından 5 µm kalınlığında böbrek kesitleri alınarak H&E ve PAS boyama metodları uygulandı. Boyanan kesitler Nikon Optic Hot ışık mikroskop ve DS L3 image analyzing system, DS F2 Nikon Camera ile analiz edildi (Nikon, Tokyo, Japan)

BULGULAR: Hematoksilin&eozin boyamalarında; Kontrol ve LXA4 gruplarında böbreğe ait tüm yapıların normal histolojik yapıda olduğu izlendi. TAA grubunda ise glomeruler kollaps, bowman aralığında kapanma, tübüler dejenerasyon, vasküler konjesyon, inflamasyon alanları mevcuttu.

TAA+ LXA4 grubunda bowman aralıkları kontrol ve LXA4 grubu ile benzer şekilde normal genişlikte izlendi. Ancak glomerüllerde minimal ve orta düzeyde kollaps saptandı.parankimada küçük odaklar şeklinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve minimal düzeyde vasküler konjesyon izlendi.

Periyodik asit schiff (PAS) boyanmalarında; kontrol ve LXA4 gruplarında glomerüler, tübüler bazal membran yapıları normal olarak izlendi. TAA grubunda yer yer bazal membranlardedejenerasyon, kesintili bazal membran boyanması, glomerüler azal membranda kalınlaşma mevcuttu. TAA+ LXA4 grubunda ise glomerüler, tübüler bazal membran yapıları genellikle normal olmakla birlikte yer yer glomerüler bazal membranda kalınlaşma ve tübüler bazal membranda kesintiler rastlandı

Anahtar Kelimeler: böbrek, lipoksin A4, tiyoasetamid

the protective effect of Lipoxin A4 (LXA4) against Thioacetamide-induced kidney injury in BALB/C mice

Birgül Yiğitcan¹, Mehmet Gül¹, Elçin Kurtoğlu², Başak Kayahan²

¹Department of Histology and embryology, Inonu Univecity, Malatya, Turkey

²Department of Medical Byology and Genetics, Inonu Univecity, Malatya, Turkey

Lipoxins are lipoxigenase derived lipid mediators with both anti-inflammatory and proresolution properties that have been demonstrated in vivo and in vitro The significant impact of lipoxin A4, on vitro models of disease, including gastrointestinal, renal, respiratory and vascular inflammatory disorders in vitro models of disease is suggestive of the potential use of these compounds in human therapy.

Thioacetamide (TAA) is a toxic agent that is frequently used in experimental studies is able to cause inflammation, necrosis and fibrosis with a single dose. TAA- induced testes injury mainly occurs by oxidative stress mechanism.

MATERIAL-METHOD: We used 35 BALB/c male mice with a mean weight of 20 g kidney injury was induced by administration of 100mg/kg/mouse TAA by intraperitoneal injection thrice weekly for upto 13 weeks. Also, at the end of this regimen mice were administrated with LXA4 (5ug/kg) i.p. thrice in week during 2 weeks in treatment group. In preventive group, mice were injected with LXA4 (5 ug/kg/mouse) twice weekly for 2 weeks. kidney of the mice were taken and fixed with

10% formaldehyde. Histopathological examination was done after 5 µm kidney sections were obtained from the paraffin-embedded blocks and stained with Hematoxylin & Eosin (HE) and PAS for conventional histopathological examination. Stained sections were analyzed with Nikon Optic Hot light microscop and DS L3 image analyzing system, DS F2 Nikon Camera (Nikon, Tokyo, Japan).

RESULTS: In the sections of control and LXA4 mice, all the structure of kidney, glomeruli, renal tubules were intact. In the TAA group, narrowing of bowmans distance, tubuler degenerasyon, vascular congestion, inflammation area were present. In the TAA+ LXA4 group; distance of Bowmans were similar to control and LXA4 groups. However, collapse that is minimal and mid-level were present in glomeruli. inflammatory cell infiltration and vascular congestion were present in parenchyma as a small focus.

In the sections thats stained by periodic acid schiff (PAS) of control and LXA4 mice, basal membranes which found around Glomeruli and tubules were observed normal. TAA group; degeneration and non-continued of basal membran, thickening of basal membran of Glomeruli were present. In the TAA+ LXA4 group; basal membranes of Glomeruli and tubules were normal histological structure. However thickening of basal membran of Glomeruli and non-contunued basal membran of tubuler were observed in some areas.

Keywords: kidney, lipoxin A4, Thioacetamide

P038

Siçanlarda deneysel osteoartrit modellerinde sık kullanılan bazı boyama yöntemlerinin karşılaştırılması

Fatma Bahar Sunay, Esin Güngör, Derya Tanrıöver, Elif Durmuş, Gülden Turhan
Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.

Osteoartrit, insanlarda son derece sık rastlanan ve bireylerin yaşam kalitesini ciddi olarak bozan eklem kıkırdağında zaman içerisinde artan dejenerasyon ile karakterize bir romatizmal eklem hastalığıdır. Osteoartritin nedeni kesin olarak bilinmemekle birlikte, nasıl başladığı hakkındaki en yaygın görüş; travmaya karşı eklem sıvısı içeren eklemlerde bir reaksiyon olduğu, bunu izleyen dönemde eklemlerde ve eklem komşu kemiklerde yeniden şekillenme ve onarım aşamalarının ortaya çıktığı şeklindedir. Tüm bunların sonucunda, hastalık eklemlerin normal yapısını bozarak, hareketlerde kısıtlanmaya ve ağrıya neden olur. Nedeninin bilinmemesinin yanı sıra, kişinin normal kilosuna inmesi, düzenli egzersiz yapması, ağrısının giderilmesi gibi hastalığın ilerlemesini yavaşlatacak ve hastayı bir miktar rahatlatacak tedbirlerin alınmasının dışında, osteoartritin bilinen, kesin tedavisi de yoktur.

Literatür incelendiğinde; hastalığın nedeni veya tedavisine yönelik deneysel çalışmalarda, genellikle deney hayvanlarında oluşturulan osteoartrit modellerinden yararlanıldığı ve eklemdeki patolojinin eklemi oluşturan kıkırdak, kemik ve sinoviyal dokuların histomorfometrik ölçümleri ile değerlendirildiği görülmektedir. Genellikle diz eklemine kullanılan bu çalışmalarda eklem kesitlerinin boyanmasında farklı boyama yöntemlerinin tercih edildiği dikkat çekmektedir. Ancak kullanılan bu farklı boyama yöntemlerinin birbirlerine üstünlüğü konusunda literatür bilgisi oldukça kısıtlıdır.

Bu çalışmanın amacı deneysel osteoartrit modellerinde sık kullanılan hematoksilen eozin, Masson'un trikromu, safranin-O, van Gieson, alcian mavisi, toluidin mavisi ve periyodik asit Schiff boyamalarının karşılaştırılmasıdır.

Çalışmada, çalışmayı sunan araştırmacının daha önce siçan diz eklemine yapmış olduğu ve yayınladığı bir çalışmanın sham grubunda yer almış olan 6 adet, 250-300 gr ağırlığında, erkek, Sprague-Dawley siçanın sağ ve sol diz eklemleri kullanıldı. Bu grupta yer alan hayvanların eklemlerine ilaç veya solüsyon içermeyen boş iğneler batırılıp çıkartılmıştı. Anestezi altında sakrifiye edilen hayvanların alınan diz eklemleri %10'luk nötral tamponlu formaldehit ile fikse edildikten sonra EDTA ile dekalsifiye edilmişti ve rutin doku takibi işlemlerinden geçirilerek parafine gömülmüştü. Bu eklem bloklarından alınan 5 µm kalınlığındaki seri kesitler hematoksilen eozin, Masson'un trikromu, safranin-O, van Gieson, alcian mavisi, toluidin mavisi ve periyodik asit Schiff boyaları ile boyandı. Kesitler Olympus BX53 marka mikroskop ile incelendi ve DP73 kamera ile fotoğraflandı.

Diz ekleminden alınan parafin kesitlerin yedi farklı boyama yöntemi ile boyandığı bu çalışmada kullanılan boyama yöntemlerinin uygulama kolaylığı, süresi, toksik bileşen içermesi, boyanma kalitesi ve eklemi oluşturan farklı dokuların ayırt edilmesini kolaylaştırması gibi özellikleri incelendi, her bir metodun olumlu ve olumsuz yanları tartışıldı.

Anahtar Kelimeler: kıkırdak histokimyası, safranin-O, toluidin mavisi, van Gieson, alcian mavisi, Masson'un trikromu

Comparison of some staining methods frequently used in experimental osteoarthritis model in rat

Fatma Bahar Sunay, Esin Güngör, Derya Tanrıöver, Elif Durmuş, Gülden Turhan
Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Balıkesir University, Balıkesir, Turkey.

Osteoarthritis is a joint disease characterised by articular cartilage degeneration over a period of time. It is frequently seen and it gives rise to serious damage to life quality. The cause of the disease is not known, but the general concept is the beginning of a reaction in joints after trauma which ends with reformation and renewal in cartilage and neighbouring bones. As a result, the disease breaks the normal structure of the joints, causes pain and movement restriction. In addition to its unknown etiology, the specific treatment of the disease is also unknown, the precautions like losing weight, exercising regularly and relief of pain just enables a slowing down in

the progression of the disease, and provides some relief to the patient.

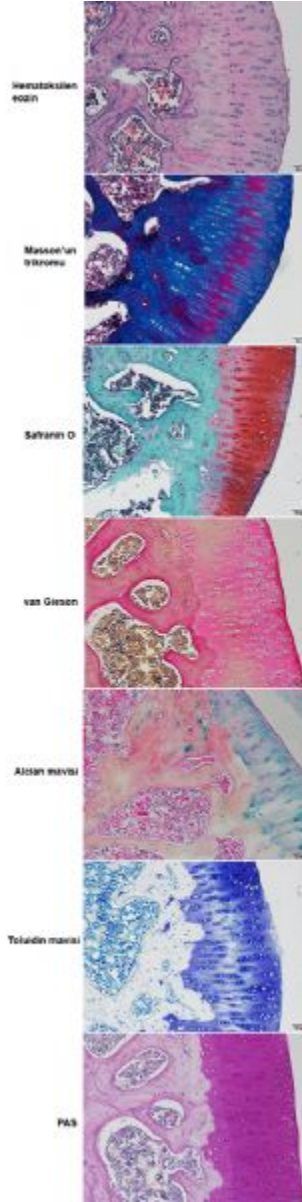
When the literature searched, it is seen that in the experimental studies focusing on the cause or treatment of the disease, researchers usually use experimental osteoarthritis models in laboratory animals and evaluate the histopathology of the joint by cartilage, bone and synovial histomorphometry. These studies usually involve the knee joint, and several different staining methods are used for the staining of the diseased joint. But, there is limited information about the advantages of these methods over each other. The aim of this study is to compare some staining methods that are frequently used in experimental osteoarthritis models, namely haematoxylin-eosin, Masson's trichrome, safranin-O, van Gieson, alcian blue, toluidine blue and periodic acid Schiff staining.

Six male Sprague-Dawley rats weighting 250-300 gr used in this study. The right and left knee joints of these animals were from the sham operated group of a previous published study of the researcher who represents this study. Empty needles, not containing drug or any other solution, had been applied to those animals. Knee joints of euthanized animals had been fixed with 10% neutral buffered formaldehyde, decalcified with EDTA, processed and embedded in paraffin previously. 5 µm thick serial sections were cut from these tissue blocks and stained with haematoxylin-eosin, Masson's trichrome, safranin-O, van Gieson, alcian blue, toluidine blue and periodic acid Schiff stains. Sections were analysed with Olympus BX53 microscope and photographed with DP73 camera.

In this study seven different staining methods were applied to paraffin sections of knee joint, and the favourable or unfavourable aspects of them were discussed in terms of simplicity, duration of staining, toxic substance usage, staining quality and easiness of differentiating different type of tissues constituting the joint.

Keywords: cartilage histochemistry, safranin-O, toluidine blue, van Gieson's stain, alcian blue, Masson's trichrome

Farklı boyalar ile boyanmış eklem kıkırdağı
Articular cartilage stained with different stains.



Kaynakça / References: KAYNAKÇA: 1) HJ MANKIN, H DORFMAN, L LIPPIELLO, A ZARINS: Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. The Journal of Bone and Joint Surgery; 53; 523-537, 1971. 2) N SCHMITZ, S LAVERTY, VB KRAUS, T AIGNER: Basic methods in histopathology of joint tissue. Osteoarthritis and Cartilage; 18; S113-S116, 2010. 3) PC PASTOUREAU, EB HUNZIKER, JP PELLETIER. Cartilage, bone and synovial histomorphometry in animal models of osteoarthritis. Osteoarthritis and Cartilage; 18; S106-S112, 2010. 4) B BERGMANN J MÖLNE I GJERTSSON: The novel bone-inflammation-cartilage (BIC) stain: A novel staining method combining safranin O and Van Gieson'S stains. Journal of Histochemistry and cytochemistry; 63; 737-740, 2015.

P039

Sıçanların Lakrimal Bezlerinde α -SMA, S-100 Protein ve Alt Ünitelerinin Lokalizasyonları

Emel Alan, Narin Liman

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

S-100 proteinleri büyüme, çoğalma, farklılaşma, hücre siklusu, kontraksiyon, apoptosiz, sekresyon ve motilite gibi biyolojik fonksiyonları düzenlemek için diğer proteinlerle etkileşime giren kalsiyum aktivi sinyal proteinleridir. S-100 proteinlerinin immunboyanması, diagnostik patolojide ve histolojik çalışmalarda nöroektodermal kökenli dokuları tespit etmek için kullanılmaktadır. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar S-100 proteinlerinin sadece nöronal bir belirteç değil aynı zamanda kökeni nöroektodermal olmayan dokularda da tespit edildiği yönündedir. Dolayısıyla bu çalışma, erişkin erkek sıçanların intraorbital ve ekstraorbital lakrimal bezinde kalsiyum bağlayan wbS-100, S-100 α ve S-100 β proteinleri ile α -SMA'nın immunohistokimyasal lokalizasyonlarını ortaya koymak amacıyla planlandı. Sıçanlardan anestezi altında lakrimal bezin ekstraorbital ve intraorbital kısımları çıkartıldıktan sonra kalbin sağ atriyumu kesilerek hayvanlar ötenazi edildi. Çıkartılan lakrimal bez doku örnekleri %10 formol-alkol tespit solüsyonunda 12 saat tespit edildi. Rutin histolojik prosedürü takiben parafinde bloklanan dokulardan alınan 4 μ m kalınlığındaki seri kesitlere sırayla wbS-100, S-100 α , S-100 β ve α -SMA proteinlerini belirlemek için Streptavidin-biotin-peroksidaz immunohistokimyasal teknik uygulandı. Ekstraorbital lakrimal bezin asinus epitel, akıtıcı kanal epitel, miyoepitel ve endotel hücrelerinin hem sitoplazmasında hem de çekirdeğinde wbS-100, S-100 α ve S-100 β immunreaksiyonuna rastlandı. İntraorbital bezin bütün yapısal komponentlerinde S-100 α immunreaksiyonu en yoğun derecede çekirdekte gözlenirken, S-100 β immunreaksiyonu sadece asinus epitel hücrelerinin sitoplazmasında bulunan salgı granüllerinin membranında zayıf pozitif. Bununla birlikte ekstraorbital bezin asinus epitel hücrelerinin lateral membranlarında wbS-100 immunreaksiyonu, intraorbital bezin asinus epitel ve akıtıcı kanal epitel hücrelerinin lateral membranlarında ise wbS-100 ve S-100 β immunreaksiyonu belirlendi. Ayrıca her iki lakrimal bezin interstisyel bağ dokusu içinde yer alan makrofajların hem sitoplazmasında hem de çekirdeğinde wbS-100 ve S-100 α immunreaksiyonuna rastlanılırken, çekirdekte S-100 β immunreaksiyonu negatifti. İntraorbital ve ekstraorbital lakrimal bezlerinin miyoepitel hücreleri ile kan damarlarının duvarında yer alan düz kas hücrelerinde ise α -SMA immunreaksiyonu saptandı. Sonuç olarak, sıçanların intraorbital ve ekstraorbital lakrimal bezinin tüm yapısal komponentlerinde kalsiyum bağlayan S-100 proteinlerinin çekirdek, sitoplazma ve hücre membranlarındaki lokalizasyonları dikkate alındığında, bu proteinlerin lakrimal bezlerde başta sekresyon olmak üzere kalsiyum homeostazisi, kontraksiyon, protein sentezi, enzim aktivitesi, vasküler fizyoloji ve yangısal cevap gibi birçok kritik fonksiyonlarının olabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: α -SMA, lakrimal bez, S-100 protein, sıçan

Localizations of α -SMA, S-100 Protein and Its Subunits in the Lacrimal Glands of the Rats

Emel Alan, Narin Liman

Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Erciyes, Kayseri, Turkey

S100 proteins are calcium activated signals proteins that interact with other proteins to regulate the biological functions such as growth, proliferation, differentiation, cell cycle, contraction, apoptosis, secretion and motility. Immunostaining of the S-100 proteins are used to identify the tissues originated from neuroectodermal in diagnostic pathological and histological studies. However, recent studies have determined that S-100 protein is not only the neuronal markers but also detected in non-neuroectodermal origin of the tissue. Therefore, this study was aimed to reveal the immunohistochemical localizations of α -SMA and calcium binding wbS-100, S-100 α and S-100 β proteins in intraorbital and extraorbital lacrimal gland of adult male rats. After extraorbital and intraorbital sections of the lacrimal gland were extracted from the rats under anesthesia, the animals were euthanized by the cutting the right atrium of the heart. Extracted lacrimal glands were fixed in a 10% formaldehyde-alcohol solution for 12 hours. Streptavidin-biotin-peroxidase immunohistochemical technique was used to determine wbS-100, S-100 α , S-100 β and α -SMA proteins to the 4- μ m sections taken from the tissue samples blocked following the routine

histological procedure. Immunoreaction of wbS-100, S-100 α and S-100 β were determined both in cytoplasm and nucleus of the acinus epithelial, duct epithelial, myoepithelial and endothelial cells of extraorbital lacrimal gland. While in all structural components of the intraorbital, S-100 α immunoreaction gland was most densely observed in the nucleus, S-100 β immunoreaction was positive only weak in membrane of secretory granules in the cytoplasm of acinus epithelial cells. Moreover, it was detected that wbS-100 immunoreaction was positive in the lateral membranes of acinus epithelial cells of extraorbital gland, wbS-100 and S-100 β immunoreaction was positive in the lateral membranes of acinus and duct epithelial cells of intraorbital gland. In addition, while wbS-100 and S-100 α immunoreaction were determined both in cytoplasm and nucleus of the macrophages in the interstitial connective tissue of the both lacrimal glands, S-100 β immunoreaction in the nucleus was negative. α -SMA immunoreaction was found in the myoepithelial cells and the smooth muscle cells in the wall of blood vessels of intraorbital and extraorbital glands. In conclusion, in all structural components of intraorbital and extraorbital lacrimal glands of the rats, when the localization of the calcium binding S-100 proteins in the nucleus, cytoplasm and cell membrane was considering, these proteins were play critical roles in especially secretion and biological process such as calcium homeostasis, contraction, protein synthesis, enzyme activity, vascular physiology, inflammatory response in the lacrimal glands.

Keywords: α -SMA, lacrimal gland, rat, S-100 protein

Kaynakça / References: 1-Botelho, H.M., Fritz, G., Gomes, C.M., 2012. Analysis of S100 oligomers and amyloids. *Methods in Molecular Biology* 849, 373-386. 2-Haimoto, H., Hosoda, S., Kato, K., 1987. Differential distribution of immunoreactive S-100 α and S-100 β proteins in normal non-nervous human tissues. *Laboratory Investigation*, 57, 489-498. 3-Hirayama, K., Kagawa, Y., Tsuzuki, K., Kotani, T., Azuma, Y., Yoshino, T., Taniyama, H., 2000. A pleomorphic adenoma of the lacrimal gland in a dog. *Veterinary Pathology* 37, 353-356. 4-Kivelä, T., 1992. Antigenic profile of the human lacrimal gland. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 40, 629-642. 5-Lauboeck, S., Egerbacher, M., 1997. Distribution of S-100 protein and its subunits in bovine exocrine glands. *Histochemistry and Cell Biology* 108, 83-91. 6-Yao, R., Lopez-Beltran, A., MacLennan, G.T., Montironi, R., Eble, J.N., Cheng, L., 2007. Expression of S100 protein family members in the pathogenesis of bladder tumors. *Anticancer Research* 27, 3051-3058.

P040

Coturnix coturnix Türü Japon Bildircinlarının Embriyonik Gelişiminin Ve Alüminyum Sülfat (AL₂SO₄)'ın Embriyonik Gelişimine Etkilerinin morfolojik İncelenmesi

Ümray Dede Toprak¹, Yakup Kaska², Emin Oğuzhan Oğuz¹

¹Pamukkale Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Denizli

²Pamukkale Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Denizli

Coturnix coturnix japonica Phasianidae familyasından bir bildircin türüdür. Bu çalışmada bildircinlerin embriyonik gelişimleri ile embriyonik gelişime alüminyum sülfatın etkisi araştırılmıştır. Bildircinlerin embriyonik gelişimi kuluçka süresinin ilk 8 günü 8 saat aralıkla son 9 günü ise 24 saat aralıklarla gözlemlenmiştir. Yapılan embriyo boy ölçümlerinde 72 saatlik embriyoda nöral kıvrımdan dolayı boy uzunluğunda kısalma, 112'nci saatten sonraki dönemde artış gösterdiği gözlenmiştir. Embriyonik gelişimin 7. Gününden itibaren boy uzunluğu, gaga boyu uzunluğu ve 3. tırnak uzunluk ölçümleri yapılmıştır. Bu değerler karşılaştırıldığında ise 10 günlük kuluçka süresi boyunca ölçümlerin birbirine paralel gittiği, ancak boy uzunluğunda kuluçka süresinin 10. gününden sonra hızlı artış olduğu bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalara uygun olarak embriyonik gelişimin ilk 5 günlük gelişim hızı tavuklardaki embriyolojik gelişimle paralel gittiği daha sonraki dönemlerde daha hızlı büyüme ve gelişme gösterdiği görülmüştür.

Bu çalışmada diğer bir amaç, alüminyum sülfatın bildircinlerde embriyonik gelişim süresinde beyin gelişimine ve olası morfolojik etkilerini araştırmaktır. Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda alüminyum sülfat kuluçka sürelerinin birinci günü yumurtalara ilave edilen embriyolardan inkübasyon süresinin sonunda canlı ve ölü doğum oranlarına ve daha önce tavuklarda yapılan benzer çalışmalara göre kontrol edilmiştir. İncelemenin sonucunda bildircinlerin tavuklara göre alüminyum sülfata karşı daha duyarlı olduğu ve bildircinlerdeki canlı doğum sayısının önemli ölçüde düştüğü görülmüştür. Normal gelişim gösteren embriyolar ile alüminyum sülfat verilen embriyoların morfometrik ölçümleri sonucunda, alüminyum sülfat verilen yumurtalarda gelişen embriyolarda net bir şekilde anomalilikler tespit edilmiştir. Yapılan Ki Kare testine göre yumurtadan çıkan yavruların ölü, canlı ve gelişme geriliği karşılaştırıldığında farklı dozlar ve kontrol (8 grup) aralarında önemli istatistiksel farklar bulunmuştur ($X^2=50.70$, S.D=14, $P<0.0001$).

Malondialdehit (MDA) biyokimyasal oksidatif zararın indikatörlerdendir. Alüminyum sülfat ilavesi yapılmış embriyolarda yapılan ölçümlerinde MDA seviyesinde önemli artış olduğu görülmüştür. Çalışmamızın sonuçlarına göre alüminyum sülfat'ın bildircin embriyolarında genel bir gelişim bozukluğuna neden olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: coturnix coturnix japonica, embriyolojik gelişim, alüminyum sülfate, Malondialdehit Ölçümü

Investigation of Normal and Aluminum Sulfate (AL₂SO₄) Administered Embryological Development of Coturnix coturnix Japanese Quail

Ümray Dede Toprak¹, Yakup Kaska², Emin Oğuzhan Oğuz¹

¹Department of Histology and Embryology, Pamukkale University, Denizli, Turkey

²Department of Biology, Pamukkale University, Denizli, Turkey

Japan quail Coturnix coturnix japonica belongs to Phasianidae family. In this study, investigated the normal embryonic development of quails and effect of aluminum sulfate on embryological development. Embryonic development of quails were observed with 8 hours intervals for the first 8 days of incubation period and then every 24 hours for the next 9 days. It is observed that a decrease in body length of 72nd hour's embryo due to neural convolution and length restarted increase in embryo after 112th hours. The body length, beak length and 3rd nail length were measured after the 7th day of the embryonic development. The development rates were similar in comparison to each other for all parameters during the first 10 days of incubation period. However, the development rate of body length were increased after 10th days of incubation. The development rate were found to be similar to the chicken embryonic development rates in the first

5 days of embryonic development but after the 5th day, the growth and development rates increased as indicated in the previous researches.

In this study, we also aimed to investigate the effects of aluminum sulfate on the development of brain and its possible morphological effect during embryonic development of quails. Embryos were treated with different concentration of aluminum sulfate and the hatching success were investigated at the end of the incubation period and results were compared with previous researches on chicken embryos. Our results showed that quail embryos were more susceptible to aluminum sulfate than chicken embryos and the hatching success in quails were decreased significantly. The morphometric measurements were investigated in normally development embryos and aluminum sulfate treated embryos. The significant abnormal developments were found in embryos of aluminum sulfate treated eggs. According to chi square test there were also significantly statistical differences ($\chi^2=50.70$, $df=14$, $P<0.0001$) between death, alive and undeveloped embryos of different doses and the control (8 groups).

Malondialdehyd (MDA) level, which is one of the indicators of biochemical oxidative damage, were found to be higher in aluminum sulfate treated embryos. According to the results of our study, it can be said that aluminum sulfate causes distinct development deficiencies in quail embryos.

Keywords: coturnix coturnix japonica,embryological development,aluminum sulfate,Malondialdehyde measurement

AL2SO4 ilave edilmiş bıldırcın embriyolarında gelişim bozukluklarının gösterilmesi Demonstrating disorders in the development of quail embryos was added AL2SO4



*AL2SO4 ilave edilmiş bıldırcın embriyolarında gelişim bozukluklarının gösterilmesi(A1,embriyolarda boy kısalığı A2,vitellus kesesi içeri çekilmemiş A3,dış piping aşamasında ölen bıldırcın embriyosu).
Demonstrating disorders in the development of quail embryos was added AL2SO4.A1,short lentgh at the embryos,A2,yolk sac outside.A3,dead quail puppy*

Bıldırcın Embriyolarına Alüminyum Sülfat Enjekte Edilmesinin Gösterilmesi

Demonstrate of Aluminum Sulfate to Injected in The Quail Embryos



*İnkübasyonun birinci gününde bıldırcın yumurtalarının üstü alkol ile dezenfekte edilerek hava boşluğunun bulunduğu yerden farklı dozlarda alüminyum sülfat enjekte edilir
Aluminum sulphate Were Injected With Different Doses Of The Location Of The Air Gap*

Farklı derişiklerde AL₂SO₄ verilen embriyolarda canlı doğan, gelişme geriliği ve gelişmemiş embriyo sayısal verileri.

AL ₂ SO ₄	Canlı doğan	Gelişme geriliği	Gelişmemiş embriyo
CONTROL	7	0	3
SERUM FİZYOLOJİK	6	3	1
100µl/ml	0	0	10
50µl/ml	0	1	9
25µl/ml	0	4	6
12,5µl/ml	1	5	5
6µl/ml	2	4	3
4µl/ml	4	5	1

bıldırcın embriyolarına verilen alüminyum sülfat miktarı arttıkça ölü doğumlar ve gelişme geriliği artmıştır

Administration of AL₂SO₄ at different concentrations to embryos and their survivorship and fate of development.

AL ₂ SO ₄	ALIVE BIRTHS	GROWTH DEFİCİENCY	UNDEVELOPED EMBRYO
CONTROL	7	0	3
SALİNE	6	3	1
100µl/ml	0	0	10
50µl/ml	0	1	9
25µl/ml	0	4	6
12,5µl/ml	1	5	5
6µl/ml	2	4	3
4µl/ml	4	5	1

İncrease the amount of aluminum sulfate, increased stillbirth and growth retardation at the quail embryos

P041

Koyun fötüslerinde ileal müsinlerin prenatal gelişimi ve histokimyasal özellikleri

Mehmet Özbek¹, Emel Ergün¹, Feyzullah Beyaz², Levent Ergün¹, Nuh Yıldırım¹, Özge Özgenç¹, Füsün Erhan¹

¹Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

İntestinal mukozanın fonksiyonel bütünlüğü, koordineli bir şekilde düzenlenen mukus katmanına, hücreler arası sıkı bağlantılara, epitel hücrelerine, doğal ve edinilmiş immun yanıtlara bağlıdır. Kadeh hücreleri tarafından sentezlenen ve epitel katmanını çevreleyen mukus, istenmeyen bağırsak içeriklerinin eliminasyonunu sağlarken sindirim yoluyla alınan mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattını oluşturur. Koyun fötüslerinde intestinal müsinlerin dağılımıyla ilgili herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Yapılan çalışmanın amacı, prenatal gelişim sırasında bağırsakla ilişkili lenfoid dokunun (GALT) gelişimine bağlı olarak koyun fötüslerinin ileal epitelinde müsin dağılımındaki değişiklikleri ortaya koymaktır. Araştırmada, materyal olarak Ankara ve çevresindeki mezbahalardan sağlanan 70 - 136 gün arasındaki 20 adet Akkaraman ırkı koyun fötüsü kullanıldı. Periyodik Asit Schiff (PAS) boyaması sonucunda, rudimenter villuslar, intestinal villuslar, kriptler ve folliküle ilişkili epitellerdeki (FAE) kadeh hücrelerinde yoğun PAS pozitif reaksiyon belirlendi. Villus intestinalisler, kriptler ve FAE'î çevreleyen hücrelerin apikal yüzlerinde şerit tarzında PAS pozitif reaksiyon dikkati çekti. Enterositlerin sitoplazmasında gözlenen PAS pozitif reaksiyonun prenatal dönemin ilk başlarından, doğuma kadarki döneme doğru belirgin şekilde azaldığı görüldü. Asidik müsinler, ilk olarak gebeliğin 92. gününde villus intestinalis ve kriptlerindeki kadeh hücrelerinde gözlemlendi. Gebeliğin 111. gününden 136. gününe kadarki dönemde ise asidik müsinler ileal villus intestinalislerdeki kadeh hücrelerinde baskın müsin tipi olarak dikkati çekti. Mikst ve nötral müsin içeren kadeh hücreleri gebeliğin her döneminde gözlemlendi. Bununla birlikte sialomüsin ve sülfomüsin içeren kadeh hücrelerine ilk defa gebeliğin 77. günündeki fötüslerin ileal kriptlerinde rastlandı. Gebeliğin 84. gününde ise kript ve villus intestinalislerde mikst müsin (sialomüsin-sülfomüsin) içeren kadeh hücrelerine ilk defa rastlandı. Gebeliğin 126. gününden itibaren sialomüsin içeren kadeh hücreleri daha çok villusların tepe kısımlarında gözlemlendi. Gebeliğin 136. gününde mikst müsin içeren kadeh hücrelerinin villus intestinaliste baskın bir dağılım sergilediği dikkat çekti. Sonuç olarak, prenatal dönemde koyun fötüslerinin intestinal kanalında farklı karakterde müsin tiplerinin bulunması, yutulan amniyotik sıvı içerisindeki metabolitlere ve salgılanan safra asitlerine karşı bağırsak epitellerinde koruyucu bir etki oluşturabilir. Bununla birlikte, koyun fötüslerinin barsaklarındaki müsinler, intrauterin dönemde mekonyum oluşumuna katılabilirken, asit müsinler doğum sonrasında tam olarak fonksiyonel olmayan gastrointestinal kanaldaki potansiyel patojenlere ve sindirim enzimlerine karşı güçlü bir intestinal bariyer oluşturabilir.

Anahtar Kelimeler: Fötüs, İleum, Kadeh hücresi, Koyun, Müsin

The prenatal development and histochemical properties of the ileal mucins in the ovine fetuses

Mehmet Özbek¹, Emel Ergün¹, Feyzullah Beyaz², Levent Ergün¹, Nuh Yıldırım¹, Özge Özgenç¹, Füsün Erhan¹

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey

²Departments of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

The functional integrity of the intestinal mucosal epithelial cells depends on the coordinated regulation of the mucus layer, the intercellular tight junctions, epithelial cells, and host innate and adaptive immune response. The mucus layer covering the gastrointestinal tract is the front line of innate host defense, largely due to the secretory products of intestinal goblet cells. There are no certain studies regarding the distribution of intestinal mucins in fetuses of sheep. In this study, we therefore planned to describe the changes in the mucin production by ileal epithelium of sheep fetuses with respect to the development of GALT during prenatal growth. For this study, twenty

healthy Akkaraman sheep fetuses with gestational ages varying between 70 and 136 days were obtained from the abattoirs in Ankara province. The intensely Periodic acid–Schiff (PAS) positive reaction was determined on the goblet cells found in rudimentary villi, villi and FAE. A PAS positive reaction was seen in the style of stripe on apical surfaces of cells covering villi, crypts and FAE. The PAS positive reaction in the cytoplasm of enterocytes was remarkably decreased from initiation of the prenatal period to stage of birth. At 92 days of gestation, the acidic mucins were firstly observed in the goblet cells of villi and crypts. At the stage from 111 days of gestation to 136 days of gestation, the acidic mucins were seen as dominant mucin type in the goblet cells of ileal villi. The goblet cells containing mixed and neutral mucins were determined all stages of gestation. At the 77 days of gestation, Besides, the goblet cells containing sialo- and sulfomucins were firstly observed in crypts. At the 84 days of gestation, the goblet cells containing mixed mucins were firstly found in villi and crypts. The starting from 126 days of gestation, the goblet cells containing sialomucins were especially seen in the apex of villi epithelium. At the 136 days of gestation, the goblet cells containing mixed mucins were dominantly distributed in villi. Consequently, the presence of different mucins in the ileum of sheep fetuses throughout prenatal development might play a role in the protection of the intestinal mucosa against urinary waste products in swallowed amniotic fluid and bile acid residues. Furthermore, mucins can contribute to the formation of meconium in intra-uterine life and building of strong intestinal barrier with predominating acid mucins, protecting the intestine against potential pathogens and digestive enzymes after birth.

Keywords: Fetus, Goblet cell, Ileum, Mucin, Sheep

P042

Astenozoospermili Hastalarda *in vitro* Sperm Parametreleri Üzerine Pentoksifilinin Doza ve Uygulama Süresine Bağlı Etkileri

Elif Sözen, Elvan Özbek

Sakarya Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Sakarya

GİRİŞ: Çalışmamızda astenozoospermili hastalarda, *in vitro* sperm motilitesi üzerine pentoksifilinin doza ve uygulama süresine bağlı etkilerini gözlemek ve en etkili konsantrasyon ve süreyi saptamak amaçlanmıştır.

MATERİYAL-METOD: Çalışmamızda Üroloji polikliniğine başvuran 20 astenozoospermili hastanın atık durumdaki semen örneklerinden 0,5 ml alınarak kontrol ve iki tane deney grubu olmak üzere üç eşit parçaya ayrıldı. Kontrol grubuna wash solüsyonu ve distile su karışımından hazırladığımız kontrol grubu solüsyonu eklendi. İki deney grubundan birine 4,8 mM, diğerine ise 5,6 mM pentoksifilin ilave edildi. Kontrol ve deney gruplarından her biri, eklenilen solüsyonlarla 10 dakika ve 20 dakika olmak üzere iki ayrı sürede etüvde inkübe edildi. Toplamda 6 çalışma grubu oluşturuldu. 10 µl semen-solüsyon karışımı Makler kamarasına konuldu; 20x objektifte kare sistemi gözetilerek sperm sayımı yapıldı. Bulunan sayısal değerler progresif hareket (A), yerinde hareket (B) ve hareketsiz (C) olmak üzere 3 kategoride incelendi.

SONUÇ: Işık mikroskopik olarak Makler kamarasında yapılan gözlemler sonucunda kontrol grubu ile deney grubu arasında, A ve B kategorileri yönünden yapılan karşılaştırmalarda kontrol grubuna oranla deney gruplarının sperm motilitelerinde istatistiksel bir artışın olduğu tespit edildi. Bu artış 5,6 mM pentoksifilin dozunda ve 20 dakika inkübasyonda en fazlaydı. Hareketsiz (C) sperm sayıları karşılaştırıldığında, iki deney grubunda da kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görüldü. Deney gruplarındaki ölü olmayan hareketsiz spermlerin belirli bir süre sonra B kategorisine, daha sonra ise A kategorisine geçtiği görüldü.

TARTIŞMA:Elde edilen verilerin, pentoksifilinle ilgili çelişkili sonuçların aydınlanmasına ve sperm motilitesi açısından kullanılacak en uygun dozun ve sürenin belirlenmesine katkı sağlayacağı inancındayız.

Anahtar Kelimeler: Astenozoospermia, *in vitro*, Pentoksifilin, Sperm motilitesi

Effects of pentoxifylline on *in vitro* sperm parameters in terms of the dose and application time in patients with asthenozoospermia

Elif Sözen, Elvan Özbek

Department of Histology and Embryology Faculty of Medicine, Sakarya University, Sakarya, Turkey

INTRODUCTION: In this study, the aim is to observe the effects of pentoxifylline on *in vitro* sperm motility in terms of the dose and application time in patients with asthenozoospermia and to determine the most efficient concentration and application time.

MATERIALS&METHOD: We collected waste semen samples of 20 asthenozoospermia patients who were admitted to our Urology clinic and 0.5 ml samples were divided into three groups such as one control and two experimental groups. Mixture of the wash solution and distilled water was added to control group samples. We added 4.8 mM and 5.6 mM pentoxifylline separately to experimental group samples. Then, each of the control and experimental group samples were incubated in the oven for 10 minutes or 20 minutes. There were totally 6 study groups. The 10 µl semen-solution mixture was put on the Makler counting chamber and sperm numbers were counted by using square system with 20X objective. The numerical numbers were examined in three categories for sperm motility such as progressive motility (A), motile in its place (B) and immobile (C).

RESULTS: As a result of observations under the light microscope on the Makler counting chamber, there was a statistically significant increase in sperm motilities (A and B categories) in experimental groups compared to control group. This increase was higher when semen samples

were incubated with 5.6 mM pentoxifylline for 20 minutes. There was a significant decrease in immobile (C) sperm numbers in both experimental groups compared to control group. It was observed that alive but immobile sperms in experimental groups were involved in the B category group after a while. Then, they started to be involved in the A category group.

CONCLUSION: Conclusively, we believe that our findings can clarify the conflicting results related to the pentoxifylline use in asthenozoospermia. Our results can contribute to the literature about the most efficient dose and application time of pentoxifylline in case of sperm motility.

Keywords: Asthenozoospermia, in vitro, Pentoxifylline, Sperm motility

Kaynakça / References: Henkel RR, Schill WB. (2003). Sperm preparation for ART. *Reprod Biol Endocrinol*, 1: 108. Mehrannia T. (2009). The Effect of Pentoxifylline in semen preparation for intrauterine insemination. *Pak J Med Sci*, 25(3): 359-363. Pang SC, Chan PJ, Lu A. (1993). Effects of pentoxifylline on sperm motility and hyperactivation in normozoospermic and normokinetic semen. *Fertil Steril*, 60(2): 336-43. Terriou P, Hans E, Giorgetti C, Spach JL, Salzmann J, Urrutia V, Roulier R. (2000). Pentoxifylline Initiates Motility in Spontaneously Immotile Epididymal and Testicular Spermatozoa and Allows Normal Fertilization, Pregnancy, and Birth After Intracytoplasmic Sperm Injection. *J Assist Reprod Genet*, 17(4): 194–199.

P043

Resveratrol ve CAPE (Kafeik asit fenil ester)'nin Permetrinin neden olduğu fetotoksisite üzerine etkilerinin değerlendirilmesi

Yasemin Yüksel¹, Esra Aslan², Korhan Altunbaş³, Murat Tosun², Hasan Hüseyin Demirel⁴, Özlem Özden Akkaya³, Ramazan Yüksel⁵

¹Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tüp Bebek Ünitesi, Ankara

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

³Afyon Kocatepe Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi Bayat Meslek Yüksekokulu, Patoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

⁵Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara

GİRİŞ-AMAÇ: Bu çalışmada pretroid intektisitlerin en çok kullanılan türlerinden birisi olan olan permetrin'in (1,2,3) fetüs üzerine toksik etkileri araştırıldı. Ayrıca antioksidan ve antiinflamatuvar (4,5) etkileriyle bilinen resveratrol ve Kafeik asit fenil ester (CAPE)(6), permetrin uygulanan gruplara verilerek permetrinin neden olabileceği fetotoksik hasar üzerine koruyucu etkilerinin olup olmadığı araştırıldı.

MATERYAL-METOD: 48 adet wistar-albino gebe rat sırasıyla 8 gruba (n=6) ayrıldı. Grup 1:(kontrol, tedavi yok), Grup 2:(taşıt madde verilen grup (alkol ve mısır yağı)), Grup 3:150mg/kg (1/10 LD50) permetrin, Grup 4: 300 mg/kg (1/5 LD50) permetrin, Grup 5: 150mg/kg permetrin+50 mg/kg resveratrol, Grup 6: 300 mg/kg permetrin+50mg/kg resveratrol, Grup 7: 150 mg/kg permetrin+10µM CAPE, Grup 8: 300 mg/kg permetrin+10µM CAPE verildi. Tüm uygulamalar gavaj yoluyla yapıldı. Permetrin sadece gebeliğin 7. ve 14. günlerinde, resveratrol ve CAPE permetrine ek olarak 7,10,13 ve 16. günlerde verildi. Ratlardan gebeliklerinin 18. Gününde sezaryen kesisi ile yavrular çıkarıldı. Histopatolojik olarak fetüslerin akciğer, karaciğer, böbrek ve ince barsak gelişimleri değerlendirildi. Immunohistokimyasal olarak kıkırdak doku gelişiminde BMP4 ve akciğer ve böbrekte FGF-1 protein ekspresyonlarına bakıldı.

BULGULAR: Kontrol grubunda tüm yapılar normal görünümde izlendi. Hematoksilen-eosin boyama sonrası taşıt madde verilen grupta karaciğerde hafif konjesyon ve ödem görüldü. Permetrin verilen gruplarda doza bağımlı olarak hasar bulgularında artış saptandı. Hematoksilen-eosin boyama sonrası akciğer dokusunun incelenmesinde, bronşial ve primitif alveolar gelişimde gerileme, interalveolar septal dokuda kalınlaşma ve epitelyal hücrelerde hasar gözlemlendi. Karaciğer dokusunun incelenmesinde, santral ven etrafında konjesyon ve ödem, sinüzoidal dilatasyon gözlemlendi. Böbreklerin incelenmesinde glomerül ve tübül oluşumunun diğer gruplara göre geri olduğu ve tübül epitelinde dejenerasyon izlendi. İnce barsakta, villus yapısında düzensizlik, epitelde dejenerasyon görüldü. Resveratrol ve CAPE verilen gruplarda hasar bulgularında kısmen azalma izlendi. CAPE uygulanan gruplarda resveratrol verilen gruplara göre hasar bulgularında daha az olduğu görüldü. BMP4 boyaması sonrası kıkırdak ve kemikleşme bölgeleri incelendi. Kontrol ve taşıt maddenin verildiği gruplarda benzer oranda boyanma izlenirken, permetrin dozu artırıldıkça BMP4 ekspresyonunda azalma gözlemlendi. Resveratrol eklenen grupta yalnız permetrin verilen gruplara göre kondrosit hücrelerinde BMP4 ekspresyonlarında artış izlenirken, CAPE eklenen grupta resveratrol verilen gruba benzer oranlarda BMP4 ekspresyonlarında artış izlendi. FGF-1 antikoru ile akciğer ve böbrek dokularında epitelyal alandaki ekspresyonlar incelendi. Kontrol ve taşıt madde verilen gruplarda ekspresyon fazla iken, permetrin uygulanan gruplarda doza bağımlı olarak FGF-1 ekspresyonlarının azaldığı, resveratrol ve CAPE verilen gruplarda da permetrin uygulanan gruplara yakın değerlerde olduğu gözlemlendi.

SONUÇ: Permetrin uygulamasının doza bağımlı olarak gebe ratların fetüslerinde akciğer, karaciğer, böbrek ve ince barsaklarda doku düzeyinde hasara neden olduğu, resveratrol ve CAPE ile bu hasarların ılımlı olarak azaldığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Permetrin, Resveratrol, CAPE, Fetotoksisite, Rat

Evaluation the effects of Resveratrol and CAPE (caffeic acid phenyl ester) on foetotoxicity caused by Permethrin

Yasemin Yüksel¹, Esra Arslan², Korhan Altunbaş³, Murat Tosun², Hasan Hüseyin Demirel⁴, Ramazan Yüksel⁵

¹In vitro Fertilization Unit, Zekai Tahir Burak Women Health Education and Investigation Hospital, Ankara

²Department of Histology and Embryology, Afyon Kocatepe University Medical Faculty, Afyonkarahisar

³Department of Histology and Embryology, Afyon Kocatepe University Veterinary Faculty, Afyonkarahisar

⁴Department of Pathology, Afyon Kocatepe University Bayat Vocational School, Afyonkarahisar

⁵Department of Physiology, Yildirim Beyazıt University Medical Faculty, Ankara

BACKGROUND and AIM: In this study, fetotoxic effects of permethrin (1,2,3), is one of the most widely used pyrethroid insecticides, were investigated. In addition, resveratrol (4.5) and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) (6), are known for antioxidant, anti-inflammatory properties, were given to the permethrin-treated groups to investigate whether the protective effects on fetotoxic damage caused by permethrin.

MATERIALS-METHODS: 48 pregnant Wistar albino rats were separated into 8 groups (n = 6), respectively. Group 1: (control, no treatment), Group 2 (vehicle substance-treated group (alcohol and corn oil)), Group 3: 150 mg/kg (1/10 LD50) permethrin Group 4: 300 mg/kg (1/5 LD50) permethrin, Group 5: 150 mg/kg permethrin+50 mg/kg resveratrol, Group 6: 300 mg/kg permethrin+50mg/kg resveratrol, Group 7: 150 mg/kg permethrin+10 µM CAPE, Group 8: 300 mg/kg permethrin+10 µM CAPE were administered to the rats orally. Permethrin was administered to rats on 7th and 14th days of pregnancy, in addition resveratrol and CAPE were given on 7,10,13 and 16th days of pregnancy. Rat pups were removed by cesarean incision prenatal 18th days. Histopathological examination of the fetal lung, liver, kidney tissues were evaluated. The immunohistochemical expression of BMP4 in the development of cartilage and FGF-1 protein expression in lung and kidney were investigated.

RESULTS: All structures were observed normal histology in control group. After H&E staining, mild congestion, edema were seen in liver in vehicle group. In permethrin groups, dose-dependent increase in damage findings were observed. In examination of lung tissue, bronchial and primitive alveolar development was back compared to controls and thickening of interalveolar septal tissue and damage in epithelial cells were observed. Sinusoidal dilation, congestion and edema were seen in liver. Development of glomeruli and tubules were back to controls and tubular epithelial degeneration was observed in kidney. In small intestine, the villi irregularities were observed with epithelial degeneration. Resveratrol and CAPE groups partly decreased signs of damage. Control and vehicle group showed similar findings, permethrin group showed decrease in the expression of BMP4 dose-dependently. Resveratrol and CAPE group demonstrated more expression of BMP4 compared to permethrin alone groups. FGF-1 expression in lung and kidney were examined. While control and vehicle groups show intensive expression of FGF-1 in epithelial tissue, FGF-1 expressions reduced in permethrin, resveratrol and CAPE groups.

CONCLUSION: Permethrin caused dose-dependent fetotoxicity in lung, liver, kidney and in the small intestine, Resveratrol and CAPE mildly decreased these findings and partially protected fetus from permethrin caused toxicity.

Keywords: Permethrin, Resveratrol, CAPE, Fetotoxicity, Rat

Kaynakça / References: 1. Cinzia Nasuti, Patrizia Fattoretti, Manuel Carloni, Donatella Fedeli, Massimo Ubaldi, Roberto Ciccocioppo and Rosita Gabbianelli. Neonatal exposure to permethrin pesticide causes lifelong fear and spatial learning deficits and alters hippocampal morphology of synapses. *Journal of Neurodevelopmental Disorders* 2014, 6:7 2. D Guvenc, YB Kabak, E Atmaca, A Aksoy, T Guvenc. Examination of caspase-dependent apoptotic and necrotic changes in rat kidney exposed to different doses of permethrin. *Biotechnic & Histochemistry* 2013, 88(2): 76–85. 3. M.S. Dhivya Vadhana, S. Siva Arumugam, Manuel Carloni, Cinzia Nasuti, Rosita Gabbianelli. Early life permethrin treatment leads to long-term cardiotoxicity. *Chemosphere* 93 (2013) 1029–1034 4. A. Amri, J.C. Chaumeil, S. Sfar, C. Charrueau. Administration of resveratrol: What formulation solutions to bioavailability limitations?. *Journal of Controlled Release* 158 (2012) 182–193 5. 5. Narendra P. Singh, Ugra S. Singh, Mitzi Nagarkatti, and Prakash S. Nagarkatti. Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) protects pregnant mother and fetus from the immunotoxic effects of TCDD *Mol Nutr Food Res.* 2011 February; 55(2): 209–219. 6. 6. Chi-Fung Chan, Ka-Wai Cheung, Daniel Man-

Yuen Sze. The Immunomodulatory and Anticancer Properties of Propolis Godfrey. *Clinic Rev Allerg Immunol* (2013) 44:262–273

P044

İn Vitro Embriyo Kültürü Ve Embriyo Transferinin Fetal Fare Trakeasında Bazal Hücrelerin Sayısı Üzerine Etkisi

Göksel Doğan, Levent Karagenç

Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Aydın

AMAÇ: Sunulan çalışmanın amacı, atmosferik oksijen konsantrasyonu şartları altında gerçekleştirilen in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferinin fare fetüslerinde trakeal bazal hücrelerin sayısını etkileyip etkilemediğini belirlemektir.

Materyal-YÖNTEM: Sunulan çalışmada bir Kontrol grubu ve bir Deneme grubu olmak üzere iki grup yer almıştır. Deneme grubu in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi aracılığı ile elde edilen fetüsleri içermiştir. Her iki grupta da, fetüsler gebeliğin 18. gününde (18.5 d.p.c.) izole edilerek, bireysel olarak tartılmışlar ve trakea dokuları elde edilmiştir. Trakea dokusunda bazal hücreleri belirlemek amacıyla immunofloresan ve immünohistokimya boyama yöntemleri kullanılmıştır. Bazal hücrelerin belirlenmesinde p63 (D-9) (1/100, sc-25268) primer antikoru kullanılmıştır. Ayrıca trakea epitel kalınlıkları ve trakea lümeni yüzey alanları da ölçülmüştür.

SONUÇLAR: Sunulan çalışmadan elde edilen veriler, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Deneme grubu fetüs ağırlıklarının önemli ölçüde az olduğunu göstermiştir. Epitel tabaka kalınlıkları arasında her iki grupta da bir fark saptanamamış, ancak trakea lümeni yüzey alanının Kontrol grubunda önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Bazal hücre sayılarının, Kontrol grubuna ait fetüslerde Deneme grubu ile kıyaslandığında önemli derecede azaldığı saptanmıştır. Korelasyon analizleri bazal hücre sayılarının her iki grupta da trakea lümeni yüzey alanı ve fetüs ağırlığından bağımsız olduğunu göstermiştir.

TARTIŞMA: Sunulan çalışmada bazal hücrelerin sayısı açısından iki grup arasında saptanan farklılığın, hücre proliferasyonu ve/veya apoptozis ya da bazal hücrelerin sekretuar hücrelere ve silli hücrelere farklılaşmalarından kaynaklanıp kaynaklanmadığının, daha ayrıntılı olarak araştırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fetal trakea, bazal hücre, p63, in vitro embriyo kültürü ve embriyo transferi

Effect Of In Vitro Embryo Culture And Embryo Transfer On The Number Of Basal Cells In The Fetal Mouse Trachea

Göksel Doğan, Levent Karagenç

Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey

PURPOSE: The aim of the present study was to determine whether or not in vitro embryo culture and embryo transfer performed under atmospheric concentrations of oxygen affects the number of tracheal basal cells in mouse fetuses.

Experimental: The present study had two study groups: one Control group and one Experimental group. Experimental group consisted of fetuses obtained through embryo culture and embryo transfer. In both groups, pregnant mice were sacrificed on day 18 of gestation (18.5 d.p.c.), fetuses were weighed individually and tracheal tissue samples were obtained. Immunofluorescence and immunohistochemistry were used to reveal basal cells in the trachea. For detection of basal cells, p63 (D-9) (1/100, sc-25268) was used as a primary antibody. Surface area of the tracheal lumen along with the thickness of the epithelial layer was also measured.

RESULTS: Data gathered from the present study indicated that fetuses in the Experimental group weighed significantly less compared to those of the Control group. The surface area of the tracheal lumen was significantly higher in the Control group, whereas the thickness of the epithelial layer did not differ between the two groups. The number of basal cells was significantly reduced in the Control group compared to that of the Experimental group. Correlation analyses indicate that the

number of basal cells observed in both groups is independent of the fetal weight and the surface area of the tracheal lumen.

DISCUSSION: Further experiments are warranted in the light of the evidence gathered in the present study to determine whether or not the difference observed between the two groups as for the number of basal cells is due to cell proliferation and/or apoptosis or due to the differentiation of basal cells to ciliated as well as to secretoric cells.

Keywords: Fetal trachea, basal cell, p63, in vitro embryo culture and embryo transfer

P045

Preeklampsi Hastalarının Plasentalarında İmmunohistokimya Metodu ile Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü, Annexin A5 ve Apelin'in Histopatolojik Rolünün İncelenmesi

Neşe Cölçimen¹, Gülay Bulut², Özlem Ergül Ergeç³, Murat Çetin Rağbetli¹

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi Patoloji Ana Bilim Dalı

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fiziyojoloji Ana Bilim Dalı

Giriş

Preeklampsi, 20 gebelik haftasından sonra ortaya çıkan hipertansiyon ve proteinüri ile karakterize bir hastalıktır. Gebeliklerin %2-7 sinde rastlanılan, gebeliğe özgü bir hastalıktır(1). Preeklampsi maternal ve perinatal mortalite ve morbiditenin önemli bir nedenidir. Preeklampsinin patofizyolojisi halen tam olarak bilinmemektedir. Preeklampsi endotelial hücre disfonksiyonu, yetersiz trofoblastik invazyon ile birlikte olan anormal plasentasyon ile karakterizedir(2). Çalışmamızın amacı, hastalığın patofizyolojisinde yatan bu görüşten yola çıkarak anjiyogenik sitokin olan vasküler endotelial growth faktör(VEGF), endogen peptidlerden olan plasental trofoblastlardan yapısal olarak ekspresse edilen ve intervillöz sıvının akışkanlığını sağlayan Annexin A5 ve endotel duvarında lokalize olan kan basıncı ve hemostaziste görev alan Apelin'inin normal ve preeklampşik plaseenta da immunohistokimyasal boyanma ile dağılımlarının karşılaştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma Yüzüncü Yıl Üniveristesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğinde doğumu gerçekleştirilen 3. trimesterde ki hastalardan alınan 52 plaseenta üzerinde etik izni alınarak gerçekleştirildi. 20 normotensif hasta kontrol grubu olarak, 16 hafif preeklampşik ve 16 ağır preeklampşik hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışma grupları (ağır ve hafif preeklampsi) 2002 American College of obstetrics and Gynecology (ACOG) kriterlerine göre belirlendi. Doku örnekleri %10 formalinde fikse edildikten sonra rutin histolojik işlemleri takiben 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Daha sonra kesitler immunohistokimyasal boyama işlemlerine tabi tutuldu. Kesitler ışık mikroskopunda incelendi. İmmunohistokimya skoru (IHS) literatüre göre immünoreaktif hücre sayı skoru ile yarı kantitatif immünoreaktivite yoğunluğu değerlerinin çarpımı sonucunda elde edildi. Özellikler bakımından grupları karşılaştırmada Kruskal-Wallis testi kullanıldı. İstatistiki anlamlılık düzeyi %5 olarak alındı ve hesaplamalar için SPSS (Ver:13) istatistik paket programı kullanıldı.

Bulgular

Preeklampşik gruplarla kontrol grubu karşılaştırıldığında VEGF ve Apelin IHS'larının yükseldiği ve istatistiksel olarak anlamlılık tesbit edildi (sırasıyla p<0.26, p<0.02). Annexin A5'in preeklampşik gruplarda IHS'ların azaldığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu tesbit edildi(p<0.04) (Tablo-1).

Tartışma

Preeklampşik gebelerin plasentalarında anjiyogenik sitokinlerden olan VEGF (3) ve Apelin'in (4) arttığını, Annexin A5'in azaldığı (5) gösteren çalışmalar mevcuttur. Bizim çalışmamızda literatürle uyumlu olarak hastalığın şiddediyle orantılı VEGF ve Apelin de artış, Annexin de bir azalma tesbit ettik. Hastalığın patofizyolojisini açıklamada daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır ancak bu şekilde erkenden başlayacak bir preeklampsiyi tahmin etmek için biyokimyasal markırlar geliştirebilir.

Anahtar Kelimeler: Apelin, Annexin A5, İmmunohistokimya, Plaseenta, VEGF

Investigation of Histopathological Role of Vascular Endothelial Growth Factor, Annexin A5 and Apelin by Immunohistochemistry Method in Placenta of Preeclampsia Patients

Neşe Cölçimen¹, Gülay Bulut², Özlem Ergül Ergeç³, Murat Çetin Rağbetli¹

¹Yüzüncü Yıl University, Departments of Histology and Embryology

²Yüzüncü Yıl University, Departments of Pathology

³Yüzüncü Yıl University, Departments of Physiology

Introduction

Preeclampsia is a disease characterized by hypertension and proteinuria occurred after 20 weeks of gestation. It is a pregnancy disease an seen in 2-7% of that seen in of all pregnancies(1).

Preeclampsia is an importanat cause of maternal and fetal morbidity and mortality. The pathophysiology mechanism of preeclampsia is exactly unknown yet. Preeclampsia is characterized

with endothelial cell dysfunction, abnormal placentation aside with inadequate trophoblastic invasion(2). Aim of study is compare the distribution of, vascular endothelial growth factor (VEGF) which an angiogenic cytokine, Annexin A5 which is among endogenous peptides expressed from placental trophoblasts and responsible for fluidity of intervillous fluid and Apelin which is localized on the endothel wall and responsible for blood pressure and functions in hemostasis, between normal and preeclamptic placenta with immunohistochemical staining.

Materials and Methods

Study was conducted Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology on placenta of patients who gave there at 3rd trimester. Study was performed following an ethical permission. 20 placentas were collected from normotensive pregnant women as controls, 16 placentas were collected from mild-preeclamptic pregnant women, and 16 placentas were collected from severe preeclamptic women. Diagnosis and classification of severe and mild preeclampsia was done according to the 2002 criteria of American College of obstetrics and Gynecology (ACOG). Following routine histological processing of tissue samples fixed in 10 % formalin were then sectioned at 5 mm thickness. Then the sections were subjected to immunohistochemical staining. The sections were examined under a light microscope. Immunohistochemistry score (IHS) was obtained according to literature by multiplying immunoreactive cell number score with semi-quantitative immunoreactivity density value. Kruskal-Wallis test was used to compare groups traits. Statistical significance was taken as 5% for the calculations and SPSS(Ver: 13) statistical software package was used.

Findings

Comparison of preeclamptic groups with control group revealed that their VEGF and Apelin IHS's were increased and statistically significance was determined ($p < 0.26, p < 0.02$ respectively). It was observed that IHS's were attenuated in Annexin A5 in preeclamptic groups and was statistically significant was determined ($p < 0.04$) (Table-1)

Discussion

There are studies showing an increase in VEGF (3) and Apelin (4) which are among angiogenic cytokines and a decrease in Annexin (5) in the placenta of preeclamptic pregnant women. In our study, concordant with literature, VEGF and Apelin were proportional increased and Annexin was decreased according to severity of the disease. More studies are needed in order to explain pathophysiology of the disease but only by this, biochemical markers can be developed for predicting preeclampsia at early stage.

Keywords: Apelin, Annexin A5, Immunohistochemistry, Placenta, VEGF

Tablo-1

	Kontrol Grubu (n=20)	Hafif Preeklampsi Grubu(n=16)	Ağır Preeklampsi Grubu(n=16)	P
VEGF	4.44±3.63b#	5.35±1.81ab	7.00±2.37a	0.026
Apelin	0.34 ±0.23b	0.63±0.39b	1.35±1.41a	0.002
Annexin A5	11.25±1.92b	10.38±2.73	8.875±3.44a	0.04

Ortalama ±Standart Sapma #: Farklı harf alan gruplar arası anlamlıdır ($p < 0.05$)

Table-1

	Control Group(n=20)	Mild Preeclampsia Group(n=16)	Severe Preeclampsia Group(n=16)	P
VEGF	4.44±3.63b#	5.35±1.81ab	7.00±2.37a	0.026
Apelin	0.34 ±0.23b	0.63±0.39b	1.35±1.41a	0.002
Annexin A5	11.25±1.92b	10.38±2.73	8.875±3.44a	0.04

Mean±Standart deviation #: Groups which have different letters are significant ($p < 0.05$)

Kaynakça / References: 1-Madazlı R. Preeklampsi. Madazlı R, editor. Placenta. 1.Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2008.p.227-64. 2-ACOG Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. ACOG

practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;99 (1): 159-167. 3-Chung JY, Song Y, Wang Y, Magness RR, Zheng J. Differential expression of vasculat endothelial growth factor (VEGF), endocrine gland derived- VEGF, and VEGF receptors in human placentas from normal and preeclamptic pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab.*2004;89:2484-90. 4- Cobellis L, De falco M, Mastrogiacomo A, Giraldi D, Dattilo D, Scaffa C, Colacurci N, and De Lucra A. Modulation of apelin and APJ receptor in normal an preeclampsia-complicated placentas. *Histol Histopathol* 2007;22: 1-8 5-Shu F, Sugimura M, Kanayama N, Kobayashi H, Kobayashi T, Terao T. Immunohistochemical study of annexin V expression in placenta of preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2000;49(1):17-23.

P046

Preeklampitik plasentalarda beta 3-integrin indüklü MAPK-HIF etkileşiminin bozulması

Gözde Ünek, Aslı Özmen

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

Plasentasyon, embriyonik/fetal trofoblastların, uterusu ve anne kan damarlarını istila ettiği benzersiz bir süreçtir. Bu etkileşimlerin ne ölçüde olduğu gebelik sonucunu önemli ölçüde belirler. Preeklamps; maternal hipertansiyon, böbrek yetmezliği ve ödem ile karakterize olan ve tedavi edilmezse eklampsiye ve ölüme neden olabilen ciddi bir gebelik komplikasyonudur. Preeklampsinin etiolojisi tam olarak bilinmemesine rağmen, anormal oksijen taşınımı ve ekstrasellüler matriks (ESM) yeniden modellenmesi ve yetersiz trofoblast invazyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Preeklampside anormal plasentasyonla birlikte beta 3-integrin gibi adhezyon moleküllerinin ekspresyonu azalmaktadır. Hücrel hipoksik yanıtın önemli bir düzenleyicisi olan HIF (Hipoksiyle indüklenen faktör), normal plasentasyon için gereklidir ve eksikliği, invazyonda doğrudan rolü olduğu düşünülen ekstrasellüler trofoblast-ESM etkileşimlerini bozar. Ekstrasellüler trofoblastlarda hücre-ESM etkileşimleri büyük ölçüde integrinler üzerinden yönetilir. Ayrıca, Mitojen aktive protein kinaz (MAPK) yolağı, hipoksi-HIF ve ESM-integrin kompleksleri gibi birçok çevresel verinin kesişim noktasıdır. Bu çalışmada, normal ve preeklampitik plasentalarda beta 3-integrin indüklü MAPK-HIF ilişkisi incelenmiştir. Sağlıklı gebelik geçiren kadınlardan ve preeklampitik gebelerden doğum sonrası term plasentalar toplanmıştır. Bu plasentalardaki beta 3-integrin, fosfo-MAPK3-1, MAPK3-1, HIF1α ve beta aktin proteinlerinin ekspresyonları Western Blot tekniği ile incelenmiştir. Sonuç olarak, beta 3-integrin, fosfo-MAPK3-1 ve HIF1α ekspresyonlarının preeklampitik plasentalarda normale göre anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Preeklampitik plasentalarda beta 3-integrin indüklü MAPK-HIF ilişkisinin bozulmasının preeklamps etiyojisine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Çalışmada yer alan yollar, gebelik esnasında ortaya çıkan önemli bir sağlık problemi olan preeklampsinin anlaşılmasına katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Beta-3 integrin, HIF1α, MAPK3-1, Plasenta, Preeklamps

The disruption of beta 3-integrin-induced MAPK-HIF relationship in preeclamptic placentas

Gözde Ünek, Aslı Özmen

Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Antalya, Turkey

Placentation is a unique process consisting of embryonic/fetal trophoblast cells invading the uterus and maternal blood vessels. The result of the interaction significantly determines the pregnancy outcome. Preeclampsia, which is characterized by maternal hypertension, edema and renal failure, is a serious complication of pregnancy and can cause eclampsia and death if not treated. Although the exact etiology of preeclampsia is unknown, abnormal oxygen transport and extracellular matrix (ECM) remodeling and inadequate trophoblast invasion have been shown to be associated with it. The expression of some adhesion molecules such as beta 3-integrin decreases in preeclampsia. HIF (hypoxia inducible factor), which is an important regulator of the cellular response to hypoxia, is required for normal placentation and its deficiency impairs extravillous trophoblast-ECM interactions that are thought to direct invasion. Extravillous trophoblast-ECM interactions are managed largely through integrins. Furthermore, Mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway is the intersection of a number of environmental data such as hypoxia-HIF and ECM-integrin complexes. In this study, beta 3-integrin-induced MAPK-HIF interaction has been studied in normal and preeclamptic placentas. Term placentas from preeclamptic pregnancies and healthy pregnant women were collected after birth. Expression of beta 3-integrin, phospho-MAPK3-1, MAPK3-1, HIF1α and beta-actin proteins were analyzed by Western blot technique in these placentas. As a result, the expressions of beta-3 integrin, phospho-MAPK3-1 and HIF1α have been found to decrease significantly in preeclampsia placentas compared to normal. The disruption of beta 3-integrin-induced MAPK-HIF relationship in preeclamptic placentas is thought to contribute to the etiology of preeclampsia. The pathways involved in this study may contribute to our understanding of preeclampsia that is a major health problem arising during pregnancy.

Keywords: Beta-3 integrin, HIF1α, MAPK3-1, Placenta, Preeclampsia

P047

Stevioside ve STZ Uygulanmış Sıçan Plasentalarında GLUT1 Ekspresyonu

Ertan Katırcı, Aslı Özmen

Akdeniz Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

GİRİŞ:

Plasenta gebelik boyunca çok önemli fonksiyonlar gerçekleştiren multifonksiyonel bir organdır. Önemli görevlerinden birisi olan fetüse besin taşınması plasentada bulunan glukoz taşıyıcı (GLUT) proteinler aracılığıyla sağlanır. Diyabet, metabolik hastalıkların hiperglisemi ile karakterize heterojen bir grubudur. Diyabetik gebeliklerde; embriyonik ölümler, fetal büyüme kusurları, plasental anormallikler ve plasental-embriyonal metabolik bozukluklar gözlenmektedir. Diyabetik plasentalarda gözlenen değişiklikler, diyabetik koşullarda değişen glukoz taşıyıcı proteinler nedeniyle ortaya çıkabilir. Stevia (Stevia Rebaudiana) bitkisi ve onun bileşenleri (özellikle stevioside) uzun yıllardır tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Stevia'nın yapraklarında Stevioside yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Stevia bitkisinin diyabetli hastaların kan glukoz değerlerini düşürdüğü bildirilmiştir (1,2).

Bu çalışmanın amacı; kontrol, Stevioside verilmiş ve Streptozotosin (STZ) indüklü diyabetik sıçan plasentalarında gebeliğin 20. gününde GLUT1 proteininin immüno lokalizasyonunu ve protein miktarını belirlemektir.

Materyal ve YÖNTEM:

Erkek ve dişi sıçanlar kafeste bir gece bırakıldıktan sonra vajinal simir yapıldı. Simirlerinde sperm gözlenen sıçanların gebeliğin sıfırıncı gününde olduğu kabul edildi. Diyabet oluşturmak için gebeliğin 7.gününde intraperitoneal olarak tek doz STZ (60mg/kg) enjekte edildi. STZ enjeksiyonundan 48 saat sonra, kan glukoz değeri 200mg/dl'den fazla olanlar diyabet kabul edildi. Stevioside grubu için ise gebeliğin 0.günüden itibaren her gün 1mg/kg Stevioside enjeksiyonu intraperitoneal olarak gebeliğin 20.gününe kadar yapıldı. 20.günde sıçanlar sakrifiye edilerek plasenta ve embriyo ağırlıkları tartıldı. Gebeliğin 20. gününe ait plasentalar kullanılarak İmmünohistokimya ve Western Blot analizleri gerçekleştirildi.

BULGULAR:

Kontrole kıyasla diyabet grubu plasenta ve embriyo ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu, Stevioside grubunda ise anlamlı bir farkın olmadığı gözlemlendi. Diyabet grubunda GLUT1 ekspresyonunun gebeliğin 20.gününde kontrol grubu plasentalara kıyasla azaldığı tespit edildi. Bu azalma özellikle Labirint Zon için daha belirgindi. Kontrol ve Stevioside grupları arasında GLUT1 ekspresyonu açısından belirgin bir fark gözlemlenmedi.

SONUÇ:

GLUT1 proteini plasentada glukoz transportundan sorumlu bir proteindir. Dolayısıyla diyabetik sıçan plasentalarında GLUT1 ekspresyonunun azalması yüksek glukoz düzeylerine karşı embriyoyu korumaya yönelik bir mekanizma olabilir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Stevioside, Glut1, Plasenta, Rat

GLUT 1 expression in STZ and Stevioside Applied Rat Placenta

Ertan Katırcı, Aslı Özmen

Department of Histology and Embryology, Akdeniz University, Antalya, Turkey

INTRODUCTION:

The placenta is a multifunctional organ that performs many important functions throughout pregnancy. Transporting nutrients to fetus, which is one of important roles of the placenta, is provided through glucose transporter (GLUTs) proteins. Diabetes is a heterogeneous group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia. In diabetic pregnancy, embryonic deaths, fetal growth defects, placental abnormalities and placental-embryonal metabolic disorders are observed. Morphological changes in diabetic placentas may occur owing to altered glucose transporter protein

expressions. Stevia (*Stevia Rebaudiana*) and its components (especially stevioside) have been used as sweetener for a long time. Stevioside is found in high concentrations in leaves of stevia. Stevia has been reported to reduce blood glucose concentrations in diabetic patients (1,2). The purpose of this study is to determine the immunolocalization and protein expression levels of GLUT1 protein in STZ and Stevioside injected rat placentas at gestational day 20.

MATERIALS-METHODS:

After mating, the presence of the sperm in the vaginal smear the following morning was designated as day 0 of pregnancy. In order to compose the diabetic group, pregnant females were injected with a single dose of 60mg/kg Streptozotocin intraperitoneally at gestational day 7. After 48 hours of STZ injection, blood glucose levels of 200 mg/dl or more indicated diabetes. For stevioside group rats were daily injected with 1mg/kg Stevioside intraperitoneally from day 0 of gestation until day 20 of gestation. Rats were sacrificed on 20th day of gestation. Placenta and embryo weights were measured. Immunohistochemistry and Western Blot analysis were performed by using placentas of gestational day 20.

RESULTS:

It was observed that placenta and embryo weights of diabetic group placentas were decreased compared to control. There was not a significant difference for stevioside group placenta and embryo weights. GLUT1 expression was reduced in diabetic group placentas on 20th day of gestation compared to control. Reduced expression was as especially significant for Labyrinth Zone of the placenta. GLUT1 expression was similar between control and stevioside groups.

DISCUSSION:

GLUT1 protein is responsible for glucose transporting in placenta. Therefore, reduction of the GLUT1 expression in diabetic rat placentas may be a compensatory mechanism to protect the embryo against high glucose levels.

Keywords: Diabetes, Stevioside, GLUT1, Placenta, Rat

Kaynakça / References: 1.) Curi R, Alvarez M, Bazotte RB, Botion LM, Godoy JL, Bracht A. Effect of *Stevia rebaudiana* on glucose tolerance in normal adult humans. *Braz J Med Biol Res.* 1986; 19: 771–774. 2.) Gregersen S, Jeppesen PB, Holst JJ, Hermansen K. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects. *Metabolism.* 2004; 53: 73–76.

P048

Streptozotosin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda implantasyon döneminde endometriyumdaki immün sistem hücrelerinin immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmesi

Emel Nacar¹, Ahmet Koç², Yeşim Akaydın Bozkurt³

¹Turgut Özal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri MYO, Patoloji Lab. Teknikleri Böl.

²Mevlana Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

³Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

İmplantasyonun başarıyla gerçekleştirilebilmesindeki en kritik olay dişi vücudunun zigota gösterdiği immün toleranstır. İmplantasyon ile başlayarak gebeliğin sonuna dek uterustaki immün hücrelerin oranları ve işlevlerinde çeşitli değişimler gerçekleşmektedir. Dolayısıyla implantasyon mekanizmasının tam olarak anlaşılabilmesinin bir yolu uterustaki immün hücre dağılımının implantasyon sırasında gösterdiği değişiklikleri incelemektir. İmplantasyonun daha iyi anlaşılmasını kolaylaştıracak bir diğer yol ise patolojik durumlarda implantasyonun nasıl etkilendiğini araştırmaktır. Bu nedenle tezde iki amaç hedeflenmiştir. Birinci amaç çeşitli çalışmalarda farklı yönleriyle ele alınan uterusta implantasyon sırasındaki lökosit profilini bir bütün olarak değerlendirmektir. İkinci amaç ise uterustaki hücresel profilin diyabet gibi gebelikte sık görülen bir hastalık sonucu nasıl değiştiğini saptamaktır. Bu amaçla 250–300 g ağırlığında, erişkin dişi Wistar Albino sıçanlardan ikisi normal ikisi diyabetik olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. Diyabetik ve normal gruplardan birer tanesi gebe bırakıldı. Gebe olan hayvanlardan gebeliklerinin 5 ve 7. günlerinde uterus dokuları alınarak diğer gruplarla endometriyumlarındaki CD45, CD3, CD4, CD8, CD56, CD68 ve CD79a tutulumları açısından immünohistokimyasal yöntemlerle inceleme yapıldı. Çalışmanın sonucunda gebeliğin endometriyumda CD68, CD3, CD45 ve CD56 tutulumunu arttırdığı görüldü. Diyabetin etkisine bakıldığında ise CD68, CD45 ve CD56 tutulumunun diyabetik gruplarda daha zayıf olduğu izlendi. Histopatolojik değerlendirmede diyabet olan gruplarda endometriyumda belirgin dejenerasyon saptandı.

Sonuç olarak normalde implantasyon döneminde en yüksek popülasyona sahip olan uNK ve makrofaj oranının diyabetle birlikte azaldığı görüldü. Bu azalmanın, diyabetin uterus üzerindeki olumsuz etkilerini arttırabileceği düşünüldü. Öte yandan daha uzun süre izlem yapılmasının da diyabetin ileri dönem etkilerinin hücresel düzeydeki yansımalarının anlaşılmasında daha verimli olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: İmplantasyon, diyabet, endometriyum, immünohistokimya, sıçan, immün hücreler

Immunohistochemical investigation of endometrial leucocytes in implantation period in rats with streptozotosin-induced diabetes

Emel Nacar¹, Ahmet Koç², Yeşim Akaydın Bozkurt³

¹Turgut Ozal University, Health Sciences Vocational School, Pathology Lab. Techniques Programme

²Mevlana University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology

³Mustafa Kemal University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology

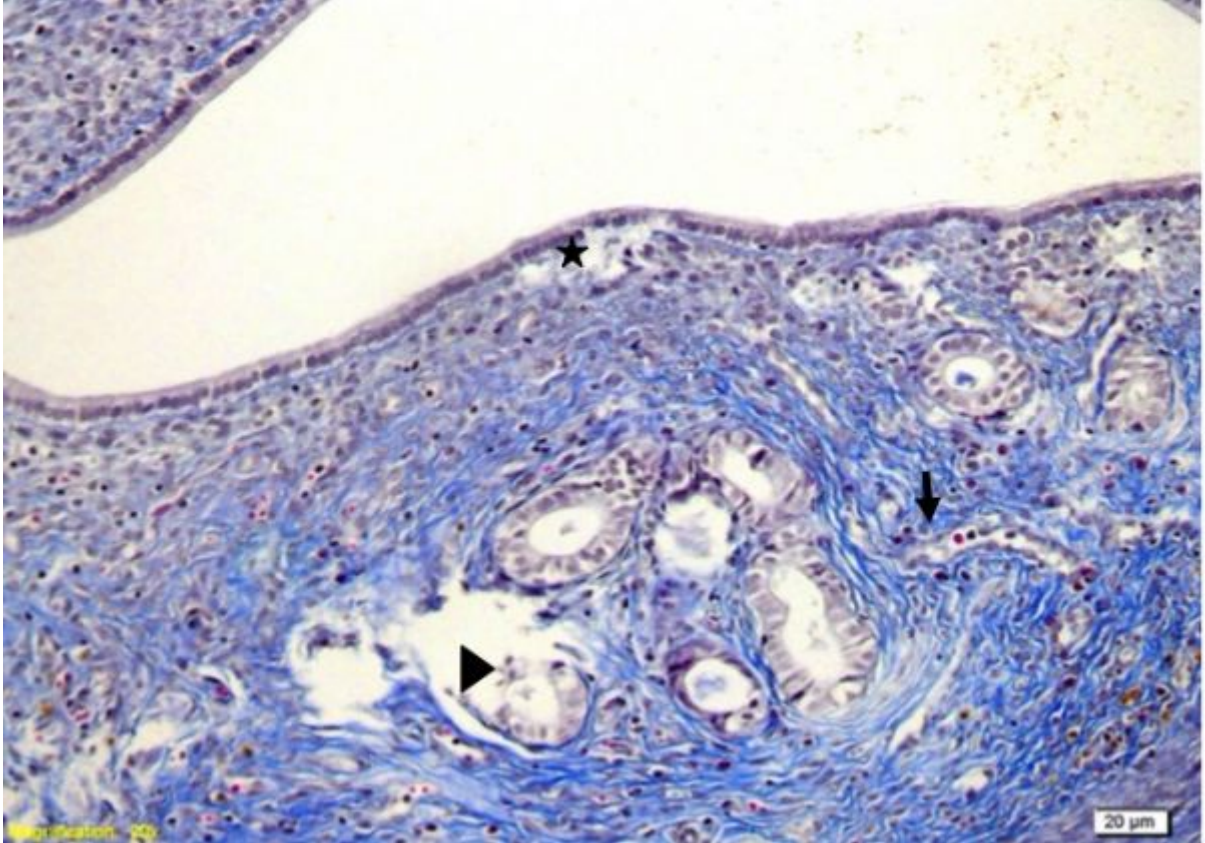
The most critical factor in successful implantation is the immune tolerance to the zygote by the female body. Several changes occur in the functions and proportions of immune cells of the uterus throughout the pregnancy. Thus one method of unraveling the mechanisms of implantation is to investigate the changes in the distribution of uterine immune cells during the implantation process. Another method is to evaluate how implantation is affected in pathological conditions. Therefore there were two aims in this study. First aim was to determine the total leucocyte profile in implantation. Second aim was to detect the changes in uterine leucocyte profile in diabetes, a common complication of pregnancy. For this purpose 4 groups are formed with Wistar albino rats weighing 250- 300 g. Two of the groups were non-diabetic and two of them were diabetic. One of the diabetic and one of the non-diabetic groups were left pregnant. Then uterus tissues of pregnant animals were obtained in the 5th and 7th days of pregnancy together with tissues of other two non-pregnant groups. Tissues were analysed immunohistochemically with antibodies CD45, CD3, CD4, CD8, CD56, CD68 and CD79a. It was revealed that pregnancy increased immune staining of

CD68, CD3, CD45 and CD56 in endometrium. In addition it was observed that immune staining density of CD68, CD45 and CD56 decreased in diabetes. In the histopathological examination, significant dejection was detected in the endometrium of diabetic rats.

In conclusion we thought that the negative effects of diabetes on pregnancy could be worsened by the decrease in uNK and macrophage cell proportions which have the highest population in decidua in early periods. Furthermore long time observations could be more effective in understanding late term effects of diabetes at cellular level.

Keywords: Implantation, diabetes, endometrium, immunohistochemistry, rat, immune cells

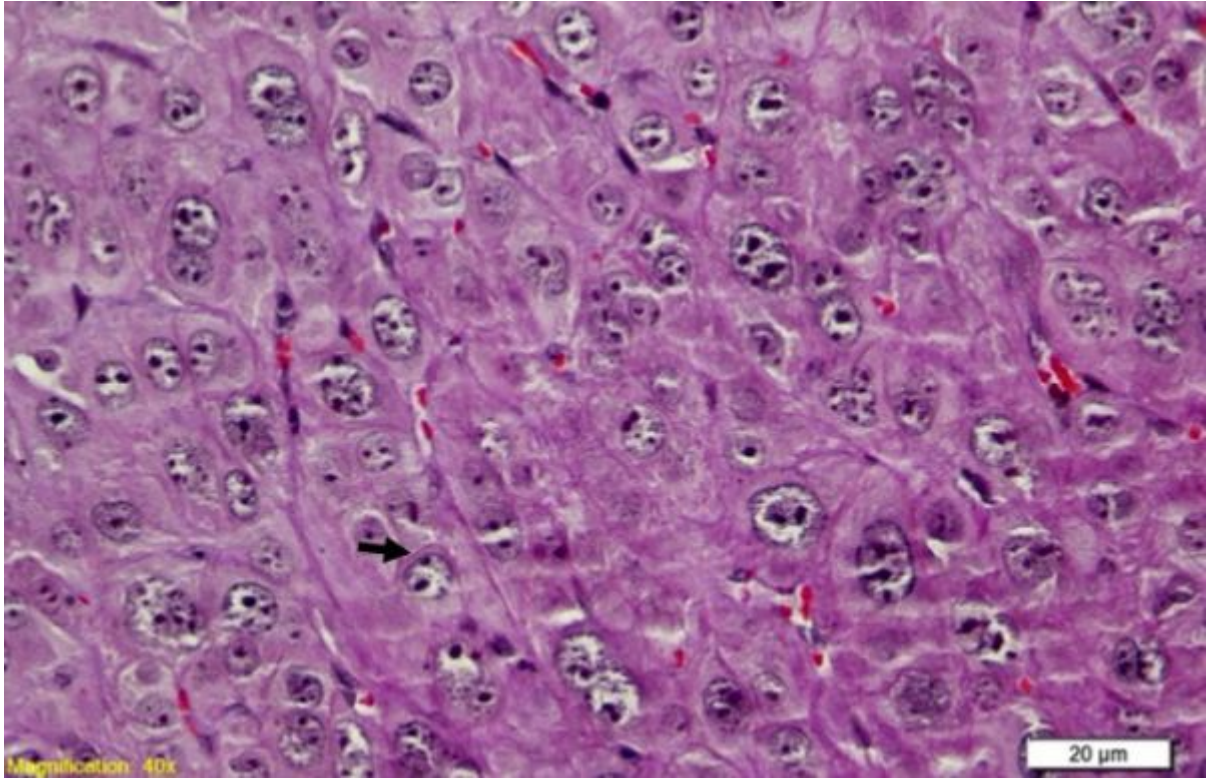
Resim 1
Figure 1



2. grup endometriyumunda Ödem [*], glandüler yapıda bozulma[okbaşı], inflamatuvar hücreler [→] [TrikromX200]

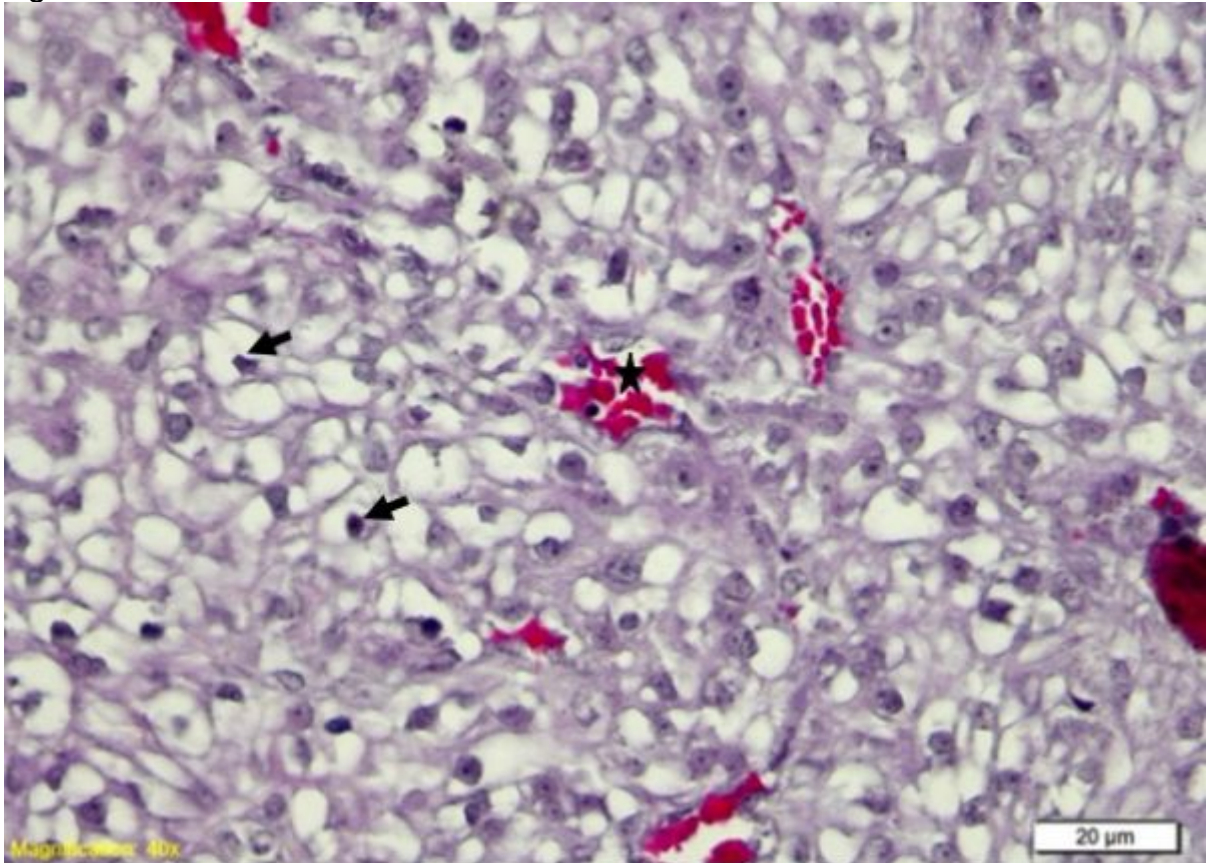
Edema [*], deformation in glandular structure [arrowhead], inflammatory cells [→] in endometrium of Group 2 [Trichrome stainX200]

Resim 2
Figure 2



Grup 3'de Normal desidual hücreler [TrikromX400]
Normal desidual cells in Group 3 [Trichrome stainX400]

Resim 3
Figure 3



Group 4 endometriyumunda desidual hücrelerde Hemoraji [*] ve nekroz [→] [TrikromX400]

Hemorrhagi [] and necrosis [→] in desidual cells [Trichrome stainX400]*

Kaynakça / References: 1. Bulla R, Fischetti F, Bossi F, et al. Feto-maternal immune interaction at the placental level. *Lupus* 2004; 13: 625-9. 2. Bonatz G, Hansmann ML, Buchholz F, et al. Macrophage- and lymphocyte-subtypes in the endometrium during different phases of the ovarian cycle. *Int J Gynaecol Obstet* 1992; 37: 29-36. 3. Song JY, Fraser IS. Effects of progestogens on human endometrium. *Obstet Gynecol Surg* 1995; 50: 385-94. 4. Bulmer JN, Longfellow M, Ritson A. Leukocytes and resident blood cells in endometrium. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 622: 57-68. 5. Klentzeris LD, Bulmer JN, Warren A, et al. Endometrial lymphoid tissue in the timed endometrial biopsy: morphometric and immunohistochemical aspects. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167: 667-74. 6. Loke YW, King A, Burrows TD. Decidua in human implantation. *Hum Reprod* 1995; 10: 14-21. 7. Salamonsen LA, Woolley DE. Menstruation: induction by matrix metalloproteinases and inflammatory cells. *J Reprod Immunol* 1999; 44: 1-27. 8. Trundley A, Moffett A. Human uterine leukocytes and pregnancy. *Tissue Antigens* 2004; 63: 1-12. 9. Rieger L, Segerer S, Bernar T, et al. Specific subsets of immune cells in human decidua differ between normal pregnancy and preeclampsia--a prospective observational study. *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7: 132. 10. Mor G, Straszewski-Chavez S, Abrahams V. Macrophage-trophoblast interactions. *Methods Mol Med* 2006; 122: 149-63. 11. Bulmer JN, Lunny DP, Hagin SV. Immunohistochemical characterization of stromal leucocytes in nonpregnant human endometrium. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1988; 17: 83-90. 12. Hunt JS. Stranger in a strange land. *Immunol Rev* 2006; 213: 36-47. 13. Kimber SJ. Leukaemia inhibitory factor in implantation and uterine biology. *Reproduction* 2005; 130: 131-45. 14. Koç A, Kanter M. Siçanlarda implantasyonda endometriyum dokusunun hücresel ve sıvısal savunma sistemi hücreleri üzerinde histokimyasal ve histometrik araştırmalar. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2000; 6: 122-30. 15. Starkey PM, Sargent IL, Redman CW. Cell populations in human early pregnancy decidua: characterization and isolation of large granular lymphocytes by flow cytometry. *Immunology* 1988; 65: 129-34. 16. Santoni A, Carlino C, Gismondi A. Uterine NK cell development, migration and function. *Reprod Biomed Online* 2008; 16: 202-10. 17. Kuhnert M, Strohmeier R, Stegmüller M, et al. Changes in lymphocyte subsets during normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 76: 147-51. 18. Mills JL, Simpson JL, Driscoll SG, et al. Incidence of spontaneous abortion among normal women and insulin-dependent diabetic women whose pregnancies were identified within 21 days of conception. *N Engl J Med* 1988; 319: 1617-23. 19. Davies JK, Shikes RH, Sze CI, et al. Histologic inflammation in the maternal and fetal compartments in a rabbit model of acute intra-amniotic infection. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2000; 183: 1088-1093. 20. Mincheva-Nilsson L, Baranov V, Yeung MM, et al. Immunomorphologic studies of human decidua-associated lymphoid cells in normal early pregnancy. *J Immunol* 1994; 152: 2020-32. 21. Ho HN, Chao KH, Chen CK, et al. Activation status of T and NK cells in the endometrium throughout menstrual cycle and normal and abnormal early pregnancy. *Hum Immunol* 1996; 49: 130-6. 22. Savion S, Gidon-Dabush S, Fein A, et al. Diabetes teratogenicity is accompanied by alterations in macrophages and T cell subpopulations in the uterus and lymphoid organs. *Int Immunopharmacol* 2004; 4: 1319-27. 23. Slukvin, II, Breburda EE, Golos TG. Dynamic changes in primate endometrial leukocyte populations: differential distribution of macrophages and natural killer cells at the rhesus monkey implantation site and in early pregnancy. *Placenta* 2004; 25: 297-307. 24. Shi Y, Ling B, Zhou Y, et al. Interferon-gamma expression in natural killer cells and natural killer T cells is suppressed in early pregnancy. *Cell Mol Immunol* 2007; 4: 389-94. 25. Moffett-King A. Natural killer cells and pregnancy. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 656-63. 26. Croy BA, van den Heuvel MJ, Borzychowski AM, et al. Uterine natural killer cells: a specialized differentiation regulated by ovarian hormones. *Immunol Rev* 2006; 214: 161-85. 27. Kamat BR, Isaacson PG. The immunocytochemical distribution of leukocytic subpopulations in human endometrium. *Am J Pathol* 1987; 127: 66-73. 28. Stewart JA, Bulmer JN, Murdoch AP. Endometrial leucocytes: expression of steroid hormone receptors. *J Clin Pathol* 1998; 51: 121-6. 29. Quack KC, Vassiliadou N, Pudney J, et al. Leukocyte activation in the decidua of chromosomally normal and abnormal fetuses from women with recurrent abortion. *Hum Reprod* 2001; 16: 949-55. 30. Ozenci CC, Korgun ET, Demir R. Immunohistochemical detection of CD45+, CD56+, and CD14+ cells in human decidua during early pregnancy. *Early Pregnancy* 2001; 5: 164-75. 31. Starkey PM, Clover LM, Rees MC. Variation during the menstrual cycle of immune cell populations in human endometrium. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1991; 39: 203-7. 32. Vassiliadou N, Bulmer JN. Quantitative analysis of T lymphocyte subsets in pregnant and non-pregnant human endometrium. *Biol Reprod* 1996; 55: 1017-22. 33. Kim JS, Romero R, Cushenberry E, et al. Distribution of CD14+ and CD68+ macrophages in the placental bed and basal plate of women with preeclampsia and preterm labor. *Placenta* 2007; 28: 571-6. 34. Garris DR, Garris BL. Diabetes-induced, progressive endometrial involution characterization of periluminal epithelial lipomatrophy. *Diabetes* 2003; 52: 51-8. 35. Garris DR, Williams S, Smith-West C, et al. Diabetes-associated endometrial disruption in the Chinese

hamster: structural changes in relation to progressive hyperglycemia. *Gynecol Obstet Invest* 1984; 17: 293-300. 36. Garris DR, Garris BL. Lipoatrophic diabetes-associated utero-ovarian dysfunction: influence of cellular lipid deposition on norepinephrine indices. *Horm Res* 2002; 58: 120-7. 37. Garris DR, West RL, Pekala PH. Ultrastructural and metabolic changes associated with reproductive tract atrophy and adiposity in diabetic female mice. *Anat Rec* 1986; 216: 359-66.

P049

Gebeliğin farklı günleri boyunca fare uterus ve implantasyon bölgelerinde Hey2 ve Fbw7 ekspresyonları

Nuray Acar, Hakan Soylu, Sema Avcı, İsmail Üstünel
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Giriş

En basit tanımıyla implantasyon, blastosistin anne uterusuna yerleşmesidir. Blastosiste ait trofoblast hücreleri ile uterus epiteli arasında temas olmalıdır. Bu temas ve etkileşim boyunca fizyolojik, biyokimyasal ve ultrastrüktürel değişiklikler gerçekleşir. Farelerde gebeliğin 1 ve 3. günleri arasında uterus pre-reseptiftir. İmplantasyon 4.günün gecesinde başlar. Uterus 5.gün öğleden sonra non-reseptif hale geçer. Notch sinyali proliferasyon, apoptoz, farklılaşma ve homeostaz gibi birçok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol alır. Fbw7 bir ubiquitin ligazdır. Proteozomal yıkım için spesifik proteinleri hedef alarak protein turnoverında önemli bir rol oynar. Fbw7'nin substratları arasında Notch, c-Myc, JunB, ve siklin E yer alır. Fbw7, mutasyonu durumunda kromozomal dayanıksızlığa neden olan önemli bir tümör baskılayıcıdır. Hey2 geni, basic helix-loop-helix (bHLH)-tip transkripsiyon faktörlerinin HESR (hairy and enhancer of split-related) ailesinin bir üyesidir. Bu proteinin ekspresyonu Notch sinyal yolağı tarafından indüklenir. Kodlanan protein homo veya heterodimerler oluşturarak nükleusa lokalize olur ve histon deasetilaz kompleksi ile etkileşerek transkripsiyonu baskılar. Çalışmamızda gebeliğin farklı günlerinde fare uterus ve implantasyon bölgelerinde Fbw7 ve Hey 2 immüno lokalizasyon ve ekspresyon düzeylerini belirlemeyi amaçladık.

Materyal ve metot

Çalışmamızda Balb/C ırkı fare kullandık. Bir erkek ve iki dişi fare gece boyu aynı kafeste tutuldu, ertesi gün vajinal plağı olan dişi fareler gebeliğin birinci gününde kabul edildi. Fareler gebeliğin 1, 4, 5, 6 ve 8. günlerinde sakrifiye edildiler. Östrus fazında olan gebe olmayan fareler kontrol grubuna dahil edildi. Uterus ve implantasyon bölgeleri toplandı. Fbw7 ve Hey 2 ekspresyonları kantitatif real time PCR (kRT-PCR), immünohistokimya ve western blot ile saptandı.

Sonuçlar

Fbw7 ekspresyonu western blot sonuçlarımıza göre gebeliğin 4. gününde en yüksekti, immünohistokimya sonuçlarımıza göre bu günde lümen epitelinde belirgindi. Gebeliğin 6. gününde ise Fbw7 ekspresyonu en düşük düzeydeydi. Hey2 ekspresyonu kRT-PCR ve western blot sonuçlarımıza göre gebeliğin 4 ve 5. günlerinde düşük iken 8. günde yüksekti.

Tartışma

Bir ubiquitin ligaz olan Fbw7'nin implantasyonun gerçekleştiği 4. günde belirgin şekilde artmış olması bu proteinin implantasyonda rol alan ve görevleri biten proteinlerin ortadan kaldırılmasında rol aldığını düşündürmektedir. Bir transkripsiyon baskılayıcı olan Hey2'nin implantasyonun gerçekleştiği 4 ve 5. günlerde azalmasını, implantasyonda rol alan farklı sinyal yollarına ait transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonlarının artması sebebiyle olduğunu düşünmekteyiz. Fbw7 ve Hey2'nin implantasyondaki rollerini ortaya koymak için daha ileri çalışmalar gerçekleştirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Fbw7, Hey2, implantasyon, rat, uterus

Expressions of Fbw7 and Hey2 on mice uterus and implantation sites during different pregnancy days

Nuray Acar, Hakan Soylu, Sema Avcı, İsmail Üstünel
Department of Histology and Embryology, Akdeniz University, Antalya, Turkey

Introduction

Implantation is nidation of blastocyst into mother' uterus. There must be contact between trophoblast cells and uterus epithelium. Physiologic, biochemical and ultrastructurel changes occur during this contact. Uterus is pre-receptive between days 1 and 3 of pregnancy in mice. Implantation starts on day 4 night. Uterus become non-receptive on day 5 afternoon. Notch signaling is involved in regulation proliferation, apoptosis, differentiation and homeostasis. Fbw7 is a ubiquitin ligase. It plays key role in protein turnover by targeting specific proteins for proteosomal degradation. Fbw7's substrates include Notch, c-Myc, JunB, and cyclin E. Fbw7 has

been identified as an important tumor suppressor with loss-of-function mutations leading to chromosomal instability. Hey2 gene encodes a member of the hairy and enhancer of split-related (HESR) family of basic helix-loop-helix (bHLH)-type transcription factors. Expression of this gene is induced by Notch signalling pathway. Encoded protein forms homo- or hetero-dimers that localize to nucleus and interact with histone deacetylase complex to repress transcription. We aimed to investigate immunolocalization and expression levels of Fbw7 and Hey2 on mice uterus and implantation sites through pregnancy days.

Material and methods

Balb/C strain mice were used in our study. One male and two female mice were retained together in the same cage overnight and next morning female mice with vaginal plug were accepted on day 1 of pregnancy. Mice were sacrificed on pregnancy days 1, 4, 5, 6 and 8. Non-pregnant mice on estrus phase of the cycle were included as control group. Uteri and implantation sites were collected. Hey2 and Fbw7 expressions were detected by quantitative real time PCR (qRT-PCR), immunohistochemistry and western blotting.

Results

Fbw7 expression was highest and prominent on lumen epithelium on day 4 of pregnancy according to western blotting and immunohistochemistry results, respectively. Fbw7 expression was lowest on day 6 of pregnancy. Hey2 expression was low on day 4 and 5; high on day 8 of pregnancy according to qRT-PCR and western blotting results.

Discussion

Marked increase of Fbw7 expression on day 4 the day implantation happens made us think that this protein may play role in degradation of proteins take role in implantation and of which functions end. We think decreased expression of transcription repressor Hey2 on days 4 and 5 of pregnancy may be due to increased expressions of transcription factors belonging to different signal pathways. Further investigations should be performed to reveal the roles of Fbw7 and Hey2 in implantation.

Keywords: Fbw7, Hey2, implantation, rat, uterus

P050

Spermatogenetik Seriyeye Ait Hücreler Üzerine Retinoik Asidin Etkilerinin İnce Yapı Düzeyinde İncelenmesi

Sengül Sentürk¹, Leyla Tapul²

¹Beykent Üniversitesi Meslek Yüksekokulu, Patoloji Laboratuvar Teknikleri Programı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

AMAÇ: A vitamini erkek fertilitesi ve spermatogenez sürecinin devamı için gereklidir. Metaboliti olan retinoik asit (RA) üç nükleer reseptöre (RAR α , β , γ) bağlanır ve onları aktive ederek hormon benzeri rol oynar. Retinoik asit reseptörleri ve germ hücre apoptozu arasında bir bağlantı olduğu da ileri sürülmektedir. Çalışmamızda, harici retinoik asidin spermatogenetik seri hücreleri üzerine etkisinin ince yapı düzeyinde incelenmesi amaçlandı.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmamızda kontrol grubu, 40 mg/kg RA ve 80 mg/kg RA verilen deney grubu olmak üzere her biri 8 adet yetişkin (6-8 haftalık) Sprague-Dawley sıçandan oluşan üç grup oluşturularak mısır yağı içerisinde çözölen retinoik asit deney gruplarına gavaj yoluyla 3 hafta boyunca verildi. Kontrol grubuna herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. 3 hafta sonunda sakrifiye edilen hayvanlardan alınan testisler uygun takip aşamalarından geçirilerek Jeol Jem 1011 geçirimli elektron mikroskopunda değerlendirildi.

BULGULAR: Elektron mikroskobu incelemesinde kontrol grubuna ait ince kesitlerde (Şekil 1) Sertoli hücreleriyle evrelere göre farklı morfolojik yapı gösteren spermatogenetik seriyeye ait hücreler bazal ve adluminal kompartmanda yerleşim göstermekteydi. Her iki deney grubunda özellikle bazal kompartman hücreleri arasında izlenen hücreler arası mesafede artış dikkat çekiciydi (Şekil 2). Bunun yanı sıra kontrol grubuyla karşılaştırıldığında deney gruplarında özellikle spermatogonyumların ve Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında membranla sarılı lipid granüllerine benzer yapıların sayılarının arttığı görüldü (Şekil 2). Bu bulgulara ek olarak her iki deney grubunda da, VI ve VII ve VIII. evrelerde yuvarlak spermatidlerde Golgi cisimciğindeki sisterna görünümünde bir deformasyon mevcuttu (Şekil 3).

SONUÇ: Çalışmamızda elde edilen bulgular, harici retinoik asidin yetişkin sıçan testisi üzerindeki etkisinin doza bağlı olduğunu, hücre içi etkisini de Golgi cisimciği üzerinden hücre trafiğini etkileyerek göstermiş olabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: elektron mikroskopisi, retinoik asit, spermatogenez, ultrastrüktür

Ultrastructural Investigation of Retinoic Acid Effects on Spermatogenetic Cell Types

Sengül Sentürk¹, Leyla Tapul²

¹Beykent University School of Vocational Studies, The Programme of Pathology and Laboratory Techniques, İstanbul, Turkey

²Department of Histology and Embryology, İstanbul University İstanbul Faculty of Medicine, İstanbul, Turkey.

OBJECTIVE: Vitamin A is essential for male fertility and the progression of spermatogenetic process. The metabolite form of retinoic acid (RA) binds three nuclear receptors (RAR α , β , γ) and plays role like hormone by activating them. It is also suggested that that there is a connection between retinoic acid receptors and germ cell apoptosis. In our study, it is aimed to investigate the effects of exogenous retinoic acid on spermatogenetic cell types by ultrastructurally.

MATERIALS-METHODS: 24 adult (6-8 week-old) male Sprague-Dawley rats were used in the study. Each containing 8 experimental animals, 3 groups were formed in total. 40mg/kg RA and 80mg/kg RA were administered by gavage for 3 weeks to two experimental groups respectively. No drug administration was used for control group. At the end of three weeks testes taken from sacrificed animals were prepared for transmission electron microscopy and examined by Jeol Jem 1011 transmission electron microscope.

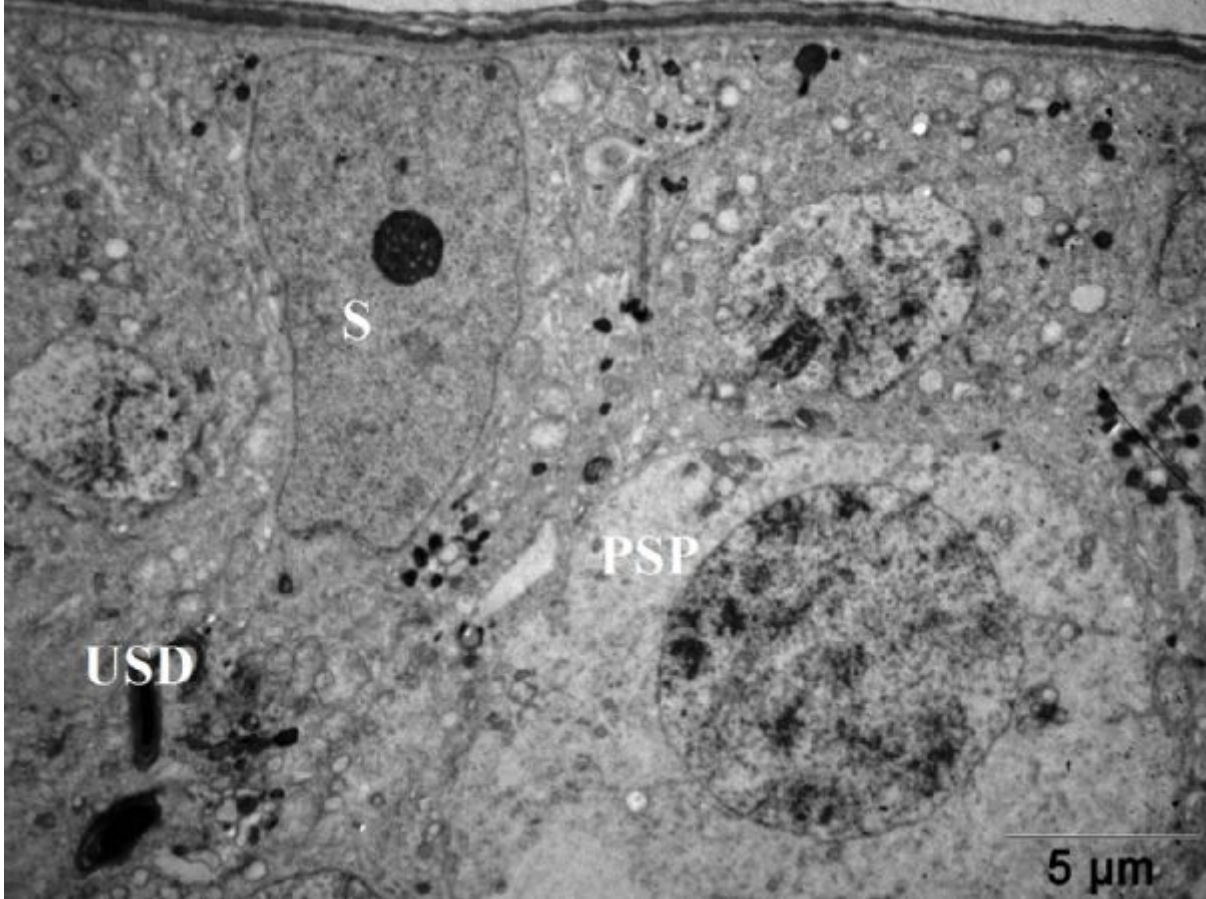
FINDINGS: In electron microscobic investigation in the thin sections from control group (Figure 1) spermatogenetic cell types which had different morphology according to stages were located basal and adluminal compartment with Sertoli cells. Each of both experimental groups the increase of intercellular distance especially between basal compartment cells was attractive (Figure 2). On the other hand, compared to control group in experimental groups there was an increase in the

number of lipid granule like structures covered by membrane especially in cell cytoplasm of spermatogonia and Sertoli cells (Figure 2). Addition to these findings each of both experimental groups, there was a deformation in the morphology of Golgi body cistern (Figure 3).
CONCLUSION: The findings from our study, it is thought that the effect of exogenous RA on rat testes is dose-dependent, and may show its effects on the Golgi body by affecting intracellular traffic.

Keywords: electron microscopy, retinoic acid, spermatogenesis, ultrastructure

Şekil 1: Kontrol grubu V.evre ince kesit

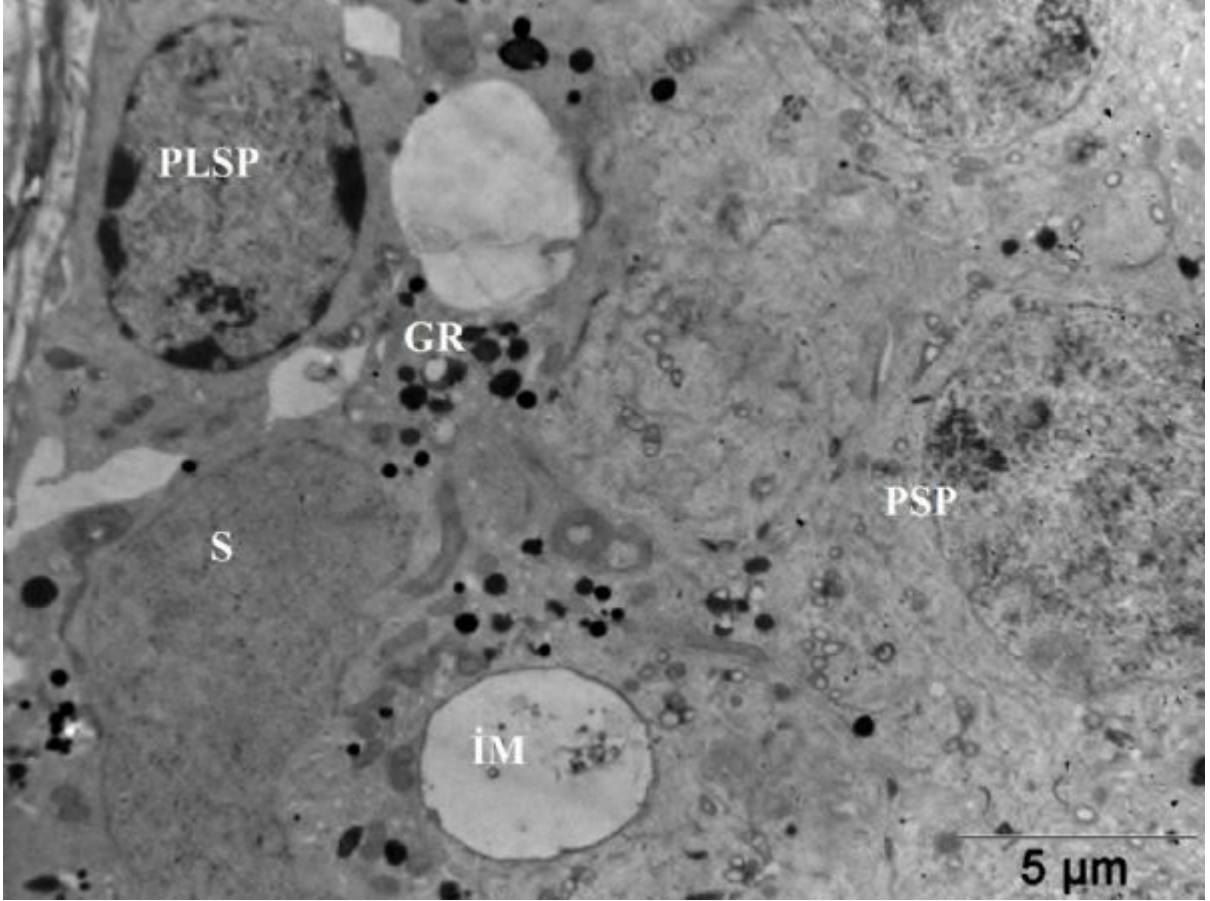
Figure 1: Control group stage V thin section



PSP: Pakiten spermatozit S: Sertoli hücresi USD: Uzamış spermatid
PSP: Pachytene spermatocyte S: Sertoli cell USD: Elongated spermatid

Şekil 2: 80 mg/kg deney grubu VI. evre bazal kompartman ince kesit

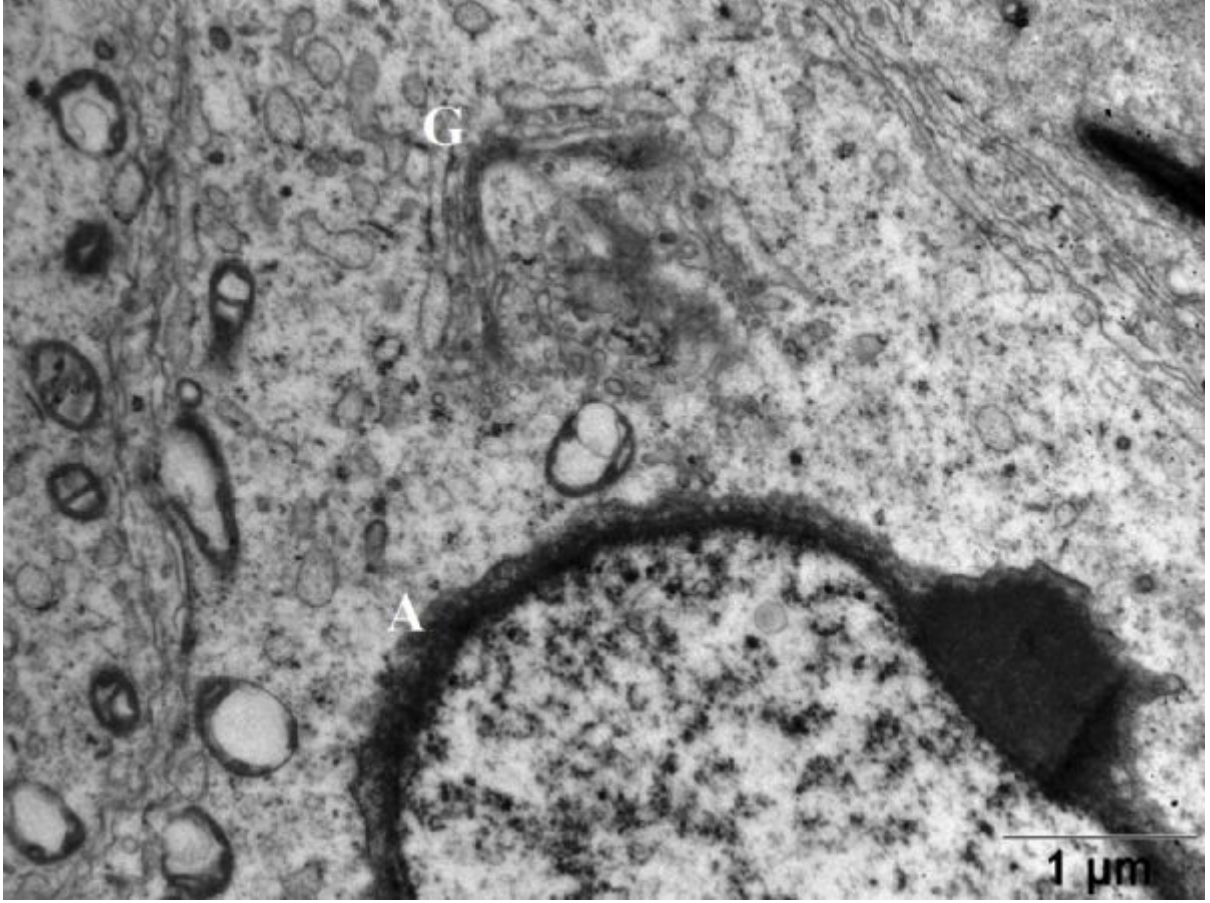
Figure 2: Experimental group of 80 mg/kg stage VI basal compartment thin section



GR: Granül İM: İnterselüler mesafe PLSP: Preleptoten spermatozoid PSP: Pakiten spermatozoid S: Sertoli hücresi
GR: Granule İM: Intercellular distance PLSP: Preleptotene spermatocyte PSP: Pachytene spermatocyte S: Sertoli cell

Şekil 3: 40 mg/kg deney grubu VII. evre yuvarlak spermatid ince kesit

Figure 3: Experimental group of 40 mg/kg stage VII round spermatid thin section



A: Akrozom G: Golgi cisimciği
A: Acrosome G: Golgi body

P051

Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarı Üzerine Shilajit'in Histopatolojik Etkisi

Eray Güven¹, Züleyha Erişgin², Yavuz Tekelioğlu¹

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD., Trabzon, Türkiye

²Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD., Giresun, Türkiye

AMAÇ: Akut lenfoblastik lösemi, non-hodgkin lenfoma (NHL), meme, mesane ve testis kanserlerinin tedavisinde günümüzde halen antimetabolit grubunun kullanılmakta olduğu tek formu olan Metotreksat (MTX) kaynaklı testis hasarı üzerine Shilajitin (PS) histopatolojik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

METOD: Yirmi dört adet Sprague Dawley erkek sıçan 4 gruba ayrıldı. Grup 1(kontrol grubu)'e herhangi bir uygulama yapılmadı. Grup 2 'ye tek doz i.p. 20 mg/kg MTX, Grup 3'e deney süresinin (7 gün) ilk gününde (0. Gün) tek doz i.p. 20 mg/kg MTX ve MTX verilmeden 15 dk önce 2 ml/kg distile suda 100 mg/kg PS çözülerek gavaj yoluyla verildi. 0. günü takiben gün aşırı, toplamda üç kez olacak şekilde 2 kez daha 2 ml/kg distile suda 100 mg/kg PS çözülerek gavaj yoluyla verildi. Grup 4 'de 0. gün ve akabinde gün aşırı toplamda üç kez olacak şekilde sadece 2 ml/kg distile suda 100 mg/kg PS çözülerek gavaj yoluyla verildi. Deney sonunda hayvanların tümü sakrifiye edilerek sol testisleri alındı. Testis doku örnekleri ışık mikroskobunda histopatolojik olarak değerlendirildi.

BULGULAR: Kontrol ile deney gruplarının vücut ve testis ağırlıklarının karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$). Vücut Ağırlığı (gr); Kontrol: 228.17 ± 41.53 , MTX: 187.17 ± 36.57 , MTX + PS: 202.33 ± 21.77 , PS: 216.50 ± 35.17 . Testis Ağırlığı (gr); Kontrol: 1.15 ± 0.23 , MTX: 1.13 ± 0.20 , MTX + PS: 1.20 ± 0.32 , PS: 1.15 ± 0.16 . Histopatolojik olarak; MTX grubunda seminifer tübül çapında ve seminifer tübül epitel kalınlığında anlamlı derecede azalma gözlenirken ($p<0,04$), MTX+PS grubunda MTX grubuna göre seminifer tübül çapında ve seminifer tübül epitel kalınlığında artış olduğu gözlemlendi ($p<0,04$). Seminifer Tübül Çapı; Kontrol: 273.72 ± 11.70 , MTX: 200.77 ± 7.55 , MTX + PS: 237.94 ± 6.26 , PS 263.51 ± 4.79 . Germinal Epitel Kalınlığı; Kontrol: 107.13 ± 2.79 , MTX: 71.97 ± 3.65 , MTX + PS: 96.86 ± 1.72 , PS: 109.44 ± 4.73 . Morfolojik bulgular değerlendirildiğinde; MTX grubuna ait testis kesitlerinde, lümeninde olgunlaşmamış seminifer tübül epitel hücreleri ve spermatozoa azlığı, seminifer tübül epitelinde ve bazal membranında düzensizlikler ve interstisyel alanda ödem izlendi. MTX+PS grubuna ait testis kesitlerinde ise, seminifer tübül epitelinde düzensizlik olan ve lümenine olgunlaşmamış seminifer tübül epitel hücrelerinin dökülmüş olduğu birkaç tübül dışında herhangi bir patolojiye rastlanmadı. SONUÇ: Bulgularımız Metotreksat'ın testis hasarı meydana getirdiğini ve PS uygulamasının bu hasarı önleyebileceğini göstermektedir. Sonuç olarak PS'nin, MTX tedavisinde oluşan testis hasarının önlenmesinde yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Metotreksat, Shilajit (PS), Sıçan, Testis

Histopathological Effects of Shilajit on Methotrexate Induced Testicular Damage in Rats

Eray Güven¹, Züleyha Erişgin², Yavuz Tekelioğlu¹

¹Department of Histology and Embryology, Medical School, Black Sea Technical University, Trabzon, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Medical School, Giresun University, Giresun, Turkey

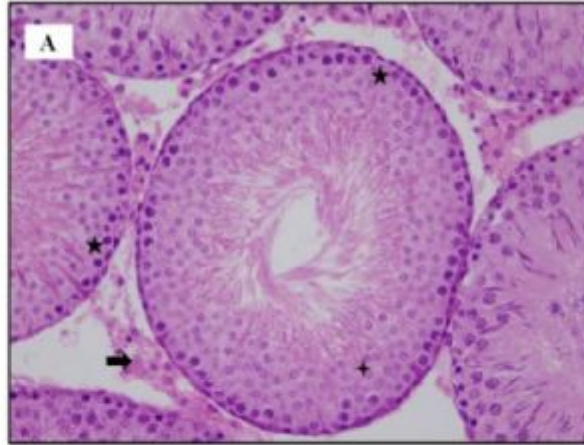
OBJECTIVE: Methotrexate is still used only form of antimetabolite group for acute lymphoblastic leukemia, non-Hodgkin 's lymphoma (NHL), breast, bladder and testicular cancer treatment. We aimed to investigate the histopathological effects of Shilajit(PS) on Methotrexate induced testicular damage.

MATERIAL-METHOD: Twenty four Sprague Dawley male rats were divided up four groups. Group 1 (control group) was no treated. Group 2 was exposed to single dose i.p. 20 mg/kg MTX, Group 3 was exposed to 100mg/kg PS by gavage 15 minutes before single dose i.p. 20 mg/kg MTX (Day 0) and repeatedly PS was given as same dosage at the every other day during the experiment(7days). Group 4 was exposed to only 100 mg/kg PS by gavage (Day 0, 4, 7). At the end of experiment, all animals were sacrificed and were taken left testises. Testicular tissue samples were evaluated as histopatologically on the light microscope.

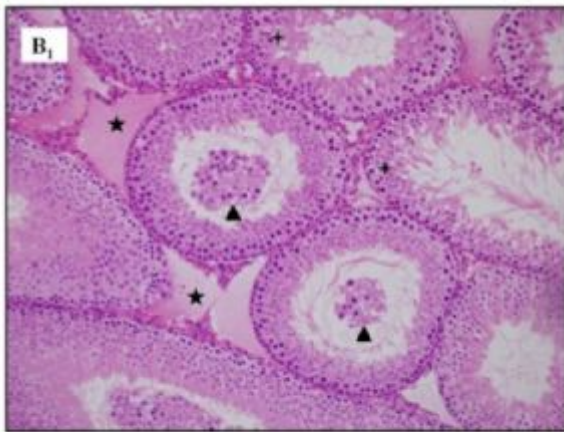
RESULTS: Testicular and body weight of control and experimental groups were compared. There was no statistically significant difference between all groups ($p > 0.05$). Body Weight (g); Control: 228.17 ± 41.53 , MTX: 187.17 ± 36.57 , MTX + PS: 202.33 ± 21.77 , PS: 216.50 ± 35.17 . Testicular Weight (g); Control 1.15 ± 0.23 MTX 1.13 ± 0.20 MTX PS: 1.20 ± 0.32 , PS 1.15 ± 0.16 . In diameter and epithelial thickness of seminiferous tubule, a significant decrease was observed in the MTX group ($p < 0.04$). Those increased in the MTX+PS group compare with the MTX group ($p < 0.04$). Seminiferous tubule diameter; Control: 273.72 ± 11.70 , the MTX: 200.77 ± 7.55 respectively, the MTX + PS: 237.94 ± 6.26 years, PSI 263.51 ± 4.79 . Germinal epithelial thickness; Control: 107.13 ± 2.79 MTX: 71.97 ± 3.65 , MTX + PS: 96.86 ± 1.72 , PS: 109.44 ± 4.73 . Morphological changes were observed as immature tubule epithelial cells, decreased sperm amount into lumen, irregularities in tubule epithelium and in basal membrane and edema in the interstitial space in the MTX group. In the MTX+PS group, there were no abnormalities except from a few tubules that represent irregular tubule epithelium and immature tubule epithelial cells. **CONCLUSION:** Our results showed that Methotrexate might give rise to testicular damage and PS applying might prevent this damage. As a result, PS would be useful on the prevention of testicular damage after MTX treatment.

Keywords: Methotrexate, Shilajit(PS), Rat, Testis

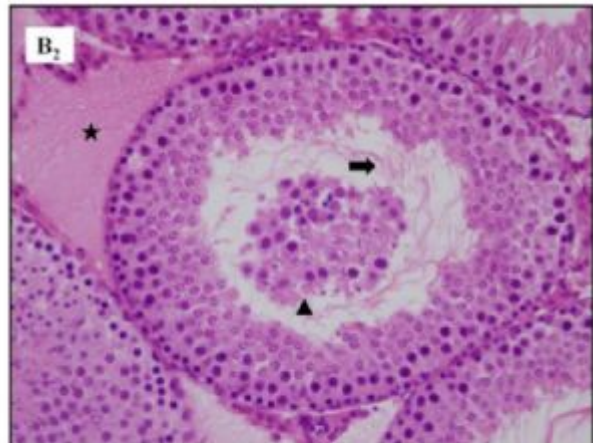
Kontrol ve MTX Gruplarına ait testiküler histolojik görüntüler **Testicular histologic images for Control and MTX groups**



Kontrol grubuna ait normal yapıdaki testis kesit görüntüsünde, seminifer tübüller (★), spermatogenez serisine ait hücreler (+) ve interstisyel alandaki Leydig hücreleri (→) izlenmektedir (A; H&E, X400)

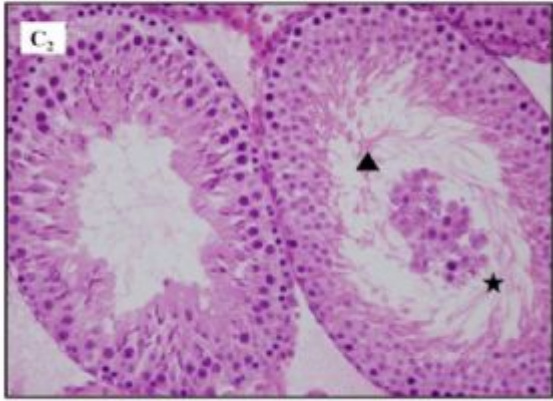
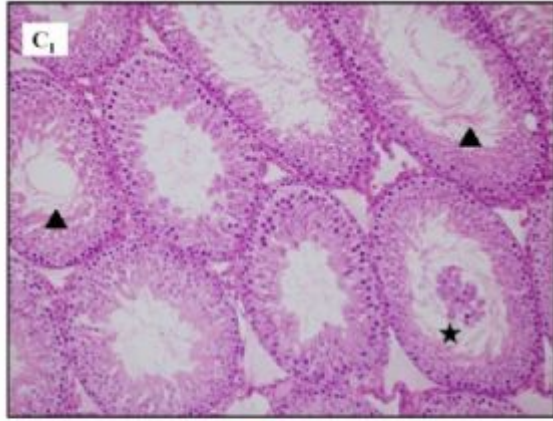


MTX grubuna ait testis kesit görüntüsünde, lümeninde olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri (▲), seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlikler (+) ve interstisyel alanda ödem (★) izlenmektedir (B₁; H&E, X200)

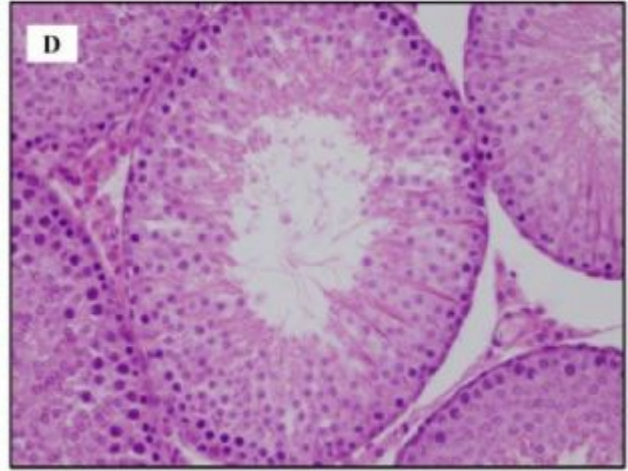


MTX grubuna ait testis kesit görüntüsünde, lümeninde olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri (▲), lümeninde spermatozoa azlığı (→) ve interstisyel alanda ödem (★) izlenmektedir (B₂; H&E, X400)

MTX+PS ve PS Gruplarına ait testiküler histolojik görüntüler **Testicular Histologic Images for MTX+PS and PS Groups**



MTX+PS grubuna ait testis kesiti görüntüsü, lümeninde spermatozoa yoğunluğu (▲) ve az sayıda lümeninde olgunlaşmamış germinal hücrelerin görüldüğü seminifer tübüller (★) izlenmektedir (C1, C2; H&E, X200, X400)



PS Grubuna ait testis kesit görüntüsünde seminifer tübüllerin histolojik yapısının kontrol grubuna benzer olduğu izlenmektedir (D; H&E, X400)

Deney Gruplarına Ait Morfometrik Ölçümlerin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

GRUPLAR	SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPI(μm)	GERMİNAL EPİTEL KALINLIĞI(μm)
KONTROL	273.72 \pm 11.70	107.13 \pm 2.79
MTX	200.77 a \pm 7.55	71.97 a \pm 3.65
MTX+PS	237.94 b \pm 6.26	96.86 b \pm 1.72
PS	263.51 \pm 4.79	109.44 \pm 4.73

a: MTX grubundaki değerler kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p < 0,04$). b: MTX+PS grubundaki değerler MTX grubuna göre anlamlı bir şekilde artmıştır ($p < 0,04$).

The Average and Standart Deviation of Morphometric Measurements

GROUPS	SEMİNEROUS TUBULE DIAMETER(μm)	GERMİNAL EPİTHELIUM THİCKNESS(μm)
CONTROL	273.72 \pm 11.70	107.13 \pm 2.79
MTX	200.77 a \pm 7.55	71.97 a \pm 3.65
MTX+PS	237.94 b \pm 6.26	96.86 b \pm 1.72
PS	263.51 \pm 4.79	109.44 \pm 4.73

a: Values in the MTX group statistically decreased compare with the control b: Values in the MTX+PS group statistically increased compare with the MTX group.

Deney Gruplarının Vücut ve Testis Ağırlığına Ait Ortalama ve Standart Sapmalar

GRUPLAR	VÜCUT AĞIRLIĞI(gr)	TESTİS AĞIRLIĞI(gr)
KONTROL	228.17 \pm 41.53	1.15 \pm 0.23

MTX	187.17 ± 36.57	1.13 ± 0.20
MTX+PS	202.33 ± 21.77	1.20 ± 0.32
PS	216.50 ± 35.17	1.15 ± 0.16

The Average and Standart Deviation of Body and Testicular Weights

GROUPS	BODY WEIGHTS(g)	TESTIS WEİGHTS(g)
CONTROL	228.17 ± 41.53	1.15 ± 0.23
MTX	187.17 ± 36.57	1.13 ± 0.20
MTX+PS	202.33 ± 21.77	1.20 ± 0.32
PS	216.50 ± 35.17	1.15 ± 0.16

Kaynakça / References: Agarwal SP, Khanna R, Karmarkar R, Anwer MK, Khar RK (2007). Shilajit: A Review. *Phytother Res* 21: 401-405. Park JS, Kim GY, Han K (2006). The spermatogenic and ovogenic effects of chronically administered Shilajit to rats. *Journal of Ethnopharmacology* 107: 349353. Armagan A, Uzar E, Uz E, Yilmaz HR, Kutluhan S, Koyuncuoglu HR, Soyupek S, Cam H, Serel TA (2008). Caffeic acid phenethyl ester modulates methotrexateinduced oxidative stress in testes of rat. *Human and Experimental Toxicology* 27: 547-552. Biswas TK, Pandit S, Mondal S, Biswas SK, Jana U, Ghosh T, Tripathi PC, Debnath PK, Auddy RG, Auddy B (2010). Clinical evaluation of spermatogenic activity of processed Shilajit in oligospermia. *Andrologia* Feb 42(1): 48-56. Padmanabhan S, Tripathi DN, Vikram A, Ramarao P, Jena GB (2009). Methotrexate-induced cytotoxicity and genotoxicity in germ cells of mice: intervention of folic and folinic acid. *Mutat Res* 673(1): 43-52 Şener G, Demiralp EE, Çetiner M, Ercan F, Yeğen BÇ (2006). B-glucan ameliorates methotrexate-induced oxidative organ injury via its antioxidant and immunomodulatory effects. *Eur J Pharmacol* 542: 170-8. Işık A, Işılav L, Erdemli EA, Akbay C, Anafarta K (1997). Sıçan testisinde metotreksat'ın ışık ve elektron mikroskop düzeyinde etkileri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* Cilt 50, Sayı 3.

P052

Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarına Karşı E Vitamininin Kısa Süreli Koruyucu Etkileri

Şeyma Kurt¹, Züleyha Erişgin², Yavuz Tekelioğlu¹

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD., Trabzon, Türkiye

²Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD., Giresun, Türkiye

AMAÇ: Bu çalışmada sıçanlarda Metotreksat (MTX) kaynaklı testis hasarına karşı E vitamininin kısa süreli koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlandı.

MATERYAL-METOD: Çalışmada 32 adet erişkin erkek Sprague dawley sıçan dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna deney süresi (5 gün) boyunca 2ml serum fizyolojik intraperitoneal (i.p.) verildi. MTX grubuna sadece çalışmanın ilk günü 20 mg/kg i.p. olarak uygulandı. E vitamini grubuna 5 gün boyunca 100 mg/kg i.p. olarak uygulandı. MTX+E vitamini grubundaki sıçanlara ise çalışmanın ilk günü 20 mg/kg i.p. MTX ve ilk günde dahil olmak üzere 5 gün boyunca 100 mg/kg i.p. olarak E vitamini uygulandı. Deney sonunda, hayvanlar sakrifiye edilerek testisleri alındı ve doku örnekleri ışık mikroskopunda histopatolojik olarak değerlendirildi. Apoptozisi değerlendirmek için TUNEL tekniği kullanıldı. Testis doku örneklerinin bir kısmı ile akım sitometrik incelenme yapıldı.

BULGULAR: Deney gruplarının testis ağırlıkları karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı (One Way ANOVA, $p=0.63$). Seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlıkları karşılaştırıldığında, germinal epitel kalınlığı, MTX grubu ile MTX+E vitamini grupları arasında anlamlı farklılık bulunmazken (Tukey HSD, $p=0.143$), MTX grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma görüldü (Tukey HSD, $p<0.001$). Seminifer tübül çapı, MTX grubunda diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldı. MTX+E vitamini grubunda MTX grubuna göre anlamlı şekilde arttı (Tamhane Testi, $p<0.05$). Kontrol grubu ile E vitamini ve MTX+E vitamini grupları arasında fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tamhane, E vitamini grubu için $p=0.996$, MTX+E Vitamini grubu için $p=0.377$). Testis hasar değerlendirme sistemi ile belirlendi. Kontrol grubu ile E vitamini grubu arasındaki fark anlamlı değilken, MTX+E vitamini grubunda MTX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttı (Tamhane Testi, $p<0.05$). Histopatolojik incelemede; kontrol ve E vitamini gruplarında seminifer tübüllerdeki germinal hücrelerin normal döngüde seyrettiği, interstisyel dokunun bütünlüğünü koruduğu ve leydig hücreleri gözlemlendi. MTX grubunda, seminifer tübüllerin lümenine fazla sayıda immatür germinal hücrelerin döküldüğü, bazal membranda açılmalar, intertübüler alanda ödem ve germinal epitelde yer yer vakuolizasyon gözlemlendi. MTX+E vitamini grubunda, seminifer tübüllerde sertoli hücresi ve spermatogonyum arasındaki açılmaların ve vakuolizasyonun belirgin derecede azaldığı, spermatogenik hücrelerin yapısının ve germinal epitelin bütünlüğünün korunduğu izlendi. Apoptotik İndeks değerlendirmesine göre; tüm gruplar içinde en yüksek AI (%) değeri MTX grubunda, en düşük AI değeri ise kontrol grubunda elde edilmiştir. Kontrol grubu ile MTX ve MTX+E vitamini grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık varken, MTX grubuna göre MTX+E vitamini grubunun AI değerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür (Tamhane Testi, $p<0.001$).

SONUÇ: Elde ettiğimiz bulgular, MTX'in testiste yapısal bozukluklar oluşturduğunu; E vitamininin koruyucu etkisiyle, MTX'in testiste oluşturduğu bu hasarı düzeltebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Metotreksat, E vitamini, Apoptozis, TUNEL, Akım Sitometri, Sıçan

The protective effects of short period usage of Vitamin E on Methotrexate induced testicular damage

Şeyma Kurt¹, Züleyha Erişgin², Yavuz Tekelioğlu¹

¹Department of Histology and Embryology, Medical School, Black Sea Technical University, Trabzon, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Medical School, Giresun University, Giresun, Turkey

OBJECTIVE: We aimed to investigate the protective effects of short period usage of Vitamin E on Methotrexate (MTX) induced testis damage on rats.

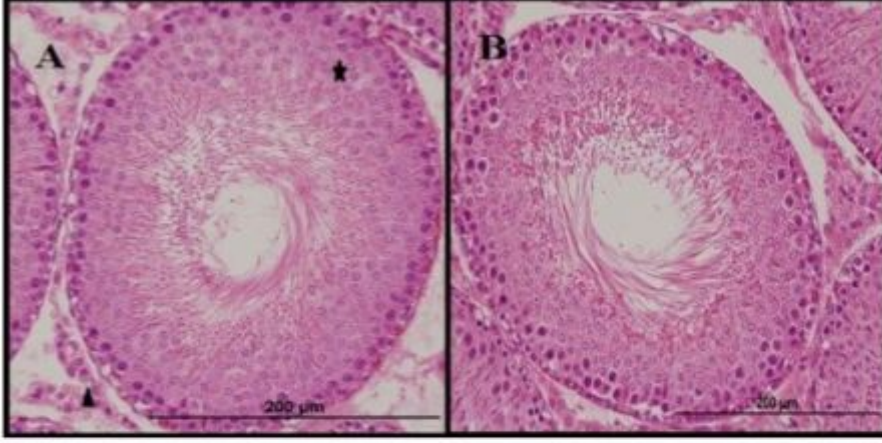
Material-METHOD: In this study, 32 male Sprague dawley rats were used and divided up 4 groups.

Control group was taken 2 ml saline by intraperitoneally (i.p.) and Vitamin E group was taken 100 mg/kg Vitamin E by i.p for 5 days. MTX group was taken 20 mg/kg MTX by i.p. only at the first day of experiment. MTX+Vitamin E group was taken 20 mg/kg i.p. MTX and 100 mg/kg i.p. Vitamin E at first day of experiment and consequently was exposed to Vitamin E for four days with same dosage. At the end of experiment all rats were sacrificed. Testicular tissues were removed and examined histopathologically. TUNEL and flow cytometry were used to determining for apoptosis. RESULTS: When compared of testicular weight of all experiment groups, there was no significant difference between all groups (Oneway ANOVA, $p = 0.63$). Germinal epithelium thickness decreased in the MTX group compare with control (Tukey HSD, $p < 0.001$), but no differences between MTX and MTX+Vitamin E groups (Tukey HSD, $p = 0.143$). Seminiferous tubule diameter increased in the MTX+Vitamin E group compare with the MTX group (Tamhane Test, $p < 0.05$), whereas it decreased in the MTX group compare to all. Testicular damage was evaluated by Johnsen Score System. It increased statistically in the MTX+ Vitamin E group compared with the MTX group ($p < 0.05$, Tamhane Test). Histopathologically, germinal cell cycle in the seminifer tubule and leydig cells were observed normal and the integrity of interstitial tissue was protected in the control and Vitamin E groups. In the MTX group, many immatur germinal cell into lumen, edema intertubuler area and vacuolization in germinal epithelium was observed. In the MTX+ Vitamin E group, vacuolization was significantly decreased and integrity of spermatogenetic cells and germinal epithelium was protected. According to Apoptotic Index Evaluation (AI), the highest value (%) was obtained in the MTX group, while the lowest value was obtained in the control group. AI has been shown statistically significant reduction in the MTX+ Vitamin E compared with the MTX group (Tamhane Testi, $p < 0.001$).

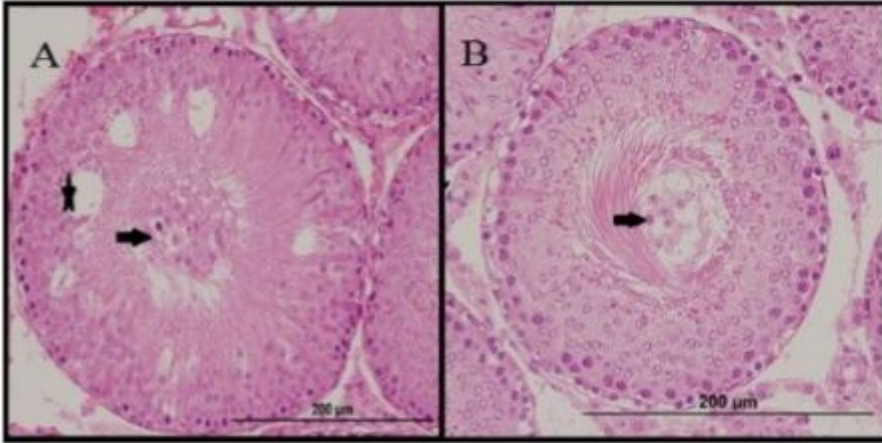
CONCLUSION: According to our results, MTX treatment has given rise to structural damages of testis. Vitamin E might have protective effect and repaire to MTX induced testicular damage.

Keywords: Methotrexate, Vitamin E, Apoptosis, TUNEL, Flow Cytometry, Rat

Gruplara ait testiküler histolojik görüntüler Kontrol, E vitamini, MTX ve MTX+E vitamini Testicular Histologic Images for Control, Vitamin E, MTX and MTX+Vitamin E groups

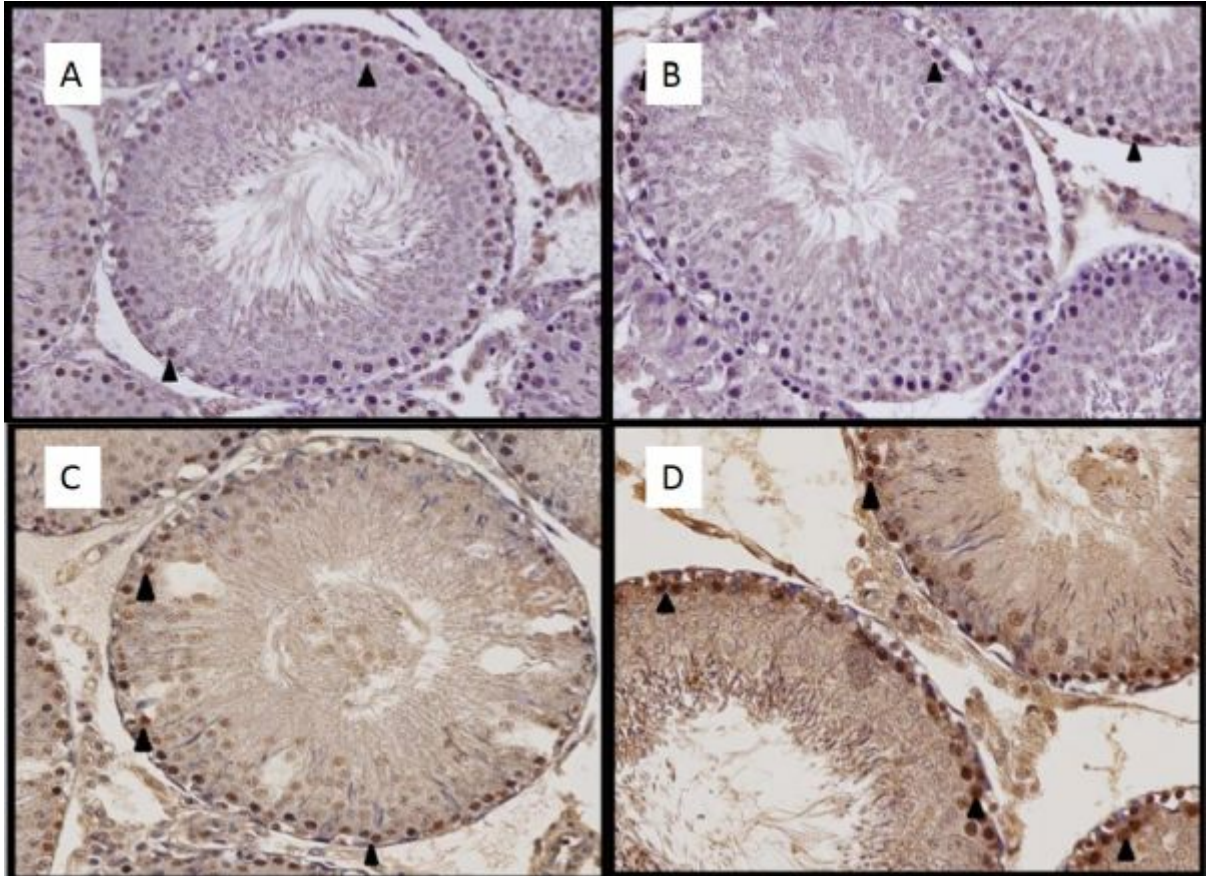


Kontrol (A) ve E Vitamini (B) Gruplarına Ait Testis Dokuları. Kontrol Grubuna Ait Normal Yapıdaki Testis Dokusunda Seminifer Tübüller (★) ve Aralarındaki İnterstisyel Doku (▲) Görülmektedir (H&E, X400).



MTX (A) ve MTX+E (B) Vitamini Gruplarına Ait Testis Dokuları. Seminifer Tübülde Vakuoller (★) ve Lümeneye Dökülen Olgunlaşmamış Germ Hücreleri (→) Dikkat Çekmektedir (H&E, X400).

TUNEL
TUNEL



A: Control Group B: Vitamin E Group C: MTX Group D: MTX+ Vitamin E Group TUNEL (+) cells (▲) (TUNEL, X400).

A: Control Group B: Vitamin E Group C: MTX Group D: MTX+ Vitamin E Group TUNEL (+) cells (▲) (TUNEL, X400).

Çalışma Gruplarına Ait Akım Sitometrik Değerlendirme Sonuçları

FAZ DEĞERLERİ

GRUPLAR	G0/G1 Fazı	S Fazı	G2/M Fazı
KONTROL	98.5	0.8	0.7
E VİTAMİNİ	98.4	0.9	0.7
MTX	93.4	3.5	3.1 *
MTX+E VİTAMİNİ	96.8	1.8	1.4 **

*: MTX grubuna ait yüzde cinsinden S ve G2/M faz değerlerinin kontrol grubuna göre arttığı izlendi.

** : MTX+E vitamini grubuna ait yüzde cinsinden S ve G2/M faz değerlerinin MTX grubuna göre azaldığı izlendi.

Flow Cytometry Results of All Groups

PHASE RESULTS (%)

GROUPS	PHASE G0/G1	PHASE S	PHASE G2/M
CONTROL	98.5	0.8	0.7
VITAMIN E	98.4	0.9	0.7
MTX	93.4	3.5	3.1 *
MTX+ VITAMIN E	96.8	1.8	1.4 **

*: In the MTX group, Phase S and G2/M results (%) increased compare with control. **: In the MTX+ Vitamin E group, Phase S and G2/M results (%) decreased compare with MTX group.

Çalışma Gruplarına ait Johnsen Skorlama Sistemi ve Apoptotik İndeks Değerlendirme Sonuçları

GRUPLAR	JOHNSEN SCORLAMA SONUÇLARI	APOPTOTİK İNDEKS(%)
KONTROL	9.22 ± 0.18	2.01 ± 0.29
E VİTAMİNİ	9.07 ± 0.18	3.09 ± 0.32
MTX	7.42 *± 0.46	16.92a ± 1.97
MTX+E VİTAMİNİ	8.30 **± 0.26	9.89 b± 1.01

*: MTX grubunda ki hasar diğer tüm gruplara göre anlamlı derecede arttı ($p<0.05$). **: MTX+E Vitamini grubunun hasarı MTX grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0.05$). a: MTX grubundan elde edilen değer diğer gruplara göre anlamlı derecede artmıştır ($p<0.05$). b: MTX+E Vitamini grubundan elde edilen değer MTX grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır ($p<0.001$).

Johnsen Score System and AI Results of All Groups

GROUPS	JOHNSEN SCORE RESULTS	APOPTOTIC INDEX(%)
CONTROL	9.22 ± 0.18	2.01 ± 0.29
VITAMIN E	9.07 ± 0.18	3.09 ± 0.32
MTX	7.42 *± 0.46	16.92a ± 1.97
MTX+VITAMIN E	8.30 **± 0.26	9.89 b± 1.01

*: Testicular damage in the MTX group significantly increased compare with all ($p<0.05$). **: Testicular damage in the MTX+Vitamin E group significantly reduced compare with MTX group ($p<0.05$). a: Apoptotic score in the MTX group significantly increased compare with all ($p<0.05$). b: Apoptotic score in the MTX+Vitamin E group significantly reduced compare with MTX group ($p<0.001$).

Deney Gruplarına Ait Testis Ağırlığı ve Morfometrik Ölçümlerin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

GRUPLAR	TESTİS AĞIRLIĞI(gr)	SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPI(µm)	GERMİNAL EPİTEL KALINLIĞI(µm)
KONTROL	1.3125 ± 0.1246	271.81 ± 2.79	82.31 ± 2.72
MTX	1.2625 ± 0.1598	242.03 ^a ± 10.45	64.33* ± 5.51
E VİTAMİNİ	1.2250 ± 0.1388	271.15 ± 2.00	79.45 ± 3.39
MTX+E VİTAMİNİ	1.3000 ± 0.1603	264.79 ^b ± 9.37	69.49** ± 6.11

Tüm gruplar için testis ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,63$)
^a: MTX grubundaki değerler diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır ($p<0.05$). ^b: MTX+E Vitamini grubundaki değerler MTX grubuna göre anlamlı derecede artmıştır ($p<0.05$). *: MTX grubundaki değerler kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır ($p<0.001$). **: MTX grubu ile MTX+E Vitamini grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

The Average and Standart Deviation of Testicular Weights and Morphometric Measurements of All Groups

GROUPS	TESTIS WEIGHT (g)	SEMINIFEROUS TUBULE DIAMETER (µm)	GERMINAL EPITHELIUM THICKNESS(µm)
CONTROL	1.3125 ± 0.1246	271.81 ± 2.79	82.31 ± 2.72
MTX	1.2625 ± 0.1598	242.03 ^a ± 10.45	64.33* ± 5.51
VITAMIN E	1.2250 ± 0.1388	271.15 ± 2.00	79.45 ± 3.39
MTX+VITAMIN	1.3000 ±	264.79 ^b ± 9.37	69.49** ± 6.11

E 0.1603

*There was no significant difference between all groups about testicular weight. ^a: Values statistically reduced in the MTX group compare with all ($p<0.05$). ^b: Values statistically increased in the MTX+ Vitamin E group compare with MTX group($p<0.05$). *: Values in the MTX group statistically reduced compare with control ($p<0.001$). **: no statistically meaningful difference between MTX and MTX+ Vitamin E*

Kaynakça / References: Ayinde OC, Ogunnowo S, Ogedegbe RA (2012). Influence of Vitamin C and Vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats. BMC Pharmacol Toxicol; 13:17. doi: 10.1186/2050-6511-13-17. Chen H, Liu J, Luo L, Baig MU, Kim JM, Zirkin BR (2005). Vitamin E, aging and Leydig cell steroidogenesis. Exp Gerontol 40(8-9): 728-36. Panetta JC, Sparreboom A, Pui CH, Relling MV, Evans WE (2010). Modeling mechanisms of in vivo variability in methotrexate accumulation and folate pathway inhibition in acute lymphoblastic leukemia cells. PLoS Comput Biol; 2;6(12):e1001019. doi: 10.1371/journal.pcbi.1001019 Padmanabhan S, Tripathi DN, Vikram A, Ramarao P, Jena GB (2008). Cytotoxic and genotoxic effects of methotrexate in germ cells of male Swiss mice. Mutat Res; 655(1-2):59-67. doi: 10.1016/j.mrgentox.2008.07.003. Wang N, Qian HY, Zhou XQ, Li YB, Sun ZW (2012). Mitochondrial energy metabolism dysfunction involved in reproductive toxicity of mice caused by endosulfan and protective effects of vitamin E. Ecotoxicol Environ Saf; 82:96-103. doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.05.014.

P053

Siçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarına Karşı Beta Glukan'ın Etkisi

Fidan Koç¹, Züleyha Erişgin², Yavuz Tekelioğlu¹

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD., Trabzon, Türkiye

²Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD., Giresun, Türkiye

AMAÇ: Kemoterapik bir ajan olan Metotreksat(MTX) ile güçlü bir antioksidan olduğu bilinen Beta Glukanın (BG) testis dokusu üzerindeki histopatolojik etkisinin araştırılması amaçlandı.

MATERYAL-METOD: Çalışmada 24 adet Sprague Dawley erkek siçan kullanıldı. Dört gruba ayrılarak, Kontrol grubuna deney süresince (5 gün) gavaj yoluyla 2ml Serum fizyolojik(SF) verildi. Deneyin birinci günü tek doz MTX (i.p.30mg/kg), MTX grubuna ve MTX+ BG grubuna uygulandı. Deney süresince (5 gün) her gün aynı saatte gavaj yoluyla 50mg/kg Beta Glukan, BG ve MTX+BG grubuna uygulandı. Deneyin sonunda(5.gün) siçanlar sakrifiye edildi. Testis doku örnekleri histopatolojik olarak değerlendirildi ve apopitozisi değerlendirmek için TUNEL tekniği kullanıldı.

BULGULAR: Deney gruplarının, deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında, MTX ve MTX+BG gruplarında vücut ağırlıkları istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşmüştür (Paired T Testi, iki eş arasındaki farkın önemlilik testi, $p<0.05$). Kontrol ve BG gruplarının deney önce ve sonrası vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında, Kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu halde ($p=0.001$),BG grubundaki artış istatistiksel açıdan anlamlı değildi($p=0.852$).Deney gruplarına ait testis ağırlıkları karşılaştırıldığında Kontrol, BG, MTX ve MTX + BG gruplarının testis ağırlıkları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı(One Way ANOVA, $p=0.996$).Seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığına ait ölçüm sonuçlarının istatistiksel analizinde, MTX grubunda kontrol grubuna göre seminifer tübül çapında bir azalma olsada, istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu azalmanın sadece MTX ve BG gurubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı derecede olduğu görüldü.MTX+BG grubunda MTX grubuna göre seminifer tübül çapında bir artış görülsede, bu artış istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0,052$). Kontrol grubu ile BG grubu karşılaştırıldığında seminifer tübül çapında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Germinal epitel kalınlığı açısından MTX grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede bir azalma meydana geldiği görüldü. MTX+ BG grubundaki germinal epitel kalınlığı MTX grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede artış görüldü(Tukey HSD, $p<0.05$). Johnsen Skorlama Sistemi ile testis hasar değerlendirmesinde, sonuçların istatistiksel analizine göre, MTX grubundaki testis hasarı diğer gruplara göre anlamlı derecede artmıştır(Tukey HSD, $p<0.05$). MTX grubu ile MTX+BG grubu hasar yönünden karşılaştırıldığında, MTX+BG grubunda istatistiksel açıdan anlamlı bir düşüş görüldü(Tukey HSD, $p<0.05$). Apopitotik İndeks (AI) değerlendirildiğinde; MTX grubunda kontrol grubuna ve BG grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttığı ($p<0.05$), MTX+BG grubunda ise MTX grubuna göre anlamlı derecede azaldığı görüldü($p<0.05$).

SONUÇ: Bulgularımız, MTX'in testiste hasar oluşturduğunu ve Beta glukan'ın bu testiküler hasarı önleyebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Metotreksat, Beta Glukan, Apopitoz,Testis, Siçan

The effect of Beta Glucan on Methotrexat induced testicular damage in rats

Fidan Koç¹, Züleyha Erişgin², Yavuz Tekelioğlu¹

¹Department of Histology and Embryology, Medical School, Black Sea Technical University, Trabzon, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Medical School, Giresun University, Giresun, Turkey

OBJECTIVE: We aimed to investigate histopathological effect of Methotrexat as known a chemotherapeutic agent and Beta Glucan is a strong antioxidant on rat testicular tissue.

MATERIAL-METHOD: In this experiemtn twenty four Sprague Dawley male rats were used. Rats were divided up four groups as Control, MTX, MTX+BG, BG. Control group was taken 2ml saline by gavage for 5 days. MTX group was exposed to a single dose MTX (i.p.30mg/kg) at the first day of experiment. MTX+BG group was exposed to a single dose MTX (i.p.30mg/kg) and BG (50mg/kg) by gavage at the first day of experiment, BG (50mg/kg) was given same dosage by gavage at the rest of four day. BG group was exposed to 50mg/kg BG by gavage for five days. At the fifth day all animals were sacrificed and testicular tissue were evaluated by histopathologically and TUNNEL

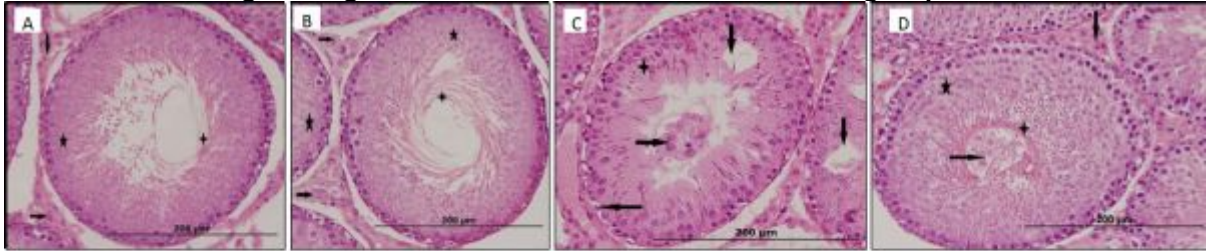
method was used for apoptosis.

RESULTS: At the comparison of body weight of before and after experiment, in the MTX and MTX+BG groups, reduction was significantly lower (Paired T Test, $p < 0.05$). In the control groups, there was a statistically increasing ($p = 0.001$), whereas there was no in the BG group ($p = 0.852$). At the comparison of testicular weight of all experiment groups, there was no differences between all groups (One Way ANOVA, $p = 0.996$). Seminiferous tubule diameters reduced in the MTX group compare with BG group and there was a reduction in the MTX group compare with control but not meaningful as statistically. In the comparison of seminiferous tubule diameter with MTX group, there was an increasing in the MTX+BG, but it was no statistically meaningful ($p = 0,052$). Also there was no difference between control and BG groups. Germinal epithelium thickness reduced in the MTX group compare with others. It increased statistically in the MTX+ BG group compare with MTX group (Tukey HSD, $p < 0.05$). Testicular damage was evaluated by Johnsen Scor System. According to statistically analysis, testicular damage increased in the MTX group (Tukey HSD, $p < 0.05$) and MTX was compared with MTX+BG group, reduction was statistically meaningful in the MTX+BG group (Tukey HSD, $p < 0.05$). Apopitotic Indeks (AI) increased in the MTX group compare with control and BG groups ($p < 0.05$), whereas it reduced in the MTX+BG group compare with MTX group ($p < 0.05$).

CONCLUSION: Our results showed that MTX as a chemotherapeutic agent might have destrutive effects on testicular tissequ and Beta Glucan may have protective effect on it.

Keywords: Methotrexate, Beta Glucan, Apoptosis, Testis, Rat

Kontrol, BG, MTX, MTX+BG gruplarına ait testiküler histolojik görüntüler Testicular Histologic Images for Control, BG, MTX and MTX+BG groups



A: Kontrol, B: BG Grubu, C: MTX Grubu, D: MTX+BG Grubu

A: Normal yapıdaki testis dokusuna ait seminifer tübüller (★) spermatozoa (→) ve interstisyel doku (↓) ve Leydig hücreleri (→) (H&E, x 400)

B: Normal yapıdaki testis dokusuna ait seminifer tübüller (★) spermatozoa (→) ve interstisyel doku (↓) ve Leydig hücreleri (→) (H&E, x 400)

C: MTX grubunda seminifer tübüllerde vakuoller (↓) ve bazal membranda vakuoller (←), lümene dökülen olgunlaşmamış germ hücreleri (→) (H&E, x 400)

D: MTX+BG grubunda lümeninde spermatozoon yoğunluğu (★), lümeninde az sayıda olgunlaşmamış germ hücreleri (→) ve interstisyel doku (↓) (H&E, x 400)

A: Control, B: BG Group C: MTX Group, D: MTX+BG Group

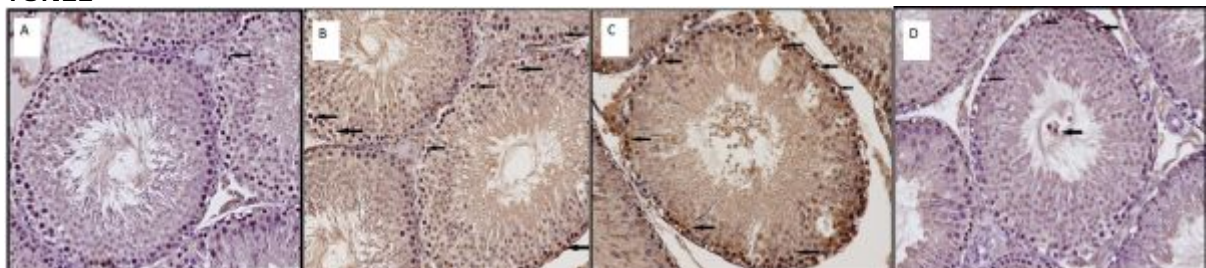
A: Normal testicular structure, seminiferous tubules (★) spermatozoa (→) ve interstitial tissue (↓) ve Leydig cells (→) (H&E, x 400)

B: Normal testicular structure, seminiferous tubules (★) spermatozoa (→) ve interstitial tissue (↓) ve Leydig cells (→) (H&E, x 400)

C: In MTX group, vacuoles in seminiferous tubules (↓) and vacuoles in basal membran (←), Immature germ cells into lumen (→) (H&E, x 400)

D: In MTX+BG group, increased amount of spermatozoa into lumen (★), less amount of immature germ cells into lumen (→) and interstisyel doku (↓) (H&E, x 400)

TUNEL TUNEL



A: Kontrol Grup, B: BG grubu, C: MTX grubu, D: MTX + BG grubuna ait testis dokusunda gözlenen TUNEL (+) hücreler (ok ile gösterilen) (TUNEL, X400).

A: Control Group, B: BG Group, C: MTX Group, D: MTX+BG Group, TUNEL (+) cells (shown with arrow) (TUNEL, X400)

Deney Gruplarına ait Apoptotik İndex ve Johnsen Skorlama Sistemi Değerlendirme Sonuçları

GRUPLAR	JOHNSEN SKORLAMA SONUÇLARI	APOPTOTİK İNDEKS(%)
KONTROL	8,91 ±0,23	3,67 ±0,64
BD	8,70 ±0,52	4,65 ±0,50
MTX	6,05* ±0,57	16,76a±1,87
MTX+BG	8,38** ±0,38	10,91b±0,59

*: MTX grubundaki testis hasarı diğer gruplara göre anlamlı derecede artmıştır.**: MTX+BG grubundaki testis hasarı MTX grubuna göre anlamlı bir şekilde azalmıştır. a: MTX grubundaki AI'in kontrol grubuna ve BG grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır (p<0.05). b: MTX +BG grubuna ait AI'in MTX grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede azalmıştır (p<0.05).

Johnsen Score System and AI Results of All Groups

GROUPS	JOHNSEN SCORE SYSTEM RESULTS	APOPTOTIC INDEX(%)
CONTROL	8,91 ±0,23	3,67 ±0,64
BG	8,70 ±0,52	4,65 ±0,50
MTX	6,05* ±0,57	16,76a±1,87
MTX+BG	8,38** ±0,38	10,91b±0,59

*: Testicular damage increased in MTX group compare with all groups.**: Testicular damage reduced in MTX+BG group compare with MTX. a: AI increased in MTX group compare with control and BG (p<0.05). b: AI reduced in MTX +BG group compare with MTX (p<0.05).

Deney Gruplarına ait Morfometrik Ölçümlerin Ortalama ve Standart Sapma Değerleri

GRUPLAR	SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPI(µm)	GERMİNAL EPİTEL KALINLIĞI(µm)
KONTROL	255,81 ±6,71	80,26 ±1,95
BG	262,43 ±12,40	72,12 ±3,40
MTX	242,04* ±10,03	54,89** ±4,52
MTX+BD	258,06 ±9,92	64,88*** ±4,82

*: MTX grubundaki değerler, BG grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede azalmıştır.**: MTX grubundaki germinal epitel kalınlığı, diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı bir derecede azalmıştır.***: MTX+BG grubundaki germinal epitel kalınlığı, MTX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır.

The Average and Standart Deviation of Morphometric Measurements of All Groups

GROUPS	DIAMETER OF SEMINIFEORUS TUBULE(µm)	THICKNESS OF GERMINAL EPİTHELIUM(µm)
CONTROL	255,81 ±6,71	80,26 ±1,95
BD	262,43 ±12,40	72,12 ±3,40
MTX	242,04* ±10,03	54,89** ±4,52
MTX+BG	258,06 ±9,92	64,88*** ±4,82

*: values reduced in the MTX compare with BG**: Germinal epithelium thickness reduced in MTX compare with all***: Germinal epithelium thickness increased in MTX+BG compare with MTX

Deney Gruplarının Deney Öncesi ve Sonrası Vücut Ağırlıkları ve Testis Ağırlıklarının Ortalama ve Standart Sapması

GRUPLAR	DENEY ÖNCESİ VÜCUT AĞIRLIKLARI(gr)	DENEY SONRASI VÜCUT AĞIRLIKLARI(gr)	TESTİS AĞIRLIĞI(gr)
KONTROL	282,50±16,65	301,33±12,35	1,40±0,15
BG	297,50±21,38	298,16±18,17	1,40±0,14
MTX	289,16**±36,38	270,33**±39,50	1,40±0,15
MTX+BG	285,00***±33,91	245,16***±35,44	1,41±0,11

*: Kontrol grubunun deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı şekilde artmıştır ($p=0.001$). **: MTX grubunun deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düşmüştür. ***: MTX+BG grubunun deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düşmüştür.

The Average and Standart Deviation of Testis and Body Weights Before and After Treatment of All Groups

GROUPS	BODY WEİGHİT OF BEFORE TREATMENT(gr)	BODY WEİGHİT OF AFTER TREATMENT(gr)	TESTİS WEİGHİT(gr)
KONTROL	282,50±16,65	301,33±12,35	1,40±0,15
BG	297,50±21,38	298,16±18,17	1,40±0,14
MTX	289,16**±36,38	270,33**±39,50	1,40±0,15
MTX+BG	285,00***±33,91	245,16***±35,44	1,41±0,11

*: Body weights increased after treatment compare with before in control group ($p=0.001$). **: Body weights reduced after treatment compare with before in MTX group ***: Body weights reduced after treatment compare with before in MTX+BG group

Kaynakça / References: Oktar S, Gökçe A, Aydın M, Davarcı M, Meydan S, Öztürk OH, Koç A (2010). Beneficial effect of erdosteine on methotrexate-induced testicular toxicity in mice. Toxicology and Industrial Health 26 (7): 433- 438. Padmanabhan S, Tripathi DN, Vikram A, Ramarao P, Jena G (2008). Cytotoxic and genotoxic effects of methotrexate in germ cells of male Swiss mice. Mutation Research 655: 59-67 Shrestha S, Dhungel S, Saxena AK, Bhattacharya S, D Maskey (2007). Effect of methotrexate (MTX) administration on spermatogenesis: an experimental on animal model. Nepal Med Coll J Dec; 9(4):230-3. Şener G, Demiralp Ekşioğlu E, Çetiner M, Ercan F, Yeğen BÇ (2006). B-glucan ameliorates methotrexate-induced oxidative organ injury via its antioxidant and immunomodulatory effects. Eur J Pharmacol 542: 170-78. Şener G, Toklu H, Ercan F, Erkanlı G (2005). Protective effect of beta-glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. International Immunopharmacology 5: 1387-1396 Tsiapali E, Whaley S, Kalbfleisch J, et al. (2000). Glucans Exhibit Weak Antioxidant Activity, But Stimulate Macrophage Free Radical Activity. Free Radical Biology & Medicine, Vol. 30, No. 4, 393-402

P054

Farklı varikosel dereceli erkekler arasında sperm DNA hasarının değerlendirilmesi

Özge Özçoban¹, Birkan Yakan¹, Fazile Cantürk², Figen Narin³

¹Erciyes Üniversitesi, Histoloji-embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Kayseri

³Erciyes Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kayseri

Varikosel, spermatik kordu saran pampiniform pleksus venlerinin anormal genişlemesi olarak tanımlanır. Klinik bulgulara göre varikosel evre 1, 2 ve 3 olmak üzere 3 grupta sınıflandırılır. Çalışmamızın amacı, varikosel evreleri arasında semen parametreleri, biyokimyasal parametreler ve DNA hasarı yönünden fark olup olmadığını ortaya koymaktır. Çalışmada, Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Polikliniğine başvuran 60 hastaya ait semen ve kan örnekleri kullanıldı; grup 1: sağlıklı erkekler (n=20), grup 2: varikosel evre 1-2 (n=20) ve grup 3: varikosel evre 3 (n=20). Semen örneklerine alkali comet assay yöntemi, anilin mavisi ve Periyodik asit Schiff (PAS) boyaması uygulandı. Olgulardan alınan kan örneklerinde ise plazma katalaz (KAT), Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri ve Malondialdehit (MDA) düzeyleri değerlendirildi. Comet assay bulgularına göre; grup 2 ve grup 3 comet parametreleri grup 1'e göre kayda değer daha yüksekti ($p<0,001$). Histolojik bulgulara göre; grup 1'de, normal sperm morfoloji ortalaması %14, grup 2'de %6, grup 3'te ise % 4'ün altında idi. Biyokimyasal analizlere göre; grup 2 ve grup 3'te SOD ve KAT aktivitelerinde azalma, MDA seviyesinde artış gözlemlendi. Sonuç olarak, varikosel derecesi arttıkça DNA hasarı ve MDA düzeyinde artma, SOD ve KAT enzim aktivitelerinde azalma tespit edildi. Çalışmamızda varikosel evre 1 ve 2'de de infertilite yönünden anlamlı DNA hasarı olduğunu gösterdik. Elde ettiğimiz sonuçlar, rutin semen analizi ve morfolojik analizlerin yanı sıra sperm DNA hasarını göstermenin de prediktör olarak kullanılabileceğini öngörmektedir.

Anahtar Kelimeler: Varikosel evreleri, erkek infertilitesi, DNA hasarı, sperm morfolojisi

Evaluation of sperm DNA damage from men with different varicocele grades

Özge Özçoban¹, Birkan Yakan¹, Fazile Cantürk², Figen Narin³

¹Erciyes University, Department of Histology-embryology, Kayseri

²Erciyes University, Department of Biophysics, Kayseri

³Erciyes University, Department of Biochemistry, Kayseri

Varicocele can be defined as the extraordinary expanding of pampiniform pleksus veins which wraps the spermatic cord. According to clinical findings, varicocele can be divided into three groups; 1st, 2nd and 3rd grade. The aim of our research is to show differences among three different varicocele grades according to the result of their semen parameters, biochemical parameters and DNA damage. In this study, semen and blood samples of 60 patients who applied to Erciyes University, Medical Faculty, Urology Polyclinic were used; grup 1: healthy men, grup 2: varicocele grade 1 and 2, grup 3: varicocele grade 3. Semen samples were examined with the method of alkali comet assay, aniline blue and Periodic acid Schiff (PAS) staining. Blood samples taken from the events were assessed plasma Catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) enzyme activities and Malondialdehyde (MDA) levels. According to comet findings; grup 2 and grup 3 parametres were significantly higher than grup 1 ($p<0,001$). According to histological findings; normal sperm morphology average was %14 in grup 1, %6 in grup 2 and below %4 in grup 3. According to biochemical findings; we observed that decreased CAT, SOD activities and increased in MDA level for grup 2 and grup 3. In conclusion, it was determined that there was an increased in DNA damage and MDA level, a decreased in SOD and CAT enzyme activities with the increase of varicocele grade. In our research we showed that varicocele grade 1 and 2 had also significant DNA damage in terms of infertility. The results we obtained foresee detection of DNA damage also can be used as a predictor as well as routine semen and morphological analysis.

Keywords: Varicocele grades, male infertility, DNA damage, sperm morphology

Kaynakça / References: 1. Cayan S, Erdemir F, Ozbey I ve ark. Can varicocelectomy significantly change the way couples use assisted reproductive technologies. J Urol 2002; 167:

- 1749-1752. 2. Dohle GR. EAU Kılavuzları, Male Infertility 2008; 6. 3. Goldstein M, Chan PT, Sigman M. American Urological Association Guidelines. Annual meeting, s 17-22, May 2008, Orlando. 4. Daitch JA, Bedaiwy MA, Pasqualotto EB, et al: Varicocele improves intrauterine insemination success rates in men with varicocele. *J Urol* 2001; 165: 1510-1513. 5. Mieusset R, Bujan L, Mondinat C et al. Association of scrotal hyperthermia with impaired spermatogenesis in infertile men. *Fertil Steril*. 1987; 48: 1006-1011. 6. Zini A, Blumenfeld A, Libman J, Willis J. Beneficial effect of microsurgical varicocele on human sperm DNA integrity. *Hum Reprod*. 2005; 20: 1018-1021. 7. Bungum M, Humaidan P, Spano M et al. The predictive value of sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters for the outcome of intrauterine insemination, IVF and ICSI. *Hum Reprod*. 2004; 19: 1401-1408. 8. Wu GJ, Chang FW, Lee SS et al. Apoptosis-related phenotype of ejaculated spermatozoa in patients with varicocele. *Fertil Steril*. 2009; 91: 831-837. 9. Fujisawa M, Ishikawa T. Soluble forms of fas and fas ligand concentrations in the seminal plasma of infertile men with varicocele. *J Urol*. 2003; 170: 2363-2365. 10. Blumer CG, Restelli AE, Giudice PT et al. Effect of varicocele on sperm function and semen oxidative stress. *BJU Int*. 2012; 109: 259-265. 11. Mostafa T, Anis T, El Nashar A et al. Seminal plasma reactive oxygen species-antioxidants relationship with varicocele grade. *Andrologia*. 2012; 44: 66-69. 12. Altunoluk B, Efe E, Kurutas EB et al. Elevation of both reactive oxygen species and antioxidant enzymes in vein tissue of infertile men with varicocele. *Urol Int*. 2012; 88: 102-106. 13. Cayan S, Kadioğlu A. Varikoselin tanı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Türk Üroloji Dergisi* 2005; 31: 57-63. 14. Kendirci M. Varikosel Patofizyolojisi. In: *Erkek Reprodüktif sistem ve hastalıkları*. Habitat Yayıncılık, 2004: s 463. 15. Dubin L, Amelar RD. Varicocele size and results of varicocelektomy in selected subfertile men with varicocele. *Fertil Steril* 1970; 21: 606-609. 16. Özdamar S, Çetin N Sorkun H. Genel Embriyoloji. 1. Baskı Kayseri. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 2002. 17. Şeftalioğlu A. Genel ve özel insan embriyolojisi. 3. Baskı Ankara. Feryal Matbaası, 1998: s 346-350. 18. Moore KL. The Developing human. 4th ed. Philadelphia, Saunders Co, 1988: p 262-267. 19. Sadler TW (Çeviri: AC. Başaklar). Langman's Medikal Embriyoloji, 7. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık; 1996: s 274-275. 20. Jarow JP. Intratesticular arterial anatomy. *J Androl* 1990; 11: 55-59. 21. Petorak İ. Medikal embriyoloji, İstanbul Beta Basım Dağıtım A.Ş., 1986: s 220-223. 22. Rozanski TA, Bloom DA. The undescended testis: theory and management. *Urol Clin North Am* 1995; 22: 107-108. 23. Kuran O. Sistematik anatomi, İstanbul, Filiz Kitabevi, 1983: s 512-514. 24. Junqueira L.C, Carneiro J. Temel Histoloji, çeviri Editörü: Aytekin Y, Solakoğlu S, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2006; s 431-438. 25. Junqueira L.C, Carneiro J. Temel Histoloji, Çeviri Editörü: Aytekin Y, Solakoğlu S, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2006; s 441-442. 26. Gartner LP, Hiatt JL, Color Textbook Histology. 2 nd ed. W.B. Saunders Company, New York 2001: p 487-508. 27. April EW. NMS Klinik Anatomi. 3. Baskı. Çeviri Editörü: Yıldırım M, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1998: s 425-461. 28. Erkoçak A. Genital Sistem, In: Özel Histoloji. 2. Baskı. Ankara üniversitesi tıp fakültesi yayınları, Ankara, 1990: s 166-194. 29. Tekelioğlu M. Erkek Üreme Sistemi, In: Özel Histoloji. 1. Baskı. Ankara üniversitesi tıp fakültesi yayınları, Ankara, 2002: s 231-244. 30. Şermin P, Histoloji. 1. Baskı. Uludağ Üniversitesi Yayınları, 1990: s 260-287. 31. Menkveld R, Stander FSH, Kotze TJV et al. The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria. *Human Reproduction* 1990; 5: 586. 32. Kruger TF, Menkveld R, Stander FS et al. Sperm morphological features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1986; 46: 1118-1123. 33. Menkveld R, Lacquet FA, Kruger TF et al. Effects of different staining and washing procedures on the results of human sperm morphology evaluation by manual and computerised methods. *Andrologia* 1997; 29: 1-7. 34. Ford WC. World Health Organization (WHO) laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edition. 2010: p 56-63. 35. Orhon E. Sperm Morfoloji Atlası, Türkiye infertilite vakfı yayınları, 1995: s 17-29. 36. Samlı M. Varikosel ve Sperm DNA Hasarı. *Türkiye klinikleri Journal of Urology Special Topics*. 2012; 5: s 16-24. 37. Gorczyca W, Traganos F, Jesionowska H, Darzinkiewicz Z. Presence of DNA strand breaks and increased sensitivity of DNA in situ denaturation in abnormal human sperm cells: analogy to apoptosis of somatic cells. *Exp Cell Res* 1993; 207: 202-205. 38. Manicardi GC, Bianchi PG, Pantano S et al. Presence of endogenous nicks in DNA of ejaculated human spermatozoa and its relationship to chromomycin A3 accessibility. *Biol Reprod* 1995; 52: 864-867. 39. Bianchi PG, Manicardi GC, Urner F et al. Chromatin packaging and morphology in ejaculated human spermatozoa: evidence of hidden anomalies in normal spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 1996; 2: 139-144. 40. Sakkas D. The use of blastocyst culture to avoid inheritance of an abnormal paternal genome after ICSI. *Human Reprod* 1999; 14: 4-5. 41. Shen H, Ong C. Detection of oxidative DNA damage in human sperm and its association with sperm function and male infertility. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 529-536. 42. Sakkas D, Seli E, Bizzaro D et al. Abnormal spermatozoa in the ejaculate: abortive apoptosis and faulty nuclear remodelling during spermatogenesis. *Reprod Biomed Online* 2003; 7: 428-432. 43. Lopes S, Sun JG, Jurisicova A et al. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor-quality semen samples and correlates with failed fertilization in intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1998; 69: 528-532. 44. Schlesinger MM, Willets IF, Nagler HM. Treatment outcomes after varicocelelectomy: A critical analysis. *Urol Clin*

Nort Am 1994; 21: 517-529. 45. Chiou RK, Anderson JC, Wobig RK et al. Color doppler ultrasound criteria to diagnose varicoceles: correlation of a new scoring system with physical examination. *Urology* 1997; 50: 953-956. 46. Hricak H, Filly RA. Sonography of scrotum. *Invest Radiol* 1993; 18: 112-121. 47. Hamm G, Fobbe F, Sorensen R et al. Varicoceles: combined sonography and thermography in diagnosis and post-therapeutic intervention. *Radiology* 1996; 160: 419-424. 48. Aslan H, Sakarya ME, Atilla MK. Clinical value of power Doppler sonography in the diagnosis of varicocele. *J Clin Ultrasound* 1998; 26: 229. 49. Rrumbullaku L, Boci R, Dedja A, Dautaj K. Sperm morphology in infertile men with varicocele. 1.st Balkan Symposium of Androloji. 12- 14 June 1998, Alexandroupolis, Greece. 50. Khera M, Lipshultz LI. Evolving approach to the varicocele. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 183-189. 51. Nöske HD, Weidner W. Varicocele—a historical perspective. *World J Urol* 1999; 151-157. 52. Ngo AD, Taylor R, Roberts CL, Nguyen TV. Association between Agent Orange and birth defects: systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol.* 2006; 35: 1220–1230. 53. Zorngiotti AW, Sealfon AI, Toth A. Chronic scrotal hypothermia as a treatment for poor semen quality. *Lancet* 1980; 26: 904-906. 54. Camoglio FS, Zampieri N, Corroppo M, Chironi C, Dipaola G, Giacomello L, Ottolenghi A. Varicocele and retrograde adrenal metabolites flow. An experimental study on rats. *Urol Int* 2004; 73: 337-342. 55. Cohen MS, Plaine L, Brown JS. The role of internal spermatic vein plasma catecholamine determinations in subfertile men with varicoceles. *Fertil Steril* 1975; 26: 1243-1249. 56. Hendin BN, Kolettis PN, Sharma RK et al. Varicocele is associated with elevated spermatozoal reactive oxygen species production and diminished seminal plasma antioxidant capacity. *J Urol* 1999; 161: 1831-1834. 57. Görür S, Çayan S. Varikosel patofizyolojisinde güncel durum. *Androloji Bülteni.* 2010; s 37-40. 58. Köksal T, Erdoğan T, Toptaş B et al. Effect of experimental varicocele in rats on testicular oxidative stress status. *Andrologia* 2002; 34: 242-247. 59. Çayan S, Kadioğlu A. Varikoselin tanı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Türk Üroloji Dergisi* 2005; 31: 57-63. 60. Allamaneni SS, Naughton CK, Sharma RK et al. Increased seminal reactive oxygen species levels in patients with varicoceles correlate with varicocele grade but not with testis size. *Fertil Steril* 2004; 82: 1684-1686. 61. Ötünçtemur A, Çakır S, Polat C, Özbek E. Varicocele and Oxidative Stress. *Türkiye Klinikleri J Urology Special Topics* 2012; 5: 25-37. 62. Lee J, Richburg JH, Shipp EB. The Fas system, a regulator of testicular germ cell apoptosis is differentially up-regulated in Sertoli versus germ cell injury in the testis. *Endocrinology* 1999; 140: 852-858. 63. Fuchs EJ, McKenna KA, Bedi A. P53–dependent DNA damage-induced apoptosis requires FAS/APO-1 independent activation of CPP32 beta. *Cancer Res* 1997; 57: 2550-2554. 64. Woo M, Hakem R, Soengas MS. Essential contribution of caspase 3/CPP32 to apoptosis and its associated nuclear changes. *Genes Dev* 1998; 12: 806-819. 65. Fujisawa M and Ishikawa T. Soluble forms of Fas and Fas ligand concentrations in the seminal plasma of infertile men with varicocele. *J of Urol* 2003; 170: 2363-2365. 66. MacLeod J. Seminal cytology in the presence of varicocele. *Fertil Steril.* 1965; 16: 735-757. 67. Avcı B. Farklı Fiksasyon Protokolleri ile Sperm Kromatin Kondansasyon Anomalisinin Değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2006; 32: 55-59. 68. Hooiveld M, Haveman W, Roskes K et al. Adverse reproductive outcomes among male painters with occupational exposure to organic solvents. *Occup Environ Med* 2006; 63: 538-544. 69. Ji BT, Shu XO, Linet MS et al. Paternal pre-conception cigarette smoking and the risk of childhood cancer in the offspring of the nonsmoking mothers. *J. Natl. Cancer. Inst.* 1997; 89: 238–244. 70. Cebesoy FB, Ünlü C, Aydos K, Baltacı V. Sperm morfolojisi ve acridine orange boyamasının ICSI'deki fertilizasyon oranları ve embriyo kalitesi ile ilişkisi. *Journal of Turkish-German Gynecological Association* 2006; 7: 110-114. 71. Saleh R, Agarwal A, Nada E et al. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertility and Sterility* 2003; 79: 1597-1603. 72. Güneş S, Sevgili E, Aşçı R. Sperm DNA Damage Mechanisms and Evaluation Assays: Review. *Türkiye Klinikleri J Urology* 2013; 4: 107-114. 73. Wang YJ, Zhang RQ, Lin YJ et al. Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: a meta-analysis. *Reproductive BioMedicine* 2012; 25: 307–314. 74. Simon L, Murphy K, Shamsi MB et al. Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development. *Human Reproduction* 2014; 29: 2402-2414. 75. Collins AR. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol. Biotechnol.* 2004; 26: 249–261.

P055

Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum İle Oluşturulan Hasar Üzerine Propolisin Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması

Kübra Tuğçe Çilenk, Mehmet Fatih Sönmez

Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Bu çalışmada kadmiyum ile testis dokusunda oluşturulan hasar üzerine propolisin koruyucu etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) yetiştirilen 32 adet ergin erkek Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı. Denekler rastgele 4 gruba ayrıldı. Grup I (n=8); kontrol grubu, Grup II (n=8); 1 mg/kg/gün (intraperitoneal) kadmiyum uygulanan sıçanlar, Grup III (n=8); 1 mg/kg/gün kadmiyum + 50mg/kg/gün propolis (intragastrik), Grup IV (n=8); 50mg/kg/gün propolis (intragastrik) uygulanarak oluşturuldu. Kadmiyum 10 gün boyunca uygulandı. Propolis kadmiyum uygulamasından bir hafta önce başlanarak deney sonuna kadar verildi. Uygulamadan 24 saat sonra denekler dekapite edilerek testis dokuları alındı. Deney sonunda testis dokusunda HIF-1 α ekspresyonu ve TUNEL, kan örneklerinde serum testosteron ve doku HIF-1 α seviyeleri için ELISA yapıldı.

Kadmiyum uygulanan grupta germinal epitelde düzensizlik, lümene epitel hücre dökülmesi, epitel hücreleri arasında vakuol oluşumu ve yer yer nekrotik tübüller gözlemlendi. Kadmiyum uygulanan grupta seminifer tübül çapları, Johnsen'in tübüller biyopsi skoru, serum testosteron seviyesi azalırken doku HIF-1 α düzeyinin ise arttığı belirlendi. Koruyucu amaçlı verilen propolisin ise tüm bu hasarları engellediği gözlemlendi.

Sonuç olarak kadmiyum uygulaması, testis dokusunda çok ciddi histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır ve koruyucu amaçlı verilen propolisin bu hasarı engellediği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, Propolis, Testis, Sıçan, HIF-1 α

The Investigation Of Protective Effects Of Propolis On Cadmium-Induced Testicular Damaged In Rat

Kübra Tuğçe Çilenk, Mehmet Fatih Sönmez

Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

In this study we established to investigate the protective effect of propolis on cadmium-induced testicular damage.

32 adult male Wistar albino rats that raised in DEKAM (Erciyes University Experimental And Clinic Researches Centre) were used. Rats were separated into four random groups. Group 1; (n=8) control group, group 2; (n=8) 1 mg/kg/day (intraperitoneal) cadmium administered to rats, group 3; (n=8) 1 mg/kg/day cadmium + 50mg/kg/day propolis was administered to (intragastric), group 4; (n=8) 50 mg/kg/day propolis (intragastric) was administered to rats. Propolis was dissolved in DMSO. On the first day of the experimental protocol, Group 3 and group 4 received 50mg/kg/day propolis (oral gavage) for 17 days. From the eighth day of the experiment, group 2 and group 3 received daily intraperitoneal injections of 1 mg/kg/day cadmium. The rats were decapitated under ketamine anesthesia and their testes tissues were removed HIF-1 α expression and TUNEL were examined in testis tissue, also blood samples were evaluated with ELISA for serum testosteron ve tissue HIF-1 α levels.

Germinal epithelium irregularities, epithelial cell loss in lumen, formation of the vacuoles between epithelial cells and necrotic tubules was observed to applied cadmium in the group. In the group 2, the diameters of seminiferous tubules, tubular biopsy score of Johnsen and serum testosterone levels were decreased compared to control group, but tissue HIF-1 α levels was higher in cadmium administered group than control group. These scores were improved by the propolis for protective purposes.

As a result of application of cadmium create a very serious change on testicular tissue and the propolis for protective purposes inhibited this damage.

Keywords: Cadmium, Propolis, Testis, Rat, HIF-1 α .

P056

Torsiyon Detorsiyon Sonucunda Sıçan Testisinde Oluşan Hasar Üzerine Vinposetin Etkilerinin Araştırılması

Mehmet Fatih Sönmez¹, Şükrüye Özdemir¹, Mahmut Güzel², Emin Kaymak¹

¹Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Kayseri

Doğal diyetle alınan antioksidanların çeşitli hasarlara karşı hücreleri koruma yetenekleri üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Vinposetin güçlü bir antioksidandır. Testis torsiyonu testiste ileri düzeyde iskemiye neden olan akut seyirli, her yaşta görülebilen hızlı teşhis ve tedavi gerektiren cerrahi bir acildir. Bu çalışmada testis torsiyonu detorsiyonu sonrası iskemik hasarı önlemede antioksidan bir madde olan Vinposetin'in etkinliği araştırıldı.

Çalışmada kullanılan 60 adet Wistar albino cinsi yetişkin erkek sıçan, her birinde 12 sıçan bulunan 5 gruba ayrıldı. Grup 1: Kontrol grubu; Grup 2: Sham; Grup 3: Torsiyon/Detorsiyon; Grup 4: Torsiyon/Detorsiyon + Vinposetin; Grup 5: Vinposetin grubu. Sol testis 720 derece 2 saat torsiyone edildi. Vinposetin, 10 mg/kg/gün olacak şekilde detorsiyondan hemen sonra 10 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanmaya başlandı. Deney sonunda ketamin anestezisi altında sıçanlar dekapite edildi ve testis dokuları çıkarıldı.

Kontrol, sham ve vinposetin gruplarına ait testis dokuları normal olarak gözlemlendi. Torsiyon uygulanan grupta ipsilateral testis dokusunda damarlarda konjesyon, seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlik, lümene epitel hücre dökülmesi ve bazı tübüllerde tübüler nekroz belirlendi. Torsiyon/Detorsiyon grubunda Johnsen'in testiküler biyopsi skoru ve ortalama seminifer tübül çapları kontrol ve sham gruplarına göre azalmıştı. Ancak torsiyon ile birlikte uygulanan vinposetin bu hasarları iyileştirdiği belirlendi.

Sonuç olarak testis torsiyonu, testis dokusunda çok ciddi hasara neden olmaktadır ve vinposetin antioksidan olarak bu hasarı engellemektedir.

Anahtar Kelimeler: Testis Torsiyonu, Vinposetin, Sıçan

The Investigation Of Protective Effects Of Vinpocetine On Torsion/Detorsion-Induced Testicular Damaged In Rat

Mehmet Fatih Sönmez¹, Şükrüye Özdemir¹, Mahmut Güzel², Emin Kaymak¹

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

²Department of Pediatric Surgery, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Natural dietary antioxidants are extensively studied for their ability to protect cells from miscellaneous damages. Vinpocetine is potent antioxidants. Testicular torsion causes acute ischemia of testis; it can be seen any ages and it requires rapid diagnosis and treatment. In the present study, the effectiveness of vinpocetine, an antioxidant, was assessed in the prevention of ischemic injury in testis after left testicular torsion. Sixty Wistar albino adult male rats were divided into 5 groups each containing 12 animals. Group 1: Control; Group 2: Sham; Group 3: Torsion/Detorsion; Group 4: Torsion/Detorsion + Vinpocetine Group 5: Vinpocetine. The rats left testis was subjected to unilateral torsion (720 degree), two hours later left testis was subjected to detorsion. Vinpocetine was administrated 10mg/kg/day with intraperitoneal during ten days after the detorsion. The rats were decapitated under ketamine anesthesia and their testes tissues were removed.

Normal testicular tissue was observed in control, sham and vinpocetine groups. Congestion of vessels, necrosis of some seminiferous tubules, and disorder of seminiferous tubule germinal epithelium were determined in torsion/detorsion group. Johnsen's mean testicular biopsy scores and mean seminiferous tubule diameter of the torsion/detorsion groups were lower than those of the control and sham-operated groups. However, curative effect was determined with the administration of vinpocetine in the Torsion/Detorsion group.

As a result, testicular torsion gives rise to serious damage in testes and vinpocetine is a potent antioxidant agent in preventing testicular atrophy.

Keywords: Testicular Torsion, Vinpocetine, Rat.

P057

Sıçan Testis Dokusunda Sisplatin İle Oluşturulan Hasar Üzerine Propolisin Etkilerinin Araştırılması

Erkan Deligönül, Mehmet Fatih Sönmez

Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Bu çalışmada, sisplatin ile testis dokusunda oluşturulan hasar üzerine propolisin koruyucu etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) yetiştirilen 40 adet ergin erkek Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı. Denekler rastgele 4 gruba ayrıldı. Grup I (n=10); kontrol grubu, Grup II (n=10); 7 mg/kg (intraperitoneal) sisplatin uygulanan sıçanlar, Grup III (n=10); 7 mg/kg sisplatin + 50 mg/kg/gün propolis (intragastrik) uygulanan sıçanlar, Grup IV (n=10); 50 mg/kg/gün propolis (intragastrik) uygulanarak oluşturuldu. Propolis, sisplatin uygulamasından bir hafta önce başlanarak deney sonuna kadar verildi. Sisplatin uygulamasından 72 saat sonra denekler dekapite edilerek testis dokuları alındı. Deney sonunda testiküler histopatoloji, apoptozis, HIF-1 α ekspresyonu ve serum testosteron seviyeleri değerlendirildi. Sisplatin uygulanan grupta germinal epitelde düzensizlik, lümene epitel hücre dökülmesi, epitel hücreleri arasında vakuol oluşumu ve yer yer nekrotik tübüller gözlemlendi. Sisplatin uygulanan grupta seminifer tübül çapları, Johnsen'in tübüller biyopsi skoru ve serum testosteron seviyesi azalırken doku HIF-1 α ekspresyon düzeyinin ise arttığı belirlendi. Koruyucu amaçlı verilen propolisin ise tüm bu hasarları engellediği gözlemlendi.

Sonuç olarak sisplatin uygulaması, testis dokusunda histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır ve koruyucu amaçlı verilen propolisin bu hasarları engellediği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sisplatin, Testis, Propolis, Sıçan, HIF-1 α

Investigation Effects Of Propolis On Cisplatin-Induced Testicular Damaged In Rats

Erkan Deligönül, Mehmet Fatih Sönmez

Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

In this study, our aim was to investigate the protective effect of propolis on cisplatin-induced testicular damage.

40 of adult male Wistar albino rats grown in Erciyes University Experimental and Clinic Researches Center (DEKAM) were used. They were separated into four groups randomly. Group 1 (n=10); control group, Group 2 (n=10); (intraperitoneal) rats administered with 7 mg/kg cisplatin, Group 3 (n=10); rats administered with 7 mg/kg cisplatin + 50 mg/kg/day propolis (intragastric), Group 4 (n=10); rats with 50 mg/kg/day propolis administered (intragastric).

Propolis was given from starting a week before the cisplatin administration to the end at experiment. After 72 hours of cisplatin administration, testicular tissues of the rats were removed by decapitating. Testicular histopathology, apoptosis, Hif-1 α expression and serum testosterone levels were evaluated at the end of experiment.

Germinal epithelium disorder, desquamation of epithelial cell in the lumen, formation of the vacuoles in epithelial cells and some necrotic tubules were observed in cisplatin-induced group. Seminiferous tubul diameters, Johnsen tubular biopsy score and serum testosterone level were decreased and HIF-1 α level was increased in cisplatin-induced group. It was observed that the propolis given for the protective purpose prevented all these damages.

As a results, the cisplatin administration induced histopathologic modifications on the testicular tissue and it was determined that the propolis given for the protective purpose prevented these damages.

Keywords: Cisplatin, Testicular, Propolis, Rat, HIF-1 α

P058

İzole teratozoospermi olgularında farklı sperm hazırlama tekniklerinin kromatin kondenzasyon defekti sonuçlarına etkisi

Sinan Özkavukcu¹, Hatice Şahin²

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üremeye Yardımcı Tedavi ve Eğitim Merkezi, Ankara

²HRS Ankara Kadın Hastanesi, Ankara

İnfertil erkeklerin %85'inde teratozoospermi en önemli patoloji olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hastaların %54'ünde ise ağır derecede izole teratozoospermi etkindir. IVF uygulamalarında önem kazanan bu patolojiler, sperm bir gelişim anomalisi olarak görülür. Ancak sperm olgunlaşmasında büyük önem taşıyan ve paternal DNA'nın paketlenmesinde bir sorun olarak karşımıza çıkan histon-protamin değişiminin izole teratozoospermi vakalarında ne düzeyde olduğu bilinmemektedir. Bu düzeyin tespiti ışık mikroskopu düzeyinde anilin mavisi ve toluidin mavisi boyamalarıyla gösterilebilir. Semen hazırlama yöntemlerinin bu hasta grubunda persiste histon düzeylerine ne şekilde etkide bulunduğu çalışmamızın temel amacını oluşturmaktadır. Bu çalışmada izole teratozoospermi tanısı alan 50 bireyin semen numuneleri üç farklı sperm hazırlama yönteminden geçirilmiştir (dansite gradient santrifügasyonu, swim-up ve ikisinin kombinasyon). Üç farklı yöntemle elde edilen sperm hücrelerinin persiste histon yüzdeleri, işlenmemiş semen örneğindeki oranlarla karşılaştırılarak hangi yöntemin persiste histonları içeren spermelerin eliminasyonunda daha etkili olduğu değerlendirilmiştir. Buna göre seçilen hasta grubunda işlem görmemiş ejakülatta persiste histon oranı yüzde $21,29 \pm 9,53$ bulunmuştur. Gradyent yöntemi kullanılarak elde edilen spermatozoonlarda bu oran yüzde $19,10 \pm 9,33$ olarak değerlendirilmiş ve işlem görmemiş ejakülattaki (bazal) orana göre iyileşme tespit edilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Swim-up yöntemi ve gradient+swim-up yöntemi kullanıldığında persiste histon oranlarındaki azalma farkı anlamlı bulunmuştur (persiste histon yüzdesi sırasıyla, $\%17,64 \pm 8,44$ ve $\%16,22 \pm 9,06$) (bazal ile ortaya çıkan fark sırasıyla, $\%3,65 \pm 8,93$ ve $\%5,07 \pm 9,33$, $p=0,006$ ve $p=0,001$). Teratozoospermili hastaların spermatozoonları persiste histonların varlığı nedeniyle DNA kırıkları ve epigenetik değişikliklere açıktır. Sonuç olarak, ICSI/IUI sikluslarında sperm seçme yöntemlerinin kullanılması ve özellikle swim-up yöntemini içeren bir protokolün tercih edilmesi önerilir.

Anahtar Kelimeler: spermatozoon, anilin mavisi, persiste histon, gradient, swim-up, infertilite

Effect of different sperm preparation techniques on chromatin condensation defects in patients with isolated teratozoospermia

Sinan Özkavukcu¹, Hatice Şahin²

¹Ankara University School of Medicine, Center for Assisted Reproduction

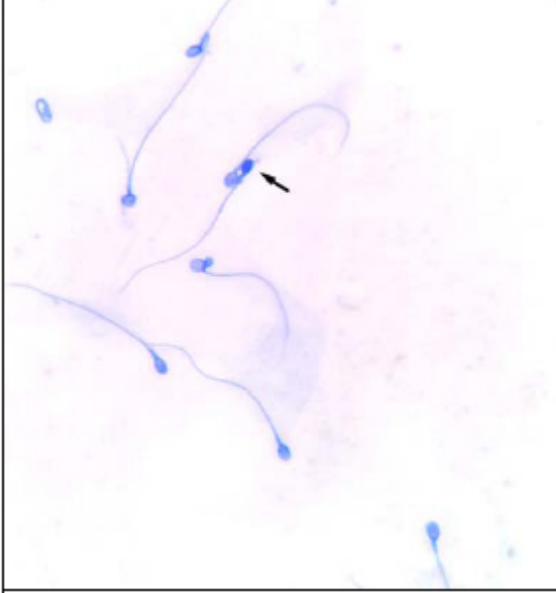
²HRS Ankara Women's Hospital, Ankara

In male infertility, teratozoospermia is one of the most common pathology with the incidence of 85%. Among them, 54% show severe isolated teratozoospermia. Besides, the effect of the histone-protamine exchange; that has a great importance in the maturation of the sperm and packing the paternal DNA; on the teratozoospermia cases is not known yet. The main purpose of this study was to determine the effect of the sperm preparation methods on the persistent histone levels of teratozoospermic patients. Sperm samples of 50 men; who were diagnosed with isolated teratozoospermia; were subjected to three different sperm preparation methods (density gradient centrifugation, swim-up and combination of two methods). The effectiveness of these methods on the elimination of the sperms containing the persistent histones was evaluated by comparing them with the raw sperm preparations. In this context, 4 preparations were prepared per patient and stained with aniline blue and 200 spermatozoa are evaluated for each one. The persistent histone ratio in the raw ejaculate was determined as $21,29 \pm 9,53\%$. This ratio was $19,10 \pm 9,33\%$ in the spermatozoa obtained by the gradient method. The decrease in the persistent histone ratio between basal (raw) and gradient-selected sperms was not statistically significant. However, when swim-up and gradient + swim-up methods were used, the persistent histone ratios showed a significant decrease in comparison with the basal averages ($3,65 \pm 8,93\%$ and $5,07 \pm 9,33\%$, $p=0,006$ and $p=0,001$, respectively). The

spermatozoa of the patients with teratozoospermia are open for the effects such as DNA breaks and epigenetic variations due to the existence of the persistent histones. In consideration with our findings, it is recommended to use sperm selection methods in ICSI/IUI cycles, particularly a protocol containing the swim-up method.

Keywords: spermatozoa, aniline blue, persistent histone, gradient, swim-up, infertility

Resim 1
Image 1



Anilin mavisiyle boyanmış semen preparatı. Baş kısmı koyu renkte boyanan spermatozoon persiste histon açısından pozitif olarak değerlendirilmekte (ok).
Sperm stained using aniline blue. Head region with dark navy stained spermatozoa are evaluated as positive for persistent histones (arrow).

Tablo-1
Table-1

	Ort.±SS	Min.-Max.
Yaş	34,60 ± 5,35	34-47
Sigara İçme n(%)	36(72,0)	
Volüm	3,23 ± 1,11	1-6,5
Konsantrasyon	82,54 ± 17,92	57-148
Motilite	73,50 ± 9,87	55-93
Kruger	1,28 ± 1,01 (Medyan=1)	

Çalışmaya Dahil Olan Hastaların Demografik Bilgilerinin ve Seminal Parametrelerinin Ortalama Değerleri.

Demographic Data and Median Seminal Parameters of Included Patients.

Tablo-2

Table-2

Yöntem	Grupların AB Skor	Bazal Değerlere Göre Farklar					
		Gra.	P	SwimUp	P	Gra._Swim	P
	Ort. ± SS	Ort. ± SS		Ort. ± SS		Ort. ± SS	
Bazal	21,29 ± 9,53						
Gradient	19,10 ± 9,33	2,19 ± 9,23	0,100				
Swim-up	17,64 ± 8,44			3,65±8,93	0,006		
Gra.+Swim-up	16,22 ± 9,06					5,07 ± 9,33	0,001

Hastaların Bazal Anilin Mavisi Değerlerinin Farklı Yöntemlerin Kullanılmasıyla Ne Şekilde Değiştiğini Gösteren Tablo.

Basal Aniline Blue Values and Difference Obtained After Using Different Sperm Selection Methods

Kaynakça / References: 1. Jayaraman. V, Upadhya D, Narayan PK, Adiga SK. Sperm processing by swim-up and density gradient is effective in elimination of sperm with DNA damage. J Assist Reprod Genet 2012; 29(6): 557-63. 2. Kim HS, Kang MJ, Kim SA, Oh SK, Kim H, Ku SY, Kim SH, Moon SY, Choi YM. The utility of sperm DNA damage assay using toluidine blue and aniline blue staining in routine semen analysis Clin Exp Reprod Med 2013; 40(1): 23-8. 3. Kim EK, Kim EH, Kim EA, Lee KA, Shin JE, Kwon H. Comparison of the effect of different media on the clinical outcomes of the density-gradient centrifugation/swim-up and swim-up methods. Clin Exp Reprod Med 2015; 42(1): 22-9. 4. Le Lannou D, Blanchard Y. Nuclear maturity and morphology of human spermatozoa selected by Percoll density gradient centrifugation or swim-up procedure. J Reprod Fertil 1988; 84(2): 551-6.

P059

Metforminin Sıçan Testis Yapısına Etkisinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi

Selin Ursavaş¹, Ufuk Özgü Mete², Yurdun Kuyucu², Abdullah Tuli³, Ebru Dünder Yenilmez³, Gülüzar Özbolat³

¹SANKO Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Gaziantep

²Çukurova Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Adana

³Çukurova Üniversitesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, Adana

AMAÇ: Biguanid sınıfı antidiyabetik ilaç olan metforminin erkek üreme sistemi üzerine etkilerini ışık ve elektron mikroskopik olarak inceleyip sonuçların hormon düzeyleri ile karşılaştırılması.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmamızda 250-300 gr ağırlığında 26 adet Wistar albino türü ergin erkek sıçan kullanıldı. Kontrol grubuna gavaj yoluyla yalnızca distile su uygulanırken 2.gruba gavaj yoluyla 150 mg/kg/gün, 3.gruba ise 300 mg/kg/gün metformin 30 gün boyunca verildi.

BULGULAR: Deney grupları ışık ve elektron mikroskopik olarak değerlendirildiğinde dozla ilişkili olarak seminiferöz tübüllerde düzensizleşme, epitel bütünlüğünde bozulma ve hücrelerarası boşluklar, spermatojenik hücre kaybı ve hücrelerde dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Seminiferöz tübül çaplarının ve epitel yüksekliklerinin morfometrik ölçümleri ile serum FSH, LH, testosteron, SOD ve MDA verilerinin değerlendirmesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

SONUÇ: Metformin kullanımının testis üzerine etkilerinin ultrastrüktürel olarak değerlendirildiği ilk çalışma olması nedeniyle önem taşıyan bu çalışmada ortaya konulan bulgular ışığında yüksek doz metformin kullanımının seminiferöz tübüllerin yapısını ve spermatogenezisi etkileyebileceği ancak bu değişikliklerin reversibl olduğu düşünüldü. Ayrıca, metforminin uzun süreli kullanımına bağlı etkilerin, biyokimyasal analizler, moleküler ve immünohistokimyasal düzeyde yapılacak ileri çalışmalar ile kapsamlı olarak incelenmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Metformin, testis, morfoloji, ultrastrüktürel

The Evaluation Of the Effects Of Metformin On The Rat Testis At A Light and Electron Microscopic Level

Selin Ursavaş¹, Ufuk Özgü Mete², Yurdun Kuyucu², Abdullah Tuli³, Ebru Dünder Yenilmez³, Gülüzar Özbolat³

¹Department of Histology and Embryology, SANKO University, Gaziantep

²Department of Histology and Embryology, Çukurova University, Adana

³Department of Biochemistry, Çukurova University, Adana

OBJECTIVE: Evaluate the Metformin effect, which is a biguanid antidiabetic drug, in testicular tissue at light and electron microscopic level in comparison with biochemical data.

MATERIAL-METHODS: In our study, twenty-six adult male Wistar albino rats weighing 250-300 g were used. The first group served as a control and was given distilled water. The second group received metformin at a dose of 150 mg/kg body weight/ day and the third group received metformin at a dose of 300 mg/kg body weight/ day by oral gavage for 30 days. At the end of the experiment testicular tissues were taken for light and electron microscopic examination and intracardiac blood samples were collected for biochemical analysis.

RESULTS: In the experimental groups evaluated with light and electron microscopies, irregular seminiferous tubules, disruption of epithelial integrity, the decrease in spermatogenic cells, dilated intercellular spaces and degenerative changes in epithelium were observed relating to doses. Morphometric measurements of tubule diameters and epithelial heights and FSH, LH, testosterone, SOD and MDA data were evaluated and there were no statistically significant differences between groups.

CONCLUSION: This study is of great importance because it is the first study to evaluate the effects of metformin on testis as ultrastructurally and the findings showed that high dose metformin may affect the structure of seminiferous tubules and spermatogenesis, however was thought these changes to be reversible. In addition, it was concluded that the effects of long-term using of metformin to be examined in detail with further studies on biochemical, molecular and

immunohistochemical levels.

Keywords: Metformin, testis, morphology, ultrastructure

Kaynakça / References: [1]. Tartarin P, Moison D, Guibert E, Et Al. Metformin Exposure Affects Human And Mouse Fetal Testicular Cells. *Human Reproduction*. Nov 2012; 27(11): 3304-3314. [2]. Adaramoye O, Akanni O, Adesanoye O, Labo-Popoola O, Olaremi O. Evaluation Of Toxic Effects Of Metformin Hydrochloride And Glibenclamide On Some Organs Of Male Rats. *Niger J Physiol Sci*. 2012; 27(2): 137-144. [3]. Quail MP, Melich DH, Jordan HL, Et Al. Toxicity And Toxicokinetics Of Metformin In Rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. Mar 15 2010; 243(3): 340-347. [4]. Alves MG, Martins AD, Vaz CV, Et Al. Metformin And Male Reproduction: Effects On Sertoli Cell Metabolism. *Br J Pharmacol*. Feb 2014; 171(4): 1033-1042. [5]. Vanky E, Salvesen KA, Heimstad R, Fougner KJ, Romundstad P, Carlsen SM. Metformin Reduces Pregnancy Complications Without Affecting Androgen Levels In Pregnant Polycystic Ovary Syndrome Women: Results Of A Randomized Study. *Human Reproduction*. Aug 2004; 19(8): 1734-1740. [6]. Glueck CJ, Goldenberg N, Wang P, Loftspring M, Sherman A. Metformin During Pregnancy Reduces Insulin, Insulin Resistance, Insulin Secretion, Weight, Testosterone And Development Of Gestational Diabetes: Prospective Longitudinal Assessment Of Women With Polycystic Ovary Syndrome From Preconception Throughout Pregnancy. *Human Reproduction*. Mar 2004; 19(3): 510-521. [7]. Rice S, Elia A, Jawad Z, Pellatt L, Mason HD. Metformin Inhibits Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Action In Human Granulosa Cells: Relevance To Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. Sep 2013; 98(9): E1491-1500. [8]. Rowan JA, Hague WM, Gao W, Battin MR, Moore MP. Metformin Versus Insulin For The Treatment Of Gestational Diabetes. *N Engl J Med*. May 8 2008; 358(19): 2003-2015. [9]. Kianifard D, Sadrkhanlou R, S. H. The Histological, Histomorphometrical And Histochemical Changes Of Testicular Tissue In The Metformin Treated And Untreated Streptozotocin-Induced Adult Diabetic Rats. *Veterinary Research Forum*. 2012; Vol: 2, No: 1. [10]. Hundal RS, Krssak M, Dufour S, Et Al. Mechanism By Which Metformin Reduces Glucose Production In Type 2 Diabetes. *Diabetes*. Dec 2000; 49(12): 2063-2069. [11]. Zhou G, Myers R, Li Y, Et Al. Role Of AMP-Activated Protein Kinase In Mechanism Of Metformin Action. *J Clin Invest*. Oct 2001; 108(8): 1167-1174. [12]. Rena G, Pearson E. R, Sakamoto K. Molecular mechanism of action of Metformin: old or new insights? *Diabetologia*. 2013: 1898–1906. [13]. Ralphi. Defronzo Md, Anitam. Goodman, M.D., And The Multicenter Metformin Study Group. Efficacy Of Metformin In Patients With Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *The New England Journal Of Medicine*. 2013; 333. [14]. Yassmina K. Mahmoud Sysaeraegai. Biochemical Efficacy Of Nigella Sativa Oil And Metformin On Induced Diabetic Male Rats. *AMERICAN JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE*. 2014. [15]. Hasan S.A. El Dawy SEMN, Rahma K. Abou El Nour, Ibrahim, M.I. Amr. Histological Study On The Testis Of Albino Rats Born To Mothers Treated With Metformin. *KASR EL AINI MEDICAL JOURNAL*. January 2013; 19(1). [16]. Douglas T. Carrell CMP. *Reproductive Endocrinology And Infertility*. New York, Dordrecht Heidelberg, London: Springer [17]. Leslie P. Gartner Jlh. *Concise Histology*. 4th Ed: Elsevier; 2011. [18]. Eroschenko VP. *Difiore's ATLAS OF HISTOLOGY*. 12th Ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. [19]. Michael H. Ross WP. *Histology: A Text And Atlas: With Correlated Cell And Molecular Biology*. 6th Ed. 351 West Camden Street. Baltimore, MD 21201: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. [20]. Mescher AL. *Junqueira's Basic Histology: Text And Atlas*. 13 Ed. United States: Mcgraw-Hill Education; 2013. [21]. S.F. G. *Developmental Biology*. 9th Ed. 2013. [22]. Pollard T.D. *EWC. Cell Biology*. 1st Ed. Philadelphia: Elsevier; 2004. [23]. Sweetman S.C. M. *The Complete Drug Reference*. 36th Ed. 2009. [24]. Katzung B.G. MSB, Trevor A.J. *Basics And Clinical Pharmacology*. 12th Ed. New York, Chicago: MC Graw Hill; 2012. [25]. Viollet B, Foretz M. Revisiting The Mechanisms Of Metformin Action In The Liver. *Annales D'endocrinologie*. May 2013; 74(2): 123-129. [26]. Brunton L.L. LJS, Parker R.L. Goodman And Gillman's *The Pharmacological Basis Of Therapeutics*. 11th Ed. New York, Chicago: MC Graw Hill; 2005. [27]. Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F. Cellular And Molecular Mechanisms Of Metformin: An Overview. *Clinical Science*. Mar 2012; 122(6): 253-270. [28]. Hundal RS, Inzucchi SE. Metformin: New Understandings, New Uses. *Drugs*. 2003; 63(18): 1879-1894. [29]. Gong L, Goswami S, Giacomini KM, Altman RB, Klein TE. Metformin Pathways: Pharmacokinetics And Pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics*. Nov 2012; 22(11): 820-827. [30]. Zhang Y, Wang Y, Bao C, Et Al. Metformin Interacts With AMPK Through Binding To Gamma Subunit. *Mol Cell Biochem*. Sep 2012; 368(1-2): 69-76. [31]. Luengo A, Sullivan LB, Heiden MG. Understanding The Complex-1-Ty Of Metformin Action: Limiting Mitochondrial Respiration To Improve Cancer Therapy. *BMC Biology*. 2014; 12: 82. [32]. Hardie DG. AMPK: A Key Regulator Of Energy Balance In The Single Cell And The Whole Organism. *Int J Obes (Lond)*. Sep 2008; 32 Suppl 4: S7-12. [33]. Duong JK, Furlong TJ, Roberts DM, Et Al. The Role Of Metformin In Metformin-Associated Lactic Acidosis (MALA): Case Series And Formulation Of A Model Of Pathogenesis. *Drug Safety*. Apr 3 2013. [34]. Van Sloten TT, Pijpers E, Stehouwer CD,

Brouwers MC. Metformin-Associated Lactic Acidosis In A Patient With Normal Kidney Function. *Diabetes Res Clin Pract.* Jun 2012;96(3):E57-58. [35].Kim MJ, Han JY, Shin JY, Et Al. Metformin-Associated Lactic Acidosis: Predisposing Factors And Outcome. *Endocrinology And Metabolism.* Mar 27 2015;30(1):78-83. [36].Scheen AJ. Metformin And Lactic Acidosis. *Acta Clinica Belgica.* Sep-Oct 2011;66(5):329-331. [37].Mehmet K. Elektron Mikroskopi Teknikleri. *ÇÜTF Dergisi.* 1984. [38].Kirpichnikov D, Mcfarlane SI, Sowers JR. Metformin: An Update. *Ann Intern Med.* Jul 2 2002;137(1):25-33. [39].Williams JD. The WHO Model List Of Essential Drugs. *International Journal Of Antimicrobial Agents.* Jul 1999;12(2):171-180. [40].Levri KM, Slaymaker E, Last A, Et Al. Metformin As Treatment For Overweight And Obese Adults: A Systematic Review. *Annals Of Family Medicine.* Sep-Oct 2005;3(5):457-461. [41].Berstein LM. Metformin In Obesity, Cancer And Aging: Addressing Controversies. *Aging.* May 2012;4(5):320-329. [42].Shank JJ, Yang K, Ghannam J, Et Al. Metformin Targets Ovarian Cancer Stem Cells In Vitro And In Vivo. *Gynecologic Oncology.* Nov 2012;127(2):390-397. [43].Lee JH, Kim TI, Jeon SM, Hong SP, Cheon JH, Kim WH. The Effects Of Metformin On The Survival Of Colorectal Cancer Patients With Diabetes Mellitus. *International Journal Of Cancer. Journal International Du Cancer.* Aug 1 2012;131(3):752-759. [44].Cazzaniga M, Bonanni B, Guerrieri-Gonzaga A, Decensi A. Is It Time To Test Metformin In Breast Cancer Clinical Trials? *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication Of The American Association For Cancer Research, Cosponsored By The American Society Of Preventive Oncology.* Mar 2009;18(3):701-705. [45].Schuler KM, Rambally BS, Difurio MJ, Et Al. Antiproliferative And Metabolic Effects Of Metformin In A Preoperative Window Clinical Trial For Endometrial Cancer. *Cancer Medicine.* Feb 2015;4(2):161-173. [46].Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Et Al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Feature Of The Metabolic Syndrome. *Diabetes.* Aug 2001;50(8):1844-1850. [47].Kazemi R, Aduli M, Sotoudeh M, Et Al. Metformin In Nonalcoholic Steatohepatitis: A Randomized Controlled Trial. *Middle East Journal Of Digestive Diseases.* Jan 2012;4(1):16-22. [48].Than NN, Newsome PN. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: When To Intervene And With What. *Clinical Medicine.* Apr 2015;15(2):186-190. [49].Lomonaco R, Sunny NE, Brill F, Cusi K. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Current Issues And Novel Treatment Approaches. *Drugs.* Jan 2013;73(1):1-14. [50].Nasrolahi O, Khaneshi F, Rahmani F, Razi M. Honey And Metformin Ameliorated Diabetes-Induced Damages In Testes Of Rat; Correlation With Hormonal Changes. *Iran J Reprod Med.* Dec 2013;11(12):1013-1020.

P060

Siçanlarda torsiyon/detorsiyon modelinde hasara karşı ferulik asitin etkisi

Uygar Saçık¹, Güven Erbil¹, Zahide Çavdar², Cemre Ural²

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

²Dokuz Eylül Üniversitesi, Moleküler Tıp Ana Bilim Dalı, İzmir

Testis torsiyonu spermatik kordona bağlı yapıların kendi ekseninde dönmesiyle oluşan bir patolojik durumdur. Torsiyona bağlı olarak kan akımının kesilmesiyle dokularda nekroz ve devamında serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur. Ferulik asit bitkilerin tohum ve yapraklarında bulunan fenolik bir asittir. Kimyasal yapısı güçlü kurkumine benzer ve hidroksisinnamik ailesine aittir. Günlük tüketilen geleneksel meyve ve güncel sebzelerde büyük oranda bulunmaktadır. Deneysel torsiyon modeli olan çalışmamızda ferulik asitin olası koyucu etkisini araştırılması amaçlandı.

Denekler; Kontrol, Etil Alkol, Torsiyon, Torsiyon/Detorsiyon, Torsiyon/Detorsiyon- Ferulik Asit(n=7) grupları olmak üzere rastgele 5 gruba ayrıldı. Histolojik bulgular için: Hematoksilin & Eozin, Peryodik Asit Schiff (PAS), İmmünohistokimya analizleri için; Tunel, Aktif Kaspaz 3, MPO ve İNOS. Biyokimyasal analizler için ise SOD, MDA, GPx, GSH değerleri incelendi.

Ferulik Asitin'in uygulanması bu hasara karşı ilk olarak serbest radikallerin seviyelerinin azalmasına ve SOD ve GSH gibi antioksidanların artışına neden olarak testis hasarına bağlı gelişen oksidan/antioksidan dengesini olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir. Güçlü bir antioksidan olan ferulik asitin testiste oluşturduğumuz torsiyon/detorsiyon işleminden sonra oluşan histolojik hasar bulgularını ortadan kaldırdığını bununla birlikte germ hücre aktivasyonunu da hasar gruplarına göre azaldığını göstermiştir.

Bu bulgular siçanlarda oluşturulan testis hasarında ferulik asit uygulamasının gelecekte umut verici bir tedavi yöntemi olabileceğinin göstergesidir.

Anahtar Kelimeler: FA: Ferulik asit, EA: Etil alkol, T/D: Torsiyon/Detorsiyon, Testis

The effect of ferulic acid in rat against damage in torsion/detorsion model

Uygar Saçık¹, Güven Erbil¹, Zahide Çavdar², Cemre Ural²

¹Department of histology and embryology, Dokuz Eylül University, izmir

²Department of molecular medicine, Dokuz Eylül University, izmir

Testis torsion is a pathological condition that comes into existence by turning structures bound to spermatid cord around their own axis. Due to blood flow blockage as a result of torsion, it causes formation of necrosis in tissues and subsequently free oxygen radicals. Ferulic acid is a phenolic acid found in seeds and leaves of the plants. It has strong chemical structure similar to curcumin and belongs to hydroxycinnamic family. It is commonly and mostly found in traditional fruits and vegetables that are daily consumed. It is aimed to make research on the protective effect of ferulic acid in our experimental torsion model study.

Subjects; including Control, Ethyl Alcohol, Torsion, Torsion/Detorsion, Torsion/Detorsion- Ferulic Acid (n=7) groups, divided into 5 groups randomly. For histological FINDINGS: Haematoxylin & Eosin, Periodic Acid Schiff (PAS), For immunohistochemical analyses; Tunnel, Active Caspase 3, MPO and INOS were analyzed. For biochemical analyses: SOD, MDA, GPx, GSH values were analyzed.

It has been shown that Ferulic Acid application affects positively the oxidant-antioxidant balance developed due to testis damage causing decrease in the levels of free radicals and increase in the levels of anti-oxidants such as SOD and GSH. As a strong anti-oxidant, Ferulic Acid diminishes histological damage findings occurred after torsion/detorsion process to testis and together with this it decreases germ cell activation according to damage groups.

These findings show that ferulic acid application in testis damage created in rats shall be a promising treatment method in the future.

Keywords: FA: Ferulic acid, EA: Ethyl alcohol, T/D: Torsion/Detorsion, Testis

P061

Non-obstrüktif Azospermi Tanılı Erkek Hastalarda DNMT3A ve DNMT3B Proteinlerinin Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

Fatma Uysal, Gökhan Akkoyunlu, [Saffet Öztürk](#)
Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

AMAÇ: İnfertilite çiftlerin bir yıllık süreçte sağlıklı bir gebelik elde edememeleri olarak tanımlanmaktadır. Erkek faktörü, infertiliteye neden olan faktörlerin %40-50'sini oluşturmaktadır. İnfertiliteye neden olan erkek faktörleri arasında bulunan azosperminin moleküler alt yapısı henüz net olarak bilinmemektedir. Azospermi, ejakulatta sperm bulunmaması olarak bilinmektedir. 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, yeni baştan metilasyonda görev alan DNMT3A ve DNMT3B proteinlerinin ekspresyon düzeyleri ve hücreyel yerleşimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Azospermi tanılı infertil erkek hastalardan (n= 22) alınan TESE (testiküler sperm ekstraksiyonu) örneklerinin rutin parafin takipleri gerçekleştirildi. Parafin bloklardan alınan kesitler, Hematoksilin-Eozin (HE) boyama veDNMT3A ileDNMT3B proteinlerinin immünohistokimyasal boyamalarında kullanıldı.HE boyanmış biyopsi örnekleri, patolojik açıdan analiz edilerek:hipospermatogenez (n= 5), yuvarlak spermatid tutulum (n= 4), spermatosit tutulum (n= 8) ve sadece Sertoli hücresi sendromu (n= 5) olarak dört gruba ayrıldı. DNMT3A ve DNMT3B için elde edilen immünohistokimyasal boyanmalar, Image J programı ile analiz edilip; one-way ANOVA testi ile istatistiksel açıdan değerlendirildi.

BULGULAR: Yuvarlak spermatid tutulum, spermatosit tutulum ve sadece Sertoli hücre sendromu patolojileri olan hasta grupları kısmi spermatogenez üretimi olan hipospermatogenez grubu ile karşılaştırıldı.Yapılan analizler sonucunda DNMT3A protein ekspresyonunun, yuvarlak spermatid tutulum, spermatosit tutulum ve sadece Sertoli hücre sendromu olan hasta testis dokularında hipospermatogenez grubuna göre anlamlı olarak azaldığı bulundu (P<0.05). En düşük DNMT3A ekspresyonu ise yuvarlak spermatid tutulum grubu hasta testis dokularında gözlemlendi. DNMT3B ekspresyonunda ise yuvarlak spermatid tutulum, spermatosit tutulum ve sadece Sertoli hücre sendromu olan hasta testis dokularında hipospermatogenez grubu ile karşılaştırıldığında değişimler gösterebileceği anlamlı bir fark bulunmamıştır.

TARTIŞMA: Yapılan bu çalışma ile DNMT3A ve DNMT3B proteinlerinin testis dokusundaki ekspresyonel düzeyleri ile azospermiye bağlı erkek infertilitesi arasındaki ilişki ilk defa değerlendirilmiştir. Çalışmamızda, DNMT3A protein düzeyindeki azalma ile erkek infertilitesi arasında bir ilişki olabileceği düşünülmektedir. DNMT3B proteininin ise azospermiye bağlı infertiliteyi etkilemediği görülmektedir. Bu proteinler ile erkek infertilitesi arasındaki ilişki ile ilgili, daha fazla sayıda hasta örneklerinin sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılacağı detaylı araştırmaların yapılması gerektiği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Azospermi, DNMT3A, DNMT3B, infertilite, spermatogenez

Determining DNMT3A and DNMT3B Protein Expression in Male Patients with Non-obstructive Azoospermia

Fatma Uysal, Gökhan Akkoyunlu, [Saffet Öztürk](#)
Department of Histology and Embryology, Akdeniz University, School of Medicine, Antalya, Turkey

AIM: Infertility is known that couples do not have a healthy pregnancy during one year sexual intercourse. Male factor constitutes 40-50% of factors leading to infertility. It is not clearly known that molecular background of azoospermia, which is one of the male factors caused to infertility. Azoospermia is defined as not having sperm in ejaculate. In the recently performed studies,

anormal DNA methylation occurring during spermatogenesis may lead to infertility. DNA methylation is carried out by adding methyl group to the fifth carbon atom of cytosine nucleotides at CpG or non-CpG islands in genome. DNA methyltransferase (DNMT) enzymes play role in de novo and maintenance DNA methylation processes. In this work, we aimed to characterize expressional levels and subcellular localization of the DNMT3A and DNMT3B proteins functioning in de novo methylation.

MATERIAL-METHOD: Routine paraffin embedding for the TESE (testicular sperm extraction) samples is performed in infertile male patients with azoospermia (n= 22). The paraffin sections cut from paraffin blocks were used in hematoxyline-eosine (HE) and immunohistochemical staining for DNMT3A and DNMT3B proteins. HE-stained biopsy samples analyzed for pathological status were separated into four groups: hypospermatogenesis (n= 5), round spermatid arrest (n= 4), spermatocyte arrest (n= 8) and Sertoli cell only syndrome (n= 5). The immunohistochemical staining for DNMT3A and DNMT3B were analyzed with ImageJ program; statistical significance was determined by using one-way ANOVA.

RESULTS: We have compared the results from round spermatid arrest, spermatocyte arrest and Sertoli cell only group with the hypospermatogenesis having partial sperm production. Here, DNMT3A protein expression in the round spermatid arrest, spermatocyte arrest and Sertoli cell only groups is significantly reduced when compared to hypospermatogenesis group ($P < 0.05$). The least DNMT3A expression was found in male testis tissue group with round spermatid arrest. There was no statistical difference in the DNMT3B expression examined in the round spermatid arrest, spermatocyte arrest and Sertoli cell only groups in comparison to hypospermatogenesis group although expressional fluctuations have been observed.

DISCUSSION: In this study, it is first analyzed expressional levels of the DNMT3A and DNMT3B proteins in the testicular tissues obtained from azoospermia male infertile patients. We think that there may be a relation between DNMT3A protein level and male infertility. It seems that there is no relationship with infertility development due to azoospermia. We suppose that more detailed studies that will be carried out in much more patients and healthy control groups are required for these proteins.

Keywords: Azoospermia, DNMT3A, DNMT3B, infertility, spermatogenesis

P062

Uzun Süreli GnRH Analogunun (4,7 mg Deslorelin, Suprolerin®) Erkek Ratların Testisinde HsP 70 Üzerine Etkilerinin İmmünohistokimyasal Araştırılması

Sema Uslu¹, Funda Eşki², Mecit Yörük³, Sait Şendağ⁴, Nebi Çetin⁴, Barış Atalay Uslu⁵, Axel Wehrend⁶

¹Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 58140- Sivas, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi, Ceyhan Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 65080 Van- Türkiye

⁴Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, 65080 Van Türkiye

⁵Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, 58140- Sivas, Türkiye

⁶Justus-Liebig-Universitesi Veteriner Fakültesi, Doğum Jinekoloji ve Androloji Anabilim Dalı, Giessen, Almanya

GİRİŞ

Molekül ağırlıkları 15 kDA ile 110 kDA arasında değişen normal koşullar altında hücrede bulunan ancak ani ısı değişiklikleri, pH değişiklikleri, oksijen eksikliği, stres faktörleri ile karşılaştıklarında hücrede düzeyleri artan proteinler ısı şok proteinleridir. Bu etkilere maruz kalan hücrelerde zarar gören proteinleri onararak hücrelerin yapısının korunmasında etkilidirler. HsP 70 stoplazma, çekirdek, endoplazmik retikulum ve mitekondride protein taşınmasında etkilidir. HsP 70 diğer dokulardan farklı olarak testiste mayoz bölünmenin profaz safhasında sentezlenmektedir. Bu çalışmada uzun süreli GnRH analogu implantının (4,7 mg Deslorelin, Suprolerin®) erkek ratlarda stres etkisi oluşturarak HsP 70 aktivitesine olan etkisinin araştırılması amaçlandı.

GEREÇ YÖNTEM

Çalışmamızda 28 adet 250-300 gr ağırlığında 2-3 aylık yaşta erkek rat kullanıldı. A Grubuna (n=10) hiç bir uygulama yapılmadı. B Grubundaki (n=9) ve C grubundaki (n=9) hayvanlara subkutan olarak Deslorelin implantı uygulandı. 6. ayın sonunda A ve B Gruplarına ait hayvanlar sakrifiye edilerek testisleri alındı. C Grubundaki hayvanlardan ise 6. ayda implant çıkarıldı ve C Grubundaki hayvanlar 11. ayın sonunda sakrifiye edildi. A, B, C Gruplarındaki tüm hayvanlara ait testisler Bouin solüsyonunda 24 saat tespit edildi. Rutin doku takibinin ardından paraplastta bloklandı. 4 µ kesitler alındı İmmünohistokimyasal olarak ABC metodu ile boyandı. HsP 70 aktivitesi değerlendirildi ve fotoğraflandı.

BULGULAR

A Grubundaki hayvanlara ait testislerde. spermatozoalarda HsP 70 (+) olarak boyanma olduğu belirlendi. B Grubuna ait testislerde HsP 70(+) boyanmanın primer spermatozoidlerde olduğu görüldü. C Grubundaki testislerde, HsP 70 (+) boyanmanın ise spermatozoalarda olduğu görüldü.

SONUÇ

Çalışma sonucunda HsP 70 aktivitesinin post mayotik fazda belirlendiği, Deslorelin İmplantı uygulanmış hayvanlarda ise primer spermatozoidlerde HsP 70 (+) olduğu, implant çıkarıldıktan sonra ise bu etkinin ortadan kalktığı, HsP 70 aktivitesinin post mayotik fazda görülmeye başladığı belirlendi. Deslorelin implantının HsP 70 aktivitesini arttırdığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Deslorelin, Testis, İmmüno-histokimya, HsP 70, Rat.

Immunohistochemical Examination of the Long-Term Impacts of GnRH Analogue (4,7mg Deslorelin, Suprolerin®) on HsP 70 Activity in the Testes of Male Rats

Sema Uslu¹, Funda Eşki², Mecit Yörük³, Sait Şendağ⁴, Nebi Çetin⁴, Barış Atalay Uslu⁵, Axel Wehrend⁶

¹Cumhuriyet University, Veterinary Faculty, Department of Histology and Embryology, 58140, Sivas, Turkey

²Çukurova University, Ceyhan Veterinary Faculty, Department of Obstetrics and Gynecology, Adana, Turkey

³Yuzuncu Yil University, Veterinary Faculty, Department of Histology and Embryology, 65080, Van,

Turkey

⁴Yuzuncu Yil University, Veterinary Faculty, Department of Obstetrics and Gynecology, 65080, Van, Turkey

⁵Cumhuriyet University, Veterinary Faculty, Departments of Reproduction and Artificial Insemination, 58140, Sivas, Turkey

⁶Justus-Liebig-University, Veterinary Obstetrics, Gynecology and Andrology, Giessen, Germany

Heat shock proteins (HsP) are the proteins which have molecular weights ranging from 15 kDA to 110 kDA and exist within the cell under normal conditions but have increasing levels in the cell when they encounter sudden heat changes, pH changes, oxygen deficiency and stress factors. They play a role in the protection of the structure of the cell by repairing the injured proteins in the cell being exposed to such changes.

Differently from other tissues, HsP 70 is synthesized in the prophase stage of meiosis in the testes. In this study was to determine the long-term impacts that GnRH analogue implant (4,7 mg Deslorelin, Suprolerin®) had on the HsP 70 activity of the male rats by means of creating stress effect.

Material and Methods

In our study, 28 Wistar albino male rats which weighed 250-300 gr and were 2-3 months old were used. No intervention was performed in Group A (n=10). In Group B (n=9) and Group C (n=9), subcutaneous Deslorelin implant was carried out on the rats. At the end of the 6th month, rats included in the Groups A and B were sacrificed and their testes were removed. As for Group C, the implants of the rats were removed at the end of the 6th month and rats were sacrificed at the end of the 11th month. Testes of the animals included in Groups A, B and C were kept in Bouin solution for 24 hours. Following the routine tissue follow-up, they were blocked in paraplast. 4 µm sections were taken and dyed by using the ABC method immunohistochemically. HsP 70 activity was evaluated and photographed in the preparates obtained.

There was staining as HsP 70 (+) in the spermatozoa of the testes belonging to the rats of Group A. In the testes of the rats included in Group B, it was seen that HsP 70 (+) staining was on primary spermatocytes. As for the testes of the rats included in Group C, HsP 70 (+) staining was found in spermatozoa in the testes.

The present study revealed that HsP 70 activity was determined in the postmeiotic phase. It was also found out that, in the rats with Deslorelin implant, HsP 70 activity was observed in the primary spermatocytes and this impact disappeared after the implant was removed. HsP 70 activity appeared in the postmeiotic phase once again. It was concluded that Deslorelin implant increased HsP 70 activity.

Keywords: Deslorelin, Testes, Immuno-histochemical, HsP 70, Rat.

P063

Diabetin prostat stroma ve parankime olan etkisinin stereolojik yöntemlerle incelenmesi

Mikail Kara, Seda Erdem, Murat Çetin Rağbetli, Duygu Şahin
Yüzüncü yıl üniversitesi tıp Fakültesi Tıbbi histoloji ve Embriyoloji

Diabet, organizmanın tüm organ ve dokularında hasar oluşturduğu bildirilen metabolik bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarla, diabetin, insan vücudunun böbrek, göz ve beyin gibi bir çok organ ve dokusunda hasara neden olduğu bilinmektedir. Ancak, diabetin prostat dokusunda hasar oluşturma potansiyelinin stereolojik yöntemlerle araştırıldığı her hangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı; farklı dozlarda uygulanan streptozotosin (STZ)'in sıçan prostat stroma ve parankim doku üzerine etkilerinin stereolojik metodlarla araştırılmasıdır. Çalışmada, kontrol, SF, STZ 45 mg ve 65 mg olmak üzere toplam 4 grup ve 20 adet erkek sıçan kullanıldı.

Diabet öncesi ve sonrası her bir grup hayvanın ağırlıkları ve kan glikoz değerleri ölçüldü. Diabet, 45mg/kg ve 65mg/kg STZ intraperitoneal olarak uygulanarak oluşturuldu. Toplam dört hafta sonunda kontrol ve denek gruplarına ait tüm deneklerin prostat dokusu çıkarılarak mikroskopik incelemeleri için uygun takipleri yapıldı. Dokuların hacim hesaplanması için masson trikrom boyası uygulanan dokular ışık mikroskobu altında değerlendirilmiştir.

Prostat dokusunun total hacminin hesaplanmasında Cavalieri prensibi kullanılmıştır. Alınan kesitlerde stroma-parankim volüm oranı, bileşik alan ölçüm cetveliyle ölçüldü. İstatistiksel analiz için Kruksal Wallis ve Tukey çoklu testleri kullanılmıştır. Stereolojik inceleme sonucu Serum Fizyolojik grubu ve kontrol grubunda parankim doku %56 bağ doku %44, denek grubunda ise parankim doku %55 bağ doku ise %45 saptanmıştır. Sonuç olarak farklı dozlarda uygulanan streptozotosinin denek ve kontrol grubunda sıçan prostat stroma-parankim oranına etkisinin istatistiksel açıdan anlamlı olduğu ($P<0.05$) gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Prostat, diyabet, sıçan, stereoloji, streptozotosin

The investigation of diabet over prostat stroma and parankime with stereological methods. and parenchyma tissue by

Mikail Kara, Seda Erdem, Murat Çetin Rağbetli, Duygu Şahin
University of Yüzüncü Yıl Faculty of Medicine Department of Histology and Embryology

Diabet, is a metabolic disorder reported to form damage in whole organism and all tissues. It is known that diabet leads to detriments and damages to many human organs such as kidneys, brain, eyes, as reported in researches carried. However there is not any study in which the potential of damaging in the tissues of prostate is assessed with stereologic methods.

The aim of this study is to search the effects of streptozosin which was carried in different doses, on rat prostate stroma and parankim with stereologic methods.

In the study control, SF, STZ 45 mg and 65 mg and 4 groups and 20 male rats were employed. The weights and glycoz values of all rats pre and after diabet.

Diabet was formed by conducting, 45mg/kg ve 65mg/kg STZ intraperitoneal.

After the overall four weeks the prostate tissues of all subjects from both control and trial group were extracted and then were subjected to all suitable pursuits of microscobic scrutiny.

For calculation of the sizes of tissues, the tissues which were treated with mason trikrom color, were evaluated under light microscope.

In the calculation of total size of prostate tissue cavalieri principle was used. the proportion of stroma-parankim volume from taken pieces were calculated with compound glade calculating ruler. İstatistiksel analiz için Kruksal Wallis and Tukey ample tests were employed for statistical analyse.

In the end of tereolojik scrutiny the serum physiological group the parankim tissue was %56 relation tissue was %44, and in subject trial group parankim tissue was %55 relation tissue was %45. consequently the effect of streptozotosinin conducted in different doses over control and trial subjects regarding prostate stroma-parankim rate were found to be meaningfull statictically. ($P<0.05$).

Keywords: Prostate, diabetes, rat, stereological, streptozotocin

P064

Kadmiyum uygulanan sıçan testis modeli kullanarak CRB3 proteinin değerlendirilmesi

Nazlı Ece Gungor Ordueri, Ciler Celik Ozenci

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

Spermatogenez, apikal ektoplazmik özelleşmeler (AEÖ) aracılığı ile olgun spermin, evre VIII'de serbest bırakılması için gerçekleşen, hücre polaritesinin düzenlenmesinin de yer aldığı, ardışık olaylardır. Memeli hücrelerinde, CRB kompleksi, hücre polaritesini kontrol eden, CRB3, Pals1 ve PATJ proteinlerinden oluşan bir polarite kompleksidir. Son zamanlardaki çalışmalarda, Pals1 ve PATJ'nin hem germ hücrelerinde hem de az miktarda Sertoli hücrelerinde varlığı gösterilmesine rağmen, CRB3'ün hücresel lokalizasyonu bilinmemektedir. Bu çalışmada; ilk olarak CRB3 proteininin lokalizasyonun; ikinci olarak ise kadmiyum (CdCl₂) uygulaması sonrası CRB3 protein düzeylerinin sıçan testisinde gösterilmesi amaçlanmıştır. Sertoli hücreleri, germ hücreleri ve testis dokusu kullanılarak immüno blot, immünohistokimya ve ko-immünopresipitasyon yöntemleri uygulanmıştır. Sonuçlarımıza göre, CRB3 ekspresyonu evre III-IV ve VII'de hem spermatositlerde hem de yuvarlak spermatidlerde gözlenirken, geç evre VIII ve XI-XII'da ise sadece pakiten spermatositlerde gözlenmiştir. Bu bulgular immunoblot analizleri ile desteklenmiştir. CRB3'ün AES yeniden yapılandırılması ile ilişkili olup olmadığını göstermek için bir doz 1mg/kg CdCl₂ i.p. olarak uygulanmıştır. Uygulamadan 48 saat sonra CRB3 protein düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir. Ek olarak, CRB3'ün partner proteini olan Pals1 ve AES'in proteinlerini fosforilleyen c-Src ile hücresel etkileşimde olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar CRB3'ün AES yeniden yapılanma mekanizmasında rolü olabileceğini göstermektedir. Özetle bu çalışma, CRB kompleks proteinlerinin Sertoli hücreleri ve germ hücrelerinin ko-kültüründe gen sessizleştirme teknolojisi kullanılarak araştırılabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: CRB3, germ hücreleri, apikal ektoplazmik özelleşmeler, sıçan testisi

Evaluation of CRB3 expression using cadmium-treated rat testis model

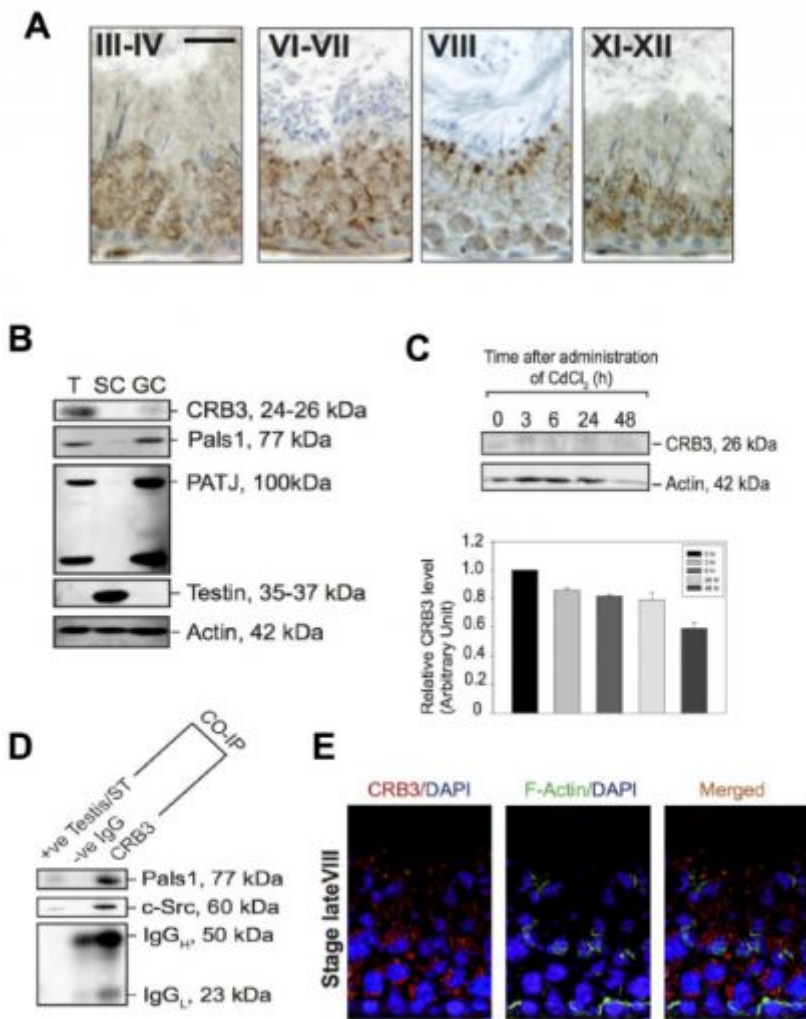
Nazlı Ece Gungor Ordueri, Ciler Celik Ozenci

Department of Histology and Embryology, Medicine Faculty, Akdeniz University, Antalya, Turkey

Spermatogenesis occurs with consecutive events including cell polarity in order to release the mature sperm by restructuring apical ectoplasmic specialization (AES) at stage VIII. In mammalian cells, the Crumb (CRB) complex, which is polarity complex that control cell polarity, is composed of CRB3, Pals1, and PATJ. Although recent studies show that Pals1 and PATJ are present in both germ cells and Sertoli cells, cellular localization of CRB3 is unknown. In this study, first; we aimed to show the localization pattern of CRB3 protein, second; protein levels of CRB3 after cadmium (CdCl₂) treatment in the rat testis. We applied immunoblot, immunohistochemistry and co-immunoprecipitation methods by using Sertoli cells, germ cells and testis (depends on an experiment). According to our results, CRB3 was present in spermatocytes and round spermatids at tubule stage III-IV and VII and at late stages VIII and XI-XII, it was localized only in pachytene spermatocytes. These results have been confirmed by immunoblot analyzes. To show whether CRB3 was related or not to restructuring of AES; rats were treated with one dose 1 mg/kg BW (i. p.) CdCl₂. We found that CRB3 protein levels decreased after 48 hours treatment. Additionally, we showed that CRB3 had a cellular interaction with its partner proteins Pals1 and c-Src, which are phosphorylated proteins of AES. These findings illustrate that CRB3 may have a role in restructuring mechanism of AES. In short, this study illustrates that CRB complex proteins can be evaluated by using gene knockdown technology in co-culture of Sertoli cell and germ cells.

Keywords: CRB3, germ cells, apical ectoplasmic specialization, rat testis

Şekil 1
Figure 1



P065

DeneySEL Diyabet Oluşturulan Prepubertal ve Yetişkin Ratların Testis Dokularında NPR-A Reseptör İmmünreaktivitesinin Belirlenmesi

Selim Demirtaş, Ahmet Çağatay Çiçek, Turan Karaca
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Edirne

AMAÇ: Diyabet, pankreas beta hücrelerinden insülin salınmasının durması veya yetersizliği ya da hedef hücrelerde insülin reseptör duyarlılığının azalmasıyla oluşan bir hastalıktır. Hastalığın birçok doku ve organı etkileyen yan etkileri bulunmaktadır. Natriüretik Peptid Reseptör-A (NPR-A), insanlarda NPR1 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Natriüretik, diüretik ve vazodilatör etkiler gösteren Atriyal Natriüretik Peptid ve Beyin Natriüretik Peptid hormonları için spesifik bir reseptör olarak işlev görür. Bu çalışmada diyabetik prepubertal ve yetişkin ratların testis dokularında NPR-A dağılımının immünohistokimyasal olarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD: Çalışmada 4 haftalık (Prepubertal dönem) ve 10 haftalık (Yetişkin) *Wistar albino* erkek ratlar kullanılmıştır. Ratlar yaş gruplarına göre ayrılıp toplam 4 grup oluşturulmuştur.

Kontrol Prepubertal Grup: Herhangi bir uygulama yapılmayan sağlıklı grup (n=6);
Diyabet Prepubertal Grup: 60mg/kg/bw tek doz intraperitoneal streptozotosin (STZ) uygulanan grup (n=6);
Kontrol Yetişkin Grup: herhangi bir uygulama yapılmayan sağlıklı grup (n=6);
Diyabet Yetişkin Grup: 60mg/kg/bw tek doz intraperitoneal STZ uygulanan grup (n=6).

Diyabet modeli; 60mg/kg/bw dozunda intraperitoneal olarak STZ ile oluşturulmuştur. Uygulamayı takiben 48 saat sonra kan örnekleri ölçülerek, açlık kan şekeri düzeyi 250 mg/dl seviyesi ve üzeri olan denekler çalışmaya dahil edilmiştir.

Uygulamadan 14 gün sonra ratlar diyetle beslenip, alınan testis dokuları rutin histolojik takip aşamalarından geçirilmiştir. NPR-A immünreaktivitesinin belirlenmesi için testis dokularına immünohistokimyasal teknikler uygulanmıştır. NPR-A immünreaktivitesi semikantitatif olarak skorlanmıştır.

BULGULAR: NPR-A immünreaktivitesi incelendiğinde; seminifer tübül seri hücrelerinde pozitif reaksiyon gözlenmiştir. NPR-A dağılımında, yetişkin kontrol grubunda, prepubertal kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir. Prepubertal diyabet grubunda, prepubertal kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Yetişkin diyabet grubunda, yetişkin kontrol grubuna göre anlamlı bir artış, prepubertal diyabet grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür.

SONUÇ: Diyabet gruplarında NPR-A aktivitesinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir. Kontrol gruplarına bakıldığında ise prepubertal dönemde, yetişkin döneme göre anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, NPR-A, Rat, Testis

Determination of NPR-A Receptor Immunoreactivity in Testes of Experimental Diabetes Induced Prepubertal and Adult Rats

Selim Demirtaş, Ahmet Çağatay Çiçek, Turan Karaca
Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Trakya University, Edirne, Turkey

OBJECTIVES: Diabetes is due to either the pancreas not producing enough insulin or the cells of the body not responding properly to the insulin produced. There are many side effects for tissues and organs. Natriuretic peptide receptor A (NPR-A) is a protein encoded by the NPR1 gene in humans. It is a specific receptor of Atrial Natriuretic Peptide and Brain Natriuretic Peptide and these hormones have effect natriuresis, diuresis and vazodilatator. This study was aimed to show of the immunohistochemical distribution of NPR-A in testes of diabetes induced prepubertal and adult rats.

MATERIAL-METHOD: In this study *Wistar albino* rats were used as 4 weeks (prepubertal) and 10 weeks (adult). They were divided into 4 groups.

Control Prepubertal Group: healthy group (n = 6);

Diabetic Prepubertal Group: 60 mg/kg/bw single dose was given streptozotocin (STZ) by intraperitoneally (n = 6);

Control Adult Group: healthy group (n = 6);

Diabetic Adult Group: 60 mg/kg/ bw single dose was given STZ by intraperitoneally (n = 6).

Diabetes model; was generated by intraperitoneal administration of STZ dose of 60 mg/kg/bw. Rats were included in the study that blood glucose levels were found over 250 mg/dl after 48 hours of application.

Rats were dissected and the testes tissues received then routine histological technics were applied. The tissues were stained immunohistochemically with NPR-A and immunoreactivity was scored semiquantatively.

RESULTS: NPR-A positive cells were observed in the seminiferous epithelium. There was significant decrease in adult control group according to prepubertal control group. There was significant increase in prepubertal diabetic group compared with prepubertal control group. There was significant increase in adult diabetic group according to adult control group. Otherwise there was significant decrease in adult diabetic group according to prepubertal diabetic group.

CONCLUSION: In the activity of NPR-A there was significantly increase in diabetic groups and there was significant increase in control prepubertal groups according to control adult groups.

Keywords: Diabetes, NPR-A, Rat, Testis

P066

Postnatal dönemdeki sıçan testis ve epididimisinde vasküler endotelial büyüme faktörü ve reseptörlerinin lokalizasyonu

Feyzullah Beyaz¹, Emel Ergün², Mehmet Özbek², Levent Ergün²

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fizyolojik ve patolojik angiogenezin ana düzenleyicisidir ve etkisini hedef hücrelerin yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak gösterir. VEGF reseptörlerinin seminifer tübüllerde lokalize olmaları VEGF'in spermatogenezin düzenlenmesinde önemli roller alabileceğini gösterir. Bu çalışma, VEGF ve reseptörleri Flt-1 ile Flk-1'in postnatal dönemdeki sıçanların testis ve epididimisindeki varlığı ve lokalizasyonunu immunohistokimyasal yöntemle ortaya koymak amacıyla planlandı. Farklı postnatal gelişim aşamalarındaki 4 grup Wistar albino ırkı sıçanların testis ve epididimisi materyal olarak kullanıldı. Gruplar; prepubertal (5 günlük), pubertal (20 günlük), postpubertal (50 günlük) ve olgun (70 günlük) olarak dizayn edildi. 5 günlük sıçanlarda, seminifer tübüllerde gonositler, interstisyumda ise sadece Leydig hücrelerinde VEGF için pozitif immun reaksiyon belirlenirken, epididimal kanalların epitelyumunda negatif reaksiyon vardı. Flt-1 ve Flk-1 için sadece Leydig hücrelerinde pozitif reaksiyona rastlanıldı. 20 günlük sıçanlarda, VEGF için testiste spermatogonyumlar, apoptotik hücreler ve Leydig hücrelerinde, epididimiste ise kanal epitellerinde bazı prinsipal hücrelerde pozitif reaksiyon belirlendi. Flt-1 için yapılan boyamalarda, testiste Sertoli hücrelerinde ve spermatogonyumlarda, epididimiste ise bazı prinsipal hücrelerde pozitif reaksiyon belirlendi. Flk-1 için ise testiste Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlarda immun boyanma gözlemlendi. 50 günlük sıçanlarda, VEGF için testiste spermatogonyumlar ve Leydig hücrelerinde pozitif immun reaksiyon gözlenirken, epididimal kanallarda boyanma görülmedi. Flt-1 için yapılan boyamalarda testiste özellikle geç spermatidlerde kuvvetli immun pozitif reaksiyon belirlendi. Epididimisin initial, kaput, korpus ve kauda bölümlerinde bazal ve apikal hücrelerde ve bazı prinsipal hücrelerde pozitif reaksiyona rastlanıldı. Flk-1 için testislerde spermatogonyumlarda, Sertoli ve Leydig hücrelerinde pozitif boyanma görülürken, epididimal kanallarda reaksiyon belirlenmedi. 70 günlük sıçanlarda, VEGF için testiste spermatogonyumlar, Sertoli hücreleri, geç spermatidler ve Leydig hücrelerinde immun boyanma gözlemlendi. Flt-1 için testiste granüler tarzda germ hücreleri arasında, geç spermatidlerde, atık cisimciklerde ve Leydig hücrelerinde pozitif reaksiyon belirlendi. Epididimiste, initial, kaput ve korpus bölümlerinde özellikle bazal hücrelerde kuvvetli reaksiyon gözlenirken, kauda bölgesinde prinsipal hücrelerde kuvvetli boyanma vardı. Flk-1 için testislerde spermatogonyumlarda, primer spermatositlerde, geç spermatidlerde, atık cisimciklerde ve Sertoli ile Leydig hücrelerinde pozitif reaksiyon görüldü. Epididimiste initial, kaput ve korpus bölümlerinde özellikle bazal hücrelerde, kauda bölgesinde ise prinsipal hücrelerde kuvvetli boyanma dikkati çekti. Bununla birlikte, VEGF ve reseptörleri için yapılan boyamaların hepsinde, testis ve epididimisteki kan damarlarında pozitif reaksiyon belirlendi. Sonuç olarak, parakrin bir faktör olan VEGF testis ve epididimisin vasküler endotelial büyüme üzerinde Flt-1 ve Flk-1 aracılığıyla potansiyel etkilere sahiptir. Bununla birlikte, VEGF ve reseptörleri Flt-1 ile Flk-1'in testis ve epididimisteki spesifik lokalizasyonu, bu moleküllerin spermatogonyal farklılaşma, spermatidlerin spermatozoonlara farklılaşması, Leydig hücrelerinde steroidogenezis ve epididimiste spermatozoonların olgunlaşması ile kan-epididimis bariyerinin desteklenmesi gibi olaylarla ilişkili olabileceklerini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Sıçan, Testis, Epididimis, VEGF ve reseptörleri, Postnatal dönem

The localization of vascular endothelial growth factor and its receptors on testis and epididymis of rat during postnatal period

Feyzullah Beyaz¹, Emel Ergün², Mehmet Özbek², Levent Ergün²

¹Erciyes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology, Kayseri, Turkey

²Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a principal regulator of physiological and pathological

angiogenesis and acts on its target cells by binding to specific receptors on their surface. VEGF receptors are located inside the seminiferous tubules, suggesting a direct involvement of their ligand in the regulation of spermatogenesis. This study was planned to exhibit the presence and localization of VEGF and its receptors Flt-1 and Flk-1 on testis and epididymis of rat during postnatal period using immunohistochemical method. At five days old rats, a positive immune reaction for VEGF was observed in gonocytes and Leydig cells but not epididymal ducts. A positive staining for Flt-1 and Flk-1 was only seen in Leydig cells. At twenty days old rats, we detected a positive reaction in spermatogonia, apoptotic cells, Leydig cells in testis and some principal cells in epididymal ducts. A positive staining for Flt-1 was determined in Sertoli cells, spermatogonia and some principal cells of epididymal ducts. A positive staining for Flk-1 was seen in Sertoli cells and spermatogonia. At fifty days old rats, we found a positive reaction in spermatogonia and Leydig cells but not epididymal ducts. A positive staining for Flt-1 was observed in late spermatids of testis and basal, apical or some principal cells of initial segment, caput and corpus and cauda epididymis. A positive staining for Flk-1 was determined in Sertoli cells, spermatogonia and Leydig cells but not epididymal ducts. At seventy days old rats, we observed a positive reaction in spermatogonia, Sertoli cells, late spermatids and Leydig cells. A positive staining for Flt-1 was determined between germinal cells as a granular pattern, in late spermatids, residual bodies and Leydig cells in testis and basal cells of initial segment, caput and corpus or principal cells of cauda epididymis. A positive staining for Flk-1 was determined in Sertoli cells, spermatogonia, primary spermatocytes, late spermatids, residual bodies and Leydig cells of testis and basal cells of initial segment, caput or corpus and principal cells of epididymis. VEGF, as a paracrine factor, has a potential effects on the permeability of vascular endothelium of testis and epididymis via flt-1 and flk-1. The specific localization of VEGF, flt-1 and flk-1 in testis and epididymis indicate they may affect; the spermatogonial differentiation, differentiation of spermatids to spermatozoa, steroidogenesis in Leydig cells and sperm maturation and the supporting to blood-epididymis barrier in epididymis.

Keywords: Rat, Testis, Epididymis, VEGF and its receptors, Postnatal period

P067

Diyabetik Testis Dokusunda INSL3 İfadesi

Gulnur Kizilay¹, Sinasi Bayram¹, Onur Ersoy¹, Melike Sapmaz Metin², Aysegul Cerkez kayabekir³, Turan Karaca¹

¹Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

²Trakya Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Edirne, Türkiye

³Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

AMAÇ: Fukoidan ve proantosiyanidin, diyabetik testis dokusunda ortaya çıkan histopatolojik hasarlarda etkili olabilme potansiyeli yüksek antioksidanlardır. Bu çalışmada, diyabetik testis dokularında fukoidan ve proantosiyanidin uygulanmasının INSL3 ifadesi yönünden öneminin aydınlatılması amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD: Otuzaltı adet Wistar albino erkek sıçan kullanılarak altı deney grubu (n=6); 1.grup: Kontrol grubu, 2.grup: 40 mg/kg streptozotosin (STZ, 5 ardışık gün, intraperitoneal (i.p.), pH: 4,2; 0,1M sitrat tamponunda çözülerek) verilen grup, 3.grup: 40 mg/kg STZ i.p.+50 mg/kg i.p. fukoidan (%0.9'luk serum fizyolojik içerisinde çözülerek, son STZ enjeksiyonundan sonra 6 hafta boyunca, günde bir kez) verilen grup, 4.grup: 40 mg/kg STZ i.p.+50 mg/kg i.p. fukoidan (diyabet oluşturulduktan 15 gün sonra, 6 hafta süresince günde bir kez) verilen grup, 5.grup: 40 mg/kg STZ i.p.+250 mg/kg proantosiyanidin intragastrik (i.g.) (%0.9'luk serum fizyolojik içerisinde çözülerek, son STZ enjeksiyonundan sonra 6 hafta boyunca günde bir kez) verilen grup, 6.grup: 40 mg/kg STZ i.p.+250 mg/kg i.g. proantosiyanidin (diyabet oluşturulduktan 15 gün sonra, 6 hafta boyunca günde bir kez) verilen grup oluşturulmuştur.

Deneklerin kan-glukoz düzeylerine; kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukometre ile bakılmıştır. Protokol süreleri tamamlanan deneklerden, anestezi altında kardiyak ponksiyonla alınan kan numunelerinde serum testosteron düzeyleri ölçülmüş ve alınan testis doku örnekleri, fiksasyon, dehidratasyon, parafin inklüzyonu işlemlerinden geçirilerek, parafin bloklar elde edilmiştir. 5µm kalınlıkta alınan kesitlere, hematoksilin-eosin (H-E) ve immunohistokimyasal INSL3 tekniği uygulanmıştır.

SONUÇLAR: STZ uygulanan tüm gruplarda, kan glukoz düzeyleri deney süresince 250 mg/dl'nin üzerinde bulunmuş ve diyabetik olarak kabul edilmişlerdir (Tablo 1). Serum testosteron düzeyleri karşılaştırıldığında; 1. grup ile 2., 3., 4., 5. ve 6. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenirken (sırasıyla P=0.009, P=0.045, P=0.009, P=0.006, P=0.006; Tablo 1), 2. gruba göre 3. ve 5. grupların testosteron düzeylerindeki artış anlamlıdır (P= 0.006, P=0.006; Tablo 1). H-E boyanmış kesitler incelendiğinde, 2. grupta birçok seminifer tübül epitelinde organizasyon bozuklukları ve gelişimini tamamlayamadan lümene dökülen hücreler bulunurken; 3., 4., 5., ve 6. gruplarda uygulanan antioksidanların, zaman bağımlı olarak, diyabetin meydana getirdiği histopatolojik hasara karşı iyileştirici etkisi açıkça gözlenmektedir.

Bir mm² interstisyel alandaki INSL3 immunpozitif hücre sayısı değerlendirildiğinde; 1. gruba kıyasla, 2 grupta anlamlı bir azalma (P=0.028) gözlenirken; diğer gruplarda anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bununla birlikte 2. grup ile 3., 4. ve 5. gruplar kıyaslandığında, bu gruplarda anlamlı bir artışın olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla P=0.045, P=0.016, P=0.028; Tablo 1).

TARTIŞMA: Diyabetik testis dokusunda, fukoidan ve proantosiyanidin uygulanmasının INSL3 ifadesini arttırdığı, fakat bu antioksidanların farklı doz, zaman aralıkları ve metodlarla araştırılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No: 3001-114S153).

Anahtar Kelimeler: Diyabet, testis, fukoidan, proantosiyanidin, INSL3

Expression of INSL3 in Diabetic Testicular Tissue

Gulnur Kizilay¹, Sinasi Bayram¹, Onur Ersoy¹, Melike Sapmaz Metin², Aysegul Cerkez kayabekir³, Turan Karaca¹

¹Trakya University, School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Edirne, Turkey

²Trakya University, Health Services Vocational Collage, Edirne, Turkey

³Trakya University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology, Edirne, Turkey

OBJECTIVES: Fucoïdan and proanthocyanidin have the potential to ameliorate diabetes-induced testicular histopathology. In this study, we aimed to clarify the importance of INSL3 expression of diabetic testis tissue in implementation of fucoïdan and proanthocyanidin.

Materials and Methods: Thirty-six Wistar albino male rats were divided into six groups; 1.group: Control group, 2.group: 40mg/kg streptozotocin (STZ, intraperitoneal (i.p.), 5 consecutive days, pH=4,2; 0,1M dissolved in citrate buffer), 3.group: 40mg/kg STZ i.p.+50 mg/kg fucoïdan i.p. (%0.9 dissolved in isotonic saline; after the last STZ injection, one time every other day during six weeks), 4.group: 40 mg/kg STZ i.p.+50 mg/kg fucoïdan i.p. (after fifteen days induction diabetes), 5.grup: 40 mg/kg STZ i.p.+250 mg/kg proanthocyanidin intragastric (i.g.) (%0.9 dissolved in isotonic saline; after the last STZ injection, once daily during six weeks), 6.group: 40 mg/kg STZ i.p.+250 mg/kg proantosiyandin i.g. (after fifteen days induction of diabetes).

The blood glucose levels of all animals were determined from the tail vein using a glucometer. At the end of the experimental period, the blood samples were collected under anesthesia by cardiac puncture for assaying the serum testosterone levels. After sacrificing, testes tissue samples removed and fixed in formalin, then this samples dehydrated and embedding in paraffin. Sections were cut into 5 µm thickness and stained with hematoxylin&eosin (H-E), INSL3 was applied immunohistochemically.

RESULTS: In the all STZ applied groups, blood glucose levels were over 250mg/dl (Table 1). Serum testosterone levels significantly decreased in 2., 3., 4., 5. and 6. groups compared to 1. group (Table1). However, serum testosterone levels significantly increased in 3. and 5. groups compared to 2. group (Table1). In the second groups slides, immature cells in the lumen and disorganization in the epithelium were observed in seminiferous tubules. On the other hand, curative effects of both antioxidant administrations against to diabetes-induced histopathological damage were clearly observed in the 3., 4., 5. and 6 groups.

While INSL3 immunopositive cell count significantly decreased in the 2. group compared to 1. group, it significantly increased in 3., 4. and 5. groups compared to the 2. group (Table1).

CONCLUSION: Administration of fucoïdan and proanthocyanidin increased expression of INSL3 in diabetic testis tissue. However, we suggest that further studies are needed to test these antioxidants at different doses and time intervals by using varied methods.

Acknowledgment

This project was supported by TUBITAK. Project number: 3001-114S153

Keywords: Diabetes, testes, fucoïdan, proanthocyanidin, INSL3

Tablo 1. Kan-glukoz, serum testosteron ve INSL-3 (+) hücre sayı değerleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
Başlangıç kan glukoz düzeyleri (mg/dl)	100.80 ± 4.43	101.4 ± 6.06	98.50 ± 3.14	99.40 ± 7.95	108.0 ± 5.17	94.83 ± 2.92
Deney Sonu kan glukoz düzeyleri (mg/dl)	108.75 ± 8.34	563.4 ± 37.78 a	541.0 ± 81.98 a	558.40 ± 78.3 1a	509.83 ± 75.7 1a	556.66 ± 67.1 3a
Testosteron (ng/dl)	70.50 ± 20.40	20.45 ± 3.82a	42.09 ± 11.91 a,b	34.01 ± 19.54 a	33.59 ± 10.78 a,b	24.95 ± 10.12 a
P		0.009a	0.045a 0.006b	0.009a 0.465b 0.584c	0.006a 0.006b	0.006a 0.465b 0.337d

INSL3 (1 mm ² interstisyel alanda)	252.45±63.95	164.75±32.32a	211.52±41.02b	248.70±27.91b	215.42±25.33b	208.65±47.55
P		0.028a	0.201a 0.045b	0.754a 0.016b 0.144c	0.361a 0.028b	0.201a 0.144b 0.873d

a: 1. grup ile karşılaştırıldığında, b: 2. grup ile karşılaştırıldığında, c: 3. grup ile karşılaştırıldığında, d: 5. grup ile karşılaştırıldığında, P<0.05 anlamlı kabul edilmiş ve anlamlı bulunan değerler koyu olarak belirtilmiştir.

Table 1. Blood glucose, serum testosterone and INSL3 (+) cell number values

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5	Group 6
Beginning blood glucose (mg/dl)	100.80 ± 4.43	101.4 ± 6.06	98.50 ± 3.14	99.40 ± 7.95	108.0 ± 5.17	94.83 ± 2.92
The end of experiment blood glucose (mg/dl)	108.75 ± 8.34	563.4±37.78a	541.0±81.98a	558.40±78.31a	509.83±75.71a	556.66±67.13a
Testosterone (ng/dl)	70.50±20.40	20.45±3.82a	42.09±11.91a,b	34.01±19.54a	33.59±10.78a,b	24.95±10.12a
P		0.009a	0.045a 0.006b	0.009a 0.465b 0.584c	0.006a 0.006b	0.006a 0.465b 0.337d
INSL3 (1 mm ² interstitial areas)	252.45±63.95	164.75±32.32a	211.52±41.02b	248.70±27.91b	215.42±25.33b	208.65±47.55
P		0.028a	0.201a 0.045b	0.754a 0.016b 0.144c	0.361a 0.028b	0.201a 0.144b 0.873d

a: Compared with first group, b: Compared with second group, c: Compared with third group, d: Compared with fifth group, P<0.05 it was considered significant.

Kaynakça / References: 1- Baburski AZ, Sokanovic SJ, Bjelic MM, Radovic SM, Andric SA, Kostic TS. Circadian rhythm of the Leydig cells endocrine function is attenuated during aging. *Exp Gerontol.* 73: 5-13, 2016. 2- Kim KJ, Yoon KY, Lee BY. Fucoidan regulate blood glucose homeostasis in C57BL/KSJ m+/+db and C57BL/KSJ db/db mice. *Fitoterapia* 83(6):1105-9, 2012. 3- Bao L, Zhang Z, Dai X, Ding Y, Jiang Y, Li Y, Li Y. Effects of grape seed proanthocyanidin extract on renal injury in type 2 diabetic rats. *Mol Med Rep.* 11(1):645-52, 2015.

P068

Sıçanlarda Epididimis Fiksasyonunda Kullanılan Farklı Fiksatiflerin Doku Morfolojisi ve Histokimyasal Boyanması Üzerine Etkileri

Fatma Bahar Sunay, [Nursel Hasanoğlu](#), İlknur Bayraktar
Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

İnfertilite, görülme sıklığı her geçen gün artan, önemli bir sağlık problemidir. Vakalarının yaklaşık %40'ında infertilite erkek kaynaklı bir sebebe bağlı olarak gelişmektedir. Günümüzde yaşadığımız çevreyi kirleten pek çok fiziksel ve kimyasal etkenin erkek üreme sistemi üzerinde toksik etkiler oluşturduğu bilinmektedir. Yine, çeşitli etkenlerin olası toksik etkilerini inceleyen çok sayıda çalışma yapılmaktadır ve bu çalışmalarda özellikle testis dokusunda oluşan histopatolojik değişiklikler incelenmektedir. Toksikolojik Patoloji Derneği'nin, Çevresel Koruma Ajansı (EPA) ve Ekonomik İşbirliği ve Gelişme Teşkilatı (OECD)'nin kimyasalların üreme sistemi üzerindeki toksik etkilerinin incelenmesine yönelik kılavuzlarını temel alarak yayınladığı önerilere bakıldığında, bu tür çalışmalarda sadece testislerin incelenmesinin yetersiz olduğunun vurgulandığı ve epididimiste oluşan histopatolojik değişikliklerin de değerlendirilmesi gerektiğine dikkat çekildiği görülmektedir. Testis fikse edilmesi zor bir dokudur. Toksikolojik Patoloji Derneği yukarıda sözü edilen önerilerinde testisin Bouin fiksatifi (BF) veya modifiye Davidson fiksatifi (mDF) ile tespit edilmesini tavsiye etmektedir. Yine literatürde testisin çeşitli fiksatifler ile fiksasyonunun organ yapısı ve boyanması üzerine etkilerini araştıran çalışmalar da bulunmaktadır. Fakat bu fiksatiflerin, anatomik yakınlığı nedeniyle sıklıkla testis ile bir arada fikse edilen, epididimisin yapısını ve boyanma özelliklerini nasıl etkilediğine dair bilgi sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı testis fiksasyonunda önerilen ve sık kullanılan bazı fiksatifler ile fikse edilen epididimisin yapısı ve boyanma özelliklerini incelemek ve karşılaştırmaktır.

Çalışmada 20 adet, yetişkin, erkek, Sprague Dawley sıçan kullanıldı. Eter anestezisi altındaki deneklere servikal dislokasyon uygulandıktan sonra skrotal insizyondan sağ ve sol epididimisleri çıkartıldı. Elde edilen 40 epididimis dört eşit gruba ayrıldı (n=10) ve %10'luk Nötral Tamponlu Formaldehit (NTF), BF, mDF veya Stieve fiksatifi (SF) ile fikse edildi. Rutin takip işlemlerinden sonra parafine gömülen dokulardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler hematoksilin-eozin ve Masson'un trikromu boya ile boyandı. Kesitler Olympus BX53 marka mikroskop ile incelendi ve DP73 kamera ile fotoğraflandı.

Kullanılan tüm fiksatiflerin epididimisi yapısını koruyarak fikse ettiği gözlemlendi. Herhangi bir fiksatif, diğerlerine oranla organın veya bölümlerinin daha fazla çekmesine neden olmadı. Ancak, NTF ile fikse edilen dokularda hücre çekirdeği detaylarının, diğer üç fiksatife oranla, daha az korunduğu görüldü.

Testis fiksasyonu için önerilen ajanlar oldukları da dikkate alındığında, BF ve mDF'in epididimis fiksasyonunda kullanılabileceği, ancak çalışmanın verilerinin immünohistokimyasal boyamalar ve organın üç boyutlu yapısının incelenmesinde stereolojik yöntemlerin kullanıldığı çalışma düzenleri ile zenginleştirilmesinin uygun olacağı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Bouin fiksatifi, modifiye Davidson fiksatifi, Stieve fiksatifi, erkek üreme sistemi, toksikoloji

The effect of different fixatives on tissue morphology and histochemical staining of rat epididymis

Fatma Bahar Sunay, [Nursel Hasanoğlu](#), İlknur Bayraktar
Department Of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Balıkesir University, Balıkesir, Turkey.

Infertility is an important health problem with an increasing incidence. Approximately 40% of cases results from a pathology in male partner. It is well known that lots of physical and chemical factors that pollute the environment we live produce toxic effects in male reproductive system. Additionally a lot of research is going on to search the possible toxic effects of these new chemicals, and the histopathological changes they caused in testis are evaluated. When the recommendations proposed by the Society of Toxicologic Pathology, based on the guidelines issued by the Environmental Protection Agency (EPA) and Organization for Economic Co-operation and Development (OECD), about the evaluation of the toxic effects of the chemicals on male

reproduction system accounted, it is clear that evaluation of the histopathological changes caused in epididymis should be considered in addition to testis.

Testis is a hard to fix organ. Society of Toxicologic Pathology, in the aforementioned recommendations, suggests the usage of Bouin's fixative (BF) or modified Davidson fixative (mDF) for testis fixation. There are also some studies comparing the effects of different fixatives on testis morphology and staining. But, the information about how these fixatives effect epididymis, which is frequently fixed with testis because of their anatomical contiguity, is limited. This study aims to investigate and compare the effects of fixatives that are recommended or frequently used for testis fixation on epididymis morphology and staining characteristics.

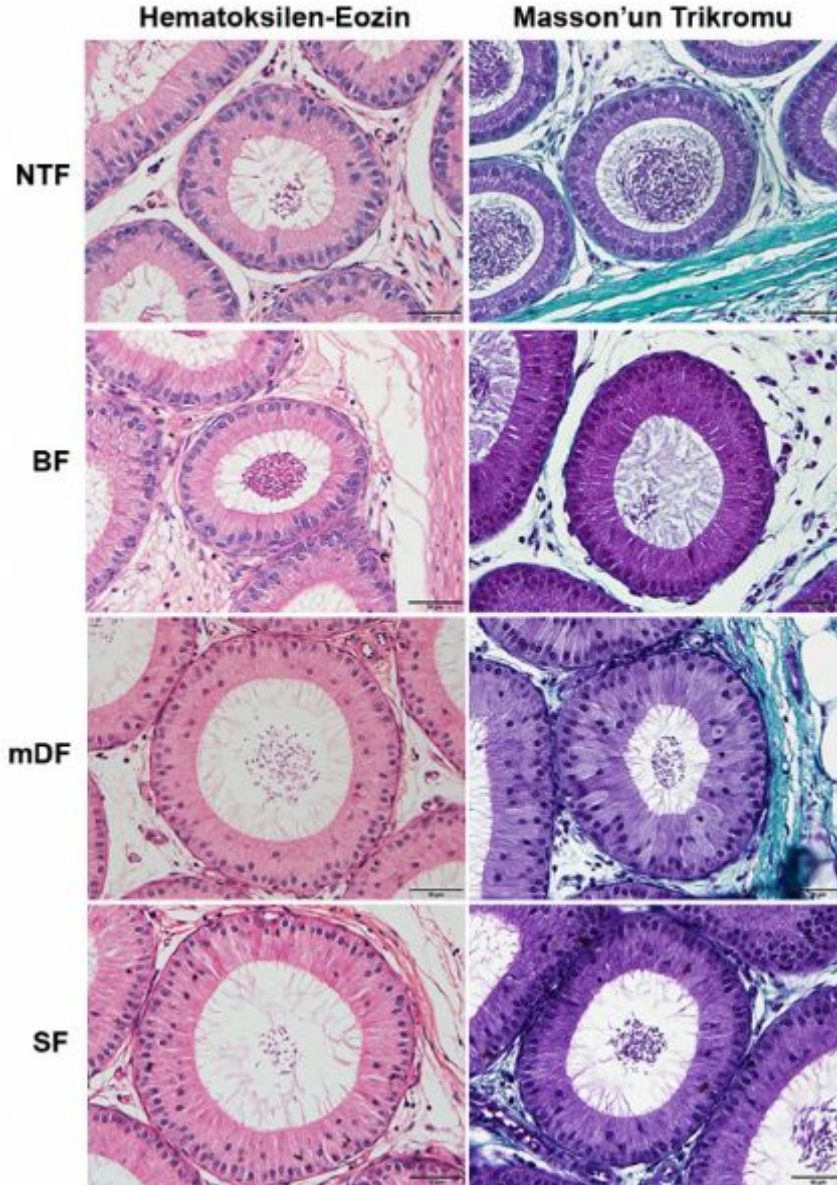
Twenty adult, male, Sprague Dawley rats were used in this study. Cervical dislocation was applied to ether anesthetized subjects, and both right and left epididymis were taken out from a scrotal incision. Forty epididymides obtained were divided into four equal groups (n=10) and fixed with 10% neutral buffered formaldehyde (NBF), BF, mD or Stieve's fixative (SF). After routine tissue processing, 5 µm thick sections were taken from paraffin blocks and stained with haematoxylin and eosin and Masson's trichrome. Sections were analysed with Olympus BX53 microscope and photographed with DP73 camera.

All four fixatives fixed the epididymis without disrupting its morphology. The shrinkage caused by any of them was not more than the others. But, the NBF was the worst in keeping the nuclear details of the cells.

In consideration of they are the preferred fixatives for testis, BF and mDF can be confidently used for epididymis fixation, but data from this study should be enriched by immunohistochemical staining and stereological methods to investigate the three dimensional structure of the organ.

Keywords: Bouin's fixative, modified Davidson fixative, Stieve's fixative, male reproductive system, toxicology

**Farklı fiksatifler ile fikse edilen sıçan epididimisi.
Rat epididymis fixed with different fixatives.**



NTF, BF, mDF or SF ile fikse edilmiş sıçan epididimisinden elde edilen parafin kesitlerin hematoksilin eozin ve Masson'un trikromu ile boyanmaları. Bar uzunluğu 50 µm.

Haematoxylin-eosin and Masson's trichrome stained paraffin sections of NBF, BF, mDF and SF fixed rat epididymis. Scale bar indicates 50 µm.

Kaynakça / References: KAYNAKÇA: 1) DM CREASY: Evaluation of testicular toxicology: A synopsis and discussion of the recommendations proposed by the Society of Toxicologic Pathology. Birth Defects Research (Part B) 68; 408–415, 2003. 2) LL LANNING, DM CREASY, RE CHAPIN, PC MANN, NJ BARLOW, KS REGAN, DG GOODMAN: Recommended approaches for the evaluation of testicular and epididymal toxicity. Toxicologic Pathology 30; 507–520, 2002. 3) JR LATENDRESSE, AR WARBRITTON, H JONASSEN, DM CREASY: Fixation of testes and eyes using a Modified Davidson's Fluid: Comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. Toxicologic Pathology 30; 524-533, 2002. 4) DM BENSON, R BUSCH: Fixation of testicular tissue for immunohistochemical and ultrastructural examination. Andrologia 28, 27-33, 1996. 5) L TU, L YU, H ZHANG: Morphology of rat testis preserved in three different fixatives. J Huazhong Univ Sci Technol 31; 178-180, 2011. 6) ME ALTUNKAYNAK, N AKGÜL, A YAHYAZADEH, BZ ALTUNKAYNAK, AP TURKMEN, HM AKGUL, S AKSAK, B UNAL: A stereological and histopathological study of the effects of exposure of male rat testes to mercury vapor. Biochemistry and Histochemistry, 2015. 7) PM PETERSEN, K SEIEROE, B PAKKENBERG: The total number of Leydig and Sertoli cells in the testes of men across various age groups- a stereological study. Journal of Anatomy; 1-5, 2014.

P069

Varikozel Oluşturulmuş Sıçan Testisinde Apelin ve APJ Reseptörü Ekspresyonlarının İncelenmesi

Zeliha Şahin, Leyla Kılınc, İmren Edizer, Nuray Acar, İsmail Üstünel
Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AbD, ANTALYA

Varikozel, skrotumun anormal damarlanmasıdır ve pampiniform pleksusun dilatasyonu ile ilişkilidir. Varikozel nedeniyle spermatogenezin bozulduğu literatürde gösterilmiştir [1,2]. Apelin ve Apelin reseptörü (APJ)'nin homeostazi düzenlediği, özellikle damar hücrelerinde ekspresyonunun olduğu ve akut veya kronik stres durumunda ise ekspresyonunun arttığı bilinmektedir. Testisteki venöz sistemin bozulması ile alakalı olan varikozel ile birlikte Apelin ve APJ'nin nasıl etkilendiği henüz bilinmemektedir. Biz bu çalışmada, Apelin ve APJ ekspresyonunun varikozel ile ilişkisini immunohistokimyasal yöntemle araştırmayı hedefledik.

Çalışmamızda, toplam 18 adet *Rattus norvegicus* (Wistar) türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar, a: Sham grubu (Kontrol, n:6), b: 11. haftalık varikozel grubu (11V, n:6), c: 13. haftalık varikozel grubu (13V, n:6) olarak üç eşit gruba ayrıldı. Her bir gruptan alınan testis dokusunda Hematoksilin-Eozin (HE) boyaması ile morfolojik yapı gösterildi. Apelin ve APJ antikoru kullanılarak bu proteinlerin immunolokalizasyonu belirlendi. Sonuçlar ışık mikroskopu ile fotoğraflandı ve IMAGE-J ile sayısal değere dönüştürüldü. Verilerin istatistiksel analizi Student's t-test ile yapıldı.

HE boyaması ile kontrol grubunun seminifer tubul epitelinin sağlıklı bir görüme sahip olduğu ancak varikozelli tubullerde dejenerasyonun olduğu bulundu. Seminifer tubul dejenerasyonunun varikozel süresi artışı ile de paralellik gösterdi. Tüm gruplarda Apelin belirgin olarak spermatozoidlerde gözlenirken APJ Sertoli hücrelerinde gözlemlendi. Varikozel ile birlikte Apelin ve APJ ekspresyonunda azalma görüldü.

Apelin ve APJ'nin testiste homeostazın bozulması ile birlikte ekspresyonunun azalması bu proteinlerin normal testis dokusunda homeostazi regüle edebileceğini ve varikozel ile birlikte azalan Apelin, APJ ekspresyonunun testisteki immun sistemin dengesini değiştirebileceğini düşündürmektedir. Varikozel durumunda dışarıdan verilecek olan Apelin ve APJ'nin testisteki dejeneratif etkiyi azaltıp azaltmayacağı ise gelecek çalışmalarla belirlenecektir.

Anahtar Kelimeler: apelin, APJ reseptör, varikozel

The Investigation of Apelin and APJ Receptor Expression on Varicocele Induced Rat Testis

Zeliha Şahin, Leyla Kılınc, İmren Edizer, Nuray Acar, İsmail Üstünel
Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, ANTALYA

Varicocele is defined as vascular abnormality of the scrotum and this is associated with dilatation of the pampiniform plexus. It has been shown in the literature that spermatogenesis is disrupted due to varicocele. [1,2]. Apelin and its receptor (APJ) is known to regulate homeostasis, they are expressed on vascular cells and in case of acute or chronic stress their expression increases. How apelin and APJ expression on testis is affected by varicocele. Therefore, in this study, we aimed to determine the effect of varicocele on immunohistochemical distribution of Apelin and APJ expressions on rat testis.

In our study, we used a total of 18 *Rattus norvegicus* (Wistar). The rats were divided into three groups: a: sham group (control, n=6), b: 11 weeks old varicocele group (11V, n:6), c: 13 weeks old varicocele group (13V, n:6). We applied hematoxylin-eosin staining on testis from each group to view morphologic structure. Apelin and APJ antibodies were used to detect the immunolocalizations of these proteins. The slides were photographed with light microscopy and were converted into numerical values by "IMAGE-J" analysis method. The obtained data were evaluated statistically by "Student's t-test".

According to our HE staining, control (Sham) groups had a healthy appearance of the seminiferous tubule epithelium but the tubules with varicocele had a degeneration. Seminiferous tubule degeneration showed parallelism with increased duration of varicocele. While immunolocalization of Apelin was observed in spermatozoa distinctly, APJ was observed in Sertoli cells. In varicocele groups Apelin and APJ expressions showed a significant decrease.

Decrease of Apelin and APJ expressions on varicocele induced rat testis with disruption of

homeostasis disruption may show that it can change immune system balance. In case of varicocele whether external apelin and APJ treatment would decrease the degenerative effect will be defined by future studies.

Keywords: apelin, APJ receptor, varicocele

Kaynakça / References: 1. Jarow. ve ark. Hum Reprod Update, 7(1):59-64, 2001. 2. Ustunel ve ark. Fertil Steril, 85(1): 1265-1275, 2006 3. Ustunel ve ark. Acta Histochem 116(5):675-681, 2014 4. Gautier ve ark. 2012. Nature Immunology 13: 1118-1128

P070

İleri doğru sperm hareketliliği ile seminal plazma NT-proCNP konsantrasyonu arasındaki ilişkinin analizi

Gülsüm Yarloğlu¹, Ömer Faruk Karataş², Ali Fuat Atmaca², Sevil Çaylı¹, Berrak Gümüşkaya Öcal³, Ahmet Çevik Tufan¹

¹Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

²Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Ankara.

³Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Erkek fertilitesi sperm konsantrasyonu ve ileri doğru sperm hareketliliği ile doğrudan ilişkilidir. C-tipi natriüretik peptid'in (CNP) insan seminal plazmasında ölçülebilir konsantrasyonda olduğu gösterilmiştir ve sperm hareketliliği ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir. CNP'nin doğal reseptörü olan natriüretik peptid reseptör-B'nin spermilerin baş ve boyun bölgelerinde ifade edildiğine ait bulgular bu hipotezi güçlendirmektedir. Bu çalışmada, insan seminal plazmasındaki CNP konsantrasyonu ile ileri doğru sperm hareketliliği arasındaki olası ilişki analiz edilmiştir.

Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Anabilim Dalı, Androloji Polikliniği'ne başvuran ve gönüllü olurları alınan 20 olgu çalışmaya dâhil edilmiştir. Bu olgulardan WHO kriterlerine göre ileri doğru sperm hareketliliği normal sınırlarda olanlar ile düşük olanların seminal plazma NT-proCNP konsantrasyonu (amino terminal pro-peptid olup vücut sıvılarında CNP'nin ölçülebilir formu olarak bilinmektedir) ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. İki grup arasındaki sonuçların karşılaştırmalı analizinde Mann-Whitney U testi kullanılmış ve p<0,05 düzeyi anlamlı olarak kabul edilmiştir.

WHO-2010 kriterlerine göre ileri doğru hareketli sperm yüzdesi \geq %32 (ileri doğrusal hareketli spermiler ile ileri doğrusal olmayan hareketli spermeler yüzdesi toplamı) değeri normal olarak değerlendirildiğinde 20 olgudan 9 tanesi ileri hareketliliği normal, 11 tanesi ise ileri hareketliliği düşük grupta yer almıştır. Bu değerlendirmeye göre iki grup arasındaki seminal plazma NT-proCNP konsantrasyonu (ortalama \pm standart hata) karşılaştırıldığında ileri hareketliliği normal grubun seminal plazma NT-proCNP konsantrasyonunun ($38,97 \pm 6,68$ pmol/l) ileri hareketliliği düşük grubunkinden ($18,19 \pm 3,58$ pmol/l) anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,0061$). Aynı değerlendirme WHO-1999 kriterlerine göre tekrarlandığında (sadece ileri doğrusal hareketli sperm yüzdesi \geq %25 değeri normal olarak değerlendirildiğinde), 20 olgudan 12 tanesinin ileri hareketliliği normal, 8 tanesinin ise ileri hareketliliği düşük grupta yer aldığı görülmüştür. Bu değerlendirmeye göre iki grup arasındaki seminal plazma NT-proCNP konsantrasyonu karşılaştırıldığında da ileri hareketliliği normal grubun seminal plazma NT-proCNP konsantrasyonunun ($34,05 \pm 5,60$ pmol/l) ileri hareketliliği düşük grubunkinden ($17,78 \pm 4,93$ pmol/l) anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,029$).

Elde edilen sonuçlar CNP'nin seminal plazmada ileri doğru sperm hareketliliğine yönelik bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bu ön bulgular ileri doğru sperm hareketliliği sorunu yaşayan olgularda intrauterin inseminasyon ve/veya in vitro fertilizasyon işlemi öncesi sperm örneklerine in vitro CNP uygulanması ve sperm hareketliliğinde artış elde edilmesine yönelik yeni araştırmaların planlanmasına da temel oluşturabilecek niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: C-tipi natriüretik peptid, seminal plazma, sperm, hareketlilik (motilite).

Analysis of the relationship between seminal plasma NT-proCNP level and progressive sperm motility

Gülsüm Yarloğlu¹, Ömer Faruk Karataş², Ali Fuat Atmaca², Sevil Çaylı¹, Berrak Gümüşkaya Öcal³, Ahmet Çevik Tufan¹

¹Yıldırım Beyazıt University, School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara

²Yıldırım Beyazıt University, School of Medicine, Department of Urology, Ankara

³Yıldırım Beyazıt University, School of Medicine, Department of Pathology, Ankara

Male fertility is directly related to sperm concentration and progressive sperm motility. C-type natriuretic peptide (CNP) has been detected in seminal plasma at high concentrations and suggested to be involved in sperm motility. The observation of natriuretic peptide receptor-B (the receptor of CNP) expression in sperm head and neck region strengthens this hypothesis. In this

study, the potential relationship between human seminal plasma NT-proCNP level and progressive sperm motility was analyzed.

Consent was taken from 20 males applied to the Yıldırım Beyazıt University, Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hospital, Andrology polyclinic. Participants were divided into two groups according to the WHO criteria who have either normal progressive sperm motility or low progressive sperm motility. Seminal plasma NT-proCNP concentration (amino terminal pro-peptide form, which reflects the CNP concentration in body fluids) was measured by ELISA technique in these two groups and compared to each other. Results were analyzed by Mann-Whitney U test and $p < 0,05$ was taken as statistically significant.

When taken WHO-2010 criteria as normal (percentage of progressive sperm motility $\geq 32\%$), which includes both linear and non-linear progressive sperm motility percentage, 9 of our participants were included in normal progressive sperm motility group and 11 of them were included in low progressive sperm motility group. Seminal plasma NT-proCNP concentration (mean \pm SEM) in this normal progressive sperm motility group ($38,97 \pm 6,68$ pmol/l) was significantly higher than that in low progressive sperm motility group ($18,19 \pm 3,58$ pmol/l; $p=0,0061$). When same analysis was repeated with WHO-1999 criteria (percentage of progressive sperm motility $\geq 25\%$), which includes only linear progressive sperm motility percentage, 12 of our participants were included in normal progressive sperm motility group and 8 of them were included in low progressive sperm motility group. Seminal plasma NT-proCNP concentration in this normal progressive sperm motility group ($34,05 \pm 5,60$ pmol/l) was again significantly higher than that in low progressive sperm motility group ($17,78 \pm 4,93$ pmol/l; $p=0,029$).

These results indicate that seminal plasma CNP level may be an effective biomarker of progressive sperm motility. These preliminary results may play an important role in future studies investigating the role of in vitro CNP treatment of low motile sperm samples, which may be used in intrauterine insemination and/or in vitro fertilization procedures.

Keywords: C-type natriuretic peptide, seminal plasma, sperm, motility.

P071

3G Cep Telefonlarından Yayılan Kısa Ve Uzun Süreli Elektromanyetik Radyasyonun Testis Seminifer Tübül Hücrelerinde Endoplazmik Retikulum Stres Proteinlerine Olan Etkisi

Esmâ Konuk¹, Aslı Okan¹, Enis Hidişoğlu², Piraye Yargıçoğlu², Necdet Demir¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Antalya

Günümüzde, hızlı haberleşme talebinin artması ile birlikte 3G cep telefonları elektromanyetik radyasyon (EMR) yayan pek çok elektronik cihaz kullanımının insan sağlığına olan olası olumsuz etkileri araştırılmaktadır. EMR'nin hücrede serbest radikal düzeyini artırdığı, oksidatif dengeyi bozarak lipid, DNA, protein ve karbonhidrat mekanizmalarını etkileyerek hücrede yapısal ve fonksiyonel hasara neden olduğu ileri sürülmektedir. EMR'nin hücrede yarattığı bu olumsuz etkiler endoplazmik retikulumda (ER) hücre dışına gönderilecek ya da membran yapısına katılacak olan proteinlerin ER'nin lümeninde yanlış katlanmış ya da katlanmamış formlarda birikmesine yol açabilir. ER stresi (ERS) olarak adlandırılan bu duruma karşılık hücresel dengeyi tekrar sağlamak için katlanmamış protein cevabı (unfolded protein response, UPR) aktive olur. UPR ile öncelikle ER'de biriken protein yükünü hafifletmek ve hücrenin hayatta kalımını sağlamak için PERK fosforillenerek aktif hale gelir ve genel protein translasyonu azaltılır. p-PERK aynı zamanda uzun süren stres koşullarında ERS indüklü apoptozda yer alan genlerin transkripsiyonunu da aktive edebilir. Bununla birlikte, ER membranında yer alan KASPAZ 12'nin ERS ile indüklenen apoptozu aracı olduğu ileri sürülmektedir. Bu çalışmada Akut ve kronik EMR'ye maruz kalan sıçan testislerinde ERS ile ilişkili artan PERK ve KASPAZ 12 ekspresyonları sıçan testis seminifer tübül hücrelerinde apoptoz yolağını indükleyebilir.

Çalışmamızda, her grupta 10 adet olacak şekilde 2 aylık Wistar ırkı erkek sıçan kullanılarak 4 grup oluşturuldu: Grup 1 kontrol kısa süreli (1 hafta) ve Grup 2 kontrol uzun süreli (10 hafta) EMR uygulanmaksızın pleksiglas tüplerde, belirtilen süreler boyunca günde iki saat bekletildi. Grup 3 kısa süreli (1 hafta) ve Grup 4 uzun süreli (10 hafta) deneklere 2100 MHz EMR günde iki saat boyunca uygulandı. Süre sonunda testis dokuları çıkarıldı. Rutin histolojik takiplerden sonra elde edilen parafin kesitlerde p-PERK ve KASPAZ 12 proteinlerinin lokalizasyonları ve ekspresyonları immünohistokimyasal yöntem ile değerlendirildi. Ayrıca alınan total testis örneklerinden elde edilen lizatlarda Western Blot analizi yapılarak, bu proteinlerin semikantitatif değerlendirilmesi Image J programı kullanılarak yapıldı.

Deney gruplarına ait hayvanların seminifer tübül hücrelerinin tümünde p-PERK ve KASPAZ 12 proteinleri sitoplazmik olarak boyanmıştır. Gruplar arasında immün boyanma şiddeti ve bu proteinlerin ekspresyon seviyeleri arasında fark bulunmamıştır. Elde ettiğimiz bulgulara göre, kısa süreli ve uzun süreli EMR maruziyeti testiküler dokuda UPR'yi başlatabilir. Hem KASPAZ 12 hem de p-PERK bakımından gruplar arasında fark olmadığını görmemiz ERS'nin düzeltildiği ve/veya hücredeki dengenin bozulması için yeterli olmadığını düşündürmektedir.

Bu proje 'Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' tarafından desteklenmiştir (Proje no: TSA-2015-790).

Anahtar Kelimeler: Elektromanyetik radyasyon, endoplazmik retikulum, stres, testis, sıçan

Acute And Chronic Effects Of Electromagnetic Radiation Emitted By 3G Mobile Phones On Proteins Of Endoplasmic Reticulum Stress In Testes Seminiferous Tubules Cells

Esmâ Konuk¹, Aslı Okan¹, Enis Hidişoğlu², Piraye Yargıçoğlu², Necdet Demir¹

¹Department of Histology And Embryology, Akdeniz University, Antalya, Turkey

²Department of Biophysics, Akdeniz University, Antalya, Turkey

Nowadays, investigations of the potential effects of electromagnetic radiation (EMR), emitted from 3G cell phones, on health suggest that EMR can increase the levels of free radicals and disrupt oxidative stability and cause structural and functional damage by affecting the mechanisms of protein, lipid, DNA and carbohydrate. In cells, these negative effects created by EMR can cause accumulation of proteins in endoplasmic reticulum (ER) lumen in misfolded or unfolded forms. Corresponding to that situation called as endoplasmic reticulum stress (ERS) to regain cellular balance the unfolded protein response (UPR) is activated. Thanks to UPR, Perk is activated by

phosphorilation and general protein translation is decreased in order to ease accumulated protein load in ER and to promote survival of the cell. At the same time, under long stress conditions p-PERK can activate transcription of the genes that included ER stress induced apoptosis. Moreover, Caspase 12 localised on ER membrane is suggested to mediate ERS induced apoptosis. In this study, it's thought that in rat testes exposed to acut or chronic EMR, p-PERK and Caspase 12 expressions may increase and hence, this may induce apoptotic pathway.

In this study, two-month-old Wistar male rat (n=10 for each group) were used and designed as four groups: Group 1; control acute and Group 2; control chronic groups were put into plexiglass tubes in given times for two hours per day. Group 3 acute and Group 4 chronic were exposed to 2100 MHz EMR for two hours per day. 1 week exposure for acute groups and 10 weeks of exposure for chronic groups were done. At the end of this time, testicular tissues were dissected. After rutin histologic processing, in parafin sections p-PERK and Caspase 12 localisation and expressions were examined with immunohistochemistry. Additionally, western blotting were done in lysates of total testes samples and measurements were done with Image J software.

p-Perk and Caspase 12 were stained in cytoplasmic pattern in seminifer tubules of all experimental groups. No differences in staining intensities and protein expressions were detected among to experimental groups. According to our results, acute and chronic EMR exposure may start UPR in testicular tissue. The indifference between groups in manner of p-PERK and Caspase 12 expressions may conclude that ERS is recovered and/or may not sufficient to imbalance the cells. This project was supported by Akdeniz University Scientific Research Projects Coordination Unit (Grant no: TSA-2015-790).

Keywords: Electromagnetic radiation, endoplasmic reticulum, stress, rat

P072

Rat testislerinin doğum sonrası dönemden erişkin döneme dek histolojik, morfolojik ve moleküler düzeyde değerlendirilmesi

Murat Tosun¹, Korhan Altunbaş², Artay Yağcı², Mustafa Kabu³, Özlem Özden Akkaya²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

³Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

GİRİŞ-AMAÇ: Genital sistemin gelişimi uzun yıllardır bilim alanında ilgi çeken konulardan biridir. Erkek genital sisteminin üreme kısmında bulunan testislerin gelişiminin değerlendirilmesinde tübül içinde bulunan hücreler yanında yapısal komponentlerinde ayrıntılı olarak incelenmesi gerekir. Çalışmamızın amacı testislerin postnatal dönemden erişkin döneme kadar gelişimini ayrıntılı olarak incelemektir.

MATERYAL-METOD: Çalışmamızda her birinde 6'şar adet yaşları 14, 30, 60 ve 90 gün arasında değişen toplam 24 rat testis örnekleri kullanıldı. Bu örneklerden alınan yeni kesitler rutin ve immünohistokimyasal olarak boyandı ve tübüllerin morfolojik özellikleri, spermatogenez, Kan Testis bariyeri ve tubulobulber kompleks varlığı ve gelişimi, Sertoli ve Leydig hücre varlığı ayrı ayrı değerlendirildi. Elde edilen morfolojik ölçüm sonuçları istatistiksel olarak değerlendirilirken diğer komponentler histolojik olarak yorumlandı.

BULGULAR: 14 ve 30 günlük ratların seminifer tübüllerinin çapında ve alanında görülen artış hızının 60 günlük ratlarda giderek arttığı gözlemlendi. Diğer yandan spermatogenezin yaşa bağlı artış göstermesine karşın 60 günlük rat testislerinde fertil düzeye gelinebildiği tespit edilmiştir. Kan Testis bariyerinin ve Tubulobulber kompleksin ise erken dönemlerde oluşmadığı 60 günlük ratlarda histolojik olarak belirginleştiği ve 90 günde tam organizasyonun olduğu görüldü. İmmatur Sertoli hücrelerinin 14 ve 30 günlük rat testislerinde çokça olmasına karşın 60 gün ve sonrasında kalmadığı görüldü. Leydig hücrelerinin sayısının ise 30 günlük ratlarda belirgin derecede artıp yoğun gruplaşmalar yaptıkları gözlemlendi. Cyclin D1 ekspresyonunun ise 14 ve 30 günlük ratlarda olduğu ve diğer gruplarda olmadığı görüldü.

TARTIŞMA: Elde edilen sonuçlar rat testislerinin gelişiminde 30 gün ila 60 gün arası dönemin çok önemli olduğunu birçok yapının bu dönemde daha hızlı gelişme gösterdiği ve 90 gün ve üzerinde organizasyonun tamamlandığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Testis gelişimi, spermatogenesis, kan testis bariyeri, tubulobulbar kompleks, Leydig hücresi, Sertoli hücresi

Histological, Morphometric and molecular evaluation of rat testes development from neonatal to adult period

Murat Tosun¹, Korhan Altunbaş², Artay Yağcı², Mustafa Kabu³, Özlem Özden Akkaya²

¹Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine Department of Histology Emrbyology, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe University Faculty of Veterinary Medicine Department of Histology Emrbyology, Afyonkarahisar

³Afyon Kocatepe University Faculty of Veterinary Medicine Department of Internal Disesases, Afyonkarahisar

INTRODUCTION: Genital system development is one of the attractive topic in science for a long time. In the development of testes which is the main part of genital system, not only the cells in tubules but also different structural components must be evaluated in detail. The aim of this study is to evaluate rat' testes development from postnatal period to adult.

MATERIAL-METHODS: In our study, totally 24 rat testes samples from four groups of 14, 30, 60 and 90+ days old and each contains 6 animal were used. The new sections were stained with routine and immunohistochemical stains and morphological features of tubules, spermatogenesis, specialities and development of Blood Testis Barrier and Tubulobulber Complex and Sertoli and Leydig cells were evaluated. While the morphometric data were evaluated statistically, the others were evaluated histologically.

RESULTS: It was detected that increasing rate of the diameter and area of seminiferous tubules in

60 days old rats is more than 14 and 30 days old tubules. On the other hand, although spermatogenesis increased parallel to age, the fertile tubule characteristics mainly showed in 60 days old rats' testes. In the histological evaluation of Blood Testis barrier and Tubulobulbar complex, it was determined that these structures were not clearly appeared until 60 days old rats and also organized until 90 days old rats. Otherwise it was shown that immature Sertoli cells were invisible after 30 days old rats' testes. At the same time, it was also detected that the number of Leydig cells were increased in 30 days old and older rats and to form groups in extratubular spaces. At last it was determined that Cyclin D1 expression was decreased after 30 days old rats' testes.

DISCUSSION: All the data reveal that in the development and organization of testes, the critical developmental period is between 30 and 60 days and also organization period is 90 days and older in our study.

Keywords: Testis development, spermatogenesis, blood testis barrier, tubulobulbar complex, Leydig cells, Sertoli cells

Kaynakça / References: 1. Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE et al. Reproductive System In " Gray's Anatomy" Ed. by LH Bannister and M Dyson, Thirty-Eighth Edition, Churchill Livingstone Inc. New York. 1995; 1847-1876. 2. Kierzenbaum AL. Reproductive System. In: Histology and Cell Biology. 2nd Edition; Mosby, Philadelphia, USA. 2007; 569-596. 3. Junquiera LC and Carneiro J. The Male Reproductive System In: Basic Histology, 11th Ed.; McGraw-Hill Companies, Inc, USA. 2005; 418-434. 4. Ross MH, Romrell LJ and Kaye GI. Male Reproductive System In: Histology: A Text and Atlas, 3rd Ed: Williams&Wilkins, Maryland, USA. 1995; 636-676. 5. Gunsalus GL and Bardin CW. Sertoli-germ cell interactions as determinants of bidirectional secretion of androgen-binding protein, Annals of the New York Academy of Sciences. 1991; 637; 322-326. 6. Hardy MP, Gelber SJ, Zhou Z, Penning TM, Ricigliano JW, Ganjam VK et al. Hormonal control of Leydig cell differentiation, Ann of the NY Acad of Sciences. 1991; 637; 152-163. 7. Skinner MK, Norton JN, Mullaney BP, Rosselli M, Whaley PD and Anthony. Cell-cell interactions and the regulation of testis function, Ann of the NY Acad of Sciences. 1991; 637; 354-363. 8. Aumüller G, Schulze C and Viebahn C. Intermediate filaments in Sertoli cells, Micr Res and Tech. 1992; 20; 50-72. 9. Moss SB, Donovan MJ and Bellvé. The occurrence and distribution of Laminin proteins during mammalian spermatogenesis and early embryonic development, Cell Biology of the Testis and Epididymis. Ann of the NY Acad of Sciences. 1987; 513; 74-89. 10. Bar-Shira Maymon B, Yavetz H, Yogev L, Kleiman SE, Lifschitz-Mercer B, Schreiber L et al. Detection of calretinin expression in abnormal immature Sertoli cells in non-obstructive azoospermia. Acta Histochem. 2005; 107(2): 105-12. 11. Franke FE, Pauls K, Rey R, Marks A, Bergmann M and Steger K. Differentiation markers of Sertoli cells and germ cells in fetal and early postnatal human testis. Anat Embryol (Berl). 2004 Dec; 209(2): 169-77. 12. Mali P, Virtanen I and Parvinen M; Expression of Vimentin in rat Sertoli and spermatogenic cells, Cell Biology of the Testis and Epididymis, Ann of the NY Acad of Sciences. 1987; 513, 294-295. 13. Lui WY and Cheng CY. Transcriptional regulation of cell adhesion at the blood-testis barrier and spermatogenesis in the testis. Adv Exp Med Biol. 2012; 763: 281-94. 14. França LR, Auharek SA, Hess RA, Dufour JM and Hinton BT. Blood-tissue barriers: morphofunctional and immunological aspects of the blood-testis and blood-epididymal barriers. Adv Exp Med Biol. 2012; 763: 237-59. 15. Vogl AW, Young JS and Du M. New insights into roles of tubulobulbar complexes in sperm release and turnover of blood-testis barrier. Int Rev Cell Mol Biol. 2013; 303: 319-55. 16. Gencoglan G and Tosun M. Effects of isotretinoin on spermatogenesis of rats. Cutan Ocul Toxicol. 2011 Mar; 30(1): 55-60. 17. Blyth B and Duckett JW (1991) Gonadal differentiation: A review of the physiological process and influencing factors based on recent experimental evidence, The J of Urol; 145; 689-694. 18. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR and Francis-West PH. Development of the Urogenital System In: Larsen' Human Embryology, 4th Ed.; Churchill-Livingstone, USA; 2009; 479-536. 19. Moore KL and Persaud TVN. Ürogenital Sistem. In: İnsan Embriyolojisi (Klinik Yönleriyle) (Ed: Sait Polat), Translate from 6th Edition, Nobel Tıp Kitabevleri; 2002; 303-348. 20. Satoh N and Egami N. Sex differentiation of germ cells in the teleost, *Oryzias latipes*, during normal embryonic development, J Embryol Exp Morphol. 1972; 28(2), 385-395. 21. Godin I, Wylie C and Heasman J. Genital ridges exert long-range effects on mouse primordial germ cell numbers and direction of migration in culture. Development. 1990; 108; 357-363. 22. Byskov AG (1986) Differentiation of mammalian embryonic gonad, Physiological Reviews. 1986; 66(1); 71-116. 23. Johnsen SE. Testicular biopsy score count – a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 335 hypogonadal males. Hormones. 1970; 1: 2–25. 24. Russell LD, Bartke A and Goh JC. Postnatal development of the Sertoli cell barrier, tubular lumen, and cytoskeleton of Sertoli and myoid cells in the rat, and their relationship to tubular fluid secretion and flow. Am J Anat. 1989 Mar; 184(3): 179-89. 25. Meisami E, Najafi A and Timiras PS. Enhancement of seminiferous tubular growth and

spermatogenesis in testes of rats recovering from early hypothyroidism: a quantitative study. Cell Tissue Res. 1994 Mar; 275(3):503-11.

P073

BALB/C türü farelerde TAA indüklü-testis hasarına karşı Lipoksin A4'ün koruyucu etkileri

Mehmet Gül¹, Birgül Yiğitcan¹, Başak Kayahan², Elçin Kurtoğlu², Leyla Bahar³

¹İnönü Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Malatya

²İnönü Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Malatya

³Mersin Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Mersin

Lipoksinler in vivo ve iv vitro şartlarda hem anti-inflamatuar hem de çözücü özellikleriyle bilinen lipid mediatörlerinden köken alırlar. Lipoksin A4, gastrointestinal, böbrek, respiratuar, vasküler inflamatuvar hastalıkları içeren hayvan modellerinde ve hastalıkların in vitro modellerindeki anlamlı etkileri, insan hastalıklarının tedavisinde olası kullanımlarını desteklemektedir.

Tiyoasetamid (TAA), tek dozu ile fibrosiz, nekroz ve inflamasyona sebep olabilen, deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan toksik bir ajandır. TAA indüklü-testis hasarı oksidatif stres mekanizması oluşturarak gerçekleştirir.

MATERYAL-METOD: Testis hasarı için TAA grubuna; TAA, her hayvana 100 mg/kg konsantrasyonda TAA olacak şekilde 12 hafta süresince haftada 3 gün i.p. olarak uygulandı. 14. haftanın sonunda hayvanlar sakrifiye edildi. LXA4 ile tedavi grubunda ise 12 hafta TAA uygulanan farelere 0,5 ug/100ul dozunda LXA4, iki hafta boyunca haftada 2 kez i.p. olarak uygulandı. LXA4'ün son enjeksiyonundan sonraki gün deney sonlandırıldı. hayvanlardan testis organları alınarak %10' luk formaldehit içinde tespit edildi. histolojik incelemeler için parafine gömülü testis bloklarından 5 µm kalınlığında testis kesitleri alınarak H&E ve PAS boyama metodları uygulandı. Boyanan kesitler Nikon Optic Hot ışık mikroskop ve DS L3 image analyzing system, DS F2 Nikon Camera ile analiz edildi (Nikon, Tokyo, Japan)

BULGULAR: Hematoksilin&eozin boyamalarında; Kontrol ve LXA4 gruplarına ait testis kesitlerinde spermatojenik seri hücrelerini içeren seminifer tübül epiteli ve tübüller normal yapıda izlendi. peritübüler bağ dokusu normal histolojik görünümdeydi. İnterstisyel bağ dokusu içinde Leydig hücreleri normal yoğunlukta ve yapıda izlendi. TAA grubunda ise seminifer tübül epitellerinde kısmi ve total dejenerasyon, peritübüler dilatasyon ve ödem belirgindi. TAA+ LXA4 grubunda seminifer tübüller genel olarak normal yapıda idi. yer yer hasarlı seminifer tübüllere rastlandı. peritübüler alanda minimal ve yer yer de orta düzeyde dilatasyon izlendi. interstisyel alanlarda Leydig hücreleri normal yapıda ve yoğunlukta izlendi.

Periyodik asit schiff (PAS) boyanmalarında ise kontrol ve LXA4 gruplarında seminifer tübül etrafında PAS + boyanan bazal membran yapısı, düzenli ve kesintisiz olarak izlendi. TAA grubunda total bazal membran dejenerasyonu, TAA+ LXA4 grubunda ise seminifer tübül bazal membranları düzenli yapıda idi.

Anahtar Kelimeler: lipoksin A4, testis, tiyoasetamid

the protective effect of Lipoxin A4 (LXA4) against Thioacetamide-induced testes injury in BALB/C mice

Mehmet Gül¹, Birgül Yiğitcan¹, Başak Kayahan², Elçin Kurtoğlu², Leyla Bahar³

¹Department of Histology and embryology, Inonu Univecity, Malatya, Turkey

²Department of Medical Byology and Genetics, Inonu Univecity, Malatya, Turkey

³Vocational School of health Services, Mersin Univercity, Mersin, Turkey

Lipoxins are lipoxygenase derived lipid mediators with both anti-inflammatory and proresolution properties that have been demonstrated in vivo and in vitro The significant impact of lipoxinA4, on vitro models of disease, including gastrointestinal, renal, respiratory and vascular inflammatory disorders in vitro models of disease is suggestive of the potential use of these compounds in human therapy.

Thioacetamide (TAA) is a toxic agent that is frequently used in experimental studies is able to cause inflammation, necrosis and fibrosis with a single dose. TAA- induced testes injury mainly occurs by oxidative stress mechanism.

MATERIAL-METHOD: We used 35 BALB/c male mice with a mean weight of 20g Testis injury was induced by administration of 100mg/kg/mouse TAA by intraperitoneal injection thrice weekly for upto 13 weeks. Also, at the end of this regimen mice were administrated with LXA4 (5ug/kg)i.p.

thrice in week during 2 weeks in treatment group. In preventive group, mice were injected with LXA4 (ug/kg/mouse) twice weekly for 2 weeks. Testes of the mice were taken and fixed with 10% formaldehyde. Histopathological examination was done after 5 µm testes sections were obtained from the paraffin-embedded blocks and stained with Hematoxylin&Eosin (HE) and PAS for conventional histopathological examination. Stained sections were analyzed with Nikon Optic Hot light microscop and DS L3 image analyzing system, DS F2 Nikon Camera(Nikon,Tokyo,Japan).
RESULTS: In the sections of control and LXA4 mice, epithelium of containing all stages of spermatogenesis were observed in normal structure. Leydig cells that are normal structure and density were present in the interstisyel connective tissue. Peritubular connective tissue was normal histological structure. In the TAA group, degenerasyon of seminiferous tubules epithelium, peritubular dilatation and oedema were present. There were huge cells in the some huge cells seminiferous tubules. In the TAA+ LXA4 group; generally seminiferous tubules were normal histologic structure. however, we run into damage of seminiferous tubules in part to part. dilatation was minimal and mid-level in peritubular pleaces. Leydig cells which are normal structure and dencity were observed in interstitial pleaces. In some seminiferous tubules epithelium,on the spermatogonium layer, leaving areas were present.
In the sections thats stained by periodic acid schiff (PAS) of control and LXA4 mice, basal membranes which found around seminiferous tubules were observed orderelly and continued. TAA group; total degeneration of basal membran was present. however, basal membran of seminiferous tubules were normal histological structure in the TAA+ LXA4 group.

Keywords: Lipoxin A4, testes, Thioacetamide

P074

SASP'ın ratlarda indüklediği testiküler hasara karşı folik asitin antiapoptotik, ve antioksidan etkisi

Yeliz Bozdemir Dönmez¹, Zeynep Fidanol Erboğa², Ahmet Gürel³, Büşra Dalman³

¹Trakya Üniversitesi Teknoloji Araştırma Geliştirme ve Uygulama Merkezi, Edirne, Türkiye

²Namık Kemal Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Ana bilim dalı, Tekirdağ, Türkiye

³Namık Kemal Üniversitesi Biyokimya Ana bilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye

AMAÇ: SASP'ın erkeklerde infertiliteye sebep olduğu bildirilmektedir. Ancak SASP'ın erkek üreme sistemi üzerinde infertiliteye hangi mekanizma ile neden olduğu aydınlatılamamıştır. Bizim amacımız; SASP'ın infertil vakaların aktivasyon mekanizmasında testosteron düzeyinde düşme ve anormal spermatogenezis gibi önemli değişiklikler aracılığıyla FA'nın katkısını değerlendirmektir. **GEREÇ-YÖNTEM:** Grup I (kontrol grubu): Sadece intragastrik yoldan 30 gün boyunca yaklaşık 0,5 ml serum fizyolojik verilen grup (n=6); Grup II (Sülfasalazin, n=6): 30 gün intragastrik yoldan olarak günde tek doz sülfasalazin (SASP) (600 ml/kg/gün – 30 gün boyunca) uygulanan grup ve Grup III (Sülfasalazin+Folik asit, n=6): Bu gruptaki sıçanlara 30 gün boyunca intragastrik olarak 600 ml/kg/gün SASP ve 30 gün boyunca intragastrik olarak 10 mg/kg folik asit (FA) verilen grup olmak üzere üç grup oluşturulmuştur. Otuz gün sonunda kurban edilen deneklerin, testis biyopsi materyalleri alınarak, ışık mikroskopik ve immünohistokimyasal prosedürler uygulanmıştır. Morfolojik olarak ise Johnsen skor, testiküler çap ölçümü ve sperm sayım analizi gerçekleştirilmiştir. **BULGULAR:** Grup II (SASP) grubunda, kontrol grubuna göre Johnsen skorlaması ve testiküler çap değerlerinin azaldığı gözlemlendi. Histolojik olarak testiküler dokuda SASP'ın bilinen bulguları görüldü. Grup III de ise Grup II'ye göre Johnsen skorlaması ve testiküler çap değerleri artmıştı. Ayrıca, antioksidan koruma sistemindeki açık (SOD, Glutatyon peroksidaz ve Katalaz azalması) telafi edilmişti. Kontrol grup ile karşılaştırıldığında SSZ grupta epididimal sperm sayısı azalmıştır. Yine PCNA indekisinde SSZ grubunda düşmüştür. Kaspaz immünreaktivitesinde kontrol grubuna göre SSZ grubunda daha yüksek bulunurken; SSZ+FA grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır. NF-κB p65, testiküler hasarda inflamasyon sürecinde kilit rol oynamaktadır. İmmünohistokimyasal değerlendirmede, kontrol grubuna nispeten SSZ grubunda NF-κB p65 immünreaktivitesi önemli derecede yüksekti. SSZ grubu ve SSZ+FA grubu kıyaslandığında ise FA uygulanan grupta bu değer önemli derecede azalmıştı. **SONUÇ:** Sonuç olarak, bu bulgular göstermektedir ki; FA antioksidan ve antiapoptotik etkisi sayesinde SSZ'nin indüklediği testiküler hasara korumada karşı yeni terapötik bir yaklaşım olabilir.

Anahtar Kelimeler: Testis, SASP, FA, oksidatif stres

Anti-Apoptotic And Anti-Oxidant Effects Of Folic Acid On Sulfasalazine-Induced Testicular Damage In Rats

Yeliz Bozdemir Dönmez¹, Zeynep Fidanol Erboğa², Ahmet Gürel³, Büşra Dalman³

¹Trakya University Technology Research, Development and Application Centre, Edirne, Turkey

²Department Histology and Embryology, Namık Kemal University, Tekirdağ, Turkey

³Department Biochemistry, Namık Kemal University, Tekirdağ, Turkey

AIM: SASP has been reported to cause infertility in men. However, to date the mechanism through which SASP could affect male reproductive system is not well elucidated. We aimed to examine the activation mechanisms of FA to contribute infertility cases which are emerged by important changes that are seen in SASP men like decreased testosterone levels and abnormal spermatogenesis.

METHODS: We composed three groups from our male Sprague Dawley rat. The first Group I (control groups, n=6): The control groups was treated with only vehicle (0,5 ml daily dosages) for 30 days, Group II (Sülfasalazin, n=6): were received SASP orally by intragastric tube with 600 ml/kg/day for 30 days. Group III (Sülfasalazin+Folik asit, n=6): The groups were treated orally intragastric tube SASP (600 ml/kg) and FA (10 mg/kg) either alone or in combination for 30 days. We collected testicular biopsy materials for 30 days and processed for our light and immunohistochemical observations. Morphometrically; we evaluated our subjects which Johnsen score and testicular diameter and sperm analysess.

RESULTS: It is observed that, in the Groups II; Johnsen score and tubuler diameter decreased. Histological changes that are seen in testicular tissue are known findings of SASP. When Groups III are compared it is observed that Johnsen score and tubuler diameter are increased. Moreover, significantly compensated deficits in the antioxidant defenses [reduced superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities] in testes tissue resulted from FA administration. It is observed that Epididymal sperm count decline treated with SSZ as compared to the control groups. However, PCNA index was significantly decreased in the SSZ group compared with the control group, SSZ+FA groups, PCNA index was significantly increased compared with the control group. While caspase immunoreactivity was higher in the SSZ group than in controls, the caspase immunoreactivity showed no change between the control and SSZ+FA groups. NF- κ B p65 plays a key role in the inflammation process during testicular damage. Immunohistochemical examinations of rat testes revealed that SSZ administration caused significant increases in the immunoreactivity of NF- κ B p65 compared to the control group. On the other hand, this increase in immunostaining activity of NF- κ B p65 decreased significantly by treatment with SSZ+FA.

CONCLUSION: In conclusion, these findings suggest that the protective potential of FA in may represent a novel therapeutic approach for the prevention of FA-induced testicular damage through anti-oxidant, and anti-apoptotic effects which could be useful for achieving optimum effects in SSZ-induced testicular damage.

Keywords: Testes, SASP, FA, Oxidative Stress

Kaynakça / References: 1- Alonso, V., Linares, V., Bellés, M., Albina M.L., Sirvent J.J., Domingo, J.L., Sánchez, D.M. 2009. Sulfasalazine Induced Oxidative Stress: A Possible Mechanism Of Male Infertility. *Reproductive Toxicology* 27:35–40. 2- Tousson E., Ali Emm., Ibrahim W., Mansour, M.A. 2011. Treatment With Folic Acid Ameliorated The Histopathological Alterations Caused By Propylthiouracil-induced Hypothyroid Rat Testes. *Toxicology And Industrial Health* 28(6) 566–576 3- Fukushima, T., Kato, M., Adachi, T., Hamada, Y., Horimoto, M., Komiyama, M., Mori, C., Horii I. 2005. Effects Of Sulfasalazine On Sperm Acrosome Reaction And Gene Expression In The Male Reproductive Organs Of Rats. *Toxicological Sciences* 85:675–682

P075

Azoospermik Hastalarda Lim 15/Dmc1 Ve PCNA Proteinlerinin İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi

Canan Hürdağ¹, Esra Çikler Dülger¹, Türkan Sarioğlu¹, Süleyman Aktuna², Evrim Ünsal²

¹İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Abd.

²Yeniyüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Abd.

Erkek kaynaklı infertilitenin en önemli sebeplerinden biri azoospermidir. Azoospermi ejakulatta hiç sperm görülemez durumudur. İnfertilite tedavilerinde spermatogenez bozukluklarının mekanizmalarının açıklanması, özellikle semeninde hiç sperm bulunmayan azoospermik olguların ileri tedavisinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Lim 15/Dmc1 proteini mayoz aşamasında rekombinasyona dayalı DNA tamir mekanizmasında rolü olan bir proteindir. PCNA hem somatik hücrelerde hem de mayotik hücrelerde ifade edilmekte olup hücre döngüsü boyunca çekirdekte yüksek oranda ifade edilmektedir. Ayrıca, PCNA'nın hem mitotik spermatogonium hücrelerinde hem de primer spermatositlerin çekirdeklerinde ifade edildiği de bilinmektedir.

Testis biyopsi işlemine alınan azoospermik erkeklerde sperm hücresi bulunan ve bulunmayan hasta gruplarının testis Lim15/Dmc1 ve PCNA proteinlerinin immunhistokimyasal olarak değerlendirilmesi ve iki grup arasındaki farklılıkların ortaya koyulması çalışmamızın temelini oluşturmaktadır. Çalışmamızda azoospermi olan infertil hastalardan Testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) ile sperm bulunan (n=15) ve sperm bulunmayan (n=15) olmak üzere 2 grup oluşturulmuştur. Lim 15/Dmc1 ve PCNA proteinleri immunhistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Sperm pozitif grubundaki Lim 15/Dmc1 ve PCNA proteinlerinin reaksiyonları sperm negatif grubundakine göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. PCNA reaksiyonu seminifer tübüllerin spermatogenik hücre serisinde oldukça belirgindir.

Bu çalışmanın amacı testis dokusu içinde sperm yapımından sorumlu mayoz bölünmenin ve dolayısıyla spermatogenez potansiyelinin var olup olmadığı ortaya konularak azoospermik hastalarda tekrarlayan TESE denemeleri yerine spermatojenik aktivitenin takip edilerek bu bilgiler ışığında elektif TESE yapılmasını sağlayabilmektir.

Anahtar Kelimeler: Lim 15, PCNA, azoospermi, immünohistokimya

The Evaluation of Lim 15/Dmc1 and PCNA Proteins by Immunohistochemical in Azoospermia Patients

Canan Hürdağ¹, Esra Çikler Dülger¹, Türkan Sarioğlu¹, Süleyman Aktuna², Evrim Ünsal²

¹İstanbul Bilim University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology

²Yeniyüzyıl University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics

Azoospermia are one of the main causes of male infertility. Azoospermia which the absence of spermatozoa in the ejaculate. The analysis of the spermatogenesis deficiencies mechanisms in infertility treatments is very important especially for the further treatment of azoospermia cases who do not have any sperm cells in their semen samples. Lim 15/Dmc1 has a role at DNA synthesis depend on recombination at meiosis stage. PCNA is expressed at both meiotic and somatic cells.

The immunohistochemical evaluation of two protein Lim 15 and PCNA in testis tissues of in which sperm cells were detected and not detected for azoospermic men and determination of the difference of these two groups are the major principle of our study.

In this study testicular Sperm Extraction (TESE) samples in infertile men with azoospermia were divided to two groups as spermatozoa present (n=15) and spermatozoa absent (n=15). Lim 15 and PCNA proteins were evaluated by immunohistochemically. In spermatozoa (+) group, Lim 15/Dmc1 ve PCNA reaction was considerably higher than spermatozoa (-) group. In addition PCNA reaction was also prominent in the spermatogenic cell line of the seminiferous tubules.

The aim of this study the presence of the protein responsible for the meiotic division for sperm production will be investigated in testes tissue. Also the potential for spermatogenesis will be studied Therefore for azoospermic patients instead of recurrent TESE operations it could be possible to make an elective TESE.

Keywords: Lim 15, PCNA, azoospermia, immunohistochemistry

P076

Yenidoğan döneminden erişkinliğe kadar olan dönemde rat testislerinde spermatogonial kök hücre sayısında ve dağılımında görülen değişikliklerin incelenmesi

Emel Tülü¹, Murat Tosun¹, Hasan Hüseyin Demirel², Yasemin Yüksel¹, Esra Aslan¹

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

AMAÇ: Erişkin canlılarda spermatogenezin sürdürülebilmesi için mutlak surette testislerde yer alan kök hücrelerden yeni spermatositlerin oluşturulması şarttır. İntrauterin hayatta pluripotent kök hücrelerden gelişen multipotent karakterli kök hücreler spermatogonial kök hücrelerdir. Bu hücrelerin gelişimi uzun yıllardır araştırılmaktadır.

Çalışmamızın amacı spermatogonial kök hücrelerin, doğumdan hemen sonraki döneminden başlayıp ergin döneme dek farklı periodlarda gelişimlerini incelemektir.

MATERYAL-METOD: Yenidoğan döneminden itibaren bakıma alınan 24 adet yenidoğan ratların 6 tanesinin testisleri doğumdan sonraki 24. saatte, 6 tanesi 10. Günde, 6 tanesi 20. Günde, 6 tanesi 30. Günde ve 6 tanesi 60. Günde çıkartılarak, histokimyasal olarak Hematoksilin Eozin ve immunohistokimyasal olarak c-kit ve Anti DDX primer antikolarıyla boyandı. Boyanma sonrasında c-kit ve ekspresyonunun dönemlere göre değişimi ve primordial germ hücre kökenli spermatogonial kök hücre dağılımı incelendi.

BULGULAR: Elde edilen bulgular c-kit ekspresyonunun artan haftalara bağlı olarak artış gösterdiğini ve bilhassa 20. haftada pik olduğunu ortaya koydu. Burada ekspresyonun A tipi spermatogonialarda olmadığı sadece B tipi spermatogonia ve gelişen spermatositlerde olduğu görüldü. Aynı şekilde spermatogonial kök hücre sayısında da ilerleyen haftalara bağlı olarak artış görüldüğü tespit edildi.

SONUÇ: Elde edilen bulgular c-kit ekspresyonunun spermatogenezde etkin olduğunu ama spermatogonia gelişimine etkisi olmadığını ortaya koymaktadır. Aynı şekilde spermatogonial kök hücre sayısında artışın hormonlar gibi değişik faktörlere bağlı olabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: spermatogenesis, primordial germ hücreleri, anti DDX, c-kit, spermatogonial kök hücreler

Evaluation of the number and distribution of spermatogonial stem cell in rat testes from newborn to adult period

Emel Tülü¹, Murat Tosun¹, Hasan Hüseyin Demirel², Yasemin Yüksel¹, Esra Aslan¹

¹Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine Department of Histology Emrbyology, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe University Faculty of Veterinary Medicine Department of Histology Emrbyology, Afyonkarahisar

INTRODUCTION: Spermatogenesis depends on differentiation of spermatogonial stem cells to spermatocytes during mammalian life. The aim of study to evaluate spermatogonial stem cells development from neonatal to adult period.

MATERIAL-METHODS: 24 newborn rats were used for study. While 6 of them immediately sacrificed in 24 hours, the other 6 in 10th day, of 6 in 20 th day, of 6 in 30 th day and of 6 60 th day sacrificed and testes were excised and histochemically stained with Hematoxylen Eozin and immunohistochemically stained with c-kit and anti DDX primary antibodies and evaluated under light microscope.

RESULTS: The results showed that c-kit expression is increased parallel to development and only detected in B type spermatogonias but not a type spermatogonias. At the same time it was detected that the number of spermatogonial stem cell number increased parallel to development.

CONCLUSION: The results showed that c-kit expression is seen in spermatogenesis but not in spermatogonial stem cell development. At the same time the increasing of the spermatogonial stem cell number may be related with different factors such as hormone etc.

Keywords: spermatogenesis, primordial germ cells, anti DDX, c-kit, spermatogonial stem cells

P077

Normozoospermik İnfertil Hastalarda Sperm DNA Bütünlüğü ve Konvansiyonel Semen Parametreleri Arasındaki İlişki

Sevilay Erimşah¹, Leyla Kılınc², Elçin Hakan Terzi¹, Tülin Fırat¹, Aysel Kükner¹, Süheyla Gonca³

¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bolu

²Akdeniz Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

³Kocaeli Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

Normozoospermik İnfertil Hastalarda Sperm DNA Bütünlüğü ve Konvansiyonel Semen Parametreleri Arasındaki İlişki

Giriş

Erkek infertilite tanısında ilk adım konvansiyonel (klasik) semen parametrelerine dayanmaktadır. Klasik semen analizleri tedaviye büyük ölçüde katkı sağlasa da, yaygın olarak kullanılan spermiyogramın tedavide kullanılmasında hala kısıtlıklar mevcuttur. Semen analiz sonuçları normal olan erkek bireylerden yaklaşık % 15'inin infertilite ile ilişkili olduğu saptanmıştır (1). Klinik ve laboratuvar bulgular göstermektedir ki sperm disfonksiyonu her zaman konvansiyonel sperm analizleri ile belirlenememektedir (2,3). Erkek infertilitesinin altında yatan mekanizmayı, spermatogenik sürecin kalitesini ve spermatozoanın fonksiyonel yeterliliğini belirlemede konvansiyonel semen analizinin yetersiz kaldığı görülmektedir. Yapılan son çalışmalarda, erkek infertilitesinin belirlenmesinde sperm DNA bütünlüğünün rutin semen analizine göre daha iyi bir belirteç olabileceği öngörülmektedir. Spermatozoanın fonksiyonel içeriğini araştırmada kullanılmak üzere daha spesifik testler gerekmektedir (4). Sperm kromatin bütünlüğünün incelenmesi androloji laboratuvarında yakın zamanda kullanılmaya başlanmış olan etkili bir tanı yöntemidir. Bu çalışmada, normozoospermik infertil hastalarda konvansiyonel semen parametreleri ile sperm kromatin kondensasyonu ve DNA bütünlüğü arasındaki ilişkinin araştırılmasını amaçlandı.

Materiyal ve Metod

Çalışmamızda 40 normozoospermik infertil hastanın rutin spermiyogram testi için verilen semen örnekleri Dünya Sağlık Örgütü'nün kriterlerine göre konsantrasyon, hareketlilik ve morfoloji yönünden değerlendirildi. Spermiyogram analizi yapılan hastaların sperm yaymaları, kromatin kondensasyon değerlendirmesi için Asidik Anilin Blue (figür 1), DNA fragmentasyon değerlendirmesi için ise TUNEL (figür 2) boyama metodları uygulanarak incelendi.

Sonuçlar

İstatistiksel değerlendirme için ANOVA testi kullanıldı. P <0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Spearman'ın korelasyon analizi kullanılarak sperm parametreleri, Asidik Anilin Blue ve TUNEL verileri karşılaştırıldı. Spearman korelasyon analizi ile Asidik Anilin Blue ve TUNEL pozitif boyanma yüzdeleri arasında pozitif korelasyon bulundu. Buna ek olarak, bu iki boyama metodu sonuçlarına göre sperm konsantrasyonu, motilitesi ve normal morfolojisi arasında negatif korelasyon saptandı. Normal morfolojisi % 14'ün altında olan hastalarda kromatin kondensasyon defekti ve DNA hasarı derecesi normal morfolojisi % 14'ün üzerinde olan hastalara oranla daha yüksek olduğunu saptadık. Bu çalışma doğrultusunda, sperm kromatin bütünlüğü analizi normozoospermik erkek infertilitesinin değerlendirilmesi için yararlı bir tanı olarak görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Semen parametreleri, sperm DNA bütünlüğü, infertilite.

The Relationship Between Sperm DNA Integrity And Conventional Semen Parameters In Normozoospermic Infertile Patients

Sevilay Erimşah¹, Leyla Kılınc², Elçin Hakan Terzi¹, Tülin Fırat¹, Aysel Kükner¹, Süheyla Gonca³

¹Department of Histology and Embryology, Abant İzzet Baysal University, Bolu, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Akdeniz University, Antalya, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Kocaeli University, Kocaeli, Turkey

Introduction

The first step in the diagnosis of male infertility is based on the conventional (classical) semen parameters. Although classical semen analysis greatly provide contribution to the treatment, there are still insufficiencies on the using of commonly utilized spermiogram in the treatment. About 15%

of males that have normal semen analysis were found to be associated with infertility (1). Clinical and laboratory findings indicate that sperm dysfunction can not always be determined by conventional sperm analysis (2,3). Conventional semen analysis is seen as insufficient in determining the mechanism underlying male infertility; functional quality of spermatozoa and spermatogenesis process. In recent studies the analysis of sperm DNA integrity is expected to be a better predictor on the determination of male infertility than routine semen analysis. More specific tests are required to research the functional content of spermatozoa (4). Investigation of sperm chromatin integrity is an effective diagnostic method that has been used recently in the andrology laboratory. In this study, we aimed to investigate the relationship between sperm chromatin condensation and DNA integrity with conventional semen parameters in normozoospermic infertile patients.

Materials and Methods

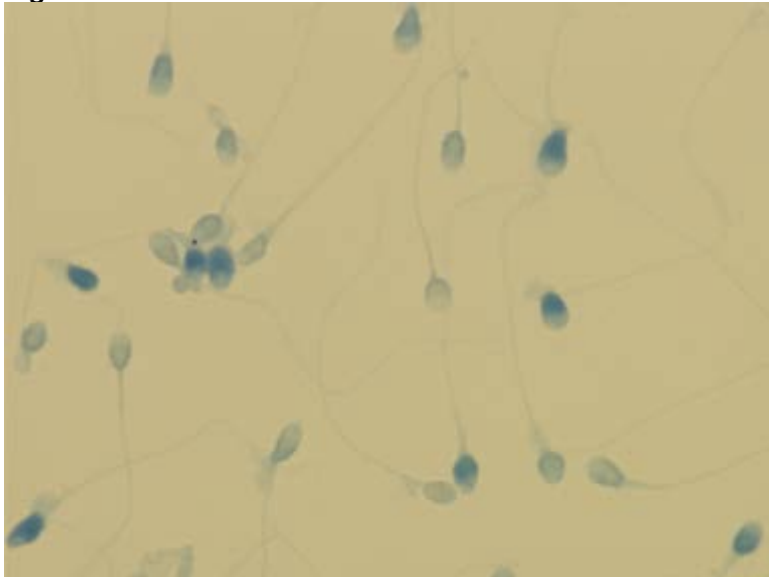
In our study, semen samples of 40 normozoospermic infertile patients were evaluated according to the criteria of the World Health Organization in terms of concentration, motility and morphology for routine spermiogram testing. After spermiogram analysis, smears of patients examined by using staining methods; Acidic Aniline Blue for chromatin condensation (figure 1), TUNEL for DNA fragmentation (figure 2).

Results

ANOVA test was used for statistical analysis. $P < 0.05$ was considered statistically significant. Sperm parameters, Acidic Aniline Blue and TUNEL datas were compared with using Spearman's correlation analysis. Positive correlation was found between the percentage of positive staining of Acidic Aniline Blue and TUNEL by Spearman's correlation analysis. In addition, negative correlation was determined between sperm concentration, motility and normal morphology, according to the results of these staining methods. We found that the chromatin condensation defects and DNA damage frequency in the patients with below 14% of normal morphology is higher than the patients with above 14% normal morphology. According to this study, analysis of sperm chromatin integrity is seen as beneficial diagnosis to evaluate the normozoospermic male infertility.

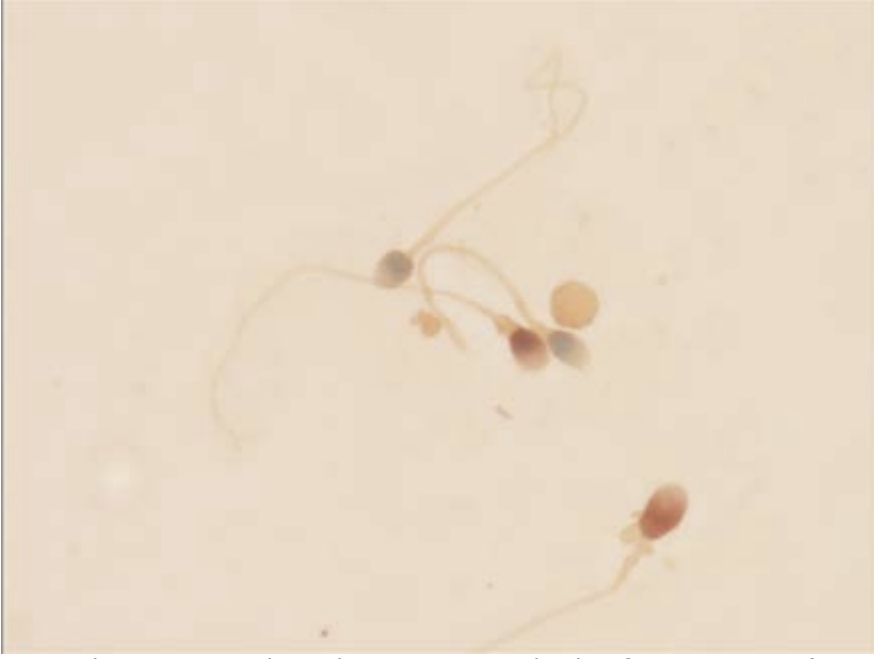
Keywords: Semen parameters, sperm DNA integrity, infertility.

Figür 1
Figure 1



Asidik Aniline Blue boyama metodu. Açık mavi sperm başları normal kromatin kondensasyonu, koyu mavi sperm başları ise anormal kromatin kondensasyonunu belirtmektedir.
Acidic Aniline Blue staining method. Light blue sperm heads indicate normal chromatin condensation, and the dark blue sperm heads indicate the abnormal chromatin condensation.

Figür 2
Figure 2



TUNEL boyama metodu. Kahverengi sperm başları fragmente DNA'yı ve yeşil sperm başları fragmente olmayan DNA'yı göstermektedir.

TUNEL staining method. Brown sperm heads indicate DNA fragmentation and green sperm heads indicate non- fragmented DNA.

Kaynakça / References: References 1. Agarwal A, Allamaneni SS. Sperm DNA damage assessment: a test whose time has come. *Fertil Steril.* 2005;84(4):850-3. 2. Patrizio P, Sanguineti F, Sakkas D. Modern andrology: from semen analysis to postgenomic studies of the male gametes. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1127:59-63. 3. Saleh RA, Agarwal A, Nelson DR, Nada EA, El-Tonsy MH, Alvarez JG, et al. Increased sperm nuclear DNA damage in normozoospermic infertile men: a prospective study. *Fertil Steril.* 2002;78(2):313-8. 4. Aitken RJ. Whither must spermatozoa wander? The future of laboratory seminology. *Asian J Androl.* 2010;12(1):99-103.

P078

Prepubertal Dönemde Uygulanan Cyfluthrinin Oluşturduğu Testiküler Hasar Üzerine Benfotiaminin Koruyucu Etkileri

Gözde Parlak, Neriman Çolakoğlu

Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji & Embriyoloji AD. Elazığ

Cyfluthrin siyano grubu içeren tip II piretreoiddir (1). Kentsel ve tarımsal alanlarda haşerelere karşı mücadelede kullanılmaktadır. Bununla birlikte cyfluthrin sadece haşerelere karşı değil hedefte olmayan canlı türleri için de oldukça toksiktir (2). Benfotiamin B1 vitamininin yağda çözünen formu olup çok yönlü terapötik potansiyeli vardır. In vitro ve invivo çalışmalarda benfotiaminin antiinflammatuar ve antioksidatif mekanizmalarla etki gösterdiği saptanmıştır (3). HSP 70 bir çeşit şaperondur ve ısı şoku, travma ve diğer stres sitümlasyonlarıyla ekspresyonu indüklenmektedir (4). Bu çalışma prepubertal cyfluthrin maruziyetinin testiküler gelişim üzerine etkilerini belirledi. Çalışmada 32 adet 4 haftalık Wistar albino erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Grup I'deki sıçanlara oral gavajla 1ml/kg/gün zeytinyağı verildi. Grup II'deki sıçanlara 54mg/kg/gün cyfluthrin oral gavajla verildi. Grup III'deki sıçanlara 54mg/kg/gün cyfluthrin ile birlikte 100 mg/kg/gün benfotiamin oral gavajla verildi. Grup IV'deki sıçanlara 100 mg/kg/gün benfotiamin oral gavajla verildi. Cyfluthrin ve benfotiamin 1ml/kg zeytinyağında çözülerek hazırlandı. Sıçanlar 5 haftanın sonunda servikal dekapitasyonla ötenazi edildi ve testis dokuları alındı. Dokular histokimyasal ve immünohistokimyasal boyama için hazırlandı.

Grup I'de testiküler doku normaldi. HSP 70 immünreaktivitesi sadece adluminal kompartmanın apikalinde gözlemlendi. Grup II'deki sıçanlara cyfluthrin uygulaması; seminifer tübül epitelinde dejenerasyon ve atrofiye, bazal laminada invajinasyona, spermatogenik seriye ait bazı hücrelerde anafaz ve metafaz arrestine ve bazı seminifer tübül lümenine immatür spermatogenik seri hücrelerinin dökülmesine neden oldu. Spermium ve spermatidlerde gözlenen HSP 70 immünreaktivitesi aynı zamanda bazı spermatogonia ve primer spermatositlerde de ayırt edildi. Cyfluthrin toksisitesine karşı benfotiamin tedavisi uygulanması grup III'te profilaksi sağladı. Bu grupta benfotiamin tedavisi sayesinde seminifer tübül epitelindeki dejenerasyon, bazal lamina invajinasyonu, spermatogenik seri hücrelerindeki metafaz ve anafaz arresti daha az sıklıkta gözlemlendi. HSP 70 immünreaktivitesi adluminal kompartmanın apikalinde daha belirgindi. Bu çalışmada benfotiamin tedavisi sayesinde grup III'te HSP 70 pozitif spermatogonia ve primer spermatosit oranında azalma olduğu tespit edildi. Grup IV'ün testiküler yapısı ve HSP 70 immünreaktivitesi grup I'le benzerdi.

Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgular ışığında piretreoid kullanımı ve dozajı konusunda çok dikkatli davranılması gerektiği sonucuna varıldı. Aksi halde infertiliteyle sonuçlanabilecek ciddi halk sağlığı sorunlarıyla karşılaşmak kaçınılmaz olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Cyfluthrin, piretreoid, benfotiamin, HSP70, testis

Protective Effects of Benfotiamine on Cyfluthrin-Induced Testicular Damage During the Prepubertal Period

Gözde Parlak, Neriman Çolakoğlu

Fırat University, Medical Faculty, Histology & Embryology Department. Elazığ

Cyfluthrin is type II pyrethroid that contain a cyano group(1). Cyfluthrin is used for urban and agricultural pest control. Cyfluthrin is extremely toxic to pest but also non-target species (2). Benfotiamine is a fat soluble kind of vitamin B1 that has a versatile therapeutic potential. In vitro and invivo studies show that benfotiamine acts with antioxidative and antiinflammatory mechanisms (3). HSP70 is a kind of chaperons. HSP70 expression induced by heat shock, trauma, and other stress stimulation (4). This study determined effects of prepubertal exposure of cyfluthrin on maturity of testicular structure.

Thirty two 4 weeks-old Wistar albino male rats were used in this study. The rats were divided into four groups. GroupI rats were given 1ml/kg/day olive oil by oral gavage. GroupII rats were given

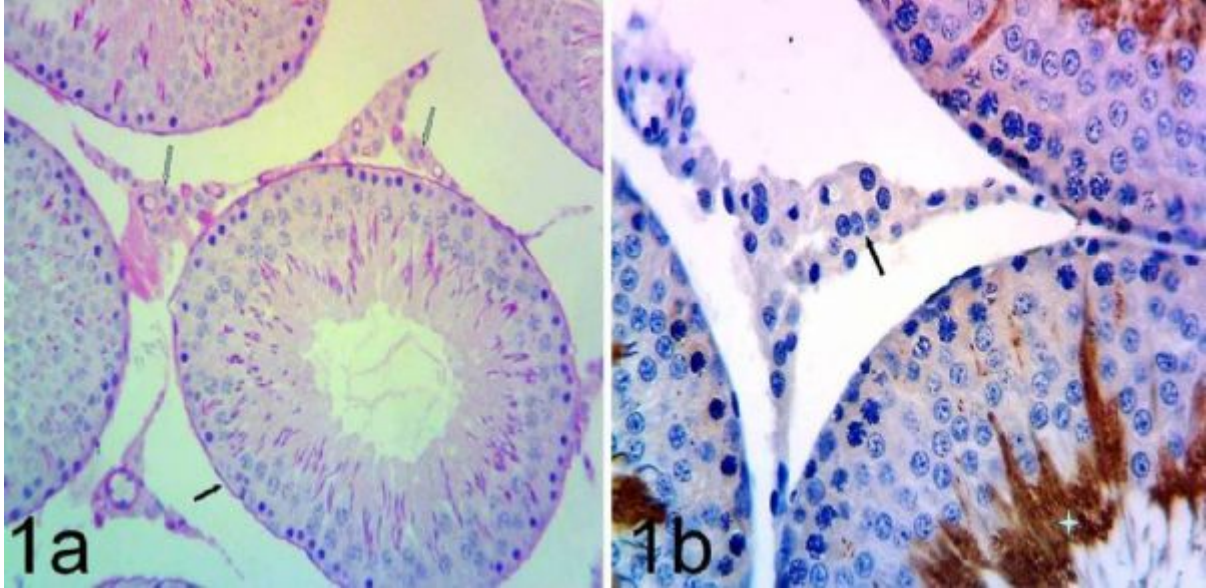
54 mg/kg/day cyfluthrin by oral gavage. GroupIII rats were given 54mg/kg/day cyfluthrin and 100 mg/kg/day benfotiamine by oral gavage. GroupIV rats were given 100 mg/kg/day benfotiamine by oral gavage. Cyfluthrin and benfotiamine were prepared by dissolving in 1 ml/kg olive oil. End of the 5 weeks rats were euthanized by cervical decapitation and testis tissues were removed and processed to perform histochemical and immunohistochemical staining.

Testicular structure was normal in the groupI. HSP70 immunoreactivity was observed just in the apical of adluminal compartment. Cyfluthrin administration to group II's rats caused degeneration and atrophy in the seminiferous epithelium, metaphase and anaphase arrest in the some of spermatogenic lineage cell, invagination of basal lamina and exfoliation of immature spermatogenic cells to some of seminiferous tubule lumen. HSP70 immunoreactivity was observed in the spermatid and spermium but also some of spermatogonia and primary spermatocytes had HSP 70 positivity. Benfotiamine treatment against cyfluthrin toxicity provided protection in the groupIII. In this group integrity of seminiferous tubule epithelium, basal lamina and interstitial tissue were more maintained than groupII. Degeneration of seminiferous tubule epithelium, invagination of basal lamina, metaphase/anaphase arrest were less in the groupIII thanks to benfotiamine therapy. HSP 70 immunoreactivity was evident in the apical of adluminal compartment. HSP 70 positive spermatogonia and primary spermatocytes were detected at reduced rate in relation to groupII due to benfotiamine treatment. Testicular tissues structures of groupIV looked like the groupI. HSP 70 positive cells in group I and IV resembled each other.

In the light of our findings that it should be taken care seriously about the use of pyrethroids and about their dosage. Otherwise, risk of infertility may be inevitable.

Keywords: Cyfluthrin, pyrethroid, benfotiamine, HSP70, testis

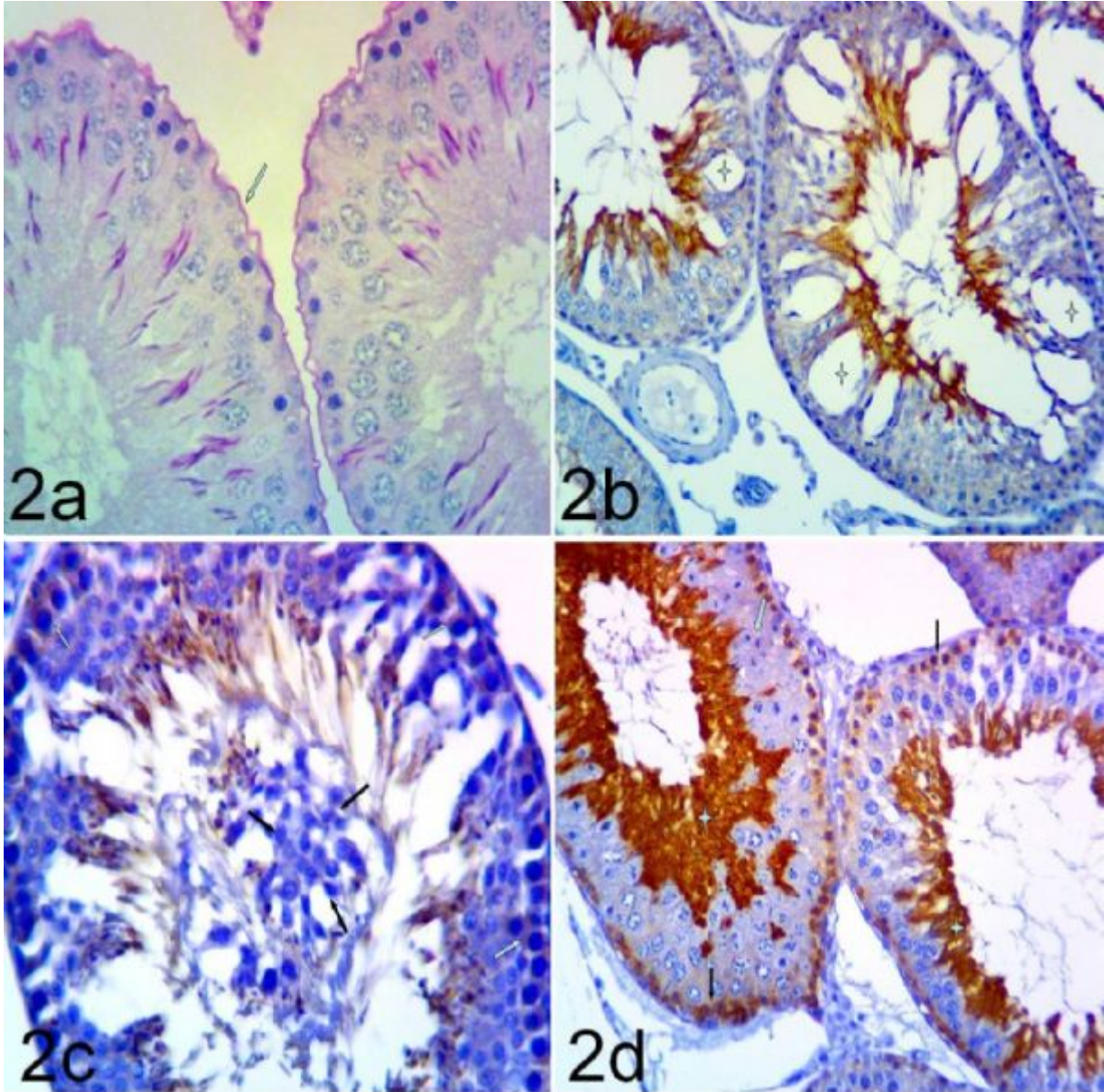
Resim 1
Figure 1



Grup I. Normal görünümlü seminifer tübül epiteli, bazal laminası (siyah ok) ve interstisyel doku(beyaz ok) (1a). Adluminal kompartmanda HSP70 pozitifliği () ve Leydig hücrelerinin HSP70 negatifliği(siyah ok) (1b).*

Group I. Normal appeared epithelium of seminiferous tubule and it's basal lamina (black arrow) and interstitial tissue (white arrow) (1a). HSP70 positivity at adluminal compartment () and HSP 70 negativity in Leydig cell*

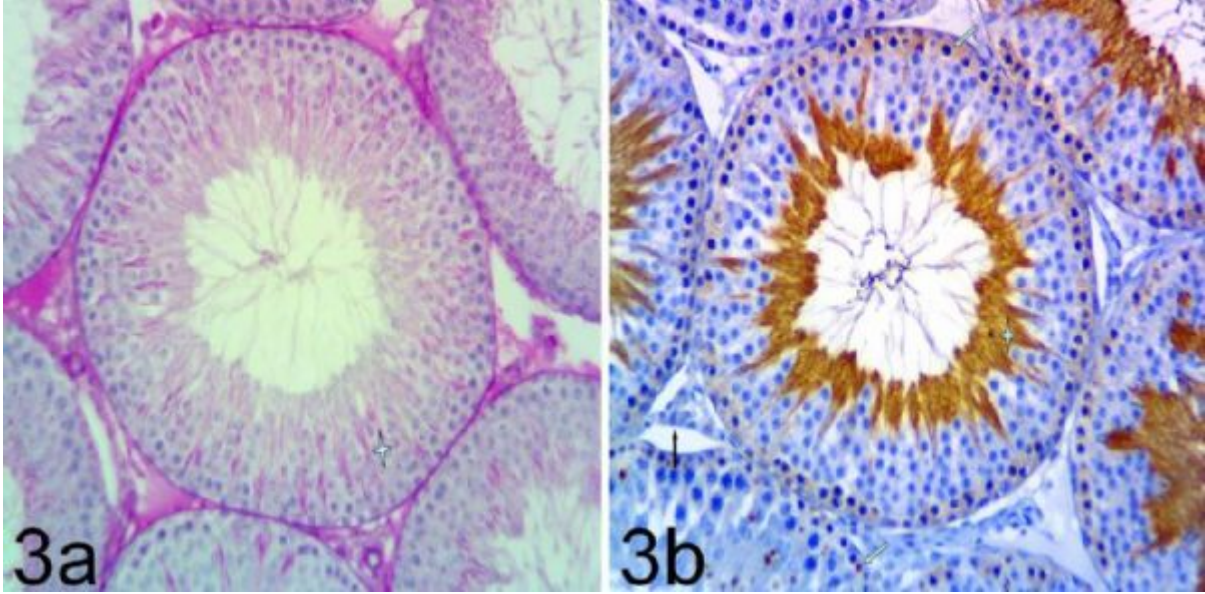
Resim 2
Figure 2



Grup II. Cyflutrin uygulamasına bağlı olarak seminifer tübül bazal laminasında invaginasyon (ok) (2a), germinal epitelde atrofi() (2b), seminifer tübül lumeninde immatür spermatogenik seri hücreleri (siyah ok) (2c), bazı spermatogenik seri hücrelerinde anafaz arresti(beyaz ok), apikal adluminal kompartmanda(*) ve spermatogonialarda(siyah ok) HSP 70 pozitifliği (2d).*

Gruoup II. Invagination in the basal lamina of seminiferous tubule(arrow) (2a), atrophy in the germinal epithelium () (2b), immature spermatogenic cell in the seminiferous tubule lumen(black arrow), anaphase arrest in the some spermatogenic cell (white arrow) due to cyfluthrin administration and HSP 70 positivity at the apical adluminal compartment and in the spermatogonia (2d).*

Resim 3
Figure 3



Grup III. Benfotiamin tedavisi ile normal görünümlü seminifer tübül epiteli (*) ve bazal laminası(3a), adluminal kompartmanda belirgin HSP 70 pozitifliği(*), spermatogonialarda grup II'ye göre azalmış HSP 70 pozitifliği (beyaz ok) ve Leydig hücrelerinde HSP 70 negatifliği (siyah ok) (3b).
Grup III. Normal appeared epithelium of seminiferous tubule (*) and it's basal lamina (3a) thanks to benfotiamine treatment. HSP 70 positivity at the adluminal compartment (*), reduced HSP 70 positivity in the spermatogonia(white arrow) and HSP 70 negativity in the Leydig cell (3b).

Kaynakça / References: 1)Hoffmann KC, Deanovic L, Werner I, Stillway M, Fong S, Teh S.An analysis of lethal and sublethal interactions among type I and type II pyrethroid pesticide mixtures using standard Hyalella azteca water column toxicity tests.Environ Toxicol Chem. 2016 Mar 7. doi: 10.1002/etc.3422. 2)Rodríguez JL, Ares I, Castellano V, Martínez M, Martínez-Larrañaga MR, Anadón A, Martínez MA.Effects of exposure to pyrethroid cyfluthrin on serotonin and dopamine levels in brain regions of male rats.Environ Res. 2016 Apr; 146: 388-94. 3)Bozic I, Savic D, Stevanovic I, Pekovic S, Nedeljkovic N, Lavrnja I.Benfotiamine upregulates antioxidative system in activated BV-2 microglia cells.Front Cell Neurosci. 2015 Sep 4;9:351. doi: 10.3389/fncel.2015.00351. 4) Lan C, Sun XN, Zhou XC, Yang B, Huang BL, Deng TZ, He ZT, Han XY. Preinduced intestinal HSP70 improves visceral hypersensitivity and abnormal intestinal motility in PI-IBS mouse model.Asian Pac J Trop Med. 2016 Mar;9(3):302-5. doi: 10.1016/j.apjtm.2016.01.022.

P079

Obezite Erkek İnfertilitesi İçin Bir Risk Faktörü müdür?

Kemal Yüksel¹, İlkan Şanlı¹, Ahmet Emre Kesriklioğlu¹, Seyfettin Yılmaz¹, Ömer Faruk Yardımcı¹, Emin Burak Eras¹, Feride Güler¹, Fatma Zehra Bayrak¹, Hasibe Aykanat¹, Saliha Kayış¹, Elif Esen¹, Fidan Koraltan¹, Duygu Dursunoğlu²

¹Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dönem 2, Konya

²Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

İnfertil çiftlerin % 20-50'sinde infertilite erkek kaynaklıdır. Dünya genelinde obezite prevalansının artmasıyla birlikte, eş zamanlı olarak sperm kalitesinde dereceli olarak bir azalmanın meydana gelmesi 'obezite erkek infertilitesinin etiolojisinde yer almalı mıdır?' sorusunu gündeme getirmiştir. Ancak günümüzde obezite ile erkek infertilitesi arasındaki ilişki açık bir şekilde ortaya konamamıştır. Vücutta, özellikle abdominal bölgede yağ birikiminin reproduktif fonksiyonları bozabildiği bilinmektedir. Bel çevresi (BÇ), kalça çevresi (KÇ), bel-kalça oranı (BKO) gibi antropometrik ölçümlerin santral obezitenin belirlenmesinde vücut kitle indeksi (VKİ)'e göre daha doğru sonuç verdiği düşünülmektedir (13). Bu nedenle çalışmamızda, santral obezitenin güvenilir belirleyicileri olan antropometrik indeksler ile semen parametreleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı ve obezitenin erkek infertilitesi için bir risk faktörü olup olmadığını belirlemeyi amaçladık. 2014-2015 yılları arasında S.Ü Tıp Fakültesi Hastanesi, Androloji Laboratuvarına standart sperm analizi için başvuran hastaların dosya kayıtlarından antropometrik indeksleri ve semen parametreleri kaydedildi. Çalışma popülasyonu, 18-45 yaş arasındaki, sigara ve alkol kullanmayan 226 erkek bireyden oluşturuldu. Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre değerlendirilen semen parametreleri; sperm konsantrasyonu, total sperm sayısı, total sperm motilitesi (WHO class A+B+C), progresif sperm motilitesi (WHO class A+B), hızlı progresif sperm motilitesi (WHO class A), sperm vitalitesi ve normal sperm morfolojisini kapsadı. Obezite, farklı antropometrik indeksler (VKİ, BÇ, KÇ, BKO) ile belirlendi. Katılımcılar, obezitenin WHO tanımlamasına (22) göre 3 gruba ayrıldı; normal kilolu; VKİ = 18 - 24,9, fazla kilolu; VKİ = 25 - 29,9, obez; VKİ = ≥ 30. Antropometrik indeksler ve semen parametreleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirildi. Yaş ortalama 30 ± 7 idi. Yaşın artmasıyla birlikte VKİ, BÇ, KÇ ve BKO'nun arttığı gözlemlendi. Obez bireylerde, normal kilolu bireylere göre sperm morfolojisi dışındaki tüm sperm parametrelerinin azaldığı tespit edildi. Aşırı kilolu bireylerde, normal kilolu bireylere göre sadece total sperm sayısının azaldığı bulundu. Obez bireylerde, aşırı kilolu bireylere göre total sperm sayısı, progresif sperm motilitesi, hızlı progresif sperm motilitesi ve sperm vitalitesinin azaldığı görüldü. VKİ; BÇ ve BKO ile pozitif korelasyon gösterirdi. VKİ ile sperm morfolojisi dışındaki sperm parametreleri arasında negatif korelasyon bulundu. BÇ, sperm morfolojisi dışındaki sperm parametreleri ile negatif korelasyon gösterdi. KÇ ile semen parametreleri arasında korelasyon görülmedi. BKO, sperm morfolojisi ve total sperm sayısı dışındaki sperm parametreleri ile negatif korelasyon gösterdi. Çalışmamızın sonuçları, semen parametreleri ile KÇ dışındaki antropometrik indekslerin negatif ilişkili olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, obezitenin semen parametrelerini etkilediği ve erkek infertilitesi için bir risk faktörü olduğunu söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Semen Parametreleri, İnfertilite, Obezite, Antropometrik İndeksler

Is obesity a Risk Factor for Male Infertility?

Kemal Yüksel¹, İlkan Şanlı¹, Ahmet Emre Kesriklioğlu¹, Seyfettin Yılmaz¹, Ömer Faruk Yardımcı¹, Emin Burak Eras¹, Feride Güler¹, Fatma Zehra Bayrak¹, Hasibe Aykanat¹, Saliha Kayış¹, Elif Esen¹, Fidan Koraltan¹, Duygu Dursunoğlu²

¹Selcuk University, Medicine Faculty, Grade 2, Konya, Turkey

²Department of Histology-Embryology, Selcuk University, Medicine Faculty, Konya, Turkey

In 20-50% of infertile couples, infertility is due to male. With the increasing prevalence of obesity worldwide, simultaneously occurs a gradually decrease in sperm quality has raised the question that 'should be obesity included in the etiology of male infertility?' However, relationship between

male infertility and obesity did not reveal clearly. It has been reported that fat accumulation in the abdominal region can disrupt the reproductive functions. Anthropometric measurements such as waist circumference (WC), hip circumference (HC), waist-hip ratio (WHR) are considered to provide more accurate results than body mass index (BMI) for the central obesity. Therefore, in our study, we aimed to determine the relationship between semen parameters and anthropometric indices which are more reliable predictors of central obesity and whether obesity is a risk factor for the male infertility.

The semen parameters and anthropometric indices were recorded from file records of patients who applied to the Selcuk University, Andrology Laboratory between the years 2014-2015 for standard sperm analysis. The study population was created from 226 male individuals who between 18-45 years and no consumption cigarettes and alcohol. Semen parameters assessed according to WHO; sperm concentration, total sperm count, total sperm motility (class A+B+C), progressive sperm motility (class A+B), rapidly progressive sperm motility (class A), sperm vitality and sperm morphology are included. Obesity was determined with anthropometric indices (BMI, WC, HC, WHR). Participants were divided into 3 groups according to the WHO definition of obesity; normal weight; BMI = 18 - 24.9, overweight; BMI = 25 - 29.9 obese; = BMI \geq 30. The relationship between anthropometric indeces and semen parameters were evaluated statistically.

The mean age was 30 ± 7 . Increased with the age, BMI, WC, HC and WHR increased. Semen parameters except for sperm morphology decreased in obese group than normal weight. Total sperm count, progressive sperm motility, rapidly progressive sperm motility and sperm vitality decreased in obese group compared to overweight. BMI showed a positive correlation with WC and WHR and negative correlation with sperm parameters except for sperm morphology. WC showed a negative correlation with semen parameters except for sperm morphology. The correlation between semen parameters and HC did not occur. WHR were negatively correlated with semen parameters except for sperm morphology and total sperm count. Present study indicates negative association semen parameters and the anthropometric indices except for HC. Consequently, obesity may affect semen parameters and is a risk factor for male infertility.

Keywords: Semen Parameters, Infertility, Obesity, Anthropometric Indices

P080

Npas2 Ekspresyonu İnsan Spermatogenezi ile İlişkilidir

Gamze Badakul¹, Dileyra Adıgüzel¹, Emre Bakırcıoğlu², Çiler Çelik Özenci¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim, Antalya

²Üroloji ve Androloji Erkek Cinsel ve Üreme Sağlığı Özel Merkezi, İstanbul, Türkiye

GİRİŞ: Sirkadyan ritim, 24 saatlik zaman dilimi boyunca dalgalanmalar gösteren biyolojik süreçtir. Clock/Npas2 ve Bmal1 sirkadyan ritimde rol alan transkripsiyon faktörleridir. Npas2 beyinde, testiste ve prostatta ekspre edilir. Npas2 insan testisinde Leydig hücrelerinde sitoplazmik/nükleer ve seminifer tübülün bazalinde yer alan hücrelerde de nükleer ekspre olmaktadır. Npas2 transkripsiyon hedefleri hakkında az bilgi bulunmakta ve kanserle ilgili genler ile ilişkili biyolojik yolları etkileyerek tümörögenizde rol oynadığı bilinmektedir. 2015 yılında yapılan bir çalışmada Npas2 gen mutasyonu olan erkeklerde obstrüktif-olmayan azospermi görülen bir aile ilk kez bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı sağlıklı insan testis dokusunda Npas2'nun ekspresyonunu ve Npas2 mutasyonu olan insan testis dokusunun histopatolojisini değerlendirmektir.

Materyal ve YÖNTEM: Çalışmamızda TESE sırasında obstrüktif azospermi hastasından onayı ile elde edilen sağlıklı insan testis dokusu ile Npas2 gen mutasyonu belirlenen insan testis dokusundaki Npas2 ekspresyonu immünohistokimya tekniği kullanılarak değerlendirildi. Ayrıca, histopatolojik değerlendirmeler yapıldı. Bu çalışma, Baylor Koleji Tıp Okulu etik kurulu tarafından onaylandı ve katılımcılardan onay alındı.

SONUÇLAR: Npas2 mutasyonu olan insan testis dokusunda seminifer tübüllerde spermatogenez bozulmuştu ve olgun sperm yoktu. Histopatolojik değerlendirmelerde, çoğu seminifer tübülde sadece Sertoli hücreleri olduğu, birkaç tübülde birkaç spermatogonyum olduğu gösterildi. Sağlıklı insan testis dokusundaki Npas2 ekspresyonu özgün olarak spermatogonyumlar, mayoz bölünmeye başlayan primer spermatositlerde nükleer olarak gözlendi (Şekil 1). İntestisyal alandaki Leydig hücrelerinde de sitoplazmik Npas2 ekspresyonu mevcuttu.

TARTIŞMA: Bu çalışma ile sağlıklı insan testis dokusunda Npas2 ekspresyonu varlığında spermatogenez gerçekleşirken, Npas2 mutasyonu belirlenen insan testis dokusunda spermatogenez gerçekleşmemektedir. Bu durum, Npas2 ekspresyonunun spermatogenez sürecinde önemli rol oynadığını ortaya koymuştur. Npas2'nun spermatogenezin hangi sinyal yollarını etkileyerek bozduğuna dair ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: İnsan testis dokusu, spermatogenez, Npas2 mutasyonu

Npas2 expression is associated with human spermatogenesis

Gamze Badakul¹, Dileyra Adıgüzel¹, Emre Bakırcıoğlu², Çiler Çelik Özenci¹

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, Turkey

²Urology & Andrology Male Sexual and Reproductive Medicine Clinic, Istanbul, Turkey

INTRODUCTION: A circadian rhythm is any biological process that displays an endogenous, entrainable oscillation of about 24 hours. Clock/Npas2 and Bmal1 are transcriptional factors which take part in circadian regulation. Npas2 is expressed in brain, testis and prostate tissues. Npas2 was expressed in the germ cells within the tubules of the human testes as well as in the Leydig cells in the interstitial space. Although little is known about Npas2's downstream transcriptional targets, it has been recently shown that Npas2 plays a role in tumorigenesis by affecting cancer-related genes and relevant biological pathways. In a study conducted in 2015, whole-exome sequencing identified novel homozygous mutation in Npas2 in family with non-obstructive azoospermia. The aim of this study is to investigate Npas2 expression in healthy human testicular tissue and to evaluate histopathology of Npas2 mutant human testis tissue.

MATERIAL-METHOD: We performed Npas2 immunohistochemistry in healthy human testis tissue and in Npas2 mutant human testis tissue. Furthermore histopathology of Npas2 mutant testicular tissue was evaluated. This study was approved by the institutional review board at the Baylor College of Medicine, and informed consent was obtained from the participants before enrollment in

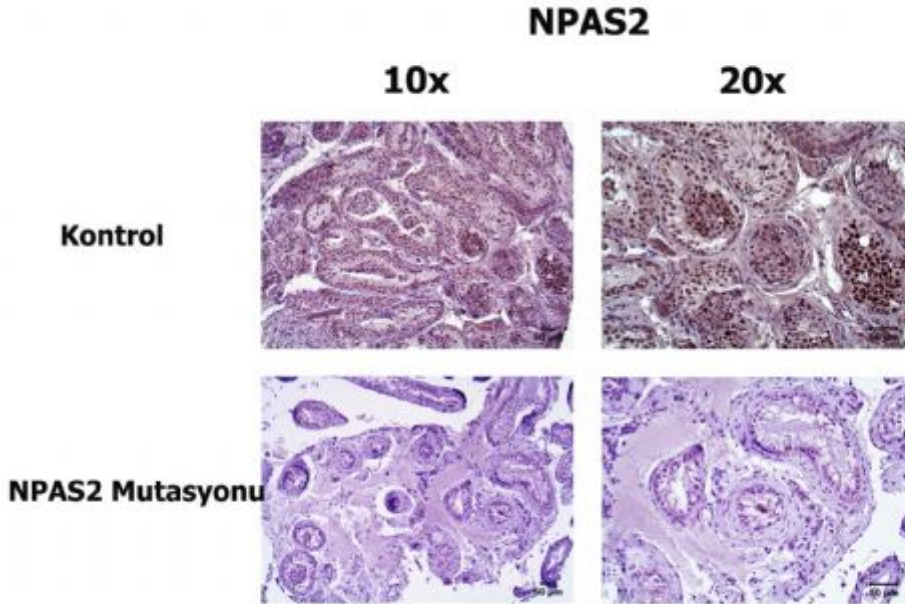
the project.

RESULTS: In human testicular tissue with Npas2 mutation spermatogenesis was disturbed and no sperm was present. Histopathological evaluations showed that most of the seminiferous tubules were Sertoli Cell-only and only few spermatogonia were present. In healthy human testicular tissue, nuclear Npas2 expression was specifically present in spermatogonia and primary spermatocytes undergoing meiosis (Figure 1). Cytoplasmic Npas2 expression was present in Leydig cells.

CONCLUSION: Our study showed in healthy testis tissue with Npas2 expression spermatogenesis occur, however in Npas2 mutant human testicular tissue spermatogenesis is disturbed. Thus, Npas2 have an important role during human spermatogenesis. Future studies investigating how Npas2 is related to human spermatogenesis and which down-stream signals are disturbed by its absence are strongly needed.

Keywords: Human testis tissue, spermatogenesis, Npas2 mutation

Şekil 1
Figure 1



Sağlıklı ve Npas2 mutasyonu olan insan testisinde Npas2 protein ekspresyonu
Npas2 protein expression in healthy and Npas2 mutant human testicular tissue

Kaynakça / References: Alvarez, J.D., Hansen, A., Ord, T., Bebas, P., Chappell, P.E., Giebultowicz, J.M., Williams, C., Moss, S., Sehgal, A., 2008. The circadian clock protein BMAL1 is necessary for fertility and proper testosterone production in mice. *J. Biol. Rhythms* Ramasamy, R., Bakırcıoğlu, M.E., Cengiz, C., Karaca, E., Scovell, J., Jhangiani, S.N., Akdemir, Z.C., Bainbridge, M., Yu, Y., Huff, C., Gibbs, R.A., Lupski J.R., Lamb, D.J., 2015. Whole-exome sequencing identifies novel homozygous mutation in NPAS2 in family with nonobstructive azoospermia. *Fertility and Sterility*.

P081

İnsan Sperm Kriyoprezervasyonunun Sperm Motilite, Morfoloji ve Deoksiribonükleik Asit (DNA) Fragmentasyonuna Etkisinin Araştırılması

Tuğçe Önel¹, İlknur Keskin², Şule Ayla², Tuba Varlı Yelke³, Tuğba Şener Ustabaş³

¹İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Özel Medipol Mega Hastaneler Kompleksi, Embryolog, İstanbul, Türkiye

Sperm kriyoprezervasyonu yardımcı üreme tedavilerinde sık kullanılan bir yöntemdir. Radyoterapi, kemoterapi, bazı maligniteler veya invaziv cerrahi sonucu ejakülatuar disfonksiyon ve testiküler yetmezlik oluşabilir. Bu gibi durumlar sonrasında çiftlere çocuk sahibi olma konusunda yardımcı olabilecek metod sperm kriyoprezervasyonudur. Kriyoprezervasyon (dondurarak saklama); hücrelerin ve dokuların sıfır derecenin altındaki sıcaklığa kadar soğutularak, bütün biyolojik aktivitelerinin durdurulması ve gelecekte kullanılması amacıyla saklanmasıdır 1. En uygun dondurma-çözme protokollerinin uygulanması sonrasında bile genelde çözme işlemi sonucunda %30-50 oranında motilite kaybı gözlenmektedir 2.

Apoptoz, hücrelerin yaşamları boyunca oluşumlarını ve parçalanmalarını dengeleyen programlanmış bir hücre ölümüdür. Apoptoz ile ilgili olarak meydana gelen en önemli değişiklikler; fosfatidilserin çıkışı, DNA fragmentasyonu ve apoptotik maddelerin oluşumudur.3 Yüksek konsantrasyonlarda serbest oksijen radikalleri(SOR) ve antioksidan enzimlerin azalmış aktiviteleri; DNA fragmentasyonu nedeniyle sperm apoptozuna neden olmaktadır.

Çalışmamızda, kriyoprezervasyon öncesi ve sonrası semen örneklerimizde sperm motilitesi, morfolojisi ve DNA fragmentasyonlarının incelenmesi ve karşılaştırılmalarının yapılması amaçlanmıştır.

Çalışmada Dünya Sağlık Örgütü laboratuvar kılavuzuna göre normozoospermik olan 30 insandan alınacak semen örnekleri kullanıldı. Herbir semen örneği için kriyoprezervasyon işlemi öncesinde ve sonrasında sperm motilite ölçümü, morfolojik sperm analizi ve spermatozoa DNA fragmentasyonu incelendi. Dondurma öncesinde ve sonrasında sperm motilitesi, Makler Counting Chamber kullanılarak ışık mikroskobu ile incelendi. Sperm motilite örnekleri WHO Laboratuvar kriterlerine göre değerlendirildi. Sperm stain kiti ile boyanan preparatların morfolojik değerlendirmesi Kruger-Strick kriterlerine göre yapıldı. Dondurma öncesi ve sonrası sperm örneklerindeki DNA fragmentasyonu TUNEL kiti kullanılarak immunofloresan yöntemi ile incelendi.

Kriyoprezervasyon öncesi ve sonrası veriler karşılaştırıldığında; kriyoprezervasyon sonrasında, sperm motilitesinde azalma, morfolojide defektler ve DNA fragmentasyon değerlerinde de anlamlı ölçüde artış olduğu görülmüştür. Elde ettiğimiz sonuçların klinik yönden erkek (in)fertilitesi üzerine yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Sperm, kriyoprezervasyon, motilite, morfoloji, DNA fragmentasyonu

Human Sperm Cryopreservation Effects of Sperm Motility, Morphology and DNA Fragmentation

Tuğçe Önel¹, İlknur Keskin², Şule Ayla², Tuba Varlı Yelke³, Tuğba Şener Ustabaş³

¹Department of Histology and Embryology, Istanbul Medipol University, Institute of Health Sciences, Istanbul, Turkey.

²Department of Histology and Embryology, Istanbul Medipol University School of Medicine, Istanbul, Turkey

³Medipol International Health Center, Embryolog, Istanbul, Turkey

Sperm cryopreservation is a frequently used method of assisted reproduction treatment. Radiotherapy, chemotherapy, some malignancies and even invasive surgery can resulting ejaculatory dysfunction and testicular insufficiency. After these cases are about to have a child for couples can help stop the only proven method of sperm cryopreservation. Cryopreservation:

account for, freezing the cells and tissues to below zero, stopping all the biological activities and keeping them for future use. Even after the implementation of optimum freeze-thaw protocols usually resolve after the loss of motility is observed in %30-50.

Apoptosis is a programmed cell death which balances the formation and degradation of cells throughout their lives. The most significant changes that occur in relation to apoptosis are phosphatidylserine output, DNA fragmentation and formation of apoptotic substances. High concentrations of reactive oxygen species(ROS) and reduced activities of antioxidant enzymes lead to sperm apoptosis due to DNA fragmentation.

In this study,; we aimed to analyze and compare sperm motility, morphology and DNA fragmentation in the semen samples after and before of cryopreservation.

İn this study by the World Health Organization (WHO) laboratory guide semen samples were taken from 30 normozoospermia group is used.. Each semen sample is examined for the same parameters before and after a cryopresevation process. Things examinations; measuring of sperm motility, analysis of sperm morphology and DNA fragmentation. Cryopreservation after and before sperm motility was examined with a light microscope using the Makler Counting Chamber. Sperm motility is going to be analysis based on WHO laboratory criteria. Light microscopic morphological examination was carried out after staining with Spermac stain dye. The stained preparations were examined according to Kruger strict criteria. DNA frafragmentation was examined by the TUNEL kit following the manufacturer's guidelines.

According to the results of the study, data were compared before and after cryopreservation; after cryopreservation, decreased on sperm motility, defects of morphology and significantly increased on DNA fragmentation values.

The results of this study can contribute to further studies on man (in)fertility.

Keywords: Sperm, Cryopreservation, motility, morphology, DNA fragmentation

Kaynakça / References: 1 Zribi, N. et al. Effects of cryopreservation on human sperm deoxyribonucleic acid integrity. *Fertility and sterility* 93, 159-166, doi:10.1016/j.fertnstert.2008.09.038 (2010). 2 Ozkavukcu, S., Erdemli, E., Isik, A., Oztuna, D. & Karahuseyinoglu, S. Effects of cryopreservation on sperm parameters and ultrastructural morphology of human spermatozoa. *Journal of assisted reproduction and genetics* 25, 403-411, doi:10.1007/s10815-008-9232-3 (2008). 3 Glander, H. J. & Schaller, J. Localisation of enzymes in live spermatozoa by CellProbe reagents (preliminary results). *Andrologia* 31, 37-42 (1999).

P082

VEGF ve IL-1'in İnfertilideki Önemi

Yasemin Ersoy Çanilloğlu¹, Evrim Ünsal², Başak Mert³, Ecem Koyuncu³, Canan Hürdağ⁴

¹Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Göztepe, İstanbul, Türkiye

²Yeniüzyıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göztepe, İstanbul, Türkiye

⁴İstanbul Bilim Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Göztepe, İstanbul, Türkiye

Erkeklerde oligozoospermi, astenozoospermi, teratozoospermi ve azoospermi infertilitenin ana sebepleridir. Azoospermi, ejakulatta hiç sperm görülememesi durumudur. Yapılan çalışmalarda, bu hastalarda spermatogenezis sürecinde bir disregülasyon olduğu saptanmıştır, Ayrıca azoospermik hastalarda, Sertoli hücreleri arasında yer alan sıkı bağlantı yapılarında bozukluklar olduğu gösterilmiştir.

VEGF özellikle angiogenez ve vaskulogenezde rol oynayan sinyal proteindir. Erkek genital sisteminde Leydig ve Sertoli hücrelerinde VEGF varlığı gösterilmiştir (1). Bu sinyal proteininin spermatogenezis regülasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra normal spermatogenezis sürecinin oluşumunda ve seminifer tubüllerdeki Sertoli hücreleri arasında oluşan sıkı bağlantı yapılarının oluşumunda görev alan bir diğer faktör de IL-1α'dır (2).

Bu çalışmada, azoospermik hastalarda testis biyopsi işlemi ile alınan dokulardan sperm elde edilebilen ve edilemeyenler arasındaki VEGF ve IL-1α proteinlerinin değişiminin gösterilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda testiküler sperm ekstraksiyonu ile (TESE) elde edilen dokular, sperm elde edilen (n=15) (sperm (+)) ve sperm elde edilemeyen (n=15) hastalar (sperm (-)) olarak iki gruba ayrıldı. Bu gruplara VEGF ve IL-1α immunohistokimyası uygulandı. Sperm (+) hastalarda VEGF ve IL1-α immunreaktivitesi sperm (-) hastalara göre daha fazla gözlemlendi.

Sonuç olarak, VEGF ve IL-1 normal fertil bireylerde normal spermatogenezis sürecinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bizim çalışmamızda da VEGF ve IL-1α, sperm (+) azoospermik hastalarda, sperm (-) azoospermik hastalara oranla daha fazla bulunmuştur. Bu bağlamda normal spermatogenezis oluşumunda ve regülasyonunda bu faktörlerin etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: İnfertilite, VEGF, IL-1, Spermatogenezis

Significance of VEGF and IL-1 in Infertility

Yasemin Ersoy Çanilloğlu¹, Evrim Ünsal², Başak Mert³, Ecem Koyuncu³, Canan Hürdağ⁴

¹Bahcesehir University, School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Goztepe, Istanbul, Turkey

²Yeniüzyıl University, Faculty of Medicine, Departman of Medical Genetics, Istanbul, Turkey

³Bahcesehir University, School of Medicine, Goztepe, Istanbul, Turkey

⁴İstanbul Bilim University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Istanbul, Turkey

For male oligozoospermia, asthenozoospermia, teratozoospermia and azoospermia are the main reasons of infertility. Azoospermia is the situation where no sperms are observed in the ejaculate. The studies show that a disregulation is observed during spermatogenesis stage at these patients. Besides in azoospermic patients, disregulation is observed in the tight junctions structures between the Sertoli cells.

VEGF is a signal protein that plays a role especially in angiogenesis and vasculogenesis. In male genital system the existence of VEGF is shown in Leydig and Sertoli cells (1). This signal protein is thought to play a role the regulation of spermatogenesis. Besides this another factor in the forming stage of the normal spermatogenesis and the tight junctions structures between Sertoli cells in seminiferous tubules is IL-1α (2).

The main purpose of this study is displaying the changes of VEGF and IL-1α proteins between the

tissues that sperm can be and can not be obtained which are taken by testis biopsy from azoospermic patients. For this purpose the tissues which are obtained by testicular sperm extraction (TESE) are divided into two groups which are the tissues which sperm can be obtained (n=15) (sperm (+)) and tissues which sperm can not be obtained (n=15) (sperm (-)). VEGF and IL-1 α immunohistochemistry is applied to these groups. VEGF and IL1- α immunoreactivity is observed more in sperm (+) group compared to sperm (-) group.

As a result VEGF ve IL-1 plays a role in the structuring of normal spermatogenesis stage in normal fertile individuals. In our study VEGF and IL-1 α existed more in sperm (+) azoospermic patients compared to sperm (-) azoospermic patients. In this respect, these factors are effective in the forming and regulation of normal spermatogenesis.

Keywords: Infertility, VEGF, IL-1, Spermatogenesis

Kaynakça / References: 1- Nalbandian A, Dettin L, Dym M, Ravindranath N. Expression of vascular endothelial growth factor receptors during male germ cell differentiation in the mouse. *Biol Reprod.*, Sep; 69(3):985-94, 2003. 2- Pearl P. Y. Lie, C. Yan Cheng, and Dolores D. Mruk. Interleukin-1 α is a regulator of the blood-testis barrier. *FASEB J.*, Apr; 25(4): 1244–1253, 2011.

P083

Deneyel olarak oluşturulmuş diabetik sıçan modelinde transforming growth factor (tgf β), nuclear factor kappa b (nf-kb), heat-schock 90 β (hsp90 β) ve e-cadherin proteinlerinin, testis dokusunda dağılımının histolojik olarak incelenmesi

Pelin Toros¹, Fatih Oltulu², Aydan Çelebiler³, İbrahim Tuğlu⁴, Ayşegül Uysal², Emine Özçınar¹, Hüseyin Aktuğ²

¹İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

³İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir

⁴Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa

Amaç

Diyabetin günümüzde infertiliteye olan etkisi halen tartışılan konular arasındadır. Yapılan daha önceki çalışmalarda, diyabetin testis dokusunda spermatogentik seri hücrelerinde hasarlanmalara sebep olduğu gösterilmiştir. Bizde çalışmamızda Tip 1 diabetli sıçan testis dokularında, TGF β , NF-kB, Hsp90 β ve e-cadherin sinyal yollarının ve hücre adezyon moleküllerinin infertiliteye olan etkisinin, moleküler düzeyde incelenmesi ana amacımızı oluşturmaktadır. Deneyel diyabet oluşturulması sık çalışılan streptozotocin (STZ) ile sağlanmıştır. Ana yollar için TGF- β , NF-kB, e-cadherin, hsp90 β proteinleri histokimyasal ve immünohistokimyasal rutin takip ve boyama prosedürü kullanılarak ışık mikroskopik analiz yapılmıştır. Diyabette oksidatif stres belirteci olarak MDA, GSH ve GPX'in biyokimyasal analizle değerlendirilmiştir. Elde edilecek sonuçlarla, olası hasarlanmalara yönelik, hücresel terapi çalışmalarının kurgulanması planlanmaktadır.

Materyal ve Metod

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme Merkezi'nden, ağırlıkları 250-350 gr. arasında değişen Wistar Albino erkek sıçanlar kontrol ve diyabet oluşturulacak gruplar olmak üzere sınıflandırıldı. Kontrol grubunda; 7 erkek sıçana hiçbir uygulama yapılmamıştır. Diyabetik sıçan grubu için 7 adet erkek sıçana intraperitoneal olarak 55 mg/kg tek doz olacak şekilde 0.1mol/L sodyum sitrat tamponu (pH: 4.7) ile hazırlanmış Streptozotocin (STZ) enjekte edilmiştir. Deney öncesinde sıçanların kan glikoz seviyeleri, kuyruk venlerinden el glukometresiyle ölçülerek belirlenmiştir. 48 saat sonra kuyruk veninden kan ölçümü yapılarak 250 mg/dl üzeri kan-glukoz düzeyine sahip olan denekler diyabet kabul edilmiştir. 15 günün sonunda deney hayvanlarına intramusküler olarak kombine edilmiş anestezi 10 mg/kg xlasine ve 60 mg/kg ketamine hydrochloride verilerek sakrifiye edilip testis dokusu çıkarılmıştır. Alınan dokular histokimyasal ve immünohistokimyasal boyamalar için %10 nötral tamponlu formol içinde fikse edilmiştir. Biyokimyasal analizler için testisler kriyotüpler içerisinde -80°C derin dondurucuda saklanmıştır.

Tartışma ve Sonuç

Araştırmamızda oluşturulan streptozotocin ile indüklenmiş diyabetik sıçan modeli testis histolojik incelemelerinde; spermatogentik seri hücreler ile somatik sertoli hücrelerinde kayıp ve hücreler arası ayrışmalarla karakterize disorganizasyon saptanmıştır. Birçok tübülde lümene dökülmüş atipik hücreler görülmektedir. Literatürler incelendiğinde diyabetik sıçan modelleri ile kısa ve uzun süreli yapılan diyabet çalışmalarının birçoğunda diyabet grubunda spermatogentik hücre serileri ve sertoli hücrelerinde sayısal azalma, tübül dejenerasyonları ve intersitisyel ödem gözlenmiştir. İmmünohistokimyasal bulgular sonucunda, TGF β ve NF-kB ekspresyonu diyabette artmış, Hsp90 β ve e-cadherin ekspresyonu diyabette azalmış bulunmuştur. E-cadherin ekspresyonunun diyabette azalması, başta sertoli hücreleri gibi kan-testis bariyerinde önemli olan hücre gruplarının ve spermatogentik seriye ait hücrelerin olumsuz etkilendiğini göstermektedir. Fibrozis ve skatrizasyonla sonuçlanan değişimler TGF β ekspresyonu ile değerlendirilmiştir. Hücrelerde proliferasyon-apoptozis dengesinde kayıplar olduğu ve bunun da seminifer tübülde tüm seri hücrelerinde anlamlı olduğu ve hücre stabilizasyonunun sekteye uğrayarak oksidatif strese olumsuz yönde etkilendiği çalışmamızda NF-kB ve Hsp90 β molekülleri üzerinden ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, testis, nuclear factor kappa b, heat-schock 90 β

Histologically investigation of transforming growth factor (tgf β), nuclear factor kappa b (nf-kb), heat-shock 90 β (hsp90 β) and e-cadherin proteins on the testicular tissue of experimental induced diabetic rats model

Pelin Toros¹, Fatih Oltulu², Aydan Çelebiler³, İbrahim Tuğlu⁴, Ayşegül Uysal², Emine Özçınar¹, Hüseyin Aktuğ²

¹Izmir University School of Medicine, Department of Histology and Embryology, İzmir

²Ege University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, İzmir

³Izmir University School of Medicine, Department of Medical Biochemistry, İzmir

⁴Celal Bayar University School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Manisa

Diabetes is a chronic disease that casuses metabolic disorders in carbohydrate, fat and protein. High levels of glucose combined with proteins are transformed into glycosylation chemically recyclable products and that conversion increases linearly with blood glucose level. Glucose in walls of blood vessels or interstitial tissues through the collagen and other long-life proteins created glycosylation are transformed irreversible glycation end products after a series of chemical reactions. Diabetes affecting gonadal function, low testosterone levels, testicular dysfunction and formed imparied spermatogenesis has been shown in humans and experimental animals. Streptozotocin (STZ) induced type 1 diabets in rats, in target cells due to reduced insulin receptors, insülin release from pancreas and it's inhibits tryrosine-kinase receptors. As a result of diabetic conditions that causes testicular oxidative stress and result in supression of reproductive activity. This definition of the disease in the axis of cell signalling molecules is still being debated today. Our study; throughout the experiment (15 days) and at the end, are included of testis histologic, molecular, biochemical analysis. Induction of experimental diabetes is provided through frequently studied streptozotosin (STZ). TGF- β , NF-kB, e-cadherin, hsp90 β were selected using routine follow-up was performed histochemical and immunohistochemical staining procedure and light microscopic analysis. MDA, GSH and GPX were selected biochemically Type 1 diabetes in rat testis testes tissue, TGF β , NF-Kb, HSP90 β , e-cadherin signaling pathways and cell adhesion molecules of their effect on infertility, investigation at the molecular level is our main aim. The results to be obtained, for the potential to damage, cellular therapy studies are planned to be constructed. TGF β , NF-kB, Hsp90 β ve e-cadherin proteins can trigger many signaling pathways within the cell. Potential diabetes-related tissue damage to detect for TGF β , to evaluate inflammatory process for NF-kB and Hsp90 β for evaluating the stabilization and analysis of cell-cell adhesion e-cadherin molecules were studied by immunohistochemistry for observation of the potential damage of diabetes. In the diabetic group significant fibrosis and inflammatory changes and loss of series in germ cells are the most prominent findings. TGF β and NF-kB expressionincreased in diabetes, Hsp90 β and e-cadherin expression was found decreased in diabetes. Testicular tissue of experimental diabetes; fibrotic, inflammatory, cell adhesion and stabilization was found to lead to a disturbance situation.

Keywords: Diabetes mellitus, testes, nuclear factor kappa b, heat-shock 90 β

P084

DeneySEL Polikistik Over Sendromunda D Vitamininin Over Üzerine Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi

Latife Seyran Çelik, Yurdun Kuyucu, Ebru Dünder Yenilmez, Abdullah Tuli, Kenan Dağlıoğlu, Ufuk Özgü Mete
Çukurova Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Adana

Polikistik Over Sendromu (PKOS), hiperandrojenizm, oligo veya anovulasyon ve polikistik overler ile karakterize endokrin bir bozukluktur. Bugüne kadar patogenezi tam olarak aydınlatılmayan PKOS'nda semptomlara göre değişen farklı tedavi yaklaşımları uygulanmaktadır. Son zamanlarda D vitamini tedavisi PKOS'lu kadınlarda semptomların giderilmesi için yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve daha çok hormonal ve metabolik düzensizlikler üzerine olan etkisi klinik ve deneysel çalışmaların konusu olmuştur. Ancak D vitamininin PKOS'lu over dokularında histolojik yapı üzerine etkilerini gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda, Dehidroepiandrosteron (DHEA) ile oluşturulmuş PKOS sıçan modelinde uygulanan D vitamini tedavisinin over yapısı üzerine olan etkilerinin ışık ve elektron mikroskopik düzeyde araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, 24 adet prepubertal dişi sıçan kullanıldı. 21 günlük sıçanlardan her grupta 8 hayvan olacak şekilde 3 grup oluşturuldu. 1. gruptaki hayvanlara subkutan 0,2 ml susam yağı+0,01 ml %95 etanol enjekte edilerek kontrol grubu olarak değerlendirildi. 2.gruptaki hayvanlara her gün subkutan 6mg/kg/gün DHEA enjeksiyonu ile PKOS oluşturuldu. 3.gruptaki hayvanlara ise 6 mg/kg/gün DHEA ile PKOS oluşturulurken aynı zamanda haftada bir 120ng/100gr 1,25(OH)2D3 tedavisi uygulandı. 28 günün sonunda anestezi altındaki sıçanlardan alınan kan örneklerinde FSH, LH ve testosteron seviyeleri ölçüldü. Over dokuları ışık mikroskop ve transmisyon elektron mikroskop ile incelendi.

Çalışmamızda; serum FSH, LH değerleri, LH/FSH oranı ve testosteron düzeyi PKOS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterirken; tedavi grubunda FSH, LH değerleri, LH/FSH oranı ve testosteron düzeyi PKOS grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Işık mikroskopik olarak PKOS grubunda atretik ve kistik folikül sayısında artma görülürken, elektron mikroskopta granüloza tabakası belirgin şekilde incelmış ve teka tabakası kalınlaşmış kistik folikül yapıları ve interstisyel hücrelerde lipid birikimi izlendi. Vitamin D tedavisi sonucu atretik ve kistik foliküller sayıca azalmıştı.

Sonuç olarak; D vitamininin PKOS'nda gözlenen hormonal ve yapısal değişiklikler üzerine olumlu etkileri bulunduğu ancak uzun süre kullanımının daha yararlı olabileceği kanaatine varıldı. Uzun süreli D vitamini tedavisinin etkilerini gösteren çalışmaların yapılması ve buna yönelik bilgilerin artmasıyla PKOS'na sahip hastalar için bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilebileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: DHEA, D vitamini, ışık mikroskop, PKOS, transmisyon elektron mikroskop

Effects of vitamin D on ovary in experimental polycystic ovary syndrome: A light and electron microscobic study

Latife Seyran Çelik, Yurdun Kuyucu, Ebru Dünder Yenilmez, Abdullah Tuli, Kenan Dağlıoğlu, Ufuk Özgü Mete
Department of Histology and Embryology, Çukurova University, Adana, Turkey

Polycystic Ovary Syndrome(PCOS) is an endocrine disorder characterized by hyperandrogenism, oligo or anovulation and polycystic ovarian morphology. The pathogenesis of PCOS are not fully understood and different treatment approaches are applied according to the symptoms. Recently, vitamin D treatment have been widely used for reducing the symptoms of PCOS and effects of this treatment on hormonal and metabolic abnormalities are heavily researched in clinical and experimental studies. However, there is no light and electron microscopic study in the literature which exhibits the effects of vitamin D on the ovarian tissues of patients with PCOS. In our study; we aimed to investigate the effects of vitamin D treatment on ovary tissues in a rat model of PCOS with DHEA administration using light and electron microscopy techniques.

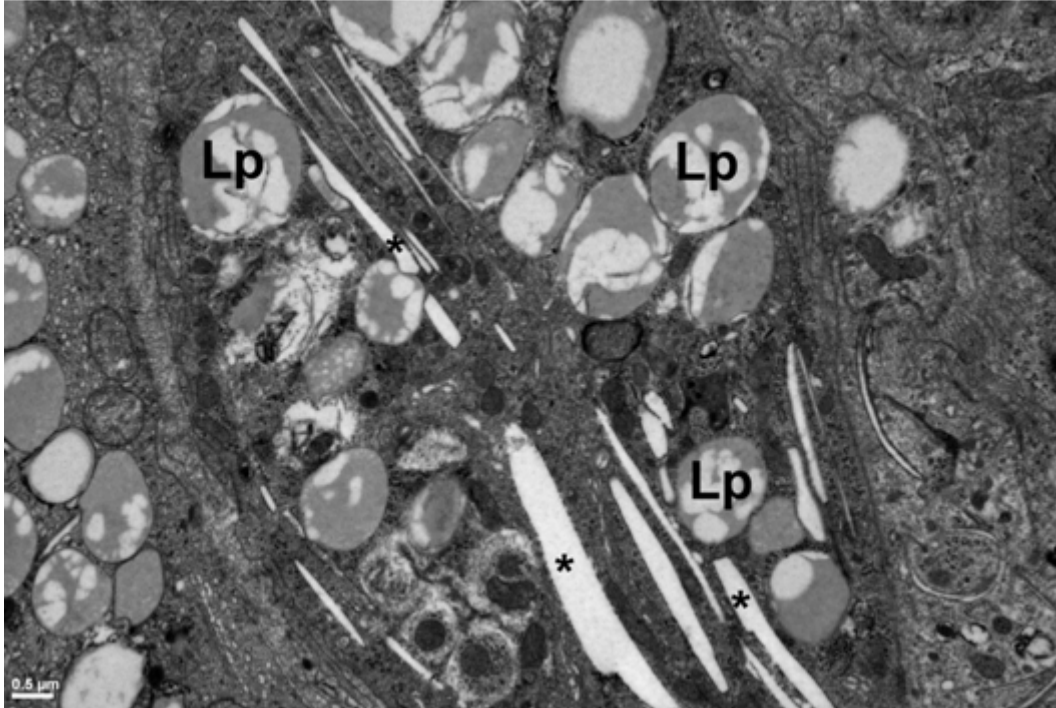
In our study, 21 days old 24 female prepubertal rats were used and divided into 3 groups each consisted of 8 animals. In group 1, 0.2 ml sesame oil+0.01 ml 95% ethanol was injected subcutaneously and used as control group. In group 2, PCOS was created by the injection of 6 mg/kg/day DHEA subcutaneously. In group 3, PCOS was created by 6 mg/kg/day DHEA and at the same time 120ng/100g 1,25(OH)2D3 treatment was performed weekly. At the end of the 28th day, the blood samples were collected from rat under anesthesia and FSH, LH and testosterone levels were measured. The ovarian tissue samples were analyzed with light microscope and transmission electron microscope.

In our study; FSH, LH levels, LH/FSH ratio and testosterone levels showed a significant increase in PCOS group when compared with the control group. Moreover FSH, LH levels, LH/FSH ratio and testosterone levels were significantly lower in the treatment group than the PCOS group. In PCOS group, increased number of atretic follicles and cystic follicles were seen with light microscopic analysis. Cystic follicles with attenuated granulosa layers and thickened theca cell layers and lipid accumulation in interstitial cells were observed by electron microscope. It is observed that atretic and cystic follicles were decreased as a result of the vitamin D treatment.

In conclusion; although positive effects of vitamin D is found on hormonal and structural changes, we thought that long-term use of vitamin D may be more beneficial in PCOS. In addition further studies are needed to clarify the effects of long-term vitamin D treatment and could be considered as a viable treatment option for PCOS patients with the advancing knowledge about the effects of vitamin D.

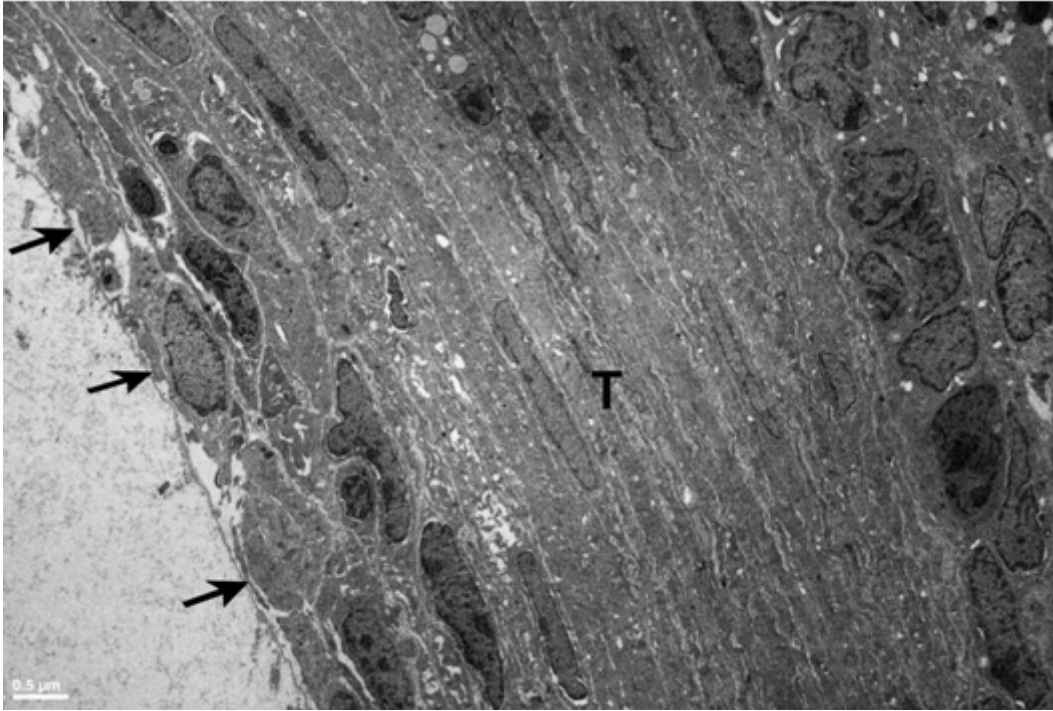
Keywords: DHEA, light microscopy, transmission electron microscopy, PCOS, vitamin D

**pkos grubuna ait interstisyel alan kesiti
interstitial area section from pcos ovary**



İnterstisyel hücrelerde lipid damlacıklarının (Lp) arasında, çok sayıda poligonal ve fusiform şekilli kolesterol kristallerinin () bulunduğu görülmekte
polygonal and fusiform shaped cholesterol crystals (*) shown between lipid droplets (Lp) in interstitial cells*

**pkos grubuna ait kistik folikül kesiti
cystic follicle section from pcos ovary**



Kistik folikülde granuloza hücrelerinin yassılaştığı (oklar), granuloza hücre tabakasının inceldiği ve teka tabakasının (T) oldukça kalınlaştığı izlenmekte
Notice the flattened granulosa cells (arrows), thinner granulosa cell layer and thicker theca cell layer (T) in cystic follicle

**pkos grubuna ait over kesiti
ovary section from pcos ovary**



Normal yapıdaki primer foliküller (PF), atretik foliküller (AtF) ve antrumları (A) oldukça genişlemiş, granuloza hücre tabakaları (G) incelmış çok sayıda kistik folikül (KF) gözlenmekte.
primary follicles (PF) with normal morphology, atretic follicles (AtF), and many cystic follicles (CF) with thinner granulosa cell layers (G) and enlarged antrum (A) are seen

Gruplara göre FSH, LH, LH/FSH ve testosteron dağılımları

FSH LH LH/ FSH Testosteron

Kontrol grubu (n=8)	7,26±1,05 7,25(5,8-8,8)	6,78±3,01 6,75(3,7-9,9)	0,94±0,41 0,9(0,5-1,5)	0,61±0,17 0,56(0,47-0,98)
PKOS grubu (n=8)	8,61±0,78 8,45(7,8-9,9)	67,21±23,93 60,3(43-110,8)	7,75±2,49 7,1(5-11,6)	13,74±9,51 13,55(2,43-25,6)
Tedavi grubu (n=8)	7,39±0,66 7,4(6,3-8,4)	42,33±12,26 43,3(23,4-60)	5,84±1,96 5,7(2,8-8,5)	4,96±2,52 4,45(2,40-9,70)

serum FSH, LH, LH/FSH and testosterone ranges according to the groups

	FSH	LH	LH/ FSH	Testosterone
Control group (n=8)	7,26±1,05 7,25(5,8-8,8)	6,78±3,01 6,75(3,7-9,9)	0,94±0,41 0,9(0,5-1,5)	0,61±0,17 0,56(0,47-0,98)
PCOS group (n=8)	8,61±0,78 8,45(7,8-9,9)	67,21±23,93 60,3(43-110,8)	7,75±2,49 7,1(5-11,6)	13,74±9,51 13,55(2,43-25,6)
Treatment group (n=8)	7,39±0,66 7,4(6,3-8,4)	42,33±12,26 43,3(23,4-60)	5,84±1,96 5,7(2,8-8,5)	4,96±2,52 4,45(2,40-9,70)

Kaynakça / References: 1. Sirmans S M, Pate K A. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clinical Epidemiology*, 2014; 6 1–13. 2. Talbott E O, Zborowski J V, Boudraux M Y. Do women with polycystic ovary syndrome have an increased risk of cardiovascular disease? Review of the evidence. *Minerva Ginecol*, 2004; 56: 1 27-39. 3. Alexander C J, Tangchitnob E P, Lepor N E. Polycystic ovary syndrome: a major unrecognized cardiovascular risk factor in women. *Rev Cardiovasc Med*, 2009; 10 2: 83-90. 4. Wehr E, Pilz S, Schweighofer N, Giuliani A, Kopera D, Pieber T R, Pietsch O B. Association of hypovitaminosis D with metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology*, 2009; 161 575–58. 5. Krul-Poel Y H M, Snacke C, Louwers Y, Lips P, Lambalk C B, Laven J S E, Simsek S. The role of vitamin D in metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome: a systematic review. *European Journal of Endocrinology*, 2013; 169 853–865. 6. Pludowski P, Holick M F, Pilz S, Wagner C L, Hollis B W, Grant W B, Shoenfeld Y, Lerchbaum E, Llewellyn D J, Kienreich K, Soni M. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality—A review of recent evidence. *Autoimmunity Reviews*, 2013; 12: 976–989. 7. Pinar H. Kodaman. Statins: Do they have potential in the treatment of polycystic ovary syndrome? *Semin Reprod Med.*, 2008; 26 1: 127–138. 8. Zhang X, Zhang C, Shen S, Xia Y, Yi Long, Gao Q, Wang Yong. Dehydroepiandrosterone induces ovarian and uterine hyperfibrosis in female rats. *Human Reproduction*, 2013; 3074–3085. 9. Lai H, Jia X, Yu Q, Zhang C, Qiao J, Guan Y, Kang J. High-Fat Diet Induces Significant Metabolic Disorders in a Mouse Model of Polycystic Ovary Syndrome. *Biol Reprod.*, 2014; 91 5: 127. 10. Tessaro I, Modena S C, Franciosi F, Sivelli G, Terzaghi L, Lodde V, Luciano A M. Effect of oral administration of low-dose follicle stimulating hormone on hyperandrogenized mice as a model of polycystic ovary syndrome. *Journal of Ovarian Research*, 2015; 8: 64. 11. Jones G, Strungell S A, Deluca H F. Current Understanding of the Molecular Actions of Vitamin D. *PHYSIOLOGICAL REVIEWS*, 1998; 1194-1221. 12. Kinuta K. Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, Seino Y. Vitamin D Is an Important Factor in Estrogen Biosynthesis of Both Female and Male Gonads. *Endocrinology*, 2000; 141 4: 1317-24. 13. Okutsu Y, Itoh MT, Takahashi N, Ishizuka B. Exogenous androstenedione induces formation of follicular cysts and premature luteinization of granulosa cells in the ovary. *Fertil Steril*, 2010; 93 3: 927-35.

P085

Diyabetin Dişi Sıçan Uterus Dokusunda Nitrik Oksit Sentaz Üzerine Etkisinin Araştırılması

Derya Karabulut, Mehmet Fatih Sönmez

Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Diyabetes Mellitus (DM) nefropati, retinopati, kardiyomyopati, nöropati ve infertilite gibi kronik komplikasyonlar ile ilişkili yaygın metabolik bir bozukluktur. Bu çalışmada diyabetik dişi sıçanların uterus dokusundaki NOS ekspresyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada 40 adet erişkin Wistar-albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele her grupta 10 sıçandan oluşan 4 gruba ayrıldı. Grup K: Kontrol grubu, Grup DI: Bir aylık diyabetik sıçanlar, Grup DII: İki aylık diyabetik sıçanlar, Grup DIII: Üç aylık diyabetik sıçanlar. Hayvanlara diyabet oluşturmak için 40 mg/kg intraperitoneal streptozotosin (STZ) uygulandı. Kan glukoz seviyesi 250 mg/dl üzerinde olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Deney sonunda uterus dokusunda nNOS, iNOS ve eNOS ekspresyonu ve TUNEL, kan örneklerinde LH, FSH ve östrojen hormonları için ELISA yapıldı.

Deney sonunda diyabetik gruplarda uterus epitel boyunda, endometriyum bağ dokusunda, myometriyum duvar kalınlığında ve apopitoziste azalma gözlemlendi. nNOS ve eNOS immünreaktivitesi tüm diyabetik gruplarda artmıştı ancak iNOS immünreaktivitesinde bir değişiklik gözlemlenmedi. Serum FSH seviyesi diyabetik ikinci ayda artış gösterdi, ancak serum LH ve östrojen seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmadı.

Sonuç olarak DM uterus dokusunda morfolojik hasar oluşturmakta ve özellikle nNOS ve eNOS enzimleri de bu hasara aracılık etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabetes Mellitus, nNOS, iNOS, eNOS, Uterus, Sıçan.

Investigation Effects Of Diabetes On Nitric Oxide Synthase In Female Rat Uterus Tissue

Derya Karabulut, Mehmet Fatih Sönmez

Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Diabetes mellitus (DM) is a common metabolic disorder which is associated with chronic complications such as nephropathy, retinopathy, cardiomyopathy, neuropathy and infertility. In this study was aimed to investigate of NOS expression in uterine tissue of diabetic female rats.

In this study, 40 adult Wistar-albino female rats were used. The rats were randomly assigned to four groups of ten rats per group. Group C: served as control, Group DI: one month diabetic rats, Group DII: two month diabetic rats, Group DIII: three month diabetic rats. Animals were received 40 mg/kg intraperitoneal streptozotosin (STZ) to create diabetes. Blood glucose levels were over 250 mg/dl considered as diabetic rats. At the end of experiment nNOS, iNOS ve eNOS expression and TUNEL were examined in uterus tissue, also blood samples were evaluated with ELISA for hormones LH, FSH and estrogen.

At the end of the experiments, in the diabetic groups' uterine epithelium, connective tissue of the endometrium, myometrium wall thickness and the number of apoptotic cells were decreased compared to the group C. Immunohistochemically, increased nNOS and eNOS expression was observed in diabetic groups, but iNOS expression was similar to group control. Serum FSH level was increased in group DII, but serum LH and estrogen levels was not observed any change. As a result, DM is caused morphologic damage on uterus tissue, also especially nNOS and eNOS contributes to this damage.

Keywords: Diabetes Mellitus, nNOS, iNOS, eNOS, Uterus, Rat.

P086

E Vitamininin Şıçanlarda Nikotine Bağlı Ovaryum Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi

Zehra Sezer¹, Tuğba Ekiz Yılmaz¹, Zeynep Banu Güngör², Emine Elif Güzel¹

¹İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

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

Nikotin serbest radikallerin oluşumuna yol açarak oksidatif hasara sebep olmaktadır (1). Üreme için gerekli olan E vitamini doğada bulunan etkili bir antioksidandır (2). Çalışmamızda, kadınlarda özellikle son yıllarda artan tütün tüketimi (3) sebebiyle ovaryumdaki nikotinin sebep olduğu hasarları ve bunların oluş mekanizmasını ve bu hasarlar üzerine E vitamininin etkilerini incelemek amaçlandı.

Çalışmamızda deney gruplarındaki hayvanlara (12 haftalık dişi Wistar şıçanlar) nikotin, E vitamini ve nikotin+vitamin uygulaması intraperitoneal olarak yapıldı. Hayvanların serumlarında 17β-östradiol, lipit hidroperoksit (LPO) ve malondialdehit MDA seviyeleri ölçüldü. Ovaryumların parafin kesitlerinde H+E boyaması ve 4-HNE (4-Hidroksinonenal), Ki-67, TUNEL işaretlemeleri yapıldı. Folikül sayımı yapıldı ve immünohistokimyasal değişiklikler H-skor, proliferatif ve apoptotik skor analizleri ile skorlanarak değerlendirildi. Ovaryumun araldit kesitlerinde ultrasrütürel değişiklikler incelendi. Veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Nikotin uygulaması, serumdaki LPO ve MDA seviyelerini arttırırken, östrojen seviyesini azalttı; ovaryum foliküllerinin sayısında azalmaya sebep olurken, granüloza hücrelerinde Ki-67 işaretlenmesini azalttı ve 4-HNE ile TUNEL işaretlenmelerini arttırdı. Nikotin+vitamin uygulaması nikotin grubuna kıyasla, serum östrojen seviyesini arttırdı, LPO ve MDA seviyelerini azalttı; folikül sayısını ve granüloza hücrelerindeki Ki-67 işaretlenmesini arttırdı; 4-HNE ve TUNEL işaretlenmelerini azalttı. Ultrastrütürel olarak nikotin uygulaması ile granüloza hücrelerinde apoptozun arttığı, ancak bu durumun nikotin+vitamin uygulaması sonucu hafiflediği izlendi. Sonuç olarak, bulgularımız nikotinin ovaryumda granüloza hücrelerinin proliferasyonunu azaltıp apoptotik süreci arttırdığını ve bunların sonucunda ovaryum foliküllerinin sayısında azalmaya sebep olduğunu göstermiştir. Nikotinin folikülogenezde ve streoidogenezde sebep olduğu oksidatif stres kaynaklı olumsuz etkileri, granüloza hücrelerinde meydana gelen lipit peroksidasyon sonucunda gerçekleştirdiğini ve E vitamininin lipit peroksidasyonu azaltarak nikotinin etkisini hafiflettiğini hem immunohistokimyasal olarak hem de ultrastrütürel düzeyde göstermiş bulunmaktayız. Folikülogenez ve streoidogenez sürecinde, nikotin tarafından hedef alınan granüloza hücrelerinde gerçekleşen hasarlarda E vitamininin iyileştirici etkisi ile fertilitenin korunmasına yönelik farmakolojik tedavi seçeneklerine yeni bir bakış açısı sağlanabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Ovaryum, Folikülogenez, Nikotin, E vitamini, Oksidatif stres, Mikroskop

Light and Electron Microscopic Evaluation of the Effects of Vitamin E on Nicotine-induced Ovarian Damage in Rats

Zehra Sezer¹, Tuğba Ekiz Yılmaz¹, Zeynep Banu Güngör², Emine Elif Güzel¹

¹Department of Histology and Embryology, Medical Faculty of Cerrahpasa, Istanbul University, Istanbul, Turkey

²Department of Biochemistry, Medical Faculty of Cerrahpasa, Istanbul University, Istanbul, Turkey

Nicotine causes the formation of free radicals and oxidative damage (1). Vitamin E which is required in reproduction is a potent antioxidant found in nature (2). In our study, due to increasing tobacco consumption in women (3) in especially recent years it was aimed to examine the nicotine induced damage in ovary, its mechanisms and the curative effects of vitamin E on these damages. In our study, rats (12 week old- Wistar female rats) were treated with nicotine (intraperitoneal) and vitamin E (intraperitoneal) alone or in combination in experimental groups. Levels of 17β-estradiol, lipid hydroperoxide (LPO) and malondialdehyde (MDA) were measured in serum of the animals. H+E staining and labeling of Ki-67, 4-HNE (4-hydroxynonenal) and TUNEL in paraffin

sections of the ovaries was performed, immunohistochemical changes were assessed by scoring system. Ultrastructural changes in araldite sections of ovaries were evaluated with the electron microscopy. The data were compared statistically.

Decreased estrogen level and increased levels of LPO and MDA in serum; decreased the number of ovarian follicles and Ki-67-labeling in granulosa cells of follicles; increased 4-HNE immunoreactivity and TUNEL-labeling were observed in nicotine-treated rats. In these animals, nicotine co-treatment with vitamin E significantly reduced the increased levels of LPO and MDA in serum and 4-HNE immunoreactivity and TUNEL-labeling in ovary sections; significantly increased serum estrogen level, the number of ovarian follicles and Ki-67-labeling in granulosa cells of follicles. Vitamin E demonstrated positive and curative effect on biochemical and histological parameters compared to the control group. Ultrastructurally, frequent apoptotic profiles were observed in granulosa cells in follicles in nicotine group and vitamin E co-administration led to ultrastructural alleviation of apoptotic process.

In conclusion, our biochemical, immunohistochemical and ultrastructural level findings demonstrated that oxidative stress-induced adverse effects caused by nicotine in folliculogenesis and steroidogenesis occur via lipid peroxidation in granulosa cells. Our data suggest that vitamin E may represent an alternative of pharmacologic treatment for preserving fertility owing to its beneficial effects on the nicotine induced damages occurred in the granulosa cells.

Keywords: Ovary, Folliculogenesis, Nicotine, Vitamin E, Oxidative stres, Microscope

Kaynakça / References: 1. Ashakumary, L. ve Vijayammal, P.L. (1991). Lipid peroxidation in nicotine treated rats. *Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring*, 1, 283–290 2. Evans, H.M. ve Bishop, K.S. (1922). On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science*, 56, 650–651 3. Aten, R.F., Kolodecik, T.R. ve Behrman, H.R., (1994). Ovarian Vitamin E accumulation: Evidence for a role of lipoproteins. *Endocrinology*, 135, 533–539

P087

Neonatal Dönemde Dişi Ratlara Uygulanan Bisfenol A'nın Tuba Uterina'da Oluşturduğu Değişikliklere Karşı Melatonin'in Olası Etkisinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi

Selen Akgöz, Celal Ilgaz, Deniz Erdoğan, Suna Ömeroğlu, İsmail Türkoğlu, Cemile Merve Seymen
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

AMAÇ: Çalışmamızda gıda ve içecek ambalajlama gereçlerinde ham madde olarak sıklıkla kullanılan ve son yıllarda yapılan araştırmalara göre ambalaj materyallerinden gıda maddelerine geçerek insan ve hayvanlarda hasara neden olan Bisfenol A (BPA) ve antioksidan olarak yeğlenen melatonin'in neonatal dönemde tuba uterina dokusu üzerine olası koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

METOD: 24 adet Wistar albino cinsi yenidoğan dişi sıçan, her grupta 6 denek olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. 1.Grup: Kontrol, 2.Grup: BPA (100 mg/kg), 3.Grup: Melatonin (10 mg/kg), 4.Grup: BPA+Melatonin (100 mg/kg+10 mg/kg) olarak belirlendi. Deneklerin vajinal açıklıkları ölçülerek, smear örnekleri incelendi. Gelişimlerinin 70. gününde feda edilen deneklerin tuba uterina dokuları alındı ve alışımlı ışık mikroskopik izleme yöntemlerinden geçirildi. Kesitler Hematoksilen-Eozin ve Masson Trikrom yöntemi ile boyandı. Deneklerin vücut ağırlıkları, tuba uterina dokusuna ait epitel boyu ve duvar kalınlıkları ölçülerek elde edilen veriler istatistiksel olarak da desteklendi.

BULGULAR: Yapılan incelemeler doğrultusunda; BPA uygulamasının sıçanlarda puberteyi öne çektiği, BPA ile birlikte melatonin uygulamasının ise puberteyi geciktirdiği vajinal açıklık ve smear tayini ile tespit edildi. Gruplar arasında deneklerin vücut ağırlıkları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Tuba uterina dokusu üzerinde yapılan histolojik incelemeler sonucunda, BPA uygulaması sonucu mukozal katlantıların lamina propria içerisine doğru uzanarak kistik yapılar oluşturduğu ve epitelin yer yer çok katlı görünüm aldığı belirlendi. Silyaların bazı alanlarda birleştiği ve bazı alanlarda ise tamamen kaybolduğu gözlemlendi. Serozal katmanın BPA uygulaması ile birlikte kalınlaştığı en dikkat çekici bulgu olarak nitelendirildi. Bu veri, yapılan duvar kalınlığı ölçümleri sonucu istatistiksel olarak da desteklendi.

SONUÇ: Melatonin uygulamasının, BPA'nın neden olduğu bu değişimler üzerinde belirgin derecede korunma sağladığı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A, Melatonin, Tuba uterina

Histopathologic Examination Of Possible Effects Of Melatonin Against The Alternation On Tuba Uterina Of Neonatal Exposure To Bisphenol A In Female Rats

Selen Akgöz, Celal Ilgaz, Deniz Erdoğan, Suna Ömeroğlu, İsmail Türkoğlu, Cemile Merve Seymen
Gazi University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

AIM: The purpose of this study is to investigate the possible protective effects of melatonin on the tuba uterina in the neonatal period. Melatonin is preferred as an antioxidant against Bisphenol A (BPA) that is frequently used as the raw material in food and drink packaging materials and that has been found to cause injury in humans and animals by migrating from packaging materials to the food stuff, according to the recent study.

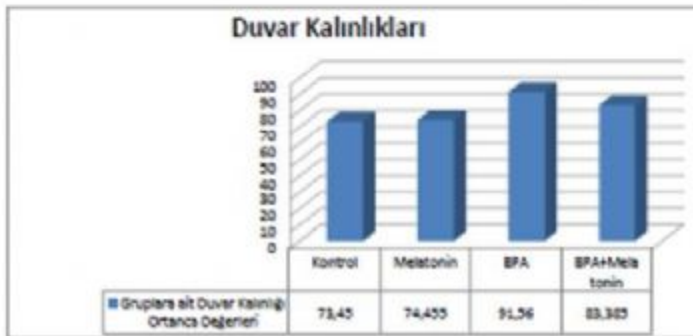
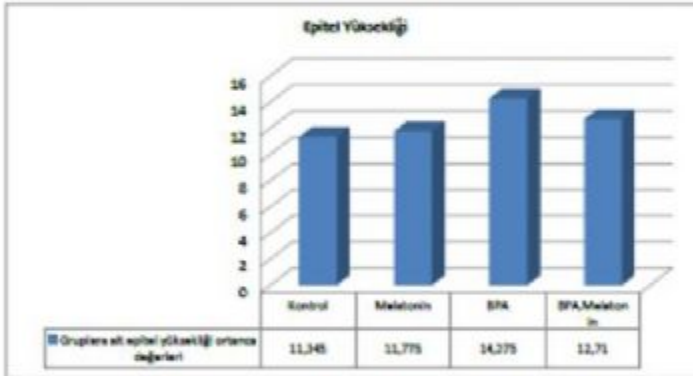
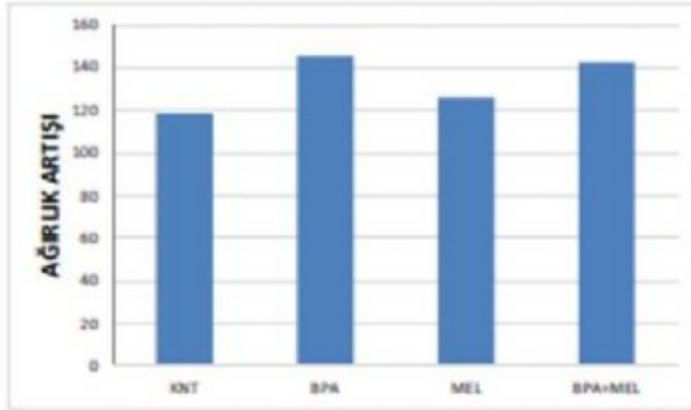
METHODS: 24 Wistar albino neonatal female rats were divided into 4 groups, each including 6 rats: 1. Group: Control, 2. Group: BPA (100 mg/kg), 3. Group: Melatonin (10mg/kg), 4. Group: BPA+Melatonin (100mg/kg+10mg/kg). The vaginal patency of subjects was measured and smear samples were examined. Uterine tube tissues of subjects, which have been sacrificed on the 70th day of their development, were sampled and processed by usual light microscopic studies. Sections were stained by Hematoxylin-Eosin and Masson's trichrome methods. The data obtained by measuring subjects' body weight, epithelial height and wall thickness were also supported statistically.

RESULTS: It was found that BPA induction causes precocious puberty whereas Melatonin and BPA induction postpones puberty by assessing their vaginal patency and smear. There were no significant differences between groups with respect to the body weight of subjects. Following the

histological examinations on the uterine tube tissues, it was determined that mucosal residues formed cystic structures by reaching into lamina propria, and epithelium sporadically became stratified as a result of BPA induction. It was also observed that the cilia were merged in some areas while totally disappeared in others. Thickening of the serosal layer was described as the most remarkable finding. This finding is also statistically supported by measuring wall thickness. CONCLUSION: It was concluded that melatonin administration provides a significant protection against BPA-related changes.

Keywords: Bisphenol A, Melatonin, Tuba uterina

Grafik 1
Graphic 1



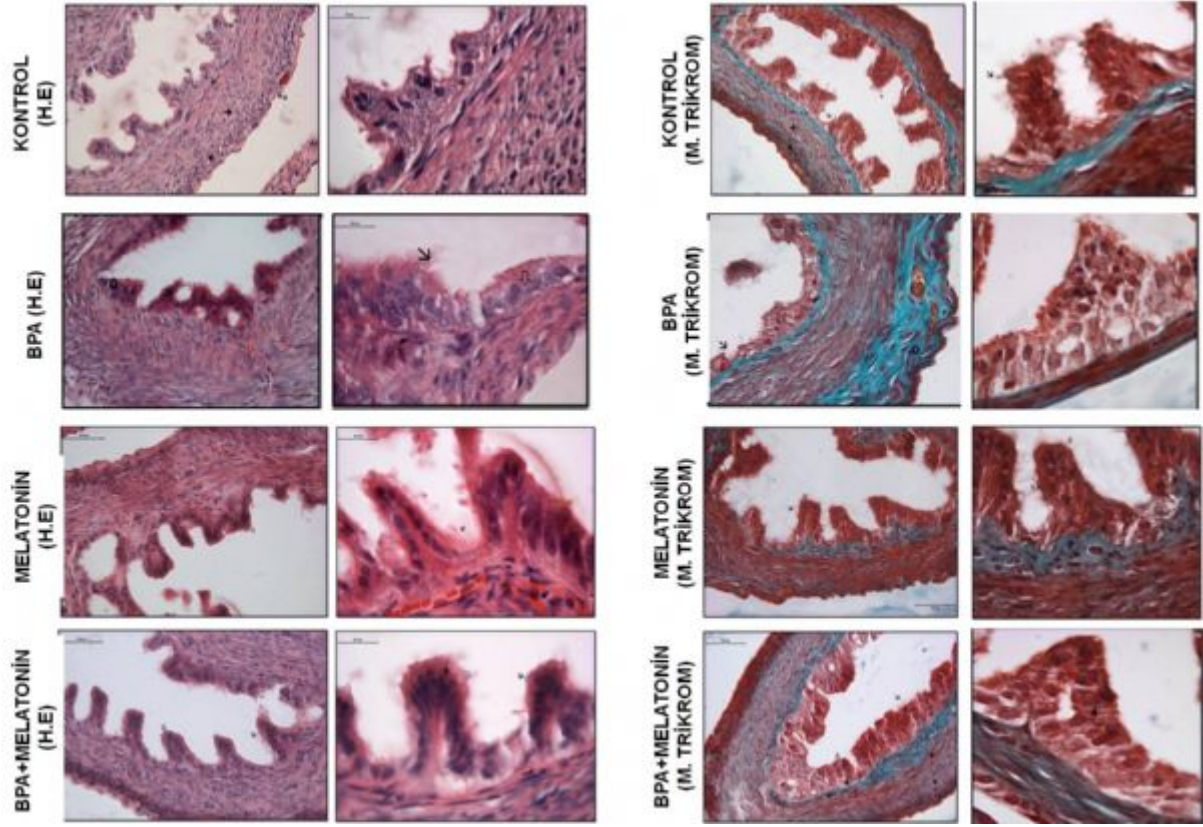
İstatistiksel grafikler
Statistical graphics

Resim 1
Figure 1



Vajinal açıklık ve smear örneği
Vaginal space and smear sample

Resim 2
Figure 2



*Tüm gruplara ait Hematoksilen Eozin ve Masson Trikrom boyamaları
Hematoxylen Eosine and Masson's Trichrome stainings of all groups*

P088

Kronik Cep Telefonu Radyasyonu ve Koruma Amaçlı Uygulanan Melatonin'in Serviks Üzerine Etkisi

Aslı Demiratan¹, Celal Ilgaz¹, Deniz Erdoğan¹, Gülnur Take Kaplanoğlu¹, Çiğdem Elmas¹, Iskender Kaplanoğlu², Bahriye Sirav³, Cemile Merve Seymen¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tüp Bebek Kliniği, Ankara, Türkiye

³Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

AMAÇ: Çalışmamızda elektromanyetik alana kronik etkin kalmanın serviks dokusunda oluşturabileceği yapısal değişiklikler ve bunlara melatonin' in koruyucu etkisinin incelenmesi amaçlandı.

METOD: 24 adet Wistar albino cinsi dişi sıçan 4 eşit gruba ayrıldı. 90 günlük deney süresince; kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmazken, 2.gruba her gün derialtı melatonin uygulaması, 3.gruba her gün 30 dk 2100MHz radyasyon uygulaması, 4.gruba ise radyasyon uygulamasından 40 dk önce derialtı melatonin ve 30 dk radyasyon uygulaması yapıldı ve deneklerin vücut ağırlıkları hergün ölçülerek kaydedildi. Deney bitiminde yüksek doz anestezi altında feda edilen deneklerden serviks dokuları alındı, ağırlıkları ölçüldü ve histolojik izleme yöntemlerinden geçirildi.

Hematoksilen-Eozin ve Fas-Ligand immün boyaları uygulanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Vücut ağırlıkları ve serviks ağırlıklarının yanı sıra, epitel ve duvar kalınlığı ölçülerek apoptotik hücreler de sayıldı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. **BULGULAR:** Hematoksilen-Eozin boyamaları sonucu yapılan değerlendirmelerde, radyasyon uygulamasının serviks üzerinde en belirgin olarak epitel düzenleniminde ve özellikle üst katmanlardaki hücrelerde bozulmaya yol açtığı ve metaplazik değişimlere neden olduğu belirlendi. Bezlerde yapısal değişim ve bez lümeninde salgı birikimi dikkati çekerken, metaplazik değişim bölgelerinde lamina propria' nın da daha yoğun yapıda olduğu gözlemlendi. Uygulamanın serviks epitel kalınlığında ve duvar boyunda artışa neden olduğu saptandı. Apoptozis' in belirlenmesi amacı ile yapılan Fas-Ligand immün boyamalarında, en fazla tutulumun radyasyon uygulanan grupta ve özellikle metaplazik epitelde olduğu ve yalnızca melatonin uygulanan grup ile radyasyon ve melatonin' in birlikte uygulandığı gruplarda tutulumun kontrol grubuna benzer olduğu dikkati çekti.

SONUÇ: Melatonin uygulamasının, radyasyonun neden olduğu bu değişimler üzerinde belirgin derecede korunma sağladığı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Cep telefonu, Radyasyon, Melatonin, Serviks

Investigation The Effects Of Chronic Mobile Phone Radiation And Melatonin Used For Protection Purpose On The Cervix Tissue

Aslı Demiratan¹, Celal Ilgaz¹, Deniz Erdoğan¹, Gülnur Take Kaplanoğlu¹, Çiğdem Elmas¹, Iskender Kaplanoğlu², Bahriye Sirav³, Cemile Merve Seymen¹

¹Gazi University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

²Etlik Zubeyde Hanım Women's Health Teaching and Research Hospital, Center for Assisted Reproduction, Ankara, Turkey

³Gazi University Faculty of Medicine, Department of Biophysics, Ankara, Turkey

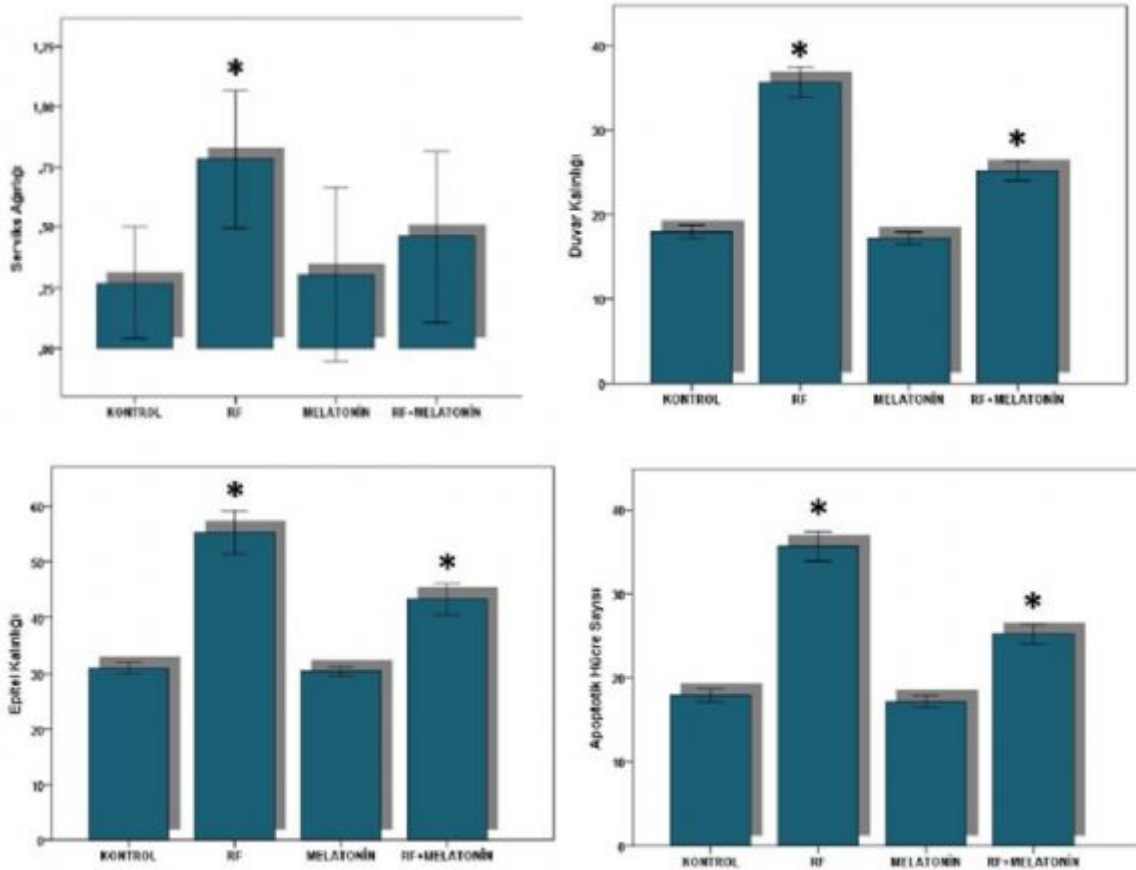
AIM: In this study our aim is to investigate the possible effects to stay active chronic electromagnetic field and the protective effects of melatonin on the structures of cervix tissue. **METHODS:** 24 female Wistar albino rats were divided into 4 equal groups. Throughout in 90-day experiment, there has been no application to control group while subcutaneous daily melatonin was enjected to the 2nd group. 2100-MHz radiation for 30 minutes in every day applied to the 3rd group. Subcutaneous melatonin enjection was applied 40 minutes before radiation and then radiation was applied for 30 minutes to the 4th group. Body weights of subjects were measured and recorded every day. At the end of the experiment, cervix tissues were taken from subjects

which was sacrificed under high-dose anesthesia, their weights were measured, and histological monitoring methods were applied. Hematoxylin-Eosin staining and Fas-Ligand immun staining were performed and evaluated under a light microscope. As body weight, the thickness of the wall and the epithelium were measured and apoptotic cells were also counted and evaluated statistically. RESULTS: In the examinations of Hematoxylin - Eosin stainings it was determined that, radiation lead to deterioration on epithelial organization and especially in the cells of the upper layers and cause some metaplastic changes. Some structural changes occurred in the glands and the accumulation of secretions in the gland lumen was noticed. The lamina propria was observed that more dense structure in the region of metaplastic changes. Cervix epithelium and the wall thickness was found to increase in size because of radiation application. Fas-Ligand immunostaining which was performed to determination of apoptosis, showed maximum involvement in the radiation group and especially in the metaplastic epithelium. The involvement were similar to control group in melatonin applied group and also in the group of melatonin and radiation were applied together.

CONCLUSION: It was concluded that, the application of melatonin caused to protection significantly on these changes which was caused by radiation.

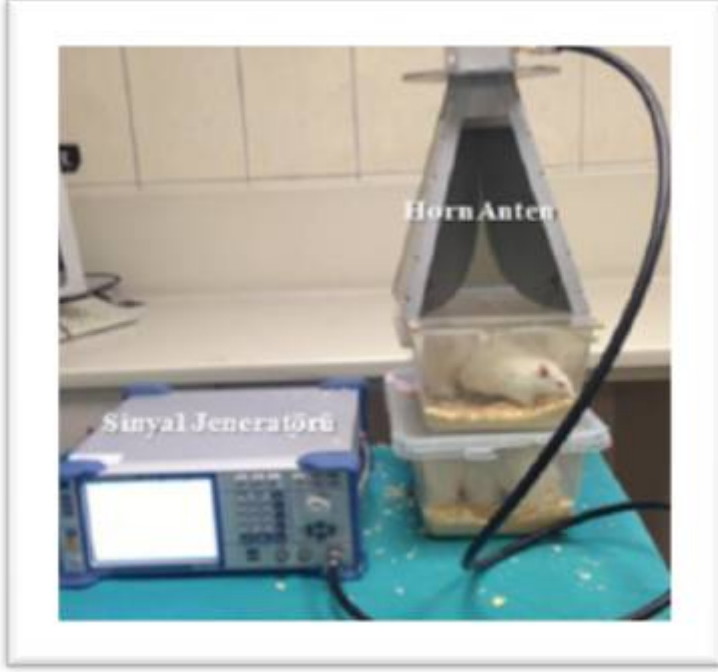
Keywords: Mobile Phone, Radiation, Melatonin, Cervix

Grafik 1
Graphic 1



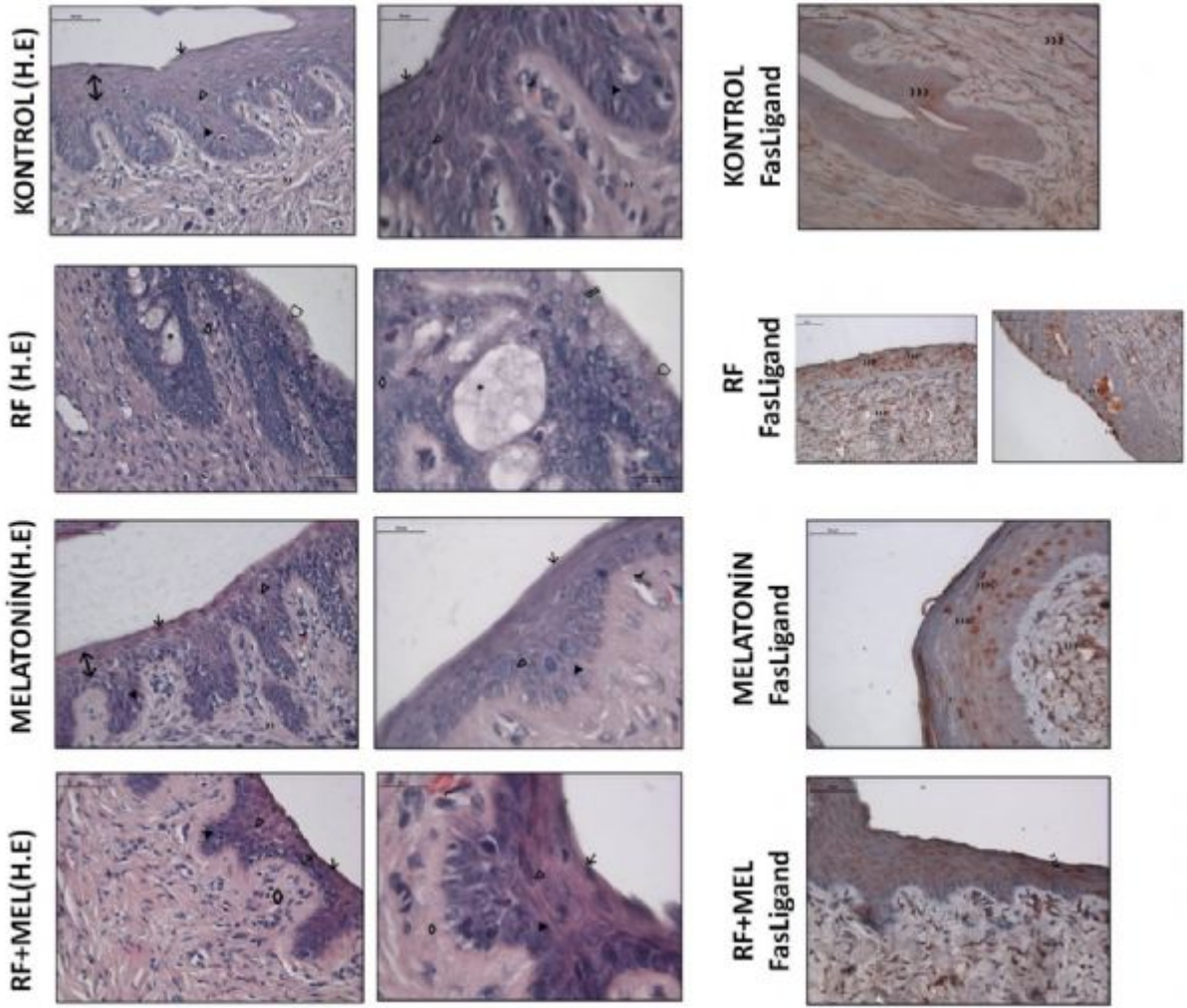
İstatistiksel grafikler
Statistical graphics

Resim 1
Figure 1



Deney düzeneği
Experimental design

Resim 2
Figure 2



*Deney gruplarına ait Hematoksilen Eozin ve Fas-Ligand boyamaları
Hematoxylen Eosine and Fas-Ligand stainings of all experimental groups*

P089

Benzo(a)piren Uygulanan Sıçanlarda Ovaryum Dokusunda Meydana Gelen Değişikliklere Bir Antioksidan Olarak Curcumin'in Rolü

Simge Çelebi¹, Deniz Erdoğan¹, Gülnur Take Kaplanoğlu¹, Çiğdem Elmas¹, Iskender Kaplanoğlu², Cemile Merve Seymen¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tüp Bebek Kliniği, Ankara, Türkiye

AMAÇ: Doğada 100'den fazla bulunan kömür, petrol, gaz, odun ve sigara dumanı ve mangalda pişirilen etler gibi organik maddelerin tamamlanmamış yanma sürecinde şekillenen organik bileşikler olan polisiklik aromatik hidrokarbonlardan biri Benzo(a)piren'dir (B(a)P). Çalışmamızda, BaP'in ovaryumda oluşturabileceği olası hasarlara bir antioksidan olarak Curcumin'in olası koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

METOD: 36 adet Wistar albino cinsi dişi sıçan kullanıldı ve denekler 6 gruba ayrıldı. Benzo(a)piren (10mg/kg/gün) mısır yağında, Curcumin (100mg/kg/gün) ise DMSO içerisinde çözüldü. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmazken, diğer gruplara sırası ile mısır yağı, BaP, DMSO, Curcumin ve Curcumin+BaP olmak üzere, tüm uygulamalar 6 hafta süresince her gün aynı saatte gavaj yolu ile yapıldı. Deneklerin vücut ağırlıkları her gün ölçülerek kaydedildi. Süre bitiminde yüksek doz anestezi altında feda edilen deneklerin ovaryum dokuları alındı. Bu dokuların ağırlıkları ölçülerek kaydedildi ve histolojik izleme yöntemlerinden geçirildi. Değerlendirme için alınan kesitlere Hematoksilen-Eozin boyası uygulandı. İmmünohistokimyasal yöntem için apoptoz sinyal moleküllerinden kaspaz-3 ve sitokrom c primer antikoru kullanıldı, dokular ışık mikroskopunda resimleri çekilerek değerlendirildi.

BULGULAR: BaP uygulamasının ovaryumda belirgin olarak Graaf follikül üzerinde etkili olduğu ve bu folliküllerin sayısını istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttığı saptandı. BaP uygulamasının özellikle zona pellusida, granüloza ve ağırlıklı olarak kumulus hücrelerinde yapısal bozukluklara neden olduğu, bu uygulama ile atretik folliküllerin sayısının arttığı da belirlendi. Koruma erekli uygulanan Curcumin'in ovaryum yapısında bir miktar düzelmeye neden olsa da bazı stromal değişimlerin düzelmesi adına yetersiz kaldığı, BaP uygulaması ile görülen ve ortadan kuvvetliye değişen Kaspaz-3 ve Sitokrom-c tutulumlarını da sadece orta düzeyli bir immünreaktiviteye çekebildiği saptandı. **SONUÇ:** Curcumin uygulamasının BaP'in neden olduğu yapısal yozlaşmaları kısmen engellediği ancak tam bir koruma için yetersiz kaldığı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Benzo(a)Piren, Curcumin, Ovaryum.

The Role Of Curcumin As An Antioxidant On Ovary Tissue Changes Of Benzo (a) pyrene Applied Rats

Simge Çelebi¹, Deniz Erdoğan¹, Gülnur Take Kaplanoğlu¹, Çiğdem Elmas¹, Iskender Kaplanoğlu², Cemile Merve Seymen¹

¹Gazi University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

²Etlik Zubeyde Hanım Women's Health Teaching and Research Hospital, Center for Assisted Reproduction, Ankara, Turkey

AIM: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are organic compounds that shaped on incomplete oxidation period of organic substances such as coal, petrol, gas, wood, cigarette smoke and barbecued meat. Benzo(a)Pyrene (BaP) is one of the polycyclic aromatic hydrocarbons and it has more than 100 varieties in the nature. We want to investigate, the protective effects of Curcumin as an antioxidant on potential BaP damages on ovary.

METHODS: 36 female Wistar Albino rats were used and subjects were divided into 6 groups in test. Benzo (a) Pyrene (10mg/kg/days) was solved in maize oil but DMSO was used as a solvent for Curcumin (10mg/kg/days). Although we did not apply any chemicals to control group, other groups

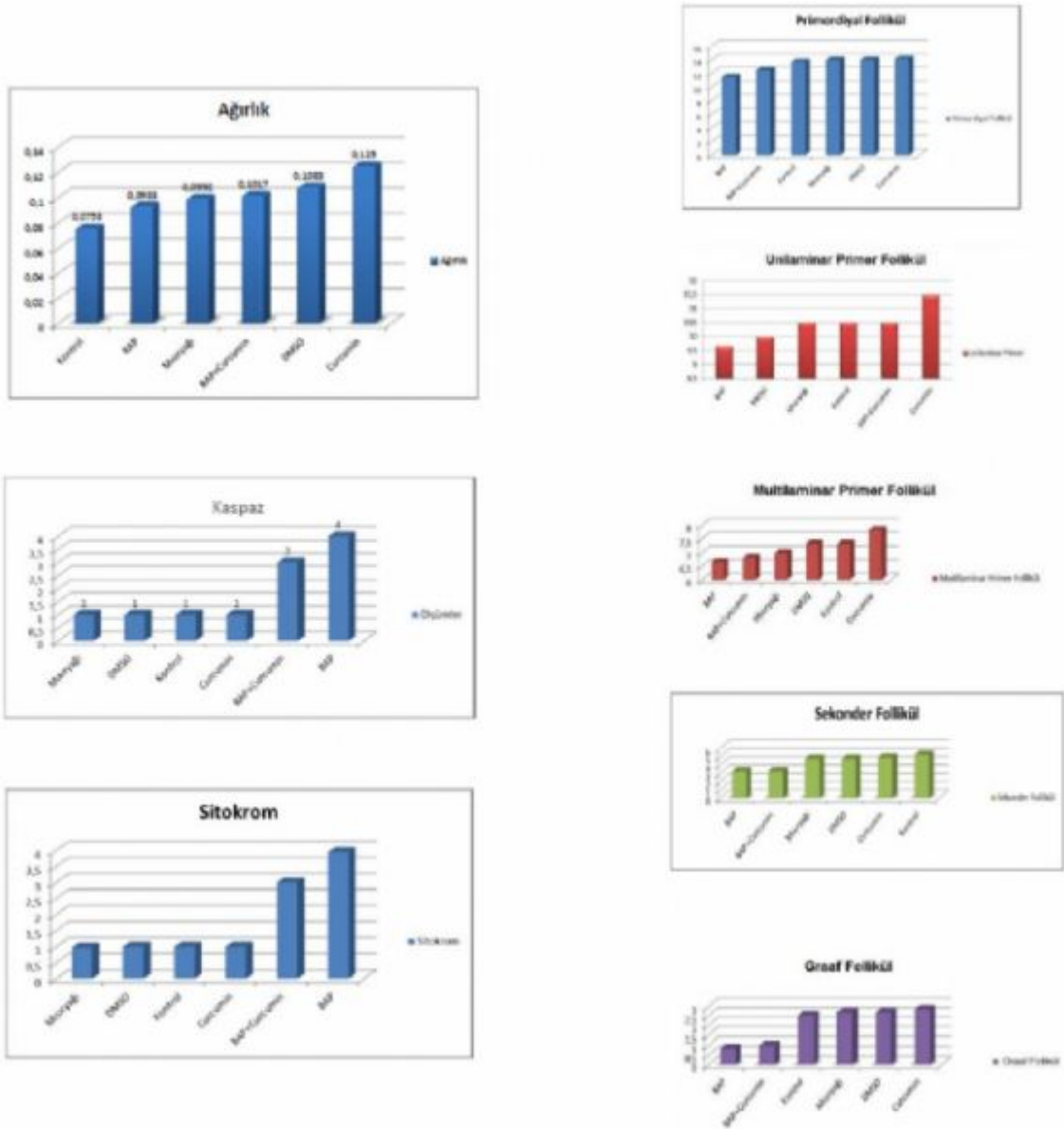
which are BaP, Curcumin, maize oil, BaP+Curcumin and DMSO, the chemicals were applied by gavage for 6 weeks. In daily basis experimental animals body weights were measured and saved. At the end of period the rats have been sacrificed under high dose anesthesia and their ovarian tissues were taken. Tissues weights were measured and saved and processed histological observation procedures. Cross sections taken for inspection hematoxyline-eosin dyes were applied. For immunohistochemical method apoptosis signal molecules Caspase-3 and Cytochrome c primary antibodies were used and cross sections images from light microscope were evaluated.

RESULTS: As results of test BaP application have an impact on the number of follicles noticeably Graaf follicle on ovary in a statistically significant decrease was detected. We saw that, the application of BaP, caused structural defects in ovarian tissue especially in zona pellucida, granulose and cumulus cells. In addition BaP application also caused to increase the number of atretic follicles. Beside this, the Curcumin which was used as a protective effects on ovary, we saw that; although it caused part of recovery on ovarian tissue, it has not completely protect the changes of some stromal degeneration to normal histological appears and we saw that it changes the strong immunoreactivity of caspase 3 and sitocrom c in BaP groups to only mild reaction.

CONCLUSION: In conclusion, curcumin is an antioxidant that could be used potentially for inhibiting the effects of Benzo(a)pyrene, but it is not sufficient to prevent full protection.

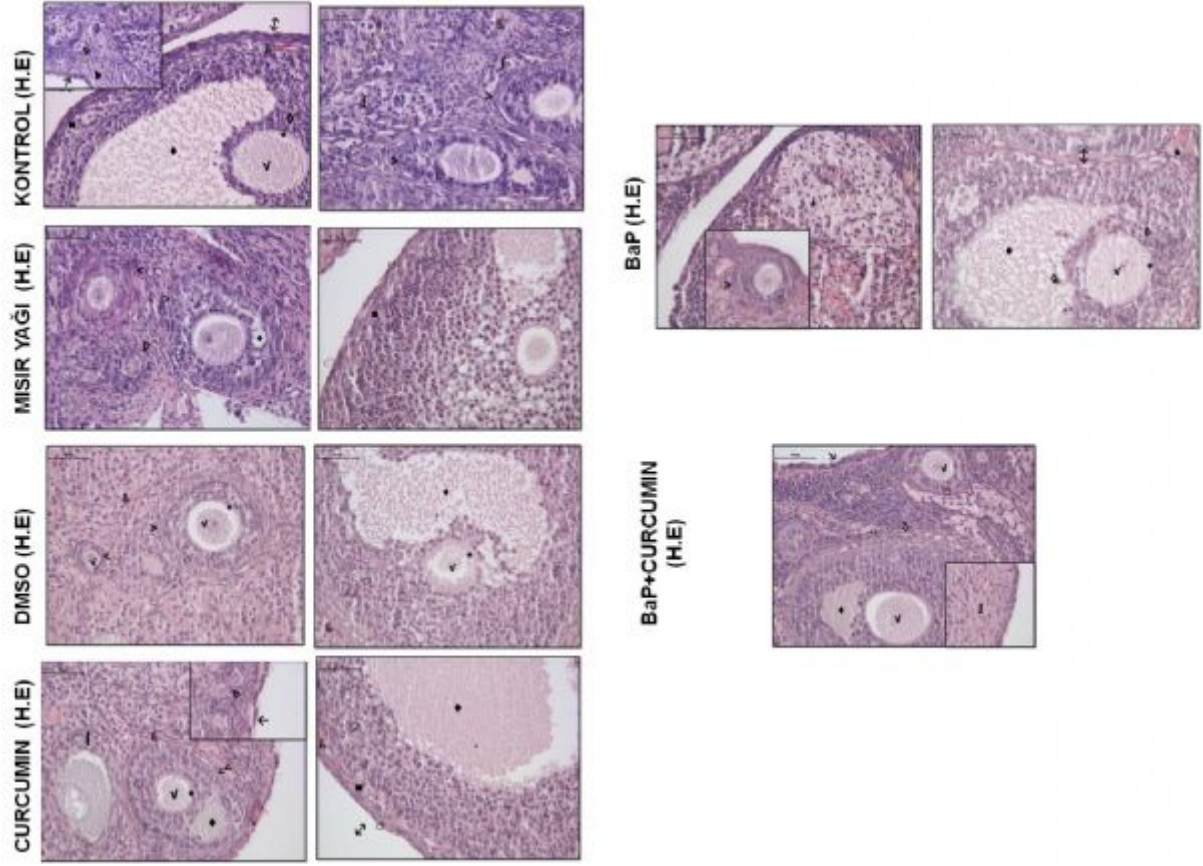
Keywords: Benzo(a)pyrene, Curcumin, Ovary.

Grafik 1
Graphic 1



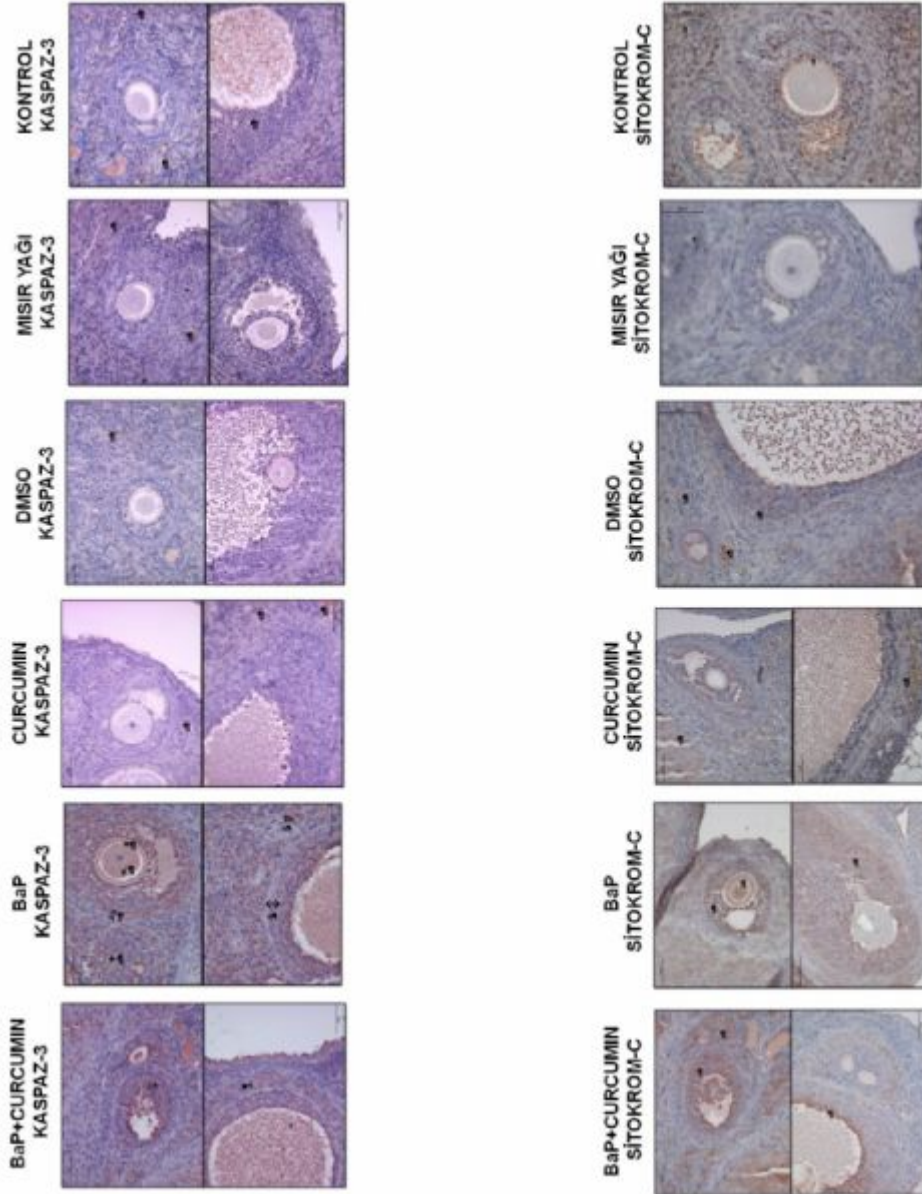
İstatistiksel grafikler
Statistical graphics

Resim 1
Figure 1



*Tüm gruplara ait Hematoksilen Eozin boyamaları
Hematoxylen Eosine stainings of all experimental groups*

**Resim 2
Figure 2**



*Tüm gruplara ait Kaspaz-3 ve Sitokrom-c boyamaları
Caspase-3 and Cytochrome-c stainings of all experimental groups*

P090

Deneyisel Rat Modelinde Sisplatinin İndüklediği Over Hasarı Üzerine Progesteronun Koruyucu Etkisi

Saim Özdamar¹, Özge Özçoban¹, Mine İslimye Taşkın², Gözde Özge Önder¹, Emin Kaymak¹, Arzu Hanım Yay¹

¹Erciyes Üniversitesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

²Balıkesir Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Balıkesir

Çalışmada, ratlarda kemaoterapik bir ajan olan sisplatinin oluşturduğu ovaryum hasarı üzerine apoptotik hücre sayısı ve AMH ekspresyonu bakımından progesteron tedavisinin etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Her grupta 10 rat olacak şekilde 4 gruba ayrılarak 40 rat kullanıldı. Gruplar, Grup 1 (Kontrol grubu) salin enjekte edilen ratlar, grup 2 (sisplatin grubu) 5mg/kg/hafta i.p sisplatinin enjekte edildiği ratlar, grup 3 (sisplatin + progesteron grubu); 5mg/kg/hafta sisplatin enjekte edilmeden yarım saat önce 8mg/kg/hafta i.m progesteron enjekte edilen ratlar, grup 4 (progesteron grubu); 8 mg/kg/hafta i.m progesteron enjekte edilen ratlar olacak şekilde belirlendi. 5 günün sonunda son sisplatin enjeksiyonundan sonra bütün gruplar dekapite edilerek ovaryumlar çıkartıldı. Ovaryum doku örneklerine rutin histolojik takip metodu uygulandı, Kesitler histopatolojik değerlendirme için hematoksilin&eoizin ile boyandı. AMH immünreaktivite yoğunluğu immünohistokimya metodu ile, apoptotik hücre ölümü ise TUNEL metodu ile değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirmelere göre; Sisplatin uygulanan grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, dokuda hemorajik alanlar, vasküler tıkanıklık, foliküler dejenerasyon ve ödem mevcuttu. Sisplatin+progesteron grubundada daha düşük derecede benzer etkiler gözlemlendi. AMH ekspresyonu yönünden karşılaştırıldığında, sisplatin uygulanmış grupta AMH immünreaktivite yoğunluğu kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşüktü. TUNEL ölçümleri gösteriyor ki apoptotik hücre sayısı, sisplatin grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Sisplatinle birlikte uygulanan progesteron grubunda TUNEL pozitif hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha düşüktü ($p<0.05$). Bu çalışmadan elde edilen bulgular, sisplatin kemoterapisinde kanser hastalarındaki ovaryum hasarını iyileştirmek için yardımcı bir ajan olarak progesteron kullanımının yararlı olabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: sisplatin,ovaryum hasarı,AMH,apoptoz,sıçanlar

Protective Effect Of Progesterone On Ovarian Damage Caused By Cisplatin In An Experimental Rat Model

Saim Özdamar¹, Özge Özçoban¹, Mine İslimye Taşkın², Gözde Özge Önder¹, Emin Kaymak¹, Arzu Hanım Yay¹

¹Erciyes University, Department of Histology-Embryology, Kayseri

²Balıkesir University, Department of Obstetrics and Gynecology, Balıkesir

The study aimed to investigate the effects of progesteron therapy on the immunoexpression of AMH and apoptotic cell number in cisplatin, a chemotherapeutic agent, induced ovarian damage in rats. Fourty rats were randomly divided into four groups each containing 10 rats. Group 1 (Control group); the rats were injected with saline, group 2 (cisplatin group); the rats were injected with 5mg/kg/week cisplatin intraperitoneally (i.p.), group 3 (cisplatin+progesteron group); the rats were pretreated with progesteron intramuscularly (i.m.) (8 mg/kg) half an hour before they were injected with 5 mg/kg/week cisplatin i.p, group 4 (progesteron group); the rats were treated with progesteron (i.m.) (8 mg/kg). The ovarian tissue samples were applied routine histological follow-up method. The ovaries were removed from all groups after the final injection of cisplatin five days later. The sections were stained with hematoxylin&eosin for histopathology evaluation. immunoreactivity intensity of AMH with immunohistochemical and apoptotic cell death with TUNEL is evaluated. Microscopic examination of the ovarian tissue after cisplatin treatment showed hemorrhage and vascular congestion as well as follicular degeneration and edema compared to control group. The similar histologic findings such as degeneration, hemorrhage and edema at a

lower level were observed in the cisplatin+progesterone group. Immunohistochemical analysis showed that immunoreactivity intensity of AMH, a biomarker to discriminate the degree of ovarian damage, was lower in the cisplatin groups than other groups. TUNEL assays showed that the increase in the apoptotic cell number was statistically significant in cisplatin group compared to control group ($p < 0.05$). Progesterone administration with cisplatin resulted in decreases in TUNEL-positive cells. The decrease in the apoptotic cell number was statistically significant in cisplatin with progesterone compared to control ($p < 0.05$). Our results reveal that progesterone could be beneficial for decreased ovarian damage in patients undergoing cancer chemotherapy with cisplatin.

Keywords: cisplatin, ovarian damage, AMH, apoptosis, rats

Kaynakça / References: 1. Leibbrandt ME, Wolfgang GH, Metz AL, Ozobia AA, Haskins JR. Critical subcellular targets of cisplatin and related platinum analogs in rat renal proximal tubule cells. *Kidney Int* 1995; 48: 761-70. 2. Borovskaya TG, Goldberg VE, Fomina TI, Pakhomova AV, Kseneva SI, Poluektova ME, et al. Morphological and functional state of rat ovaries in early and late periods after administration of platinum cytostatics. *Bull Exp Biol Med* 2004; 137: 331-5. 3. Yeh J, Kim BS, Liang YJ, Peresie J. Gonadotropin stimulation as a challenge to calibrate cisplatin induced ovarian damage in the female rat. *Reproductive Toxicology* 2009; 28: 556-562. 4. A. Jemal, T. Murray, A. Samuels, A. Ghafoor, E. Ward, and M. J. Thun. *Cancer statistics*. 2003; 53: 5-23. 5. Taskin MI, Yay A, Adali E, Balcioglu E, and Inceboz U. Protective effects of sildenafil citrate administration on cisplatin-induced ovarian damage in rats. *Gynecol Endocrinol*, doi: 10.3109/09513590.2014.984679 6. K. Wozniak, A. Czechowska, and J. Blasiak. Cisplatin-evoked DNA fragmentation in normal and cancer cells and its modulation by free radical scavengers and the tyrosine kinase inhibitor STI571. *Chemico-Biological Interactions* 2004; 147: 309-318. 7. Cheng J, Zhang J, Ma X, et al. Frequency-dependent acceleration of cardiac repolarization by progesterone underlying its cardiac protection against drug-induced proarrhythmic effects in female rabbits. *Eur J Pharmacol* 2012; 689: 172. 8. De Castilhos J, Hermel EE, Rasia- Filho AA, Achaval M. Influence of substitutive ovarian steroids in the nuclear and cell body volumes of neurons in the posterodorsal medial amygdala of adult ovariectomized female rats. *Neurosci Lett* 2010; 469: 19-23. 9. Schumacher M, Guennoun R, Ghoumari A, et al. Novel perspectives for progesterone in hormone replacement therapy, with special reference to the nervous system. *Endocrine Reviews* 2007; 28: 387-439. 10. Sandhi J, Singh JP, Kaur T, et al. Involvement of progesterone receptors in ascorbic acid-mediated protection against ischemia-reperfusion-induced acute kidney injury. *J Surg Res* 2014; 187: 278-288. 11. Lee MM, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions. *Endocrine Reviews* 1993; 14: 152-64. 12. A.P. Themmen. Anti-mullerian hormone: its role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker. *J. Natl. Cancer Inst. Monographs* 2005; 34: 18-21. 13. Yeh J, Kim BS, Peresie J, Liang YJ, Arroyo A. Serum and ovarian Müllerian inhibiting substance, and their decline in reproductive aging. *Fertil Steril* 2007; 87: 1227-30. 14. Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 2006; 131: 1-9. 15. Kevenaar ME, Meerasahib MF, Kramer P, van de Lang-Born BMN, de Jong FH, Groome NP, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology* 2006; 147: 3228-34. 16. Singh KL, Davies M, Chatterjee R. Fertility in female cancer survivors: pathophysiology, preservation and the role of ovarian reserve testing. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 69-89. 17. Blumenfeld Z, Eckman A. Preservation of fertility and ovarian function and minimization of chemotherapy-induced gonadotoxicity in young women by GnRH-a. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005; 34: 40-3. 18. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2917-31. 19. Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update* 2004; 10: 251-6. 20. Meirrow D, Lewis H, Nugent D, Epstein M. Subclinical depletion of primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide. clinical importance and proposed accurate investigative tool. *Hum Reprod* 1999; 14: 1903-7 21. Meirrow D. Reproduction post-chemotherapy in young cancer patients. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 169: 123-31. 22. Yucebilgin MS, Terek MC, Ozsaran A, Akercan F, Zekioglu O, Isik E, et al. Effect of chemotherapy on primordial follicular reserve of rat: an animal model of premature ovarian failure and infertility. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2004; 44: 6-9. 23. Yeh J, Kim B, Liang YJ, Peresie J. Müllerian inhibiting substance as a novel biomarker of cisplatin-induced ovarian damage. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 348: 337-44. 24. Erken HA, Koç ER, Yazıcı H, Yay A, Onder GO, Sarıcı SF. Selenium Partially Prevents Cisplatin-Induced Neurotoxicity: A Preliminary Study. *Neurotoxicology* 2014; 42: 71-75. 25. Meraner V, Gamper EM, Grahmann A, Giesinger JM, Wiesbauer P, Sztankay M, et al. Monitoring physical and psychosocial symptom trajectories in ovarian cancer patients receiving chemotherapy. *BMC Cancer* 2012; 12: 77. 26. Sugiyama S, Hayakawa M, Kato T, Hanaki

- Y, Shimizu K, Ozawa T. Adverse effects of anti-tumor drug, cisplatin, on rat kidney mitochondria: disturbances in glutathione peroxidase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;159(3):1121-7. 27. Brady HR, Kone BC, Stromski ME, Zeidel ML, Giebisch G, Gullans SR. Mitochondrial injury: an early event in cisplatin toxicity to renal proximal tubules. *Am J Physiol* 1990;258:1181-7. 28. Li X, Kang X, Deng Q, Cai J, Wang Z. Combination of a GnRH agonist with an antagonist prevents flare-up effects and protects primordial ovarian follicles in the rat ovary from cisplatin-induced toxicity: a controlled experimental animal study. *Reprod Biol Endocrinol* 2013;11:16. 29. Mensah-Nyagan AG, Meyer L, Schaeffer V, Kibalyand C, Patte-Mensah C. Evidence for a key role of steroids in the modulation of pain. *Psychoneuroendocrinology* 2009;34:169–177. 30. Coronel MF, Labombarda F, Roig P, Villar MJ, De Nicola AF, Gonz_alez SL. Progesterone prevents nerve injury-induced allodynia and spinal NMDA receptor upregulation in rats. *Pain Med* 2011;12:1249–1261. 31. Liu A, Margail I, Zhang S, Labombarda F, Coqueran B, Delespierre B, Liere P, Marchand-Leroux C, O'Malley BW, Lydon JP, De Nicola AF, Sitruk-Ware R, Mattern C, Plotkine M, Schumacher M, Guennoun R. Progesterone receptors: a key for neuroprotection in experimental stroke. *Endocrinology* 2012;153: 3747–3757. 32. Graziano V, Check JH, Dietterich C, Choe JK, Yuan W. A comparison of luteal phase support in graduated estradiol/progesterone replacement cycles using intramuscular progesterone alone versus combination with vaginal suppositories on outcome following frozen embryo transfer. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2005;32:93–4. 33. Conneely OM, Mulac-Jericevic B, DeMayo F, Lydon JP, O'Malley BW. Reproductive functions of progesterone receptors. *Recent Prog Horm Res* 2002;57:339–55. 34. Li Su, Yixi Sun, Feng Ma, Pingping Lu, Hefeng Huang, Jun Zhou. Progesterone inhibits Toll-like receptor 4-mediated innate immune response in macrophages by suppressing NF-KB activation and enhancing SOCS1 expression *Immunology Letters* 2009;125:151–155 35. Kumon Y, Kim SC, Tompkins P, Stevens A, Sakaki S, Loftus CM. Neuroprotective effect of postischemic administration of progesterone in spontaneously hypertensive rats with focal cerebral ischemia. *Journal of Neurosurgery* 2000;9:848–52. 36. He J, Evans CO, Hoffman SW, Oyesiku NM, Stein DG. Progesterone and allopregnanolone reduce inflammatory cytokines after traumatic brain injury. *Experimental Neurology* 2004;18:404–12. 37. Suparto IH, Koudy Williams J, Fox JL, Vinten-Johansen J. A comparison of two progestins on myocardial ischemia-reperfusion injury in ovariectomized monkeys receiving estrogen therapy. *Coron Artery Dis* 2005;16(5):301-8. 38. Visser JA, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2005;234:81-6. 39. Cepeda V, Fuertes MA, Castilla J, Alonso C, Quevedo C, Perez JM. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity. *Anticancer Agents Med Chem* 2007;7:3-18. 40. Sayeed I, Stein DG. Progesterone as a neuroprotective factor in traumatic and ischemic brain injury. *Prog Brain Res* 2009;175:219-37. 41. Devarajan P, Savoca M, Castaneda MP, Park MS, Esteban-Cruciani N, Kalinec G, Kalinec F. Cisplatin-induced apoptosis in auditory cells: role of death receptor and mitochondrial pathways. *Hearing research* 200;174:45-54

P091

PMSG ve hCG uygulamalarının fare ovaryumunda folliküler gelişime olan etkileri

Hatice Erdost, Tuncay İlhan, Güzin Pancaroğlu
Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Bursa, Türkiye

Çalışmamızın amacı 7 haftalık farelere, farklı dozlarda PMSG ve takiben hCG uygulamalarının, ovaryumda folliküler gelişime olan etkilerinin, histolojik ve istatistiksel yöntemler ile belirlenmesidir. Çalışma materyali olarak 7 haftalık 40 adet BALB/c soyu dişi fare kullanıldı. Fareler, rastgele dört gruba ayrılarak, kontrol grubuna, 0.2 ml serum fizyolojik enjekte edildi. Diğer üç gruba subkutan yolla sırasıyla 2.5; 5 ve 7.5 I. U. PMSG hormonu verildi. PMSG enjeksiyonunu izleyen 48'inci saatte, deney gruplarına, PMSG'nin artan dozuna paralel olarak, gruplara sırasıyla 2.5; 5 ve 7.5 I. U. hCG, kontrol grubuna ise 0.2 ml serum fizyolojik subkutan yolla enjekte edildi. Histolojik incelemeler için alınan ve tespit edilen ovaryumlar rutin histolojik metodlar uygulanarak histolojik yapının incelenmesi için Crossmon'ın üçlü boyama tekniği uygulandı. Çalışmamızda 3 farklı dozda yapmış olduğumuz uygulamalarda tüm deney gruplarında folliküler gelişimin kontrole oranla daha fazla olduğu görüldü. Gelişen follikül sayısının I. deney grubunda en çok olduğu sırasıyla III. ve II. deney grubu ile en az kontrol grubunda olduğu saptandı. Uygulanan protokollerin hepsinde kullanılan gonadotropin dozuna bağlı olarak folliküler gelişimin arttığı saptandı.

Anahtar Kelimeler: PMSG, hCG, ovaryum, fare

Effect of PMSG and hCG on follicule development in the mice ovaries

Hatice Erdost, Tuncay İlhan, Güzin Pancaroğlu
Department of Veterinary Medicine, Uludag University, Bursa, Turkey

The aim of our study is to determine the effect of PMSG and following hCG administration to seven-week-old mice follicule development by histological and istatistical methods. Seven-week-old, forty BALB/c breed female mice were used in this study. Mice were divided in to four groups randomly, and 0.2 ml buffer saline was injected to control group. PMSG hormone was administrated doses of 2.5; 5 and 7.5 I.U. respectively to other three groups. hCG was injected 2.5; 5 and 7.5 I.U. subcutaneous doses respectively to the experiment groups after 48 hours later than PMSG administration and 0.2 ml buffer saline was injected subcutaneously to control group. Ovaries were gathered and fixed for histological examination and Crossmon's triple staining method was applied for examination of histological structure after routine histological methods. In our study, administration of three different doses, follicular development in all experiment groups were more than control group. First experiment group had the most developing follicule number, followed by third and second experiment group respectively and at least control group. In all procedures, follicular development was increased depending on the applied dose of gonadotrophin.

Keywords: PMSG, hCG, ovarium, mouse.

Kaynakça / References: -AL-INANY H, ABOULGHAR MA, MANSOUR RT, PROCTOR M. Recombinant versus urinary gonadotrophins for triggering ovulation in assisted conception. Human Reproduction, 20 (8): 2061-2073, 2005. -BAŞAR M, TÜRKER M, İREZ T, ARDA O. Süperovulasyon Protokolünde Kullanılan GnRH Agonistinın Ovosit Olgunluğu ve Çapına Etkileri, Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 39 (2): 41-48, 2008. -The European Recombinant Human LH Study Group. Human recombinant luteinizing hormone is as effective as, but safer than, urinary human chorionic

gonadotropin in inducing final follicular maturation and ovulation in in vitro fertilization procedures: results of a multicenter double-blind study. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 86 (6): 2607-2618, 2001. -International Recombinant Human Chorionic Gonadotropin Study Group. Induction of ovulation in World Health Organization group II anovulatory women undergoing follicular stimulation with recombinant human folliclestimulating hormone: a comparison of recombinant human chorionic gonadotropin (rhCG) and urinary hCG. *Fertility Sterility*, 75 (6): 1111-1118, 2001. -LUNENFELD B. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Human Reproduction Update*, 10 (6): 453-467, 2004. -TROUNSON A and MOHR L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*, 305 (5936): 707-709, 1983. - ZEILMAKER GH, ALBERDA AT, VAN GENT I, RIJKMANS CM, DROGENDIJK AC. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertility and Sterility*, 42 (2): 293-296, 1984.

P092

Sperm aktivasyonunun endometriyum epitelinde pinopod formasyonu üzerine etkisi

Orhan Özatik¹, Muhittin Tamer Mungan², İlknur Dağ³, Ahmet Musmul⁴

¹Ahievran Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD. Kırşehir Türkiye

²Koru Hastanesi Ankara Türkiye

³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksek Okulu Eskişehir Türkiye

⁴Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Biyoistatistik AD. Eskişehir Türkiye

AMAÇ: Başarılı bir gebelik oluşumunda, fertilizasyon sonrası, gelişen embriyonun endometriyuma yerleşmesinde endometriyum reseptivitesi önemlidir. Bu nedenle bu çalışmada, implantasyon için gerekli morfolojik farklılaşmada önemli olan pinopod oluşumunda, sperm ve uterin endometriyum temasının olası etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL-METOD: Bu deneysel çalışmada 42 adet dişi Spraque-Dawley albino sıçan, 14 adet erkek Spraque-Dawley albino sıçan olmak üzere toplam 56 adet sıçan kullanıldı. Erkek sıçanların yarısına vazektomi uygulandı. Her bir grup için, 21 dişi ile 7 erkek rad ile, Grup 1 (vazektomili) ve Grup 2 (Vazektomisiz) 2 farklı kol yaratıldı. Olgular post coital birinci, ikinci ve üçüncü gün sakrifiye edilerek değerlendirmeye alındı. Elde edilen elektron mikroskop görüntülerinin analizi pinopod oluşumunun farklı günlerde farklı evrelerinin gözlenmesine göre yapıldı. Pinopodlar gelişmekte olan, gelişmiş ve gerileyen pinopod olarak sınıflandırıldı. Her bir sıçan için incelenen 4 endometriyum bölgesindeki pinopodlar gelişim evrelerine göre ayrı ayrı sayılarak, elde edilen sayılar toplanıp 4 e bölünerek ortalama pinopod sayısı bulundu. Tüm gruplarda kullanılan sıçanlar için aynı işlem uygulandı. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında karşılaştırıldı. Gruplar arası istatistik değerlendirmede, *Independent Samples Test (Ortalama±Std) **Mann Whitney U Test (Ortanca (%25 - %75)) kullanıldı.

BULGULAR: Çalışmanın ilk grubunu oluşturan ve vazektomi uygulanmayan erkek sıçanlarla çiftleştirilen dişi sıçanların, çiftleşmeyi takip eden birinci günde alınan uteruslarının SEM de incelenmelerinde dikkat çeken en önemli bulgu, uterus içinde bulunan spermlerin başlarının endometriyum epiteli içine gömülü olmalarıydı. Post coital ikinci gün alınan uterusların endometriyumlarının incelenmesinde, her iki grupta da benzer şekilde az sayıda (ortalama 0,39) gelişmiş pinopod görüldü (P=0,902). Görüntü alanında bulunan gelişmekte olan pinopodlar baz alınarak yapılan incelemede, birinci gruptaki sıçanlara ait endometriyum epitelinde bulunan gelişmekte olan pinopod sayıları (ortalama 20,61) ikinci gruptakilere (ortalama 12,86) göre, daha fazla bulundu(p<0,001). Post koital üçüncü gün alınan uterusların endometriyumlarının incelenmesinde, her iki grupta da az sayıda gelişmekte olan pinopod görüldü. Birinci gruba ait incelemede ortalama 1,21 gelişmekte olan pinopod görülürken, ikinci gruba ait incelemede ortalama 2,25 gelişmekte olan pinopod görülmüştür(p=0,011). Gelişmiş pinopodlar baz alınarak yapılan inceleme sonucunda, birinci grup pinopod sayıları (ortalama 13,79) ikinci grup pinopod sayılarından (ortalama 8,96) daha fazla bulundu(p<0,001). Gerileyen pinopod görüntüleri sadece ikinci gruba ait postkoital üçüncü gün alınan endometriyumlarında gözlemlendi.

SONUÇ: Yapılan bu çalışmada spermlerin başları ile endometriyum epiteli içine girdikleri net olarak gösterildi. Bu invazyon sonucu endometriyum epiteli ile bir reaksiyon oluşturup pinopod oluşumunu artırıcı bir etkileri olduğu düşünülebilir. Pinopod oluşumunu tetikleyen diğer faktörlerin ortadan kaldırılıp, uterusunda sadece sperm bulunmasının pinopod oluşumu üzerine etkisinin olup olmadığının araştırılması, yararlı olacaktır.

AEÜ BAP tarafından desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Pinopod, Endometriyal Reseptivite, Sperm, SEM

The effect of sperm activation on pinopod formation in endometrial epithelium

Orhan Özatik¹, Muhittin Tamer Mungan², İlknur Dağ³, Ahmet Musmul⁴

¹Ahievran University Medical Faculty Department of Histology and Embryology Kırşehir Turkey

²Koru Hospital Ankara Turkey

³.EskişehirOsmangaziUniversity Health Services College, Eskişehir Turkey

⁴EskişehirOsmangaziUniversity Department of Biostatistic Eskişehir Turkey

OBJECTIVE: Endometrial receptivity is crucial in implantation of the developing embryo in the endometrium and formation of the pregnancy. Therefore in this study, possible effect of sperm and uterine endometrial contact on formation of pinopod, an important element in morphological differentiation necessary for implantation, was investigated.

MATERIAL-METHODS: In this experimental study, 42 female Spraque-Dawley albino rats and 14 male Spraque-Dawley albino rats were used. Vasectomy was performed in half of the male rats. For each group, two distinct branches were formed with 21 females and 7 males Group 1 (non-vasectomized) and Group 2 (vasectomized). Cases were sacrificed and evaluated on Day 1, Day 2 and Day 3. Electron microscopy images were analyzed according to different stages of pinopod development on different days. Pinopods were classified as developing, developed and regressing pinopod. The average number of pinopods were calculated by counting the pinopods at 4 endometrial regions examined for each rat and total number was divided by 4. Results were compared among the

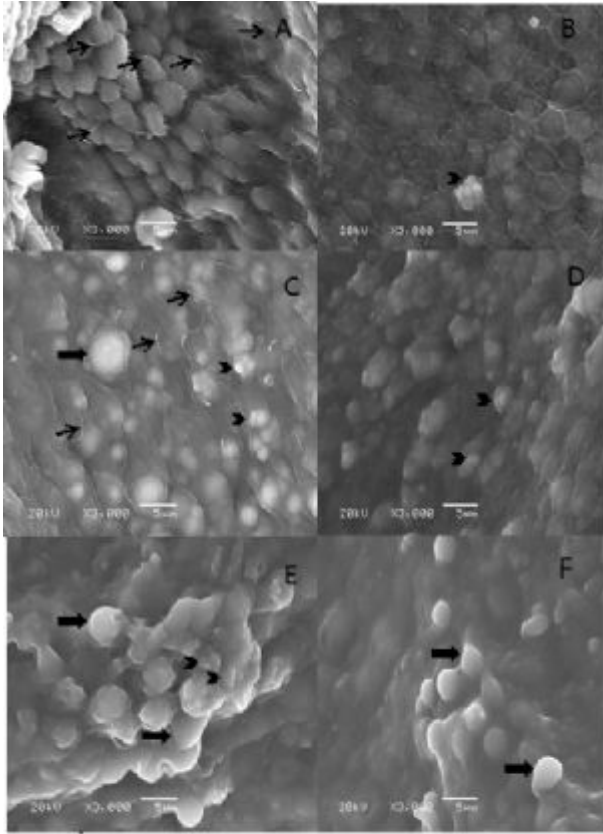
groups. For statistical analysis among the groups,

FINDINGS: The most important finding in SEM examination of uteruses removed on the first day following mating from female rats that were copulated with non-vasectomy male rats which comprised the first group of the study was that heads of the sperms in the uterus were embedded in endometrial epithelium. Similarly, examination of the endometriums of uteruses that were removed on postcoital second day revealed small number of developed pinopods ($P=0.902$). Examination was done by taking the developing pinopods within image area into account and number of developing pinopods in endometrium epithelium of the rats in first group (average 20.61) was higher than that of second group ($P<0.001$). Examination of endometriums of the uteruses that were removed on third postcoital day revealed less number of developing pinopods in both groups. Examination of first group revealed an average of 1.21 developing pinopod, whereas the average number of developing pinopod in second group was 2.25 ($p=0,011$). Examination based on the count of developed pinopods revealed that number of pinopods in first group was higher than second group (average 8.96) ($P<0.001$). Regressing pinopod images were observed in only endometriums that were taken on postcoital 3rd day in the second group.

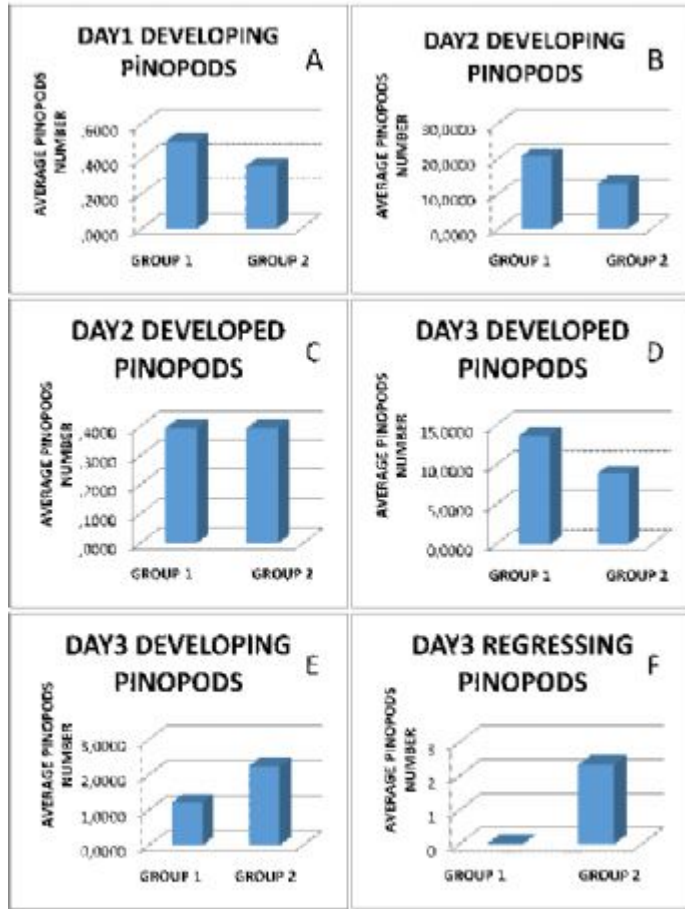
RESULT: In this study, it was clearly shown that sperms were entered into endometrial epithelium with their heads. It can be suggested that they might have a facilitating effect for pinopod formation by reacting with endometrial epithelium as a result of this invasion.

Keywords: Pinopode, Endometrium Receptivity, Sperm, Scanning Electron Microscopy

resim 1
figure 1



resim 2
figure 2



Kaynakça / References: Baillie HS, Pacey AA, Warren MA, Scudamore IW, Barratt CL. Greater numbers of human spermatozoa associate with endosalpingeal cells derived from the isthmus compared with those from the ampulla. *Hum Reprod.* 1997;12:1985-1992. Baraggino E, Dalla Pria S, Cuberli C, Bortolotti S. Scanning electron microscopy of the human normal endometrium. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 1980;7:66-70. Baycu C, Özatik O, Gürer F, İnalöz SS, Gürer D. Does endometrium receptivity depends on paracrine and autocrine relation of tubal epithelium with oocyte and embryo? *Anadolu University Journal of Science and Technology.* 2009;10: 133-139. Bentin-Ley U, Sjögren A, Nilsson L, Hamberger L, Larsen JF, Horn T. Presence of uterine pinopodes at the embryo-endometrial interface during human implantation in vitro. *Hum Reprod.* 1999;14:515-520. Bentin-Ley U. Relevance of endometrial pinopodes for human blastocyst implantation. *Hum Reprod.* 2000;15:67-73. Emera D, Romero R, Wagner G. The evolution of menstruation: A new model for genetic assimilation. *Bioessays.* 2011;34:26-35.

P093

Seksüel Siklus Süresince İneklerin Serviks ve Vajinasında VEGF/VEGFR Ailesinin Non-Endotelial Hücrelerdeki Fonksiyonel Rolü

Mehmet Erdem Akbalık¹, Narin Liman², Hakan Sağsöz¹, Berna Güney Saruhan¹

¹Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

Angiogenesis, pro-angiogenic ve anti-angiogenic faktörler gibi kompleks kontrol sistemleri tarafından düzenlenir. Vasküler endothelial büyüme faktörü (VEGF) ve reseptörlerinin (flt1/fms, flk1/KDR ve flt4) primer pro-angiogenic düzenleyici olduğu, vasküler büyümeyi baskılayan faktörün (VEGI) ise spesifik anti-angiogenic bir sitokin olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda, özellikle endotelial hücre büyümesi, çoğalması ya da baskılanmasında anahtar rol oynayan bu sitokinlerin ineklerde seksüel siklus süresince serviks ve vajinadaki lokalizasyonlarını ve ekspresyonlarındaki temporal değişimleri ile hücrelerdeki olası rollerini belirlemeyi amaçladık. 23 Holstein ineğin östrus siklus dönemi, ovaryumun bütünü ve histolojik görünümü ve kan steroid hormon değerleri ile değerlendirildi. Serviks ve vajinadan elde edilen doku örnekleri rutin histolojik işlemler için %10'luk formaldehit içinde tespit edildi ve bu sitokinlerin hücresel dağılımlarını göstermek için immünohistokimya ve hücresel yoğunluklarını belirlemek için de semiquantitatif analizler yapıldı. İneklerin serviks ve vajinasında epitel, stromal ve düz kas hücreleri ile kan damarlarında hem sitoplazmik hem de nükleer yerleşimli VEGI, VEGF, flt1/fms, flk1/KDR ve flt4 ekspresyon ve lokalizasyonları belirlendi. Bununla beraber bu molekül ekspresyonlarının foliküler ve luteal fazlar arasında farklılık gösterdiği belirlenirken özellikle epitel hücrelerinin stromal ve düz kas hücrelerine oranla daha yoğun VEGF ve reseptörleri ile VEGI ekspresyonu gösterdiği ortaya konuldu ($p < 0.05$). Ayrıca bu sitokinlerin epitel hücrelerindeki konumu dikkate alındığında, servikste bazı silyalı hücrelerin tüm sitoplazmasında ve bazı salgı hücrelerinin de bazal sitoplazmasında vajinada ise tüm epitel hücrelerinin sitoplazmasında lokalize olduğu gözlemlendi. İneklerin serviks ve vajinasında VEGF ailesi üyelerinin seksüel siklus süresince ekspresyon değişimlerinin hücrelerdeki proliferasyon, farklılaşma, apoptosis, angiogenesis ve rejenerasyon gibi fonksiyonların düzenlenmesinde önemli roller oynadığını söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: İnek, Serviks, Vagina, VEGF, VEGI

The Functional Role of VEGF/VEGFR Family on Non-Endothelial Cells in Bovine Cervix and Vagina during Sexual Cycle

Mehmet Erdem Akbalık¹, Narin Liman², Hakan Sağsöz¹, Berna Güney Saruhan¹

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Dicle, Diyarbakır, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Erciyes, Kayseri, Turkey

Angiogenesis is regulated by complex control systems like pro-angiogenic and anti-angiogenic factors. It is known that vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors (flt1/fms, flk1/KDR and flt4) are primary pro-angiogenic regulators and that vascular endothelial growth inhibitor (VEGI) is a specific anti-angiogenic cytokine. The study focuses on these cytokines playing a key role in endothelial growth, proliferation and inhibition of cells and aims to determine their localizations in bovine cervix and vagina, temporal changes in their expressions and possible roles in cells during sexual cycle. Estrous cycle stages of 23 Holstein cows were assessed by full and histological of ovary and values of blood steroid hormones. Tissue samples taken from cervix and vagina were observed in 10% formaldehyde for routine histological process, and to determine cellular distribution and cellular intensity of these cytokines, immunohistochemistry and semi-quantitative analyses were performed, respectively. The expressions and localizations of VEGI, VEGF, flt1/fms, flk1/KDR and flt4 in bovine cervix and vagina were determined in the cytoplasm and nucleus of epithelial, stromal, smooth muscle cells and blood vessels. However, it was determined that the expressions of these molecules vary in follicular and luteal phases and the intensity was especially higher in epithelial cells than stromal and smooth muscle cells ($p < 0.05$).

Furthermore, when the locations of these cytokines in epithelium cells are considered, it was observed that they were localized in cytoplasm of all epithelial cells in vagina, in all cytoplasm of some ciliated cells, in basal cytoplasm of some secretory cells in cervix. It's concluded that the expressional changes of VEGF members in bovine cervix and vagina during sexual cycle may play a critical role in regulating the functions, including proliferation, differentiation, apoptosis, angiogenesis and regeneration of cells.

Keywords: Bovine, Cervix, Vagina, VEGF, VEGI

P094

Farede Oosit Maturasyonunda c-Abl Tirozin Kinaz ve mTERT Telomeraz Katalitik Alt Ünitesi Ekspresyonunun İmmunofloresan Yöntem ile Gösterilmesi

Ecem Yıldırım¹, Bayram Yılmaz², Aylin Yaba Uçar³

¹Yeditepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji AD, İstanbul, Türkiye

²Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, İstanbul, Türkiye

³Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, İstanbul, Türkiye

Mayoz bölünme çekirdek maturasyonu ve sitoplazmik değişiklikleri içeren bir süreçtir. Oositin geçirdiği mayoz bölünme sürecinde meydana gelebilecek herhangi bir hata anöloid embriyo oluşumu, gebelik kaybı ya da doğum kusurlarına yol açabilir. Bu nedenle mayoz bölünmede rol alan moleküler mekanizmaları anlamak, sağlıklı bir embriyonun gelişebilmesi açısından oldukça önemlidir. c-Abl tirozin kinaz hücre göçü, proliferasyonu, büyümesi ve gelişmesi dahil olmak üzere çeşitli hücre fonksiyonları için önemli bir non-reseptör tirozin kinazdır. Aynı zamanda DNA replikasyonu, rekombinasyonu ve onarımında, genomik stabilite ve çeşitlilik arasındaki dengede fonksiyonel bir göreve sahiptir. Telomeraz ters transkriptaz (TERT) geni, telomeraz kompleksinin katalitik bir alt birimidir ve telomeraz aktivitesini düzenler. Telomeraz aktivitesinin sürdürülmesi çoğalan hücrelerin hayatta kalması için gereklidir.

Çalışmamızda hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde etkili olduğu bilinen c-Abl ve mTERT'in sağlıklı bir oosit maturasyonu sürecinde önemli roller oynayabileceğini düşünmekteyiz. Buradan yola çıkarak; c-Abl ve mTERT ekspresyonlarını mayoz bölünmenin Profaz I, Metafaz I ve Metafaz II aşamalarında immunofloresan yöntem ile göstermeyi amaçladık.

Oositlerin elde edilmesi: Deneyler Yeditepe Üniversitesi Deneysel Araştırma merkezinde yapıldı. 6 haftalık Balb/C dişi farelere süperovulasyon için birinci gün intraperitoneal 7,5 IU PMSG ve 48 saat sonra ise 7,5 IU hCG enjeksiyonu yapıldı. Süperovulasyonun ardından ovaryum parçalanarak PI aşamasındaki oositler, ovidukt-ampulla bölgesinden de MI ve MII aşamasındaki oositler toplandı. İmmunofloresan boyama: %3 PFA ile fikse edilen oositler 1:100 oranında dilüe edilen c-Abl ve mTERT primer antikoları ile 1 gece inkübe edildi. Ardından Alexa Flour 488 goat anti-rabbit sekonder antikorda 2 saat bekletildi. DAPI'li kapatma solüsyonu ile DNA boyanması yapıldı. Zeiss konfokal mikroskop ile görüntüler alındı.

PI aşamasındaki oositlerde c-Abl ekspresyonu germinal vezikülde yoğun, ooplazmada zayıf olarak izlendi. mTERT ekspresyonu germinal vezikül ve ooplazmada belirlendi. Ancak germinal veziküldeki mTERT ekspresyonunun c-Abl'den daha zayıf olduğu gözlemlendi. MI aşamasındaki oositlerde c-Abl ve mTERT ekspresyonunun subkortikal bölgede yoğun, ooplazmada ise zayıf olduğu görüldü. MII aşamasındaki c-Abl ve mTERT ekspresyonları subkortikal bölgede yoğun olmakla birlikte ooplazmada belirlendi. Aynı zamanda kutup cisimciğinde de sitoplazmik ekspresyon izlendi.

Fare oositinde mayoz bölünmenin farklı aşamalarındaki c-Abl ve mTERT ekspresyonları; germinal vezikülde, ooplazmada ve subkortikal bölgede farklılık göstermiştir. Bu nedenle; DNA replikasyonu, rekombinasyonu, genetik stabilite ve çeşitlilik açısından önemli olduğu bilinen c-Abl'nin, oosit maturasyonu sürecinde de bu görevleri üstlenebileceği düşünülmektedir. Bulgularımız hücre bölünmesinde ve telomeraz aktivitesinde rol alan mTERT'in, oosit maturasyonunun başarılı bir şekilde tamamlanmasında rol alabileceğini destekler niteliktedir. MII aşamasındaki oositte c-Abl ve mTERT'in subkortikal bölgedeki yoğun ekspresyonu, fertilizasyonda da görev alabileceklerini, dolayısıyla sağlıklı bir mayoz bölünme ve başarılı bir fertilizasyonda, c-Abl ve mTERT'in etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir. (111S446)

Anahtar Kelimeler: Fare, oosit, mayoz bölünme, c-Abl, mTERT.

Expression of c-Abl Tyrosine Kinase and mTERT Telomerase Catalytic Subunit by Immunofluorescence Method during Mouse Oocyte Maturation

Ecem Yıldırım¹, Bayram Yılmaz², Aylin Yaba Uçar³

¹Department of Physiology, Yeditepe University Institute of Health Sciences, İstanbul, Turkey

²Department of Physiology, Yeditepe University School of Medicine, İstanbul, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Yeditepe University School of Medicine, İstanbul, Turkey

The oocyte maturation is the process involving nucleus maturation and cytoplasmic changes. Any mistakes in meiosis process can result in the generation of aneuploid embryos, contributing to pregnancy loss or severe birth defects. To understand the molecular mechanisms involved in oocyte maturation, the development of a healthy embryo and is very important in terms of fertility. c-Abl is a ubiquitously expressed nonreceptor tyrosine kinase implicated in the regulation of cell proliferation, survival and migration. Mouse Telomerase Reverse Transcriptase (mTERT) is a catalytic subunit of telomerase complex and regulates the activation of telomerase. The maintenance of telomerase activity is essential for the survival of the proliferating cells. In this study, we hypothesized that c-Abl and mTERT might play important roles in the process of oocyte meiotic division. We aimed to show c-Abl and mTERT expression in Prophase I, Metaphase I and Metaphase II oocytes by immunofluorescence method.

Oocyte collection: Experiments were performed in accordance with the Yeditepe University Care and Use of Laboratory Animals. 6 week old Balb/C female mice were superovulated. Prophase I stage oocytes were collected from ovaries, Metaphase I and Metaphase II oocytes were collected from oviducts-ampulla region.

Immunofluorescence staining: We detected c-Abl and mTERT immunolocalization by immunofluorescence method. DAPI solution was used to visualize DNA. Imaging was performed with Zeiss confocal microscope.

In PI stage oocyte, c-Abl showed intense expression in the germinal vesicle and weak in the ooplasm. mTERT expression was observed in the germinal vesicle and ooplasm, but the expression in the germinal vesicle weaker than c-Abl expression. c-Abl and mTERT showed intense expression in subcortical region but were very weak in ooplasm during MI stage oocyte. We detected intense subcortical and ooplasmic expression for c-Abl and mTERT in MII stage oocyte. Polar body also presents cytoplasmic c-Abl and mTERT expression.

At different stages of meiotic division in mouse oocytes, c-Abl and mTERT expression showed difference in the germinal vesicle, ooplasm and subcortical region. We suggested that c-Abl and mTERT may play an important role during a healthy oocyte maturation. c-Abl and mTERT is thought to be essential for successful fertilization, as a result of increasing expression in subcortical regions. Thus we think that c-Abl and mTERT may have effective role during oocyte meiosis and successful fertilization.

This work was supported by TUBITAK. (111S446)

Keywords: Mouse, oocyte, meiosis, c-Abl, mTERT.

Kaynakça / References: 1. McGinnis, L.K. & Albertini, D.F. Dynamics of protein phosphorylation during meiotic maturation. *Journal of assisted reproduction and genetics* 27, 169-182 (2010). 2. Virant-Klun, I., Knez, K., Tomazevic, T. & Skutella, T. Gene expression profiling of human oocytes developed and matured in vivo or in vitro. *BioMed research international* 2013, 879489 (2013). 3. Hou, X. et al. Rab6a is a novel regulator of meiotic apparatus and maturational progression in mouse oocytes. *Scientific reports* 6, 22209 (2016). 4. Qiu, Z., Cang, Y. & Goff, S.P. c-Abl tyrosine kinase regulates cardiac growth and development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, 1136-1141 (2010). 5. Shaul, Y. & Ben-Yehoyada, M. Role of c-Abl in the DNA damage stress response. *Cell research* 15, 33-35 (2005). 6. Yuan, Z.M. et al. Regulation of Rad51 function by c-Abl in response to DNA damage. *The Journal of biological chemistry* 273, 3799-3802 (1998). 7. Blackburn, E.H. & Collins, K. Telomerase: an RNP enzyme synthesizes DNA. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 3 (2011). 8. Ren, J.G. et al. Expression of telomerase inhibits hydroxyl radical-induced apoptosis in normal telomerase negative human lung fibroblasts. *FEBS letters* 488, 133-138 (2001). 9. Liu, L., Blasco, M., Trimarchi, J. & Keefe, D. An essential role for functional telomeres in mouse germ cells during fertilization and early development. *Developmental biology* 249, 74-84 (2002).

P095

Di-n-bütül fitalat'ın tuba uterina'da oluşturduğu değişikliklere karşı resveratrol'ün olası koruyucu etkilerinin yapısal düzeyde incelenmesi

Nur Pakize Akkaya¹, Çiğdem Elmas¹, Merve Cemile Seymen¹, Gülnur Take Kaplanoğlu¹, Dila Şener²

¹Gazi Üniversitesi, Histoloji - Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

²Okan Üniversitesi, Histoloji - Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

Di-n-bütül fitalat (DBP) endokrin bozucu bir fitalik asit esteridir. Plastikleştirici olarak boya, ilaçların enterik kaplamaları, oyuncaklar, gıda ambalajları gibi pek çok malzemede kullanılmaktadır. Organizmaya birçok olumsuz etkisi olduğu bilinen DBP, özellikle üreme sistemi üzerine etki ederek infertiliteye yol açabilmektedir. Resveratrol ise organizmayı oksidatif stres gibi faktörlere karşı koruyan, oldukça uzun zamandır bilinen ve kullanılan güçlü bir antioksidandır. Çalışmamızda endokrin yolakla organizmaya etki eden DBP'nin dişi üreme sistemine ait organlardan biri olan tuba uterina'lar üzerindeki olumsuz etkilerini ve bir antioksidan olan Resveratrol'ün bu olumsuz etkileri geri döndürebilme erkini histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırdık. Bu erekle 6 gruba ayırdığımız 20 günlük 36 adet dişi sıçana 30 gün süresince doza bağımlı olarak DBP, çözücü (Karboksimetil selüloz) ve DBP + Resveratrol uyguladık. Verileri SPSS 19.0 programıyla değerlendirdik ve anlamlı bulduk. Hematoksilen – eozin, Masson's trikrom boyamaları ve sitokrom – c primer antikor ile incelediğimiz dokularda DBP'nin artan dozlara bağımlı olarak tuba uterina'ya hasar verdiğini, Resveratrol'ün ise bu hasarı geri çevirebilme erki olduğunu ancak yüksek doz DBP uygulanan grupta daha az etkili olması nedeniyle doz bağımlı olarak kullanılmasının olumlu etkisini arttırabileceği kanısına vardık. Ayrıca tuba uterina'daki Lipit peroksidasyonunu ölçmek için MDA (Malondialdehit) konsantrasyonlarını inceledik. DBP ve çözücü (CMC) uygulanan gruplarda tubal peroksidasyonların anlamlı şekilde arttığını, total sülfidril grubunun (RSH) ise azaldığını gözlemledik. Tuba uterina'ların oosit taşınmasında, sperm olgunlaşmasında ve fertilizasyonda oldukça önemli işlevleri olduğunu biliyoruz. Bu çalışma Tuba uterina'larda DBP toksisitesinin yarattığı hasara bağlı olarak gelişebilen infertiliteyi anlamada önemli ve yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Di-n-bütül fitalat (DBP), Resveratrol, Tuba uterina, Sitokrom -c

The effects of di-n-butyl phthalate on tuba uterina and possible protective effect of resveratrol

Nur Pakize Akkaya¹, Çiğdem Elmas¹, Merve Cemile Seymen¹, Gülnur Take Kaplanoğlu¹, Dila Şener²

¹Gazi University Faculty of Medicine Department of Histology - Embryology, Ankara

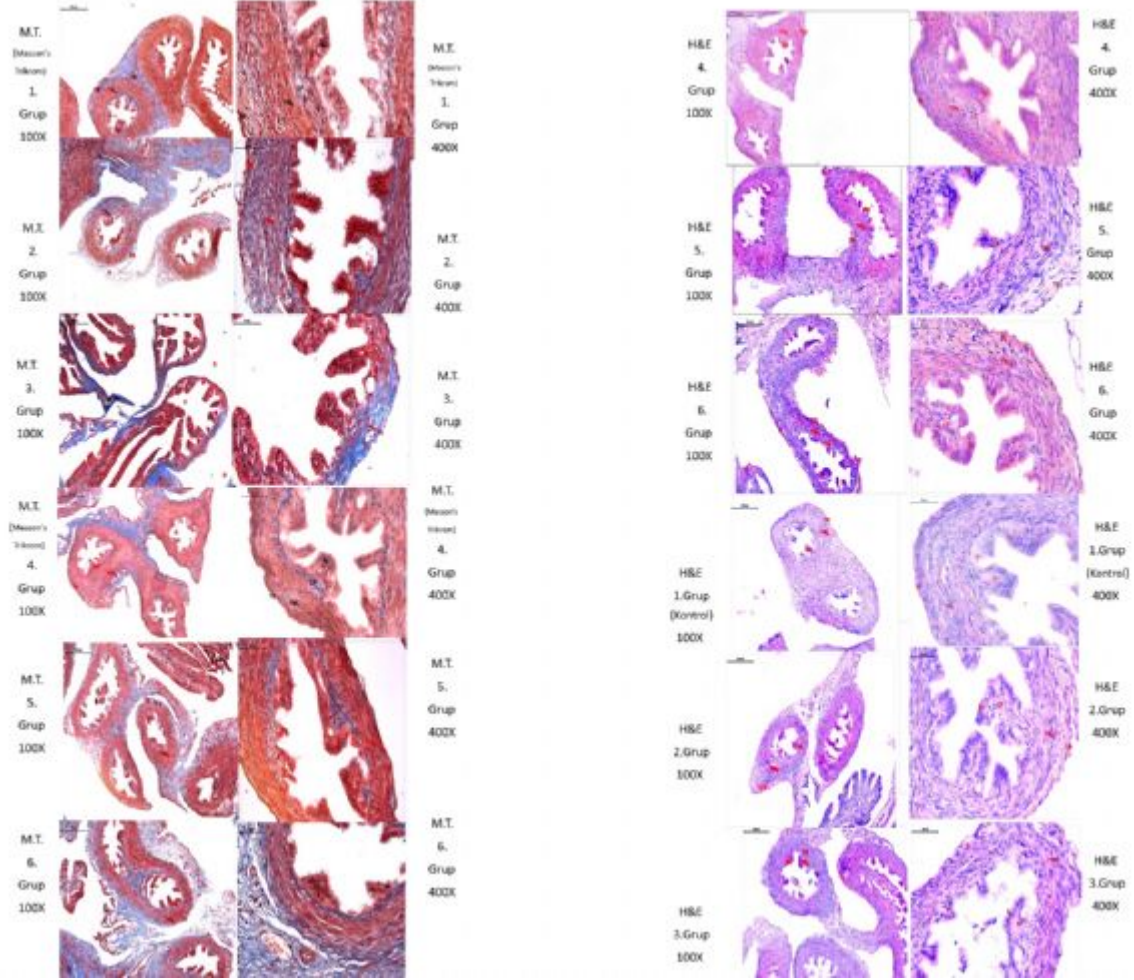
²Okan University Faculty of Medicine Department of Histology - Embryology, İstanbul

Di-n-butyl phthalate (DBP) is an ester of phthalic acid that disturbs endocrine functions. It is used as a plasticizer in many substances such as dyes, enteric coatings of the drugs, toys and food packaging. It has many known adverse effects to the organism; particularly it can lead to infertility via its effects on the reproductive system. Resveratrol is a potent antioxidant that protects the organism against oxidative stress, it has been known and used for a long time. In our study, using histochemical and immunohistochemical methods we investigated the adverse effects of DBP on uterine tubes which are among the organs of female reproductive system, and the potential of Resveratrol as an antioxidant to reverse these adverse effects. For this purpose, we administered certain doses of DBP, solvent (carboxymethyl cellulose) and DBP+Resveratrol to 36 female rats aged 20 days which we divided into 6 groups during 30 days period. Data analysis was performed using Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 19.0 software and it was found statistically significant. Examination of the tissues using hematoxylin-eosin, Masson's trichrome stains and cytochrome-c primary antibodies revealed that DBP caused damage to uterine tubes in a dose dependent way, and that Resveratrol had the potential to reverse these damage; however it was less effective in the group that received high dose of DBP, therefore we concluded that its favorable effects could be enhanced by using it in dose-dependent way. Uterine tubes have very important functions as oosite transport, sperm maturation and fertilization. This study could be important for further understanding of DBP toxicity in uterine tubes as one of the causes of

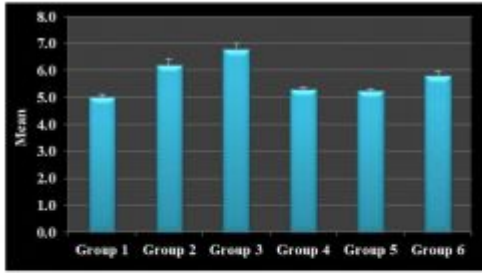
infertility.

Keywords: Di-n-butyl phthalate (DBP), Resveratrol, Tuba uterina, Cytochrome -c

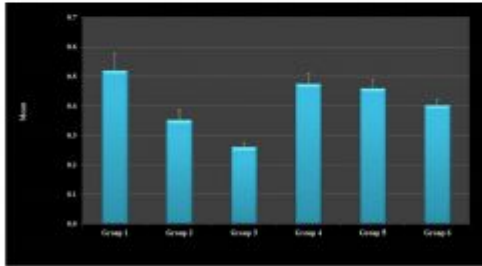
Hematoksilen - Eozin Boyaması ve Masson'un Üçlü Boyaması (Tüm Gruplar)
Hematoxyline - Eosin and Masson's Trichrome (All of Groups)



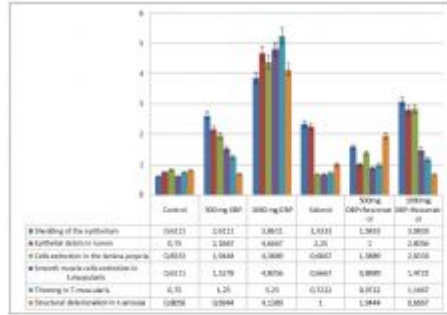
İstatistikler - Dejenerasyon Kriterleri, İmmünreaktivite ve MDA-RSH Seviyeleri
Statistics - Degeneration Criteria, Immunoreactivite and MDA-RSH Levels



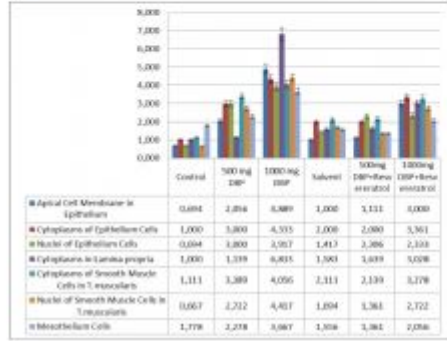
Şekil 3: Gruplara göre MDA düzeyleri.



Şekil 4: Gruplara göre Total Sülfidril Grubu (RSH) düzeyleri.

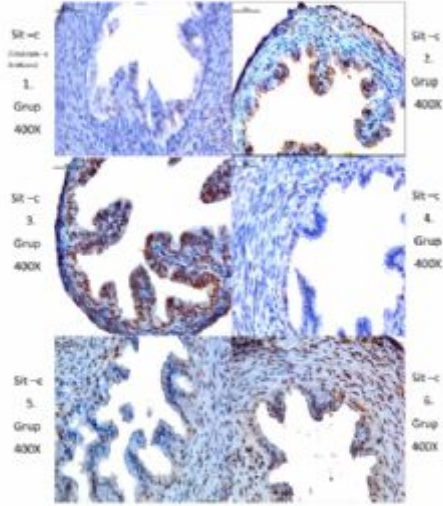


Şekil 1: Dejenerasyon Kriterleri tablosu. (Işık mikroskopisi altında Histokimyasal Analizler)



Şekil 2: Gruplar arasında Sitokrom -c primer antikoru yoğunluğu dağılımı. (Işık mikroskopisi altında İmmünohistokimyasal Analiz)

Sitokrom -c Primer Antikoru (IHC) (Tüm Gruplar) Cytochrome -c Primary Antibody (IHC) (All of Groups)



Kaynakça / References: 1. Monograph on the potential human reproductive and developmental effects of di-n-butyl phthalate (DBP). (2003). Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction (CERHR), National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services, NIHPubl No., 03-4486. 2. Ema, M., Miyawaki, E., and Kunio, K. (2000). Effects of di-n-butyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats. *Reproductive Toxicology*, 14, 13-19. 3. Aggarwal, B., and Shishodia, S. (2005). *Resveratrol in health and disease*. CRC Press, 17. 4. Greep, R. (1996). *Female Reproductive System, Uterine (Fallopian) Tubes in Histology*. (2nd Edition). Mc Graw - Hill Book Company, 647-651.

P096

Rekombinant hCG ile ovulasyonun tetiklendiği sikluslarda ovulasyon oranlarının değerlendirilmesi

Alev Özer¹, Aslı Yaylalı², Hilal Sakallı¹, Bahar Çınar², Hakan Kıran¹, Murat Bakacak¹

¹Sütçü İmam Üniversitesi, Kadın hastalıkları ve doğum anabilim dalı, Türkiye

²Sütçü İmam Üniversitesi, Histoloji ve embriyoloji anabilim dalı, Türkiye

AMAÇ: Rekombinant human chorionic gonadotropin (r-hCG) ile ovulasyonun tetiklendiği klomifen sitrat(CC) veya gonadotropin(Gn) sikluslarında ovulasyon oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. MATERYAL-METOD: Açıklanamayan infertilite nedeniyle Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi infertilite polikliniğinde CC veya Gn ile ovulasyon indüksiyonu uygulanan hastalar çalışmaya dahil edildi. 1-2 adet en az 16 mm çapında dominant follikülü gelişmiş tüm olgularda subkutan 250 µg r-hCG enjeksiyonundan 36-40 saat sonra IUI uygulandı. Ovulasyonun değerlendirilmesi için IUI günü ve IUI'dan 48 saat sonra transvajinal ultrasonografi (TV USG) yapıldı.

BULGULAR: Çalışmaya dahil edilen 70 olgunun yaş ortalaması 31.0 ± 5.9 olarak saptandı. Olguların %74.3'ünde primer, %25,7'sinde sekonder infertilite mevcuttu. Ovulasyon indüksiyonu için olguların %67,1'inde CC, %32,9'unda Gn kullanıldı. Olguların %31,4'ünde r-hCG ile tetiklenmesine rağmen ovulasyonun gerçekleşmediği saptandı.

SONUÇ: Bu çalışmadan elde edilen bulgular, 250 µg r-hCG ile ovulasyonun gerçekleşmediği olguların belirlenmesinin ve bu olgularda sonraki sikluslarda daha yüksek dozlarda r-hCG kullanılmasının ovulasyon indüksiyonu siklusların başarı oranını arttıracaklarını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: ovulasyon oranı, rekombinant hCG, intrauterin inseminasyon

An evaluation of ovulation rates in cycles triggered by recombinant hCG

Alev Özer¹, Aslı Yaylalı², Hilal Sakallı¹, Bahar Çınar², Hakan Kıran¹, Murat Bakacak¹

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Sutcu Imam University, Turkey

²Department of Histology and embryology, Sutcu Imam University, Turkey

OBJECTIVE: To determine the ovulation rates in clomiphene citrate (CC) or gonadotropin (Gn) cycles triggered by recombinant human chorionic gonadotropin (r-hCG).

Materials and methods: The patients in whom ovulation induction with CC or Gn was performed in the infertility department of Kahramanmaraş Sütçü İmam University were recruited into the study. In all cases with 1-2 dominant follicle sized 16 mm or more, intrauterine insemination (IUI) was performed after 36-40 hours following the subcutaneous injection of 250 µg r-hCG. Transvaginal ultrasonography (TV USG) was performed at the time of IUI and 48 hours after the IUI to determine the ovulation.

RESULTS: The mean age of 70 cases recruited into the study was determined as 31.0 ± 5.9 years. Infertility was primary in 74.3% of the cases and secondary in 25.7%. Ovulation induction was performed with CC in 67.1% of the cases and with Gn in 32.9%. It was found that although r-hCG was used for triggering ovulation, ovulation was not achieved in 31.4% of the cases

CONCLUSION: Based on the results of the current study it may be considered that determination of cases in whom ovulation was not triggered by 250 µg r-hCG and than administration of r-hCG at higher doses in the next cycles would increase the success rate of ovulation induction cycles.

Keywords: Ovulation rate, recombinant hCG, intrauterine insemination

P097

İskemi-reperfüzyon uygulanmış sıçanlarda IL-1 ve VEGF'in over ve uterus dokusundaki değişimi

Yasemin Ersoy Çanılıoğlu¹, Gözde Erkanlı Şentürk¹, Melisa Aslan², Sadık Şahin³

¹Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Göztepe, İstanbul, Türkiye

²Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göztepe, İstanbul, Türkiye

³Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü, Göztepe, İstanbul, Türkiye

İskemi reperfüzyon (I/R) hasarı, infiltrasyonun sonucu olarak endotel ve parankima hücrelerinde hasara neden olur. İnsan vücudundaki her doku tarafından üretilen vasküler endotelial büyüme hormonu (VEGF); endotel hücre geçirgenliğinde, proliferasyonda, vaskülogenez, anjiyogenez ve hücrelerin göçünde önemli bir role sahiptir. Sitokin ailesinin bir üyesi olan interlökin-1 immün sistem hücrelerinin uyarılmasında, inflammatuar reaksiyonlarda ve hematopoezde görev alır. Ayrıca, IL-1 ailesi, otoinflammatuar hastalıklarda terapi amaçlı kullanılmaktadır.

Bu çalışmada amacımız, I/R uygulanmış sıçanların over ve uterus dokularındaki VEGF ve IL-1 proteinlerinin değişimlerinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaç doğrultusunda; sıçanlar kontrol ve iskemi/reperfüzyon grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı. İskemi/reperfüzyon grubundaki sıçanlara 45 dakika iskemiye takiben 45 dakika reperfüzyon uygulandı. Elde edilen over ve uteruslar %10 nötral formalinde fikse edildi. Daha sonra histopatolojik inceleme için hematoksilen & eozin ile boyandı. VEGF ve IL-1 proteinlerini göstermek için de VEGF ve IL-1 immünohistokimyası uygulandı.

Histopatolojik inceleme sonuçlarında, I/R grubunda kontrol grubuna kıyasla, over foliküllerinde ve uterus endometriyumunda ileri derece dejenerasyon olduğu gösterildi. Ayrıca I/R grubunda kontrol grubuna göre, VEGF ve IL-1 immunoreaktivitesinde artış gözlemlendi.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar; VEGF ve IL-1'in uterus ve over iskemi/reperfüzyon hasarında potansiyel bir belirteç olarak kullanılabileceğini, ayrıca VEGF ve IL-1'in doku rejenerasyonu için birbirlerini tetikleyebileceklerini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: VEGF, IL-1, over, uterus, iskemi/reperfüzyon

Alterations of IL-1 and VEGF in ischemia-reperfused ovary and uterus in rats

Yasemin Ersoy Çanılıoğlu¹, Gözde Erkanlı Şentürk¹, Melisa Aslan², Sadık Şahin³

¹Bahcesehir University, School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Goztepe, Istanbul, Turkey

²Bahcesehir University, School of Medicine, Goztepe, Istanbul, Turkey

³Medeniyet University, Goztepe Education and Research Hospital, Department of Gynecology and Obstetrics, Goztepe, Istanbul, Turkey

I/R injury brings about endothelial and parenchymal cell injury as a result of inflammation. Vascular endothelial growth factor (VEGF) which is expressed in every tissue in human body, has important roles in endothelial cell permeability, proliferation, vasculogenesis, angiogenesis, migration. Sitokin family member IL-1, play role in immune system regulation, inflammatory reactions and hematopoiesis. Moreover, IL-1 family, is used as therapeutic agent in auto inflammatory diseases.

The aim of this study is to investigate the alterations of VEGF and IL-1 proteins in I/R applied rat ovary and uterus.

Rats were separated into 2 groups. Group 1, is control group; Group 2, rats were subjected to 45 min ischemia followed by 45 min reperfusion. Ovary and uterus were fixed in 10% neutral formalin. And they were stained by Hematoxylen&Eosin for histopathological observation and VEGF and IL-1 immunohistochemistry was applied for VEGF and IL-1 demonstration.

Histopathological results show severe degeneration of follicles in ovary and endometrium in uterus

in I/R group when compared to control group. VEGF and IL-1 immunoreactivity increased in I/R group when compared to control group in ovary and uterus. In consequence, the present results suggest that VEGF and IL-1 may be potential marker of uterus and ovarian damage in I/R injury pathologically. Furthermore, VEGF and IL-1 might trigger each other in order to regenerate tissue.

Keywords: VEGF, IL-1, ovary, uterus, ischemia/reperfusion

P098

Köpek uterusunda, östrus siklusunda fibronektin reseptör (integrin β 1) ve lamininin immunohistokimyasal lokalizasyonu

Güner Küçük Bayram, Narin Liman, Feyzullah Beyaz, Emel Alan
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji - Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Memeli endometriumu, implantasyona hazırlık ve erken gebeliğin devamı için seksüel siklus sırasında önemli gelişimsel değişimlere uğrar. Endometriyumun periyodik olarak yenilenme olgusu, implantasyon, gebelik ve doğum spesifik, hücre - hücre ve hücre - stromal matriks bağlantılarını gerektirebilir. Hücre ve alt katmanları arasındaki bağlantıya bir çok adezyon molekül grubu, onlardan da en önemlisi olan integrinler aracılık ederler. İnsan endometrial stromal ve desidual hücreleri arasındaki farklılığın, spesifik integrinlerin bulunmasından dolayı olduğu bilindiği halde östrus siklusu sürecinde, köpek dişi genital kanalında fibronektin reseptör (Integrin β 1) ve laminin proteinlerin dağılımı ile ilgili bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada, implantasyona hazırlık aşaması olan seksüel siklus sürecinde, fibronektin reseptör (Integrin β 1) ve laminin'in köpek uterusundaki varlığı ve lokalizasyonlarındaki siklusa bağlı değişimleri ilk kez belirlendi. Bu çalışmanın doku örnekleri, Kayseri'deki özel veteriner kliniklerine rutin ovario - hysterectomie operasyonları için gelen 3-7 yaşlarındaki, farklı ırklarda, her dönem için 5 olmak üzere sağlıklı 15 adet köpekten alındı. Köpek uterusunda fibronektin reseptör (Integrin β 1) lokalizasyonu, endometriyumun yüzey, kript ve bez epitel hücreleri ile stromal hücreler, damarlar, myometriyum, perimetriyum ve peritoneal mezotel hücrelerinde belirlendi. Fibronektin reseptör (Integrin β 1), östrus siklusunun tüm dönemlerinde, köpek uterusunun endometriyum, myometriyum ve perimetriyum katmanlarında pozitif immun reaksiyon gösterdi. Laminin'in genel olarak, kas hücrelerini, damarları ve bağ dokusu hücrelerini çevreleyen ekstrasellüler matriks ile bazal membranlarda lokalize olduğu gözlemlendi. Fibronektin reseptör (Integrin β 1) ve laminin'in, köpek uterus endometriyumunda luteal dönemde yüksek seviyelerde bulunduğu belirlendi. Bu araştırmanın sonuçları, köpeklerde ovulasyon, implantasyon ve embriyonal gelişim ile ilgili olası problemlerin nedenleri ve üreme sürecinin çoğu aşamasındaki bozuklukların tedavisinde bu moleküllerin klinik uygulamalarda kullanımında yararlı olacak ve üremenin en önemli aşaması olan implantation'un anlaşılması ile ilgili gelişmelere katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Dişi köpek, fibronektin reseptör, laminin, östrus siklusu, uterus

The immunohistochemical localization of fibronectin receptor(Integrin β 1) and laminin in the uterus of bitch during the estrous cycle

Güner Küçük Bayram, Narin Liman, Feyzullah Beyaz, Emel Alan
University of Erciyes, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology, Kayseri, Turkey

The mammalian endometrium undergoes a remarkable series of developmental changes during the sexual cycle, in preparation for implantation, and these changes persist into early pregnancy. The phenomena of cyclic endometrial remodelling, implantation, gestation, and parturition may require specific cell to cell and cell to stromal matrix interactions. The interaction between the cell and substratum is mediated by several classes of cell adhesion molecules, one of the most important being the integrins. Although the specificity of integrins is known to differ between human endometrial stromal cells and decidual cells, no information is available on the distribution of the fibronectin receptor (Integrin β 1) and laminin protein in the female reproductive tract of the bitch during the estrous cycle. In this study, the presence of the fibronectin receptor (Integrin β 1) and laminin, and the cyclic changes observed in their distribution in the bitch uterus were determined for the first time during the estrous cycle, which is a preparatory stage for implantation. The tissue samples used in this study were taken from 15 healthy bitches, including 5 animals each in the different phases of the estrous cycle, which were aged 3-7 years, of different breeds and had been admitted to private veterinary clinics in the Kayseri province for routine ovariohysterectomy. It was

determined that, the fibronectin receptor (Integrin $\beta 1$) was localized to the surface, crypt and glandular epithelial cells of the endometrium, the stromal cells, blood vessels, myometrium, perimetrium and peritoneal mesothelial cells in the bitch uterus. In the bitch uterus, the fibronectin receptor (Integrin $\beta 1$) displayed a positive immunoreaction at all phases of the estrous cycle in the endometrium, myometrium and perimetrium. It was observed that, in general, laminin was located in the extracellular matrix surrounding the muscle cells, blood vessels and connective tissue cells, and in the basal membranes. The fibronectin receptor (Integrin $\beta 1$) and laminin were found to be present at high levels in the endometrium of the bitch uterus at the luteal phase. The results of the present study will contribute to the understanding of the underlying reasons of ovulation, implantation and embryonic development problems encountered in bitches, the clinical use of the laminin and fibronectin molecules for the treatment of reproductive disorders, and the interpretation of the implantation stage, which is the most important stage of reproduction.

Keywords: Bitch, fibronectin receptor, estrous cycle, laminin, uterus

P099

Yavaş dondurma tekniği sıçan ovaryumlarında DNA metiltransferaz proteinlerinin ekspresyonlarını değiştirir

Soner Çelik¹, Fatma Uysal¹, Ferda Topal Çelikkan², Sinan Özkavukcu³, Gökhan Akkoyunlu¹, Çiler Çelik Özenci¹

¹Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya

²Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

³Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Ankara Üniversitesi, Ankara

Kanser tedavisi başta olmak üzere, ovaryum rezervi kaybına yol açabilen durumlar öncesinde kadınlarda ovaryum doku parçalarının dondurulmasıyla fertilitenin korunması amaçlanmaktadır. Başarılı bir fertilitenin korunması için, dondurma-çözme ve geri transplantasyon aşamalarında ovaryum dokusunun fizyolojik süreçlerinin korunması önemlidir. Bir epigenetik düzenleyici olan DNA metilasyonu (de novo), DNA metiltransferaz (DNMT) enzimleri olan DNMT3A ve DNMT3B tarafından gerçekleştirilir. Bu enzimler çeşitli imprinting genlerin susturulmasında ya da aktivasyonunda görevli oldukları için ekspresyonel değişimleri dokular için kritiktir. Metiltransferazların yardımcı üreme tekniklerinde kullanılan yöntemlerden etkilendiği bilinmektedir. Ancak, kriyoprezervasyon sürecinin DNMT ekspresyonunu değiştirip değiştirmediği hakkında mevcut literatür bilgisi sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı; dondurulup-çözülen ve geri transplante edilen sıçan ovaryum dokusunda DNMT enzimlerinin ekspresyonlarının değerlendirilmesidir. Çalışmamızda; beş haftalık beş adet Wistar dişi sıçan kullanılmıştır. Siklusa bağlı değişiklikleri ekarte etmek ve ototransplantasyon modelini oluşturmak amacıyla aynı sıçana ait olan ovaryumlar 4 parçaya bölünerek 4 farklı grup oluşturulmuştur: Kontrol (K) grubu, yavaş dondurma yöntemiyle dondurulup-çözüldükten sonra takibe alınan (DÇ) grup, sırt kasına taze ototransplante edilen (T) grup ve dondurulup-çözüldükten 14 gün sonra sırt kasına ototransplante edilen (DÇT) grup. Ovaryum kesitlerinde DNMT3A ve DNMT3B ekspresyonları ve lokalizasyonları immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. İmmünohistokimya bulguları total ovaryum kesitlerinde Image-J ve gelişimin farklı aşamasındaki foliküllerde H-Score analizleri ile değerlendirilerek karşılaştırmalı istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir. DNMT3A ve DNMT3B ekspresyonu, DÇ, T, DÇT gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p < 0,05$). Dondurulup-çözüldükten sonra ototransplante edilen gruptaki DNMT3A ve DNMT3B ekspresyonları transplantasyon grubuna göre anlamlı olarak düşüktür ($p < 0,05$). Primordiyal, primer, sekonder ve tersiyer foliküllerin DNMT3A ve DNMT3B ekspresyon seviyeleri gruplar arasında H-Score ile değerlendirilip istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (Şekil 1 ve 2). Primer, sekonder ve tersiyer foliküllerde DNMT3A ve DNMT3B ekspresyonu; DÇ, T ve DÇT gruplarında kontrol grubuna göre azalmıştır ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. Sonuç olarak bu çalışma ile yavaş dondurma tekniğinin DNMT proteinlerinin ekspresyonlarını dondurulup çözülen, transplante edilen ve dondurulup çözüldükten sonra re-transplante edilen ovaryum dokusunda değiştirdiği ilk defa ortaya konulmuştur. DÇ, T ve DÇT gruplarındaki metiltransferaz ifadelerinin azalması; dondurulup çözülen doku ile taze transplante edilen doku arasında hangi ölçüde epigenetik modifikasyon'a uğradığı sorusunu akıllara getirmektedir. Hem DNMT3A ve DNMT3B'de T ile DÇT grupları arasındaki anlamlı farklılığın, olası epigenetik değişikliğe nasıl katkı yaptığını daha detaylı olarak incelemek gerekmektedir. Yapılacak ileri çalışmalarda yardımcı üreme tekniklerinde kullanılan kriyoprezervasyon ve transplantasyon yöntemlerinin DNMT'ler üzerine etkisinin daha detaylı araştırılması, özellikle kadın fertilitenin korunmasıyla ilgili çalışmalara önemli katkılar yapabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: DNMT3A, DNMT3B, Kriyoprezervasyon, Sıçan, Transplantasyon, Yavaş dondurma

Slow freezing changes expressions of the DNA metiltransferase proteins in cryopreserved rat ovaries

Soner Çelik¹, Fatma Uysal¹, Ferda Topal Çelikkan², Sinan Özkavukcu³, Gökhan Akkoyunlu¹, Çiler Çelik Özenci¹

¹Department of Histology and Embryology, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya

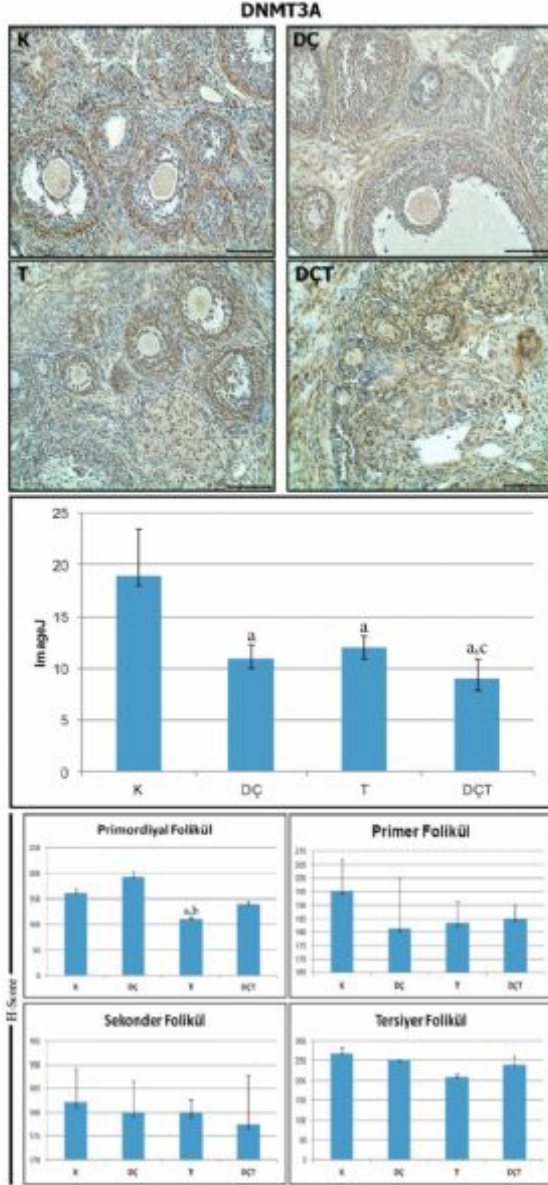
²Department of Histology and Embryology, Ankara University Faculty of Medicine, Ankara

³Department of Obstetrics and Gynecology, Center for Assisted Reproduction, Ankara University Faculty of Medicine, Ankara

Ovarian tissue cryopreservation and transplantation is one of a few feasible treatments for reproductive life span preservation in some women diagnosed with cancer. DNAmethylation is an epigenetic regulator of gene expression and performed by DNMT3A and DNMT3B that are DNA methyltransferase (DNMT) enzymes. Expressional changes in these enzymes are critical in tissues because they play unique roles in silencing or activating various imprint genes. Methyltransferases are known to be affected by methods used in assisted reproduction techniques. There is limited literature knowledge whether cryopreservation process alter DNA methylation or not. The purpose of this study is to evaluate the expression of the DNMT enzymes in cryopreserved rat ovarian tissues after heterotopic autotransplantation. Five weeks old female rats (n=5) were used. In order to exclude menstrual cycle differences between the groups, two ovaries obtained from one rat were divided into 8 equal pieces and were distributed for the following groups: Fresh control (C) group: Two pieces of ovary from each animal were fixed and embedded to paraffin. Frozen/thawed (FT) group: Two pieces of ovary from each animal were embedded to paraffin after slow freezing process. Fresh-transplanted (FTra) group: Two pieces of ovary from each animal were transplanted to the m. trapezius of same animal. Two weeks after autotransplantation, ovarian grafts removed from rat and embedded to paraffin. Frozen/thawed and transplanted (FTTra) group: Two parts of ovary pieces from each animal were transplanted to back muscle of same animal (autotransplanted heterograft) after slow freezing process. After two weeks, the graft harvested and embedded to paraffin. DNMT3A-DNMT3B expressions and localizations in ovarian sections were evaluated by immunohistochemistry. Immunohistochemistry findings in the ovary sections are evaluated with ImageJ and in different stages of follicles were statistically evaluated with H-Score analyzes and comparative statistical analysis were performed. Expressions of DNMT3A and DNMT3B in FT, FT and FTTra groups decreased significantly when compared to the control group ($p < 0,05$). Expressions of DNMT3A and DNMT3B in FTTra groups decreased significantly when compared to FTra group ($p < 0,05$). Expressions of DNMT3A and DNMT3B in primordial, primer, secondary and Graaf follicles were evaluated with H-Score analyze (Figure 1-2). Expressions of DNMT3A and DNMT3B in primary, secondary and Graaf follicles of FT, FTra and FTTra groups decreased when compared to the control group. As a result, changes in the expression of the DNMT proteins with slow freezing technique has been demonstrated for the first time in the ovarian tissues which are frozen/thawed, fresh transplanted and after autotransplanted. Thus, epigenetic modifications may become with decreased expressions of DNMT3A and DNMT3B in FT, FTra, and FTTra groups. We think that investigation of cryopreservation and transplantation techniques could make significant contributions to the further studies regarding fertility preservation in women.

Keywords: Cryopreservation, DNMT3A, DNMT3B, Rat, Slow Freezing, Transplantation

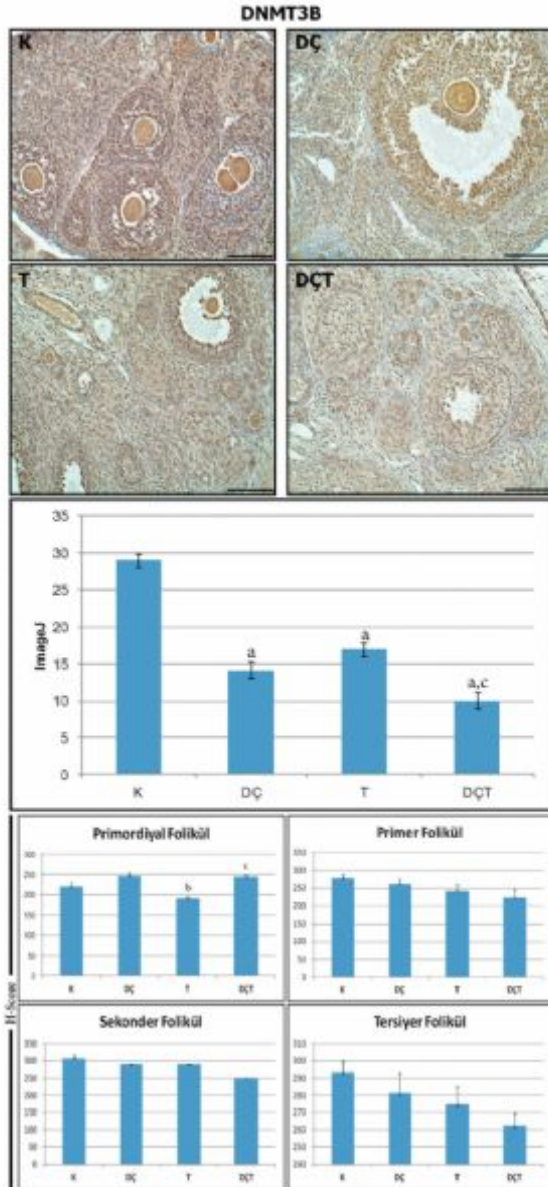
Şekil 1
Figure 1



K: Kontrol grubundaki DNMT3A ekspresyonu, DÇ: Dondurulup Çözme grubundaki DNMT3A ekspresyonu, T: Taze transplant grubundaki DNMT3A ekspresyonu, DÇT: Dondurulup çözüldükten sonra geri transplante edilen gruptaki DNMT3A ekspresyonu. Skala Bar= 50 µm.

K: DNMT3A expression in Control group, DÇ: DNMT3A expression in Frozen/Thawed group, T: DNMT3A expression in fresh transplanted group, DÇT: DNMT3A expression in retransplanted after Frozen/Thawing group. Scale Bar= 50 µm.

Şekil 2
Figure 2



K: Kontrol grubundaki DNMT3B ekspresyonu, DÇ: Dondurulup Çözme grubundaki DNMT3B ekspresyonu, T: Taze transplant grubundaki DNMT3B ekspresyonu, DÇT: Dondurulup çözüldükten sonra geri transplante edilen gruptaki DNMT3B ekspresyonu. Skala Bar= 50 µm.

K: DNMT3B expression in Control group, DÇ: DNMT3B expression in Frozen/Thawed group, T: DNMT3B expression in fresh transplanted group, DÇT: DNMT3B expression in retransplanted after Frozen/Thawing group. Scale Bar= 50 µm.

Kaynakça / References: DNMT3A, DNMT3B, Kriyoprezervasyon, Siçan, Transplantasyon, Yavaş dondurma

P100

Prepubertal ve Erişkin Ovaryumların Di(2-ethylhexyl) phthalate Yanıtı: Apoptozis, Proliferasyon ve Nrf2 aktivasyonu

Melike Sapmaz Metin

Trakya Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Edirne

AMAÇ: Fitalatlar, esnek plastik yapımında ve tüketim ürünlerinde kullanılan, dünya genelinde maruz kalınma oranı her geçen gün artan kirleticilerdir. Fitalatlar arasında 2-ethylhexyl phthalate (DEHP); PVC, oyuncak, kozmetikler ve ilaçlar gibi pek çok tüketim ürünüde en çok kullanılan plastik yapıcudur. DEHP kaynaklı dişi üreme toksisitesi ile ilgili çalışmalar oldukça az sayıdadır ve yetersiz bulgular içermektedir. Bu yüzden, bu çalışmanın amacı, prepubertal ve erişkin ratlarda, yüksek doz DEHP'in ovarian toksisite ve endokrin bozucu etkilerini değerlendirmektir.

MATERYAL-METOD: Prepubertal ve erişkin ratlar, her biri 12 denek içeren iki ana gruba ayrıldı. Birinci ana grup 21 günlük, prepubertal, ikinci ana grup ise erişkin, 3 aylık, virjin *Wistar albino* dişi ratlardan (Trakya Üniversitesi, Deneysel Hayvanları Araştırma Birimi, Edirne, TÜRKİYE) oluşturuldu. Her ana grup, gavaj yöntemiyle, 10 gün boyunca, 1000mg/kg DEHP uygulanan grup ve kendi yaş grubuna ait kontrol gruplarına sahipti. Deneysel süresi sonunda toplanan ovaryalara parafin inklüzyonu uygulandı. Ovaryum kesitlerinde atrezi TUNEL yöntemiyle tespit edildi. Proliferasyon ve hücre antioksidatif yanıt için sırasıyla, proliferasyon hücre nükleer antijeni (PCNA) ve nükleer faktör erythroid 2-ilişkili faktör 2 (Nrf2) immün boyamaları uygulandı.

BULGULAR: Prepubertal ovaryalarda DEHP maruziyeti, foliküler atrezi üzerinde belirgin etki oluşturmaksızın, proliferasyon skorunu anlamlı derecede artırdı. Erişkin deneklerde ise DEHP, kontrol grubuna kıyasla PCNA skorunu az miktarda artırırken, atrezi oranının anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi. Nrf2; stromal hücreler hariç granuloza hücrelerinde, oositlerde ve interstisyel bezlerde pozitif boyanma sergiledi. Sitoplazmik immünoreaktivite HSCORE ile tespit edildi. DEHP uygulaması hem prepubertal hem de erişkin dişilerde kontrol gruplarına kıyasla Nrf2 skorunu azaltırken, nükleer translokasyonu artırdı.

TARTIŞMA: DEHP, prepubertal deneklerde bir ksenoöstrojen olarak, foliküler atrezi yanında maturasyonu da indüklerken, erişkin dişi ratlarda oksidatif stres indükleyicisi rolü neticesinde atreziyi artırmış, PCNA ve Nrf2 immünoreaktivitesinde ise azalmaya neden olmuştur.

Bu çalışmada kullanılan ovaryal dokuları "TUBITAK-1001- 214S199" numaralı projeden hibe olarak alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: apoptozis, Di-(2-ethylhexyl)phthalate, Nrf2, ovaryal, PCNA, rat.

Prepubertal and Adult Ovarian Response to Di(2-ethylhexyl) phthalate: Apoptosis, Proliferation and Nrf2 Activation

Melike Sapmaz Metin

Health Services and Vocational College, Trakya University, Edirne, TURKEY.

OBJECTIVES: Phthalates, widely used in flexible plastics and consumer products, have become ubiquitous contaminants worldwide. Among the phthalates, di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) is the most commonly used plasticizer in a variety of consuming products including PVC, toys, cosmetics, and pharmaceuticals. There are a few reports concerning the female reproductive toxicity of DEHP as well as revealed inconsistent findings. Therefore, the aim of the present study was evaluate the ovarian toxicity and endocrine disrupting activity of DEHP in the prepubertal and adult rat over tissue during exposure to high oral dose.

MATERIALS&METHODS: Prepubertal and adult animals divided into two sets. Each set consisted 12 animals; first set from prepubertal, 21 days old female rats and the second set from sexually mature, 3 months old virgin female Wistar albino rats (Trakya University, Animal Care and Research Unit, Edirne, Turkey). Each set has a group received 1000mg/kg DEHP by gavage (10 consecutive days), and its corresponding control group. At the end of the experiment ovaries were

harvested and paraffin inclusion was processed. Atresia was detected by TUNEL method in the ovarian sections. Proliferation and cellular antioxidative response were determined with proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) immunostaining, respectively.

RESULTS: Prepubertal exposure to DEHP increased cell proliferation in the ovary without affecting follicular atresia. In the second set from adult animals, DEHP induced slight decrease in the PCNA labeling of ovarian sections. However, atresia increased markedly. Nrf2 positive cells observed in the granulosa cells, oocytes and interstitial gland cells except for stromal cells both control and DEHP groups. Cytoplasmic immunoreactivity for Nrf2 was evaluated by HSCORE. Both of the prepubertal and adult exposure to DEHP decreased Nrf2 HSCORE compared to respective controls while increased nuclear translocation.

DISCUSSION: In conclusion, DEHP as a xenoestrogen induced maturation as well as follicular atresia in the prepubertal animals. In the adult female rats DEHP played a role as a oxidative stress inducer and increased atresia whereas decreased PCNA and Nrf2 immunoreactivity in the rat ovary.

The ovarian tissues used in this study were donated from the project "TUBITAK-1001- 214S199".

Keywords: apoptosis, Di-(2-ethylhexyl)phthalate, Nrf2, ovary, PCNA, rat.

Kaynakça / References: Kaynaklar: 1- Li N, Liu T, Zhou L, He J, Ye L. Di-(2-ethylhexyl) phthalate reduces progesterone levels and induces apoptosis of ovarian granulosa cell in adult female ICR mice. *Environ Toxicol Pharmacol* 2012,34(3):869-875. 2- Hannon PR, Brannick KE2, Wang W3, Gupta RK4, Flaws JA. Di(2-ethylhexyl) phthalate inhibits antral follicle growth, induces atresia, and inhibits steroid hormone production in cultured mouse antral follicles. *Toxicol Appl Pharmacol* 2015, 284(1):42-53. 3- Sun X, Lin Y, Huang Q, Shi J, Qiu L, Kang M, Chen Y, Fang C, Ye T, Dong S. Di(2-ethylhexyl) phthalate-induced apoptosis in rat INS-1 cells is dependent on activation of endoplasmic reticulum stress and suppression of antioxidant protection. *J Cell Mol Med* 2015, 19(3):581-94.

P101

Nedeni açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda sekreteruar fazdaki endometriyum epitelinin ultrastrüktürel özellikleri ve epitelde Musin-1 ekspresyonu

Özdem Karaoğlan¹, Yurdun Kuyucu¹, Ibrahim Ferhat Ürünsak², Derya Gümürdülü³, Gülşah Seydaoğlu⁴, Sait Polat¹, Özgül Tap¹

¹Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

³Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

⁴Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Nedeni açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınlarda, implantasyondaki yetersizlik, yardımla üreme tekniklerinin başarısını sınırlayan en önemli etkenlerden birisidir^{1, 2}. Sunulan çalışmada, fertil ve nedeni açıklanamayan infertilite tanısı konulan kadınların sekreteruar fazdaki endometriyum dokularının ışık ve elektron mikroskopik düzeyde yapısal özellikleri ile implantasyonda önemli rol oynayan MUC-1'in immünohistokimyasal ifadesi ve biyokimyasal değerleri karşılaştırılarak sonuçların implantasyon başarısındaki rolünün değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada açıklanamayan infertilite tanısı konulan 18 hastadan ve çeşitli jinekolojik şikayetleri olan 18 fertil kadından ovulasyondan sonra 5., 6 ve 7. günlerde endometriyum biyopsileri alınarak çalışma ve kontrol grupları oluşturuldu. Endometriyal doku örneklerinin bir bölümü ışık mikroskopik, bir bölümü ise elektron mikroskopik doku hazırlama yöntemlerine uygun olarak hazırlandı. Işık mikroskopik inceleme için hazırlanan dokulara Hematoksilen-Eozin boyası ve MUC-1'in belirlenmesi için immünohistokimyasal yöntemler uygulandı. Ayrıca menstrüel siklusun 2. gününde ve biyopsi esnasında kan örnekleri de alınarak, serum hormon düzeyleri belirlendi. Serum FSH, LH, TSH, östrojen, progesteron ve total testosteron düzeylerinin tüm gruplar arasında önemli bir fark göstermediği, ancak prolaktin değerinin infertil grupta yüksek olduğu saptandı. İnfertil kadınlarda endometriyum yüzey epitelinin yer yer psödostratifiye ve çok katlı yassı epitel yamaları içerdiği, basit prizmatik epitelin olduğu bölgelerde, mikrovillüstan zengin hücrelerin yaygın olduğu, pinopodlu ve vesiküllü hücrelerin oldukça azaldığı, pinopod gelişiminin fertil gruptakilere oranla yetersiz olduğu, hücrelerarasında intraepitelyal lenfositlere sıklıkla rastlanıldığı görüldü. Endometriyal bezlerde ise gelişimin fertil gruptakilere göre daha zayıf olduğu, bez hücrelerinde mitoz bölünmenin devam ettiği izlendi. MUC-1 immünreaktivitesinin ise iki grup arasında fark göstermediği görüldü. Tüm bu bulgular dikkate alındığında infertil hastalarda endometriyumda yüzey ve bez epitelinde gözlenen bu yapısal farklılıkların, bu hücrelerin steroid hormonlara cevabındaki yetersizlikten kaynaklanabileceği ve bu değişikliklerin blastokistin endometriyuma implantasyonunu etkileyebileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Açıklanamayan infertilite, endometriyum, TEM, MUC-1

Ultrastructural characteristics and Mucin-1 expression of secretory endometrium of women with unexplained infertility

Özdem Karaoğlan¹, Yurdun Kuyucu¹, Ibrahim Ferhat Ürünsak², Derya Gümürdülü³, Gülşah Seydaoğlu⁴, Sait Polat¹, Özgül Tap¹

¹Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Histology and Emryology, Adana, Turkey

²Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Adana, Turkey

³Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Medical Pathology, Adana, Turkey

⁴Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Adana, Turkey

Inefficiency in implantation is one of the most important factors limiting the success rate of assisted reproduction in the patients with unexplained infertility^{1,2}. This study aims to investigate the role of endometrium during the secretory phase in fertile and infertile women with unexplained infertility by comparing morphological characteristics of endometrium by light and electron microscopic examinations and immunohistochemically expression of MUC-1 and biochemical results

that evaluate the role of the success of implantation rate.

In the present study, work and control groups were composed of 18 patients with unexplained infertility and 18 fertile women, respectively. We performed endometrial biopsy to all women on the 5th, 6th and 7th days after ovulation. Some of endometrial samples were prepared according to the light microscopic methods, while the other parts were prepared according to the electron microscopic tissue processing methods. Also, serum hormone levels of the blood samples were identified on the 2nd day of menstrual cycle and on the biopsy day.

Serum FSH, LH, TSH, estrogen, progesterone and testosterone levels were not significantly different between the two groups, but higher prolactin levels were detected in the infertile group. As a result of histological evaluation, it was observed that endometrial surface epithelium includes locally pseudostratified and squamous epithelial patches and the microvilli-rich cells were very common, pinopod and vesiculated cells were considerably reduced, pinopod development was inefficient, in the simple columnar epithelium and intraepithelial lymphocytes were increased frequently between the epithelial cells in infertile group compared to fertile group. It was observed that developmental retardation of endometrial glands and mitosis continued in gland epithelial cells in infertile group compared to fertile group. It was determined that MUC-1 immunoreactivity was not significantly different between the two groups. It was concluded that structural differences on the surface and gland epithelium of endometrium in infertile patients might be caused from insufficient responses to steroid hormones of these cells and these differences can be caused implantation failure of blastocyst to the endometrium.

Keywords: Unexplained infertility, endometrium, TEM, MUC-1

Kaynakça / References: 1. Bartosch C. Lopes J.M., Beires J. and Sousa M.: Reproductive Sciences, 2011; 18(6): 525-539. 2. Aghajanova L, Hamilton AE, Giudice LC.: Semincell Dev. Biol., 2008; 19: 204-211.

P102

Düşük ve Yüksek Doz Capsaicin Uygulamasının Rat Ovaryum Granuloza Hücrelerinde IGF-1 ve IGFR İfadeleri Üzerine Etkisi

Sabire Peker, Berrin Zık

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD Bursa

Capsaicin (trans-8-methyl-N-vanillyl-6noneamid), Capsicum bitki ailesine ait olup, bibere acılık veren bir bileşiktir. Capsaicin etkisini, transient receptor potential vallinoid 1 (TRPV1) aracılığıyla gösterir. Reseptörle etkileşimi sonucunda katyon kanallarından hücre içine iyon geçişi ve bunun sonucunda da sensorik nöronlarda depolarizasyon ve CGRP (Calsitonine Gen Related Peptid) gibi nörotransmitter maddeler salgılanması meydana gelir. CGRP'nin salınımıyla, IGF-1 ekspresyonunun arttığı farklı çalışmalarda gösterilmiştir fakat capsaicin'in uygulamasının ovaryum granuloza hücrelerindeki IGF-1 ekspresyonu üzerine etkisi bilinmemektedir.

Bu çalışmanın amacı, capsaicin'in düşük ve yüksek doz uygulamalarının, primer olarak elde edilen ratların ovaryum granuloza hücrelerinde, IGF-1 ve IGFR ifade düzeylerinin incelenmesidir. Bu amaca uygun olarak, 30 günlük sıçan ovaryumlarından, belirlenen primer hücre kültürü prosedürünün takibi ile granuloza hücreleri izole edildi. Elde edilen granuloza hücrelerine; kontrol A (hücre kontrol grubu), kontrol B (taşıt maddenin (DMSO) verildiği kontrol grubu), 50 ve 150 µM capsaicin'in uygulanacağı 4 farklı doz, 24 saat boyunca uygulandı. Doz uygulamalarını takiben, granuloza hücrelerindeki IGF-1 ve IGFR ifade düzeylerinin belirlenmesi amacıyla hücrelere immünohistokimya metodu uygulandı.

Çalışmanın sonucunda, hem IGF-1, hem de IGFR ifadelerinde capsaicin dozuna bağlı olarak artış meydana geldiği gözlenmiştir. Bu artışın hem doz gruplarının, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında; hem de doz grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca CAP uygulanan gruplarda IGFR ifadesinin IGF-1'e göre daha şiddetli olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, capsaicin dozuna bağlı olarak ovaryum granuloza hücrelerinde IGF-1 ve IGFR ifadelerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Ovaryum elemanlarının gelişim evrelerinde oldukça önemli rol oynayan IGF-1'in indüklenmesiyle, özellikle folliküllerin gelişim süreçlerinde ve/veya bozukluklarında capsaicin'in etkili olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Granuloza hücresi, capsaicin, IGF-1, IGFR.

IGF-1 and IGFR Expressions After Low and High Doses of Capsaicin Treatment in Rat Ovarian Granulosa Cells

Sabire Peker, Berrin Zık

University of Uludag, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology

Capsaicin (trans-8-methyl-N-vanillyl-6noneamid) is a pungent ingredient in red peppers, which belong to the Capsicum family. Capsaicin shows its effects by binding the transient receptor potential vallinoid 1 (TRPV1). Ion transmission in cation channels caused by receptor engagement leads to sensory neuron depolarization and release of neurotransmitter in substances such as CGRP (Calsitonine Gen Related Peptid). It has been demonstrated in different studies that IGF-1 expression increases with CGRP release but, there is no data about IGF-1 expression in ovarian granulosa cells after capsaicin treatment.

The aim of this study is to investigate the IGF-1 and IGFR expressions in primary rat ovarian granulosa cells, after low and high doses of capsaicin.

In accordance with this purpose, granulosa cells were isolated from 30-day rat ovaries. The granulosa cells were divided into four dosage groups; control A (cell control), control B (vehicle (DMSO) control), 50 and 150 µM capsaicin groups. Granulosa cells were exposed to capsaicin for 24 hours. After CAP administration, immünohistokimya was performed on granulosa cells using IGF-1 and IGFR antibodies.

As the result of the experiments, both IGF-1 and IGFR expressions were found to be increased with capsaicin doses. This increase between control and capsaicin groups was istatistically significant. Also it was observed that IGFR expression was more intense than IGF-1 aws determined by immünohistokimya staining.

In consequence, IGF-1 and IGFR expressions increase upon capsaicin treatment in ovarian

granulosa cells. Because of the IGF-1 crucial role on ovary development stages, capsaicin treatment can be effective on follicular development an/or disorders characterized by low IGF-1 levels.

Keywords: Granulosa cells, capsaicin, IGF-1, IGFR.

Kaynakça / References: Behl R., Kaul R. Insulin like growth factor 1 and regulation of ovarian function in mammals. *Indian J Exp Biol.* 2002 Jan;40(1):25-30. Alatrisme V, Herrera-Camacho I, Martinez Mi, Limon Id, Gonzalez-Flores O, Luna F. Sensory denervation with capsaicin reduces ovarian follicular development and delays the onset of puberty in guinea pigs. *Advances in Reproductive Sciences*, 1(3): 29-37, 2013. Harada N, Okajima K, Arai M, Kurihara H, Nakagata N. Administration of capsaicin and isoflavone promotes hair growth by increasing insulin-like growth factor-I production in mice and in humans with alopecia. *Growth Horm. IGF Res.* 17(5): 408-415, 2007. Harada N, Okajima K, Arai M, Kurihara H, Nakagata N. Stimulation of sensory neurons by capsaicin increases tissue levels of IGF-I, thereby reducing reperfusion-induced apoptosis in mice. *Neuropharmacology*, 52(5): 1303-1311,2007.

P103

Fare oosit ve preimplantasyon dönem embriyolarda DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B proteinlerinin görel ekspresyon düzeyleri ile hücre içi yerleşimlerinin belirlenmesi

Fatma Uysal, Saffet Öztürk, Gökhan Akkoyunlu
Akdeniz Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

Epigenetik mekanizmalardan biri olan DNA metilasyonu, DNA zincirindeki guaninin önündeki sitozinin 5. karbon atomuna metil grubu takılmasıyla meydana gelmektedir. De novo (yeni baştan) ve sürdürme metilasyon olarak ikiye ayrılır. De novo metilasyon, metillenmemiş DNA zincirinin metillenmesi olarak tanımlanırken; sürdürme metilasyon ise DNA replikasyonu sırasında yarı metillenmiş DNA zincirinin metillenmesi olarak bilinmektedir. Her iki metilasyon mekanizması da, DNA metiltransferaz (DNMT) enzimleri tarafından gerçekleştirilir. Memelilerde, 5 farklı DNMT enzimi tanımlanmıştır. Bu enzimlerden birisi olan DNMT1, sürdürme metilasyonda görevli iken; DNMT3A ve DNMT3B de novo metilasyonda görev almaktadır. Bu proje çalışmasında, fare oosit ve preimplantif dönem embriyolarda DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B proteinlerinin ekspresyon düzeyleri ve hücre içi yerleşimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Araştırma kapsamında, süperovulasyon uygulaması 5 IU PMSG (gebe kısarak serum gonadotropini ve 5 IU insan koryonik gonadotropin (hCG) kullanımı ile gerçekleştirildi. Süperovule edilen 4-5 haftalık Balb/C ırkı dişi farelerden belirlenen zaman çizelgesinde, oosit [germinal vezikül (GV) ve metafaz II (MII)] ile preimplantif dönem embriyolar (1-hücreli, 2-hücreli, 4-hücreli, 8-hücreli, morula ve blastosist) toplandı. Her grup için en az 3 tekrar yapılmıştır. Toplanan oosit ve preimplantif dönem embriyolarda DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B proteinlerinin görel ekspresyon düzeyleri ile hücre içi yerleşimleri immüno Floresan tekniği ile belirlendi.

Analizler sonucunda, DNMT1 proteininin oosit ve preimplantif dönem embriyolarda sitoplazmada yerleşim gösterdiği belirlendi. Ayrıca, DNMT1 protein ekspresyonunun, membrana yakın yerlerde daha yoğun olduğu gözlemlenmiştir. DNMT3A ise oosit ve preimplantif dönem embriyolarda nükleer bölgede yoğun, sitoplazmada ise zayıf ekspresyon paternine sahiptir. Blastosist aşamasındaki embriyolarda ise DNMT3A'nın iç hücre kitlesinde daha yoğun yerleşim gösterdiği görüldü. DNMT3B'nin ise oosit ve embriyolarda DNMT3A ile benzer yerleşim gösterdiği, ancak özellikle 4-hücreli embriyo aşamasından blastosist aşamasına kadar nükleer yerleşiminin DNMT3A ile kıyaslandığında daha zayıf olduğu göze çarpmıştır. Ayrıca, iç hücre kitlesindeki yerleşimleri karşılaştırıldığında, DNMT3A ekspresyonu iç hücre kitlesinde daha yoğun bulunmuştur. Bu proteinlerin görel ekspresyonel düzeyleri karşılaştırıldığında, 2- hücreli embriyo aşamasından blastosist aşamasına kadar her üç proteinde de azalma görülmüştür. DNMT3A ve DNMT3B'nin ise blastosist aşamasında ekspresyonlarının arttığı analiz edilmiştir.

Bu çalışma, DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B proteinlerin oosit ve preimplantif dönem embriyolarda ekspresyonel düzeylerinin karşılaştırıldığı ilk çalışmadır. Bulgular, oosit ve embriyolardaki global DNA metilasyon seyri ile uyumludur. DNMT3A'nın blastosist iç hücre kitlesindeki yoğun ekspresyonu, bu hücrelerdeki gen ekspresyon düzenlenmesinde bu proteinin etkili olabileceğini düşündürmektedir. DNMT proteinlerin oosit ve erken dönem embriyolardaki ekspresyonel farklılığını anlamını belirlemeye yönelik moleküler biyolojik detaylı çalışmalara gereksinim olduğu kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, oosit, embriyo, DNA metilasyonu

Determination of relative expression levels and cellular localization of DNMT1, DNMT3A and DNMT3B proteins in mouse oocyte and preimplantation stage embryos

Fatma Uysal, Saffet Öztürk, Gökhan Akkoyunlu
Department of Histology and Embryology, Akdeniz University, School of Medicine, Antalya, Turkey.

Methylation is one of the epigenetic mechanisms which adds methyl group to the fifth carbon atom of the cytosine present in front of guanine in DNA chain. It is divided into maintenance methylation and de novo methylation. De novo methylation is identified as methylation of unmethylated DNA

chain whereas maintenance methylation is known to methylate hemimethylated DNA chain during DNA replication. Both processes are catalyzed by DNA methyltransferase (DNMT) enzymes. Five DNMT enzymes are defined in mammals. DNMT1 is responsible for maintenance methylation while DNMT3A and DNMT3B play role at de novo methylation. In this work, we aimed to determine relative expression levels and cellular localization of DNMT1, DNMT3A and DNMT3B proteins in mouse oocytes and preimplantation stage embryos.

In this study, superovulation is performed by using 5 IU PMSG (pregnant mare's serum gonadotropin) and 5 IU hCG (human chorionic gonadotropin). The oocytes [germinal vesicle (GV), metaphase II (MII)] and preimplantation embryos (1-cell, 2-cell, 4-cell, 8-cell, morula and blastocyst) were obtained from 4-5 week-old female Balb/C mice. Minimum three repeats are made for each group. Relative expression levels and cellular localization of DNMT proteins are identified in oocytes and preimplantation embryos by using immunofluorescence method.

DNMT1 protein localization is observed at cytoplasm and interestingly more intensely in membranous region of oocyte and preimplantation stage embryos after analyses. We observed strong DNMT3A localization at nuclear region of oocytes and preimplantation embryos but also weak signals detected in cytoplasm. DNMT3A expression is identified more intensively in inner cell mass at blastocyst stage. DNMT3B expression pattern was similar with DNMT3A localization however nuclear localization of DNMT3B was weaker compared with DNMT3A localization from 4-cell embryo to blastocyst stage. Furthermore, when compared with localization at inner cell mass, DNMT3A localization is found more intensively at inner cell mass.

When compared with relative expression levels of these proteins, each three protein's expressions are found to decrease from 2-cell embryo stages to blastocyst stage. We analyzed increased expression level of DNMT3A and DNMT3B at blastocyst stage.

This is the first study to analyze expression levels of DNMT proteins at oocytes and preimplantation embryos. Our findings are consistent with global DNA methylation process. Intensive expression level of DNMT3A at inner cell mass shows that the protein may be effective for regulating gene expression at these cells. We suggest that detailed molecular studies are needed to determine the significance of expressional differences.

Keywords: DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, oocyte, embryo, DNA methylation

P104

Siklofosfamide bağlı ovaryan toksisiteyi azaltmada silymarinin rolü

Pınar Türk¹, Göktan Kuşpınar², Kemal Özerkan¹, Berrin Avcı³

¹Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Bursa

²Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa

³Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi, Bursa

GİRİŞ:

Reproduktif dönemde kadınlar kanser tedavisi için sitotoksik kimyasal tedavi formlarına maruz kalmaktadır.

Siklofosfamid, alkilleyici grubunda antineoplastik kemoterapötik bir ajandır. Siklofosfamid granüloza hücre çoğalmasını indükler ve serum östradiol düzeylerinin azalmasına sebep olarak ovaryan toksik etki göstermektedir (1).

Silymarin antiproliferatif, antiapoptotik, antioksidan, antiinflamatuvar ve immünmodülatör etkilere sahip bir flavinoiddir. Silymarinin fetal karaciğer ve beyininde ethanol toksisitesini (2), kemoterapi süreçlerinde gerçekleşen kardiyotoksisiteyi koruyucu etkileri gösterilmiştir (3).

Puberte ile birlikte AMH preantral foliküllerin granüloza hücrelerinden üretilir. Primordiyal folikül rezervinin korunmasında ve erken folliküler aktivasyonun inhibisyonunda görevlidir. Over rezervinin önemli bir belirteçidir (4,5). Bu çalışmada siklofosfamidin over dokusu üzerine olan gonadotoksik etkilerinde Silymarin uygulamasının koruyucu etkinliği değerlendirildi.

GEREÇ-YÖNTEM:

Çalışmada 42 adet Wistar Albino dişi erişkin sıçan, kontrol ve farklı uygulama metotlarından oluşan deney gruplarına ayrılarak değerlendirildi (Tablo I). Ovaryektomi sonrası doku örneklerine %4'lük paraformaldehit solüsyonunda 6 gün immersiyon fiksasyon uygulandı. Doku takibinin ardından alınan 5µm kalınlığında parafin kesitler H&E ile boyandı ve ışık mikroskopik olarak değerlendirildi. AMH ölçümleri kardiak kandan izole edilen serumdan Anti-ELİZA yöntemi ile gerçekleştirildi. İstatistiksel değerlendirme Shapiro-Wilk testi ve Mann-Whitney U testleri ile yapıldı.

BULGULAR:

Grup 1 ovaryum kesitlerinde Grup 2'ye oranla antral folikül sayısı istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). Grup 2 ve Grup 3 arasında sekonder folikül sayıları ve antral folikül sayıları açısından grup 2 aleyhinə istatistiksel anlamlılık saptandı ($p=0,018$ ve $p<0,001$). Siklofosfamid uygulanan grupla silymarin verilen grup karşılaştırıldığında antral folikül sayıları açısından silymarin uygulanan grupta daha yüksek değerler görüldü ve istatistiksel anlamlılık görüldü. AMH değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo II).

TARTIŞMA ve SONUÇ:

Siklofosfamidin oksidatif yolak üzerinden antral follikül atrezisine neden olduğu rapor edilmiştir (6, 7). Bu çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. AMH üretiminin gelişmekte olan folliküllerin granüloza hücrelerinden üretiliyor olması serum hormon seviyelerinde değişiklik olmamasını açıklamaktadır. Silymarinin folliküler stimülasyon sürecinde antral follikül sayısını olumlu etkilediği rapor edilmiştir (8). Bu çalışmada siklofosfamidin ovulatuvar siklusta antral foliküllerin gelişimini baskılayıcı etkisinin silymarinin etkisi ile inhibe edildiği ve siklofosfamidin ovaryan toksisitesini antral folikül düzeyinde anlamlı olarak azalttığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Silymarin, antimülleryan hormon, over rezervi, siklofosfamid

Protective effect of silymarin on cyclophosphamide toxicity in ovary

Pınar Türk¹, Göktan Kuşpınar², Kemal Özerkan¹, Berrin Avcı³

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Uludag University Faculty of Medicine, Bursa, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Uludag University Institute of Health Science, Bursa, Turkey

³Department of Histology and Embryology Department of Obstetrics and Gynecology, Uludag University Faculty of Medicine, Bursa, Turkey

INTRODUCTION:

Women in the reproductive period are exposed to the cytotoxic chemotherapy for cancer treatment.

Cyclophosphamide, included in alkylating group, is an antineoplastic chemotherapeutic agent. Cyclophosphamide supports proliferation of the granulosa cells and as the cause of a decreased serum estradiol levels demonstrates its cytotoxic effect on the ovary(1).

Silymarin is a flavinoid that has antiproliferative, apoptotic, anti-inflammatory, antioxidant and immunomodulatory effects. Silymarin has also preventive effects on ethanol cytotoxicity of fetal liver and brain(2), besides cardiotoxicity which occurred in chemotherapy process has been demonstrated(3).

Once onset of puberty, AMH was produced from granulosa cells of developing follicles. AMH has a role of preventing primordial follicle reserve and early inhibition of follicular activation(4,5). It is a prominent indicator of ovarian reserve.

In this study, the protective efficiency of silymarin's administrations were evaluated on ovarian tissue exposed to gonodotoxic effects of cyclophosphamide.

MATERIAL-METHOD:

42 adults Wistar Albino female rats were divided as control and sample groups both included different routes of administrations and assessments. After ovariectomy, tissue samples has been performed the immersion fixation with 4% paraformaldehyde for six days. Later on tissue processing, paraffin sections of 5 um thickness were stained with H&E and evaluated. AMH measurement were performed with ELISA immunoassay via serum isolated form of cardiac blood. Statistical analysis were run with Shapiro-Wilk test and Mann Withney U test.

RESULTS:

The assesment of sections between Group1 and Group2, it was observed that Group1 had statistically high value according to the antral follicles counts($p < 0,001$). In the comparison between Group2 and Group3 in terms of both the seconder and antral follicles, Group 2 was ascertained statistically significant($p = 0,018$ ve $p < 0,001$). There was observed high value and statistically significance in administrated of silymarin group(Group 4) compared with cyclophosphamide administrated group(Group 2) in regard to the antral follicles counts. AMH levels did not show any significant difference in any group($p > 0.05$). (Table II)

DISCUSSION and CONCLUSION:

It is reported that cyclophosphamide is caused by antral follicles atresia through oxidative pathway(6,7). In our study, the same results were observed. No changes in hormon levels could be explained that AMH was produced from only growing follicles. Silymarin's possitive effect on antral follicles during follicular stimulations was reported(8). In our study, we observed that cyclophosphamide has toxic effects on antral follicles in the late phase of the ovulation and administration of silymarin is reduced its toxicity in terms of antral follicles.

Keywords: Silymarin, anti mullerian hormone, ovarian reserve, cyclophosphamide

Tablo:1

Grup 1 (n=12)	Siklofosfamid+ Silymarin grubu (200 mg/kg Silymarin peroral 7 gün uygulama sonrasında 100mg/m ² intraperitoneal Siklofosfamid)
Grup 2 (n=12)	Siklofosfamid grubu (100mg/m ² intraperitoneal Siklofosfamid)
Grup 3 (n=6)	Kontrol Grubu 1 (0,5 cc serum fizyolojik)
Grup 4 (n=5)	Kontrol Grubu 2 (200 mg/kg Silymarin peroral 7 gün)
Grup 5 (n=6)	Kontrol Grubu 3 (Silymarinin sulandırma formu 2 cc Serum fizyolojik-peroral 7 gün)

Table:1

Group	Cyclophosphamide + Silymarin group (200 mg/kg silymarin peroral 7 days)
-------	---

1(n=12)	administration later 100mg/m2 intraperitoneal Cyclophosphamide)
Group 2 (n=12)	Cyclophosphamide group (100mg/m2 intraperitoneal Cyclophosphamide)
Group 3 (n=6)	Control group 1 (0,5 cc saline)
Group 4 (n=5)	Control group 2 (200 mg/kg silymarin peroral 7 days)
Group 5 (n=6)	Control group 3 (Silymarin dilution with 2 cc saline -peroral 7 days)

Tablo:II

	Sekonder Folikül Sayısı	Antral Folikül Sayısı	AMH (ng/ml)
Grup 1(n=12)	28(23-58)	23(12-41)	3.84(2.18-11.92)
Grup 2 (n=12)	23(9-41)	10(5-17)	4.91(1.24-8.58)
Grup 3 (n=6)	39(27-44)	19(15-30)	7.39(3.03-25.78)
Grup 4 (n=5)	32(22-34)	19(15-21)	6.60(3.66-10.53)
Grup 5 (n=6)	38(28-50)	22(15-29)	5.64(0-25.78)
p değeri G1/G2	0.118	<0.001*	0.928
p değeri G2/G3	0.018*	<0.001*	0.291
P değeri G4/G5	0.104	0.177	0.329
P değeri G2/G4	0.383	0.001*	0.234

*: $p < 0.05$

Table: II

	Seconder follicles counts	Antral follicles counts	AMH (ng/ml)
Group 1(n=12)	28(23-58)	23(12-41)	3.84(2.18-11.92)
Group 2 (n=12)	23(9-41)	10(5-17)	4.91(1.24-8.58)
Group 3 (n=6)	39(27-44)	19(15-30)	7.39(3.03-25.78)
Group 4 (n=5)	32(22-34)	19(15-21)	6.60(3.66-10.53)
Group 5 (n=6)	38(28-50)	22(15-29)	5.64(0-25.78)
p value G1/G2	0.118	<0.001*	0.928
p value G2/G3	0.018*	<0.001*	0.291
p value G4/G5	0.104	0.177	0.329
p value G2/G4	0.383	0.001*	0.234

*: $p < 0.05$

Kaynakça / References: 1. Teixeira J, Maheswaran S, Donahoe PK. Mülleryan inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endocr. Rev.* 2001; 22(5):657-674 2. La Grange L, Wang M, Watkins R, et al: Protective effects of the flavinoid mixture, silymarin, on fetal rat brain and liver. *J Ethnopharmacol* 65: 53-61, 1999. 3. Rowan K. Fertility preservation during treatment is a growing issue for women. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102:294-296. 4. Picard J.Y. Josso N. Purification of testicular anti-Mülleryan hormone allowing direct visualization of the pure glycoprotein and determination of yield and purification factor. *Mol Cell Endocrinol.* 1984; 34(1):23-29. 5. Patrick J. Devine, Sally D. Perreault, Ulrike Luderer: Roles of Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Ovarian Toxicity, *Biology Of Reproduction* (2012) 86(2):27, 1–10 6. Meirow D, Lewis H, Nugent D, Epstein M. Subclinical depletion of Primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and proposed accurate investigative tool. *Hum Reprod* 1999; 14:1903–1907. 7.

Moosavifar N1, Mohammadpour AH, Jallali M, Karimiz G, Saberi H.; Evaluation of effect of silymarin on granulosa cell apoptosis and follicular development in patients undergoing invitro fertilization. East Mediterr Health J. 2010 Jun; 16(6):642-5

P105

İntrauterin Dönemde Metformin Uygulamasının Yavru Dişi Sıçanların Ovaryum ve Uterusuna Etkilerinin İncelenmesi

Seda Kırmızıkan, Bülent Ayas
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

AMAÇ: Bu çalışmada, intrauterin dönemde farklı dozlardaki metforminin yavru sıçanların ovaryum ve uterusunda olası etkilerin incelenmesi amaçlandı.

MATERYAL-METOD: Çalışmada 9 adet gebe Wistar albino sıçandan elde edilen 15 adet yavru dişi sıçan kullanıldı. Gebe sıçanlardan 3 grup oluşturuldu. İlk gruba (kontrol grubu) serum fizyolojik, ikinci gruba (metformin 100 grubu) 100 mg/kg/gün doz olacak şekilde metformin, üçüncü gruba (metformin 200 grubu) ise 200 mg/kg/gün doz olacak şekilde metformin gavaj yolu ile verildi. İlaç uygulamaları tüm gruplar için gebeliğin 6-15. günleri arasında gerçekleştirildi. Bu gruplardan elde edilen yavru sıçanlar postnatal 60. günde sakrifiye edilerek ovaryum ve uterus dokuları alındı. Ovaryum; oosit sayısı, ovaryum, korteks, medulla ve follikül hacimleri, uterus ise epitel ve endometriyum kalınlığı bakımından karşılaştırılarak değerlendirildi. Ayrıca yavru sıçanların ağırlıkları ve alınan kan örneklerinden serum östradiol değerleri de değerlendirildi.

BULGULAR: Gruplar arasında ortalama vücut ağırlıkları, oosit sayısı, ovaryum, korteks, medulla, primer ve sekonder follikül hacimleri ve uterus epitel kalınlığı bakımından anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Ortalama tersiyer follikül hacmi, endometriyum kalınlığı ve östradiol seviyelerinin metformin 200 grubunda kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0,05$) olarak azaldığı görüldü.

SONUÇ: Gebelikte Yüksek doz metformin kullanımı yavru sıçanların östradiol sentezinde ve dolayısıyla endometriyum kalınlığı üzerinde olumsuz etkilerinin olabileceği görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gebelik, metformin, sıçan, stereoloji, ovaryum, uterus

Investigation of the Effects of Metformin Treatment on The Ovaries and Uterus of the Female Rat Pups During Intrauterine Period

Seda Kırmızıkan, Bülent Ayas
University of Ondokuz Mayıs

AIM: The aim of this study was to investigate the effect of metformin treatment at the different dosage levels on the ovaries and uterus of the rat pups in the course of intrauterine period.

MATERIAL-METHOD: Fifteen female Wistar albino rat pups were used. Three groups were formed from the pregnant rats. Saline was given to the first group utilized as a control group, the second one was administrated as Metformin 100 group which was given 100 mg/kg/day of metformin and the third group given 200 mg/kg/day of metformin was labeled as Metformin 200. The drug administration was performed to the rats orally by gavage during 6-15 days of gestation. The pups obtained from the groups were sacrificed in the day of postnatal 60 and then their ovaries and uterine were taken. The number of oocytes, the volumes of ovarian cortex, medulla, follicles and the epithelium and endometrial thickness of uterus were evaluated. In addition, the estradiol levels in blood samples and weight of the pups were also compared.

RESULTS: There were no significant differences between groups for the number of oocytes, the volumes of ovarian cortex, medulla, primary and secondary follicles and for the uterine epithelium thickness ($p>0.05$). The average volume of tertiary follicles, the uterine endometrial thickness, and the estradiol levels were significantly decreased for metformin 200 group when compared to the control group ($p<0.05$).

CONCLUSION: It has been postulated that gestational exposure to high dose metformin may cause negative effects on estradiol production and subsequently on the endometrial thickness of offspring rats.

Keywords: Metformin, ovary, pregnancy, rat, stereology, uterus

P106

Kedi ovaryum dokusunun vitrifikasyon ile dondurulup çözülmesinin ardından nude fareye transplantasyonu sonrası follikül ve ovosit canlılığı

Ayşe Mürşide Demirel¹, Duygu Baki Acar², Ferda Topal Çelikkın³, Burcu Ekim⁴, Sinan Özkavukçu⁵, Halit Kanca⁶, Esra Atabekli Erdemli³, Ayhan Baştan⁶

¹Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Deneysel Hayvanları Laboratuvarı, Ankara

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

³Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

⁴Gazi Üniversitesi, Yaşam Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ankara

⁵Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Üremeye Yardımcı Teknikler Merkezi, Ankara

⁶Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara

Ovaryum dokusunun dondurularak saklanması, türlerin üreme yeteneği ve biyolojik çeşitliliğinin korunması açısından önemli bir uygulamadır. Vitrifikasyonla dondurma birçok türde uygulanmasına karşın kedi ovaryumunda etkinliği henüz tam olarak ortaya konulmamıştır. Veteriner hekimlikte soyu tükenme tehdidi altında olan hayvan türleri ve ekonomik değeri olan ırkların korunması amacıyla gonadların dondurulması önem arz etmektedir. Bu çalışmanın amacı needle immersed vitrifikasyon tekniği ile dondurulan kedi ovaryum dokusunun nude fare böbrek kapsülü altına nakli sonrası ovosit canlılığının araştırılmasıdır.

Kedi ve nude fare kullanımı için Ankara ve Bilkent Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan izin alındı. Ovario-histerektomi operasyonu yapılan kedilerden elde edilen ovaryumlar (10-24 ay, n: 25) vitrifikasyon ve kontrol grubu olmak üzere ayrıldı. Kontrol grubu dokular Bouin ve %2 gluteraldehit fiksatif solüsyonlarına alındı. Vitrifikasyon grubu ovaryum dokusu bölünerek L-15 mediyumu içerisinde akupunktur iğnesine geçirildi. Artan derecelerde etilen glikol, dimetilsülfoksit (%7,5, %15) içeren dPBS den geçirilerek sıvı azota daldırıldı ve azot tankına yerleştirildi. Bir hafta sonrasında dokular çıkarılarak dereceli sükröz içeren dPBS'den geçirilip çözüldü. Bir kısmı inceleme için fiksatiflere alınan dokuların bir kısmı da nude farelerin böbrek kapsülü altına yerleştirildi. Dokular 64 gün sonra çıkarılıp fiksatife alındı. Rutin takip işlemlerinden sonra Hematoksilen-Eozin, TUNEL boyamalar ve elektron mikroskopik incelemeler gerçekleştirildi.

Işık mikroskopik incelemelerde; kontrol grubunda folliküllerin çoğunluğu normal görünümde iken vitrifikasyon grubunda büyük kısmının dejenere olduğu dikkat çekti. Ovosit bütünlüğünün bozulduğu ve follikül hücreleriyle bağlantılarının ayrıldığı gözlemlendi. Nakil sonrası dokularda yoğun bir fibrozis izlendi. Çok az sayıda rastlanan primordiyal folliküllerin dejenere olduğu, ovositlerin hasarlandığı dikkat çekti (p<0,05).

Elektron mikroskopik incelemelerde; kontrol grubunda ovosit ve follikül hücrelerinde çekirdek ve organel yapılarının korunmuş olduğu dikkat çekti. Ovosit ile follikül hücreleri arasındaki bağlantıların devamlılığı izlendi. Vitrifikasyon grubunda ovosite ait organellerin sitoplazmanın bir tarafına toplanmış olduğu gözlemlendi. Ovosit ve follikül hücreleri arasında vakuollerin varlığı ve hücre zarlarının temasının azaldığı dikkat çekti. Gevşek bir interstisyum ve nekrotik hücreler yoğun görünmekteydi. Transplantasyon grubunda, folliküllere çok az rastlandı. Bunların içerisinde sağlam folliküle rastlanmadı. Zona pellusidaların içerisinde nekroz ile ölümü gerçekleşmiş birçok sitoplazması şişmiş ovosit izlendi. Follikül hücre parçaları farkedildi. Ovosit içeriği kalmamış folliküllerde zona pellusidanın kendi üzerine kıvrımlar halinde yoğun katlantılar yaptığı dikkat çekti. İnterstisyumda çok yoğun kollajen lif demetleri, inflamasyon ve vaskülarizasyon gözlemlendi. TUNEL boyamasında kontrol grubu ile vitrifikasyon grubu arasında oldukça fark izlendi. Vitrifikasyon grubunda apoptozisin daha fazla olduğu dikkat çekerken, transplantasyon grubunda izlenen az sayıda follikülün bir kısmı apoptotik iken bir kısmında TUNEL (-) olarak değerlendirildi. Vitrifikasyon tekniğinin geliştirilerek nakil sonrası dokuların sağlamlığının gösterilmesi planlandı. (Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir, proje numarası: 1120811)

Anahtar Kelimeler: Ovaryum dokusu, kedi, vitrifikasyon, TEM, TUNEL

Follicle and oocyte survival of transplanted tissue after freezing-thawing vitrified feline ovarium tissue to nude mouse

Ayşe Mürşide Demirel¹, Duygu Baki Acar², Ferda Topal Çelikkın³, Burcu Ekim⁴, Sinan Özkavukçu⁵,

Halit Kanca⁶, Esra Atabenli Erdemli³, Ayhan Baştan⁶

¹Faculty of Pharmacy, Laboratory Animal Care and Research Unit, Gazi University, Turkey

²Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Afyon Kocatepe University, Turkey

³Histology and Embryology Department, School of Medicine, Ankara University, Turkey

⁴Life science Research and Application Center, Gazi University, Turkey

⁵Assisted Reproduction Center, School of Medicine, Ankara University, Turkey

⁶Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Ankara University, Turkey

Vitrification has been recently applied to ovarian tissues of different species, but not enough information is available on the efficiency of this method on feline ovarium. Gonad vitrification is essential to protect the race of species which are in danger of extinction and economic value in veterinary medicine. Aim of the study is to evaluate the oocyte survive in freezed ovarian tissue which has transferred under the kidney capsule of nude mouse.

The animal use protocol was approved by the Ankara and Bilkent University Animal Care and Use Committee. Domestic cat ovaries were collected by routine ovariohysterectomy (n: 25). Tissue fragments were held in a row by a needle in dPBS containing cryoprotectant agent (CPA) (7,5% and 15% dimethylsulfoxide and ethylene glycol) and plunged into liquid nitrogen. After one week, they were transferred through dPBS consisting of a series of decreasing concentrations of CPA and sucrose. One part of tissue was plunged into Bouin's and 2% glutaraldehyde solution. The other part was transferred under the kidney capsule of nude mouse. Tissues were removed and plunged into fixatives at day 64. Slides were stained with hematoxyline-eosine, TUNEL and routine electron microscopic staining.

In brightfield microscope, the follicles were normal appearance in control groups, while most of them were degenerated in vitrification group. Integrity of oocyte and follicle cells which are surrounding them were impaired. Fibrosis was observed in transferred tissues. In this group, primordial follicles were seen rarely and degenerated. Oocytes were not seen healthy.

In electron microscope, nucleus and organelles of oocyte and follicle cells were normal in control group. The linkages between oocyte and follicle cells were noticed as vacuolization. Organelles of oocytes were generally accumulated to one side of cytoplasm in vitrified tissue. In the interstitium, loose connective tissue and abundant necrotic cells were observed. The follicles were rarely seen in transplanted tissues and too few were normal. Necrotic and swollen oocytes with fragmented follicle cells were observed. In some follicles have no oocytes, Zona pellucida was densely condensed. Collagen bundles, inflammation and vascularization were pointed out in interstitium.

TUNEL staining was different in control and vitrified tissue. Apoptotic oocytes in vitrified tissue were more frequent than control tissue. In transferred tissue oocytes very rare, some of them were TUNEL (+) and the others were TUNEL (-).

Vitrification technique is needed to be improved for lessen damage (This study was supported by TUBITAK, project number: 1120811)

Keywords: Ovarium, feline, vitrification, TEM, TUNEL

P107

Normal gebelik, komplet mol hidatiform ve parsiyel mol hidatiformlarda leukemia inhibitory factor (lösemi inhibitör faktörü) ve insulin like growth factor-1 (insulin benzeri büyüme faktörü-1) ekspresyonunda ki farklılıklar

Özge Senem Yücel Çiçek¹, E. Rümeyza Hekimoğlu², Mert Turgal¹, Pergin Atilla¹, A. Nur Çakar¹, M. Sinan Beksaç¹, Alp Usubütün³

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

Mol hidatiformlar (MH) anormal fertilizasyon ve trofoblast hücrelerinin kontrolsüz çoğalması ile ortaya çıkan bir gebelik tümörüdür. Bu tümörler trofoblast hücrelerinin değişen derecelerdeki proliferasyonuna eşlik eden villöz ve stromal ödem ile karakterizedir. Mol hidatiform komplet (KMH) yada parsiyel mol hidatiform (PMH) olarak ikiye ayrılır. Ayırım, karyotip analizi ve histolojik bulgular ile yapılır. MH'lerde kontrolsüz trofoblast proliferasyonu ve invazyonu mevcuttur. Normal gebeliklerde ise bu durum sınırlıdır.

Gebelik endometriyumu olarak bilinen desidua trofoblastların proliferasyonunu ve invazyonunu sınırlar. Desidua ve invazif trofoblastlar arasındaki etkileşim, uygun sitokinlerin (LIF...) ve büyüme faktörlerinin (IGF-1...) salınımı ile trofoblast invazyonunu sınırlar.

Bu çalışmada LIF ve IGF-1 moleküllerinin, lokalizasyon ve ekspresyon paternlerinin, normal 1. trimester plasentaları ile karşılaştırıldığında, KMH ve PMH plasentalarında farklılık göstereceği ve bu durumun HM'lerdeki proliferatif ve invaziv süreçlerin anlaşılmasında yardımcı olacağı düşünülmüştür.

MATERYAL-METOD: Bu çalışma histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak KMH veya PMH tanısı almış küretaj materyali (komplet mol grup, n=8; parsiyel mol grup, n=8) ve 10. hafta öncesi istemli küretaj materyali (kontrol grup, n=8). Çalışmada bezler, desidua stroma ve koryon villusları LIF ve IGF-1 açısından immünohistokimyasal olarak incelenmiştir.

BULGULAR: Gruplar arasında glandular LIF ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0.082). Kontrol grubunda desidua hücrelerinde kuvvetli LIF ekspresyonu görülürken, PMH grubunda LIF ekspresyonunun zayıf olduğu görüldü. Kontrol grubunda LIF ve IGF-1 ekspresyonu glandular ve desidua hücrelerinde, stromal hücre ve ekstrasvillöz trofoblastlarda benzer olduğu izlendi. Villöz trofoblastlarda IGF-1 ekspresyonunun KMH grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu bulundu (p=0.023).

SONUÇ: Bu çalışma plasental LIF ve IGF-1 ekspresyonunun mol gebeliklerinde değiştiğini göstermektedir. Bu bulgu ışığında LIF ve IGF-1, mol hidatiformdaki bozulmuş trofoblast proliferasyonu ve invazyonunun düzenleniminde rol oynuyor olabilir.

Bulgularımız molar gebeliklerdeki LIF ekspresyonunun ekstrasvillöz trofoblastlarda daha güçlü olduğunu ve LIF'in trofoblastların invaziv ve proliferatif özelliklerini düzenlemede otokrin bir şekilde rol oynayabileceğini düşünmektedir.

Anahtar Kelimeler: LIF, IGF-1, Parsiyel Mol Hidatiform, Komplet Mol Hidatiform, Gebelik

Differential expression of leukemia inhibitory factor and insulin like growth factor-1 between normal pregnancies, partial hydatidiform moles and complete hydatidiform moles

Özge Senem Yücel Çiçek¹, E. Rümeyza Hekimoğlu², Mert Turgal¹, Pergin Atilla¹, A. Nur Çakar¹, M. Sinan Beksaç¹, Alp Usubütün³

¹Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Obstetrics and Gynecology

²Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Histology and Embryology

³Hacettepe University Faculty of Medicine Department Pathology

Hydatidiform moles (HM) are abnormal pregnancies occurring as a result of aberrant fertilization and characterized by proliferation of trophoblastic cells. These tumors are characterized by varying degrees of trophoblast proliferation and villous and stromal edema. HMs may be complete (CHM) or partial hydatidiform moles (PHM) and are differentiated by their karyotype and histologic appearance. There is an uncontrolled trophoblastic proliferation and invasion in case of HMs, in contrast to limited invasion and proliferation of trophoblasts in normal pregnancies. Decidua, the

specialized endometrium of pregnancy, regulates proliferation and invasion of trophoblasts. An interaction between decidua and invading trophoblasts limits invasion by producing appropriate cytokines (LIF,...) and growth factors (IGF-1). We hypothesized that the localization and expression patterns of LIF and IGF-1 in PHMs and CHMs compared with normal first trimester placentas may provide an understanding of the invasive and proliferative processes in HMs.

MATERIAL-METHOD: The study population included curettage material of women diagnosed as CHM or PHM as a result of histopathological and immunohistochemical examination (complete mole group, n=8; partial mole group, n=8) and women undergoing elective terminations of pregnancy under ten gestational weeks (control group, n=8). Analysis included evaluation of glands, decidual stroma and chorionic villi with immunohistochemistry.

RESULTS: There was no significant difference in glandular LIF expression among groups ($p=0.082$) (Fig 4). In normal placentas, decidual cells showed strong LIF immunostaining (Fig. 1, B and C) while less intense staining was seen in decidual cells of PHM (Fig. 2, B-D). Similar to LIF, IGF-1 immunoreactivity was localized in cytoplasm of glandular and decidual cells, stromal cells and extravillous trophoblasts in normal placentas (Fig. 5, A-C). A significantly lower level of IGF-1 expression was present in villous trophoblasts of complete mole group compared to control group ($p=0.023$).

CONCLUSIONS: This study provides evidence that placental LIF and IGF-1 expressions are altered in molar pregnancies and suggests that LIF and IGF-1 may play role in the deregulative process of trophoblast proliferation and invasion in hydatidiform moles. Our finding that LIF expression is stronger in EVT's of molar pregnancies suggests that LIF may play a role in invasiveness and proliferation of trophoblasts in molar pregnancies in an autocrine manner.

Keywords: LIF, IGF-1, Partial Hydatidiform Moles and Complete Hydatidiform Moles, Pregnancies

P108

Swim up tekniği uygulanan normospermili kişilerde fosfolipidlerin membran translokasyonu olan hücrelerin motilite ile ilişkisi

Seda Çetinkaya¹, Burcu Gültekin², Aydan Özgörgülü²

¹KTO Karatay Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

Evli çiftlerin yaklaşık %15'inde infertilite sorunu görülmektedir. Bunların yaklaşık %50'sinde de erkek faktörü rol oynamaktadır. Erkek infertilitesinin nedenleri çok çeşitlidir. Genetik faktörler, (kromozom bozuklukları, Y kromozom mikrodelsiyonları), sperm hücrelerinde ileri seviyede apoptozis ve sperm hareket bozuklukları nedenler arasında sayılabilir. Sperm hareketliliğinde, sperm mitokondri önemli rol oynamaktadır. Sperm morfolojisi, sperm hazırlık yöntemleri, inseminasyon sırasındaki sperm sayısı ve motilitesi IUI ile gebelik oranlarını etkileyebilecek önemli parametrelerdir.

Bu çalışmada swim up öncesi ve sonrası 40 normospermli kişinin swim up öncesi ve sonrası spermatozoa membranındaki PS'nin translokasyonundan kaynaklanan apoptozis ve nekroza gitme oranları Annexin V kiti ile hücrelerin mitokondrial aktiviteleri ise mitotracker red 580 kiti ile değerlendirildi. Swim up sonrası erken ve geç apoptozis yüzdelerinde artış, nekroz yüzdelerinde ise önemli bir azalma görülmüştür. Mitokondrial aktiviteleri değerlendirildiğinde swim up sonrası çok ışığa yanan hücre yüzdesinde önemli bir artış görülmüştür. Bu da reaktif oksijen türlerinin artmasına bağlı olarak mitokondria fisyonunun meydana geldiği ve mitokondriada kütle birikiminin azalmasına bağlı olarak ışımının azaldığı spermatozoonların swim up yöntemi ile izole edildiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Annexin V, Apoptozis, Mitokondri, Mitotracker Red 580, Sperm, Swim up

Correlation between the cells with phospholipid membrane translocation and motility in swim up technique applied male

Seda Çetinkaya¹, Burcu Gültekin², Aydan Özgörgülü²

¹Department of Histology and Embryology, University KTO Karatay; Konya, Turkey

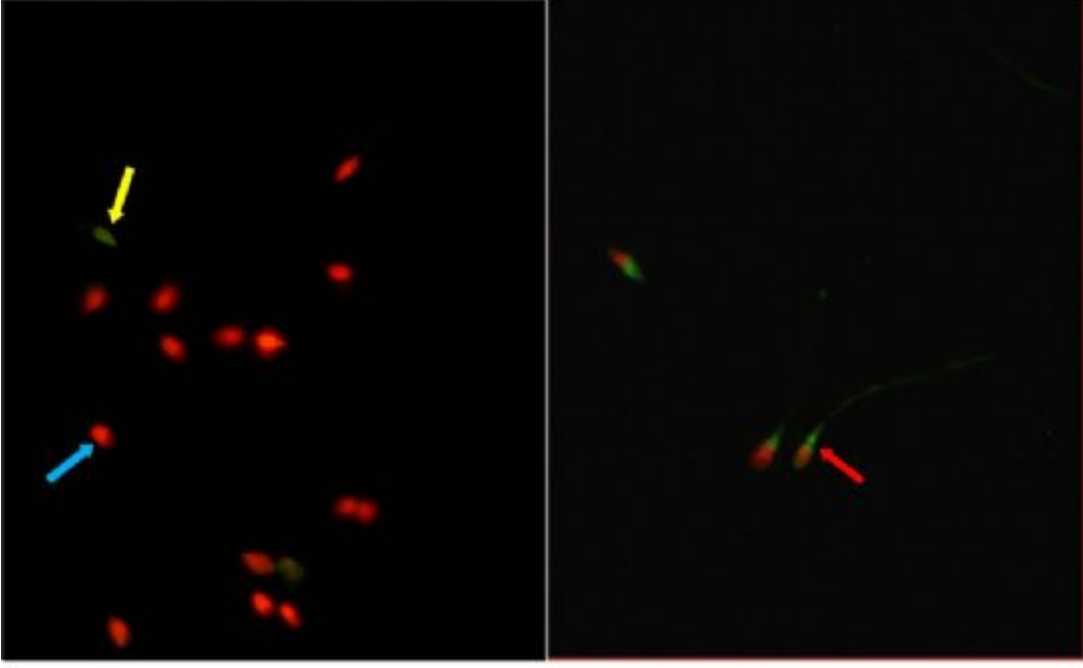
²Department of Histology and Embryology, Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey

In married couples infertility problem has been observed by approximately 15 percent. With these approximately 50 percent infertility problem, the major factor comes from males. There are various reasons of male infertility. Genetic factors, (chromosome defect, Y chromosome microdeletions), high level of apoptosis in sperm cells and sperm movement defects can be stated for the reasons. Sperm mitochondria is a vital role in sperm movements. Sperm morphology, sperm preparation methods, sperm number during insemination and motility are the important parameters that can affect IUI and pregnancy rates.

In this research the passing rates into necrosis and apoptosis resulting from translocation of PS in the spermatozoa membrane in pre and post swim-up 40 people with normosperm in pre and post swim-up have been evaluated with Annexin V kit while mitochondrial activities of cells have been evaluated with red 580 kit. Following swim-up it has been observed that early and late apoptosis rates have increased while necrosis rates have rather decreased. When their mitochondrial activities are evaluated, it has been seen significant increase in the number of much radiation-exposed cell percent. We are of the opinion that depending on the increase of reactive oxygen species mitochondria fission occurs and depending on the mass retention decrease in mitochondria less radiation spermatozoa have been isolated with the swim-up method.

Keywords: Annexin V, Apoptosis, Mitochondria, Mitotracker Red 580, Sperm, Swim up

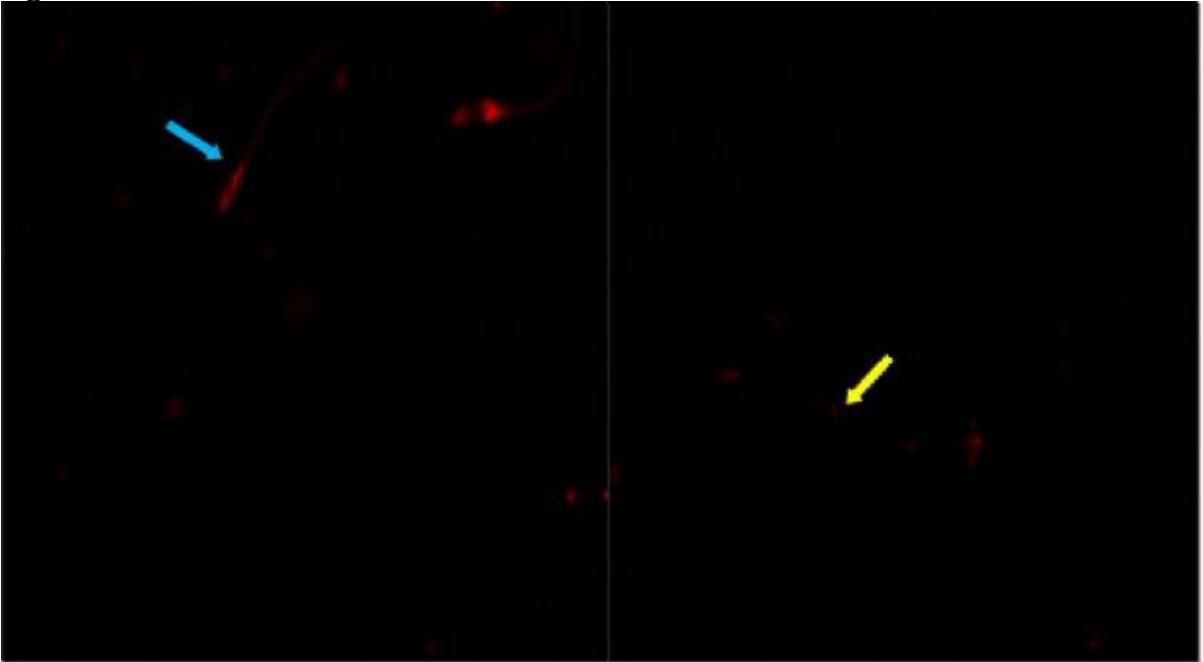
Şekil 1
Figure 1



Annexin V ile boyanmış erken apoptozisli (sarı ok), geç apoptozisli (kırmızı ok) ve nekrozlu (mavi ok) hücreler FMB 66X

Stained with Annexin V early apoptosis (yellow arrow), late apoptosis (red arrow) and necrosis (blue arrow) cells FMB 66X

Şekil 2
Figure 2



Mito Tracker Red 580 ile boyanmış çok ışımaya yapan hücre (mavi ok) az ışımaya yapan sperm hücreleri (sarı ok) FBM 66X

Stained with Mito Tracker Red 580 very emissive cells (blue arrow) are less emissive sperm cells (yellow arrow) 66X FBM

Kaynakça / References: Barroso G, Taylor S, Morshedi M, Manzur F, Gavin˘o F, Oehninger S. Mitochondrial membrane potential integrity and plasma membrane translocation of phosphatidylserine as early apoptotic markers: a comparison of two different sperm

subpopulations. *Fertil Steril.* 2006;85:149–54. Grunewald S, Paasch U. Sperm selection for ICSI using annexin V. *Methods Mol Biol.* 2013;927:257- 62. Kotwicka M, Jendraszak M, Skibinska I, Jedrzejczak P, Pawelczyk L. Decreased motility of human spermatozoa presenting phosphatidylserine membrane translocation-cells selection with the swim-up technique. *Hum Cell.* 2013 Mar;26(1):28-34. Shen HM, Dai J, Chia SE, Lim A, Ong CN. Detection of apoptotic alterations in sperm in subfertile patients and their correlations with sperm quality. *Human Reproduction.* 2002; 17(5): 1266-1273. Sinha-Hikim AP, Swerdloff RS. Hormonal and genetic control of germcell apoptosis in the testis. *Rev Reprod* 1999; 4: 38-47. Sicca SC. Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Andrology and Assisted Reproductive Technology 2004; 25: 5-17.

P109

Metafaz I oositlerin ve in vitro matüre edilmiş metafaz II oositlerin ICSI sonuçlarının karşılaştırması

Berrin Avcı¹, Seda Sarıbal¹, Gökten Kuşpınar², Işıl Kasapoğlu³, Yusuf Yalım³, Gürkan Uncu³, Barış Ata⁴

¹Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüpbebek Merkezi, Bursa

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa

³Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüpbebek Merkezi, Bursa

⁴Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul

GİRİŞ: Yardımlı üreme tekniklerinde kontrollü ovaryan stimülasyon (KOH) sonrası oositlerin büyük kısmı hCG'nin ardından 38. saatte matürasyonunu tamamlar. Bu olguların %8.6-15.2'sinde en az bir mayotik matürasyonunu tamamlayamamış oosit elde edilir (1,2). İmmatür oositlere uygulanan invitro fertilizasyon (IVF) ya da intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) sonucunda fertilizasyon oranının düştüğü (3-5), kromozomal anomali ya da hatalı sitoplazmik matürasyon nedeniyle anormal embriyolar gelişimle sonuçlandığı rapor edilmiştir (6). İmmatür oositlere matürasyonunu tamamlaması için in vitro kültür ortamında bekletilmesinin (3-24 saat) ardından IVF ya da ICSI uygulaması yapılmaktadır. Bununla birlikte matürasyon sürecinin gecikmesi ve buna bağlı inkübasyon süresinin uzamasının fertilizasyon hızını ve klinik sonuçları olumsuz etkilediği bildirilmiştir (3,7). Bu çalışmada metafaz I aşamasındaki immatür oositlerin fertilizasyon ve embriyo gelişimi sonuçlarının in vitro kültüre edilmiş immatür oositlerin verileriyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Retrospektif bir çalışmadır. U.Ü.T.F. Tüp Bebek Merkezi'nde 179 ICSI siklusunda (OPU) sonrası toplanan oositlerinin 2-4 saat kültür ortamında inkübasyonun ardından denudasyonu ve matürasyon değerlendirmeleri yapıldı. Metafaz II aşamasındaki oositlere ICSI uygulandı. Metafaz I aşamasındaki oositlerin kültür süresi 6-8 saate uzatılıp, mayozunu tamamlayanlara aynı gün içinde ICSI yapıldı. Matürasyonunu tamamlayamayan oositler gece boyunca inkübe edildi. Grup 1'i kumuluslarından ayırdıktan sonra metafaz I aşamasında olan, gece boyu inkübasyonun ardından ICSI uygulanan oositler oluşturdu (n=111). Grup 2'yi denudasyonda metafaz I aşamasında olup aynı gün ICSI uygulanan oositler oluşturdu (n=154). Gruplar fertilizasyon, klivaj blastosist gelişim oranı açısından birbiriyle karşılaştırıldı. İstatistiksel analizleri Mann-Whitney U Testi ile gerçekleştirildi.

BULGULAR: Çalışmada 179 KOH siklusunda toplanan 265 oositin ICSI sonuçları değerlendirildi. KOH protokolleri ve IVF endikasyonları dikkate alınmaksızın seçilen bu sikluslarda, grup 1 ve 2 arasında ICSI sonrası fertilizasyon (2PN) ve klivaj oranı açısından grup 1 lehine istatistiksel anlamlılık görüldü. Gelişen embriyoların blastosist aşamasına ulaşma potansiyeli açısından gruplar arasında anlamlılık görülmedi (Tablo I).

Tartışma ve SONUÇ: Lİteratürde matür oositlerin IVF ve ICSI sonrası fertilizasyon oranlarının ve klinik sonuçlarının immatür oositlere göre yüksek olduğu rapor edildi (3,4,7-10). Metafaz I ve in vitro mature edilmiş metafaz II oositlerin IVF ya da ICSI sonrası sonuçlarını karşılaştıran çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmalarda sonuçlar in vitro kültüre edilmiş oositlerin lehinedir (4,8). Sonuçlarımız literatürü destekler niteliktedir. Metafaz I oositlere pratik uygulamalarda, yalnız uzun süreli IVM'in mümkün olmadığı durumlarda, embriyo sayısını arttırmak amacıyla ICSI yapılmasını öngörülebilir.

Anahtar Kelimeler: Metafaz I oosit, in vitro matürasyon, ICSI, fertilizasyon, embriyo gelişimi

Comparison of the outcomes of ICSI of metaphase I oocytes and in vitro matured metaphase II oocytes

Berrin Avcı¹, Seda Sarıbal¹, Gökten Kuşpınar², Işıl Kasapoğlu³, Yusuf Yalım³, Gürkan Uncu³, Barış Ata⁴

¹Uludag University Medical Faculty, Department of Histology and Embryology, Department of Gynecology and Obstetric IVF Center, Bursa

²Uludag University Medical Faculty, Department of Histology and Embryology, Bursa

³Uludag University Medical Faculty, Department of Gynecology and Obstetric IVF Center, Bursa

⁴Koc University Medical Faculty, Department of Gynecology and Obstetric, Istanbul

INTRODUCTION: In assisted reproduction techniques, most of the oocytes complete the maturation subsequent to hCG injection after COH. The oocytes which haven't been completed meiotic maturation are obtained in 8.6-15.2% of the cases(1,2). There have been reports that fertilization rate decreased as a result of IVF or ICSI would apply to immature oocytes and that abnormal embryonic development occurred because of chromosomal anomalies or defective cytoplasmic maturation (3-6). IVF or ICSI are performed to immature oocytes after incubation(3-24 hours) invitro culture system for completed the maturation. However, there have been reports that delay of the maturation period and accordingly prolonged incubation affected adversely fertilization rate and clinical outcomes(3,7). The aim of this study is to compare the fertilization rate and embryonic period between immature and invitro matured oocytes.

MATERIAL-METHOD: Retrospective study. The oocytes collected in 179 ICSI cycles were denuded and their maturation after incubation for 2-4 hours were evaluated in laboratory of U.U.T.F. IVF Center. ICSI was performed on mature oocytes. Immature oocytes were incubated for 6-8 hours, then ICSI was performed on the oocytes that matured in that day. Oocytes that couldn't complete the maturation were incubated overnight. Group 1 consisted of metaphase I (MI) oocytes at time of denudation. They were matured in vitro throughout the night and following that performed ICSI(n=111). Group 2 consisted of MI oocytes which were applied ICSI in that day(n=154). Groups were compared with each other with regard to fertilization, cleavage and blastocyst development rate. Statistically analysis was performed with Mann-Whitney U Test.

RESULTS: In this study, ICSI results of 265 oocytes, obtained from 179 COH cycles were evaluated. In these cycles are selected without regard to COH protocols and IVF indications, significant difference was found between the groups in favor of group 1 with regard to fertilization and cleavage rate. There was no difference between the groups in terms of the development of the blastocyst(Table I).

Discussion and CONCLUSION: It was reported that fertilization rate and clinical outcome of mature oocytes after IVF or ICSI was higher than immature oocytes(3,4,7-10). The studies compared the results between MI and invitro matured MII oocytes after IVF or ICSI are limited(4,8). The results are in favor of invitro matured oocytes. Our results support the literature. We suggest to apply ICSI in MI oocytes only if the long term IVM is not possible in practise for increasing the number of the embryo.

Keywords: Metaphase I oocyte, in vitro maturation, ICSI, fertilization, embryo development

Tablo I

	Grup 1	Grup 2	p değeri
Yaş	35.04 (26.00-45.00)	32.58 (25.00-40.00)	0.00
Siklus	1.76 (1.00-6.00)	1.83 (1.00-5.00)	0.391
Metafaz II-2PN %	62.75	60.42	0.671
Metafaz I-2PN %	45.25	32.28	0.002
Metafaz II- Klivaj %	78.97	82.12	0.452
Metafaz I- Kivaj %	46.76	25.41	0.006
Metafaz II-Blastosist %	26.36	27.05	0.516
Metafaz I-Blastosist %	7.41	5.12	0.534

Table I

	Group 1	Group 2	p value
--	---------	---------	---------

Age	35.04 (26.00-45.00)	32.58 (25.00-40.00)	0.00
Cycle	1.76 (1.00-6.00)	1.83 (1.00-5.00)	0.391
Metaphase II-2PN %	62.75	60.42	0.671
Metaphase I-2PN %	45.25	32.28	0.002
Metaphase II- Cleavage %	78.97	82.12	0.452
Metaphase I- Cleavage%	46.76	25.41	0.006
Metaphase II-Blastosyst %	26.36	27.05	0.516
Metaphase I-Blastosyst%	7.41	5.12	0.534

Kaynakça / References: 1. Beall S., Brenner C., Segars J. Oocyte maturation failure: a syndrome of bad eggs. *Fertil Steril.* 2010, 94(7): 2507-13. 2. Bar-Ami S., Zlotkin E., Brandes JM., Itskovitz-Eldor J. Failure of meiotic competence in human oocytes. *Biology of Reproduction.* 1994, 50:1100-07. 3. Li M., Li Y., Ma SY., Feng HL., Yang HJ., Wu KL., Zhong WX., Che L., Chen ZJ. Evaluation of the developmental potential of metaphase I oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Reproduction, Fertility and Development.* 2011, 23:433-37 4. Shu Y., Gebhardt J., Watt J., Lyon J., Dasig D., Behr B. Fertilization, embryo development and clinical outcome of immature oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril.* 2007, 87(5): 1022-27. 5. Ko DS., Lee SH., Park DW., Yang KM., Lim CK. Pregnancy and fertilization potential of immature oocytes retrieved in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Clin Exp Reprod Med.* 2015, 42(3):118-25. 6. De Vincentiis S., De Martino E., Buffone MG., Brugo-Olmedo S. Use of metaphase I oocytes matured in vitro is associated with embryo multinucleation. *Fertil Steril.* 2013, 99:414-21. 7. Lacham-Kaplan O., Trounson A. Reduced developmental competence of immature, in-vitro matured and postovulatory aged mouse oocytes following IVF and ICSI. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 2008, 6(58): 1-13. 8. Strassburger D., Friedler S., Raziel A., Kasterstein E., Schachter M., Ron-El R. The outcome of ICSI of immature MI oocytes and rescued in vitro matured MII oocytes. *Human Reproduction.* 20014, 19(7): 1587-90. 9. Alvarez C., Garcia-Garrido C., Taronger R., Gonzales de Merlo G. In vitro maturation, fertilization, embryo development&clinical outcome of human metaphase-I oocytes retrieved from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Indian J Med Res.* 2013, 137:331-38. 10. Shin SB., Cho JW., Lee SH., Yang KM., Lim CK., Lee HS. Fertilization and pregnancy potential of immature oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Clin Exp Reprod Med.* 2013, 40(1):7-11.

P110

Tek klivaj embriyo ya da blastosist transferi ile elde edilen gebeliklerde embriyo morfolojisinin maternal serum hCG düzeyinde belirleyici etkisi

Göktan Kuşpınar¹, Seda Sarıbal², Işıl Kasapoğlu³, İlknur Üstünbaş³, Gurkan Uncu³, Barış Ata⁴, Berrin Avcı²

¹Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa

²Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi, Bursa

³Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi, Bursa

⁴Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul

GİRİŞ:

İnsan koryonik gonadotropin (hCG), erken dönemde iki hücreli embriyo ve sonrasında sinsityotrofoblastlardan sentezlenen alfa ve beta alt ünitlerine sahip dimerik bir proteindir (1,2). İmplantasyonun en erken belirleyici faktörü maternal serumdaki hCG düzeyidir (1,2). Yüksek hCG düzeyleri canlı doğum ile korelasyon göstermektedir (3,4).

Bu çalışmada in vitro fertilizasyon (IVF) uygulamalarında klivaj günü (2. ve 3. gün) veya blastosist aşamasında (5. gün) tek embriyo transferinin transfer günü ve embriyo morfolojisi kapsamında serum hCG seviyeleri ile korelasyonuna bakılarak, gecikmiş embriyo transferinin beta hCG düzeylerine etkisini değerlendirmek amaçlandı.

GEREÇ-YÖNTEM:

Bu çalışmada retrospektif olarak fertilizasyon sonrası farklı günlerde ve tek embriyonun transferinin yapıldığı (12. gün hCG>5mIU/ml) 140 embriyo incelendi. Blastosist aşamasında (5. gün) 96 embriyo, klivaj aşamasında (3. gün) 32 embriyo ve klivaj aşamasında (2. gün) 12 embriyonun transfer öncesi ve transfer günündeki morfolojik parametreleri değerlendirildi. Klivaj aşamasındaki embriyoların klivaj kalite skoru (CQS) hesaplandı (Tablo I). Blastosist kalite skoru (BQS) Rehman ve ark. önerdiği gibi hesaplandı (5). İstatistiksel analiz, SPSS v.23 yazılımı ile Sperman's korelasyon testi ile gerçekleştirildi.

BULGULAR:

Embriyoların transfer öncesi ve transfer günündeki morfolojik parametreleri ile hastanın vücut kitle indeksi (BMI) ve ET sonrası 12. gün hCG oranları arasında korelasyon görülmedi. Klivaj aşamasında; 2. ve 3. klivaj günlerinde embriyoların blastomer sayısı arasında pozitif korelasyon görüldü ($p<0.001$). Bu parametreye bağımlı olarak hesaplanan 2 ve 3. gün CQS değerleri arasında korelasyon pozitif bulundu ($p<0.001$). Blastosist aşamasında; iç hücre kitlesi (ICM) ve trofoektoderm (TE) kalitesi, TE kalitesi ve TE hücre sayısı, TE hücre sayısı ve blastosöl ekspansiyonu arasında pozitif korelasyon görüldü ($p<0.001$)

TARTIŞMA ve SONUÇ:

Kontrollü ovaryan stimülasyon (KOH) sikluslarında başlangıç hCG değerleri ile elde edilen oosit kalitesi ve buna bağlı embriyo kalitesi arasındaki korelasyonu değerlendiren çalışmalar mevcuttur (6,7). ET sonrası hCG düzeylerini değerlendiren çalışmalarda transfer edilen embriyo sayısı ve hCG ölçüm günündeki farklılıklar bulguların karşılaştırmasında sınırlayıcıdır. Klivaj döneminde (3. gün) ve 5. gün ET sonrası, transfer sonrası 13 ve 15. gün hCG seviyelerinin 3. gün lehine olduğunu (8), bununla birlikte ET sonrası 12. gün hCG değerlerinin 5. gün lehine anlamlı fark gösterdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (4). Bu çalışmanın sonuçları literatürü desteklemektedir. Farklı günlerde embriyo morfolojileri birbirleriyle korelasyon göstermektedir, fakat transfer günü ve embriyo morfolojisi hCG seviyelerini belirleyici bir faktör değildir.

Anahtar Kelimeler: Klivaj embriyo, blastosist, hCG, gebelik, embriyo transferi

Predictive value of embryo morphology on maternal serum hCG level in pregnancies achieved with single cleavage or blastocyst embryo transfer

Göktan Kuşpınar¹, Seda Sarıbal², Işıl Kasapoğlu³, İlknur Üstünbaş³, Gurkan Uncu³, Barış Ata⁴,

Berrin Avcı²

¹Department of Histology and Embryology, Uludag University Institute of Health Science, Bursa, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Department of Obstetrics and Gynecology IVF Center, Uludag University Faculty of Medicine, Bursa, Turkey

³Department of Obstetrics and Gynecology IVF Center, Uludag University Faculty of Medicine, Bursa, Turkey

⁴Department of Obstetrics and Gynecology, Koc University Faculty of Medicine, İstanbul, Turkey

INTRODUCTION:

Human chorionic gonadotropin(hCG), secreted from early stage of 2 cells embryos' and later on syncytiotrophoblast, is a dimeric protein that has alfa and beta subunit(1,2). Maternal serum hCG level is the earliest predictive factor of implantation(1,2) High serum hCG levels are correlated with live birth rate(3,4).

The aim of our study was to evaluate delayed embryo transfers effect on serum hCG levels through correlation between serum hCG levels after transfer of a single fresh cleavage-stage(2nd and 3rd day) embryo and transfer of a single fresh blastocyst-stage(5th day) embryo IVF.

MATERIAL - METHOD:

In this retrospective cohort study, 140 embryos which were single and different days transferred were examined(d12 hCG>5mIU). Before transfer and the day of transfer morphologic parameters of embryos were evaluated between 96 blastocyst stage(5th day), 32 cleavage-stage (3rd day) and 12 cleavage-stage(2nd day) embryos. Cleavage quality score(CQS) was calculated.(table: I)

Blastocyst quality score(BQS) was calculated according to Rahman et al(5). Statistical analyses were run with Spearman's correlation test by using SPSS v.23.

RESULTS:

There were no significant correlation between morphological parameters of embryos before transfer days and transfer day with the patient's body mass index(BMI), ET after 12 days hCG rates. In terms of the cleavage stage; there was observed positive correlation with 2nd and 3rd days blastomer cell numbers($p<0.001$). Positive correlation among 2nd and 3rd days CQS value, calculated related with those parameters, was observed($p<0.001$). According to the blastocyst stage; inner cell mass(ICM) and trophoctoderm quality, TE quality and TE cell number, TE cell number and blastocoele expansion were positively correlated among each others, respectively($p<0.001$).

DISCUSSION and CONCLUSION:

There have been prior studies evaluating the correlations between initial hCG levels in controlled ovarian cycles and the quality of the oocyte and hence resulting embryo quality(6, 7). There has been some limitations about comparing data according to prior study due to the differences on the day of hCG measurement and the numbers of transferred embryo. After Cleavage stage(3rd days) and 5th day ET, hCG levels of on day 13 and day 15 after the transfer is in favor of the day 3(8), however there have been some studies which demonstrate hCG levels of on day 12 is in favor of day 5 ET(4). Our data do not support prior studies. Embryo morphology on different days is correlated with each other, but transfer day and embryo morphology is not a factor in determining the levels of hCG.

Keywords: Cleavage embryo, blastocyst, hCG, pregnancy, embryo transfer

Tablo: I

2. Gün	Skor	3.Gün	Skor
Hücre sayısı		Hücre sayısı	
4 blastomer	3	8 blastomer	4
2-3 blastomer	2	10-7 blastomer	3
5-6 blastomer	2	5 blastomer	2
7≥ blastomer	1	11≥ ve 4< blastomer	1
Blastomer Boyutu		Blastomer Boyutu	
Eşit	2	Eşit	2

Farklı	1	Farklı	1
Fragmentasyon		Fragmentasyon	
0%	4	0%	4
%1-10	3	%1-10	3
%11-20	2	%11-20	2
%21 >	1	%21 >	1

Table:1

Day 2	Day 3		
Cell Number	Cell Number		
4 blastomers	3	8 blastomers	4
2-3 blastomers	2	10-7 blastomers	3
5-6 blastomers	2	5 blastomers	2
7≥ blastomers	1	11≥ ve 4< blastomers	1
Blastomer Shape	Blastomer Shape		
Even	2	Even	2
Uneven	1	Uneven	1
Fragmentation	Fragmentation		
0%	4	0%	4
%1-10	3	%1-10	3
%11-20	2	%11-20	2
%21 >	1	%21 >	1

Kaynakça / References: 1. Braunstein GD, Rasor JL, Engvall E, Wade ME. Interrelationships of human chorionic gonadotropin, human placental lactogen, and pregnancy-specific beta 1-glycoprotein throughout normal human gestation. *Am J Obstet Gynecol* 1980;138:1205–13. 2. Davies S, Byrn F, Cole LA. Human chorionic gonadotropin testing for early pregnancy viability and complications. *Clin Lab Med* 2003;23:257–64. 3. Shamonki MI, Frattarelli JL, Bergh PA, Scott RT. Logarithmic curves depicting initial level and rise of serum beta human chorionic gonadotropin and live delivery outcomes with in vitro fertilization: an analysis of 6021 pregnancies. *Fertil Steril* 2009;91:1760–4. 4. McCoy TW, Nakajima ST, Bohler HC Jr. Age and a single day-14 beta-hCG can predict ongoing pregnancy following IVF. *Reprod Biomed Online* 2009; 19:114–20. 5. Rehman KS, Bukulmez O, Langley B, Carr BR, Nackley AC, Doody KM, Doody KJ. Late stages of embryo progression area much better predictor of clinical pregnancy than early cleavage in intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization cycles with blastocyst-stage transfer. *Fertil Steril* 2007; 87(5):1041-1052. 6. Porat S, Savchev S, Bdolah Y, Hurwitz A, Haimov-Kochman R. Early serum beta-human chorionic gonadotropin in pregnancies after in vitro fertilization: contribution of treatment variables and prediction of long-term pregnancy outcome. *Fertil Steril* 2007;88:82–9. 7. Lawler CC, Budrys NM, Rodgers AK, Holden A, Brzyski RG, Schenken RS. Serum beta human chorionic gonadotropin levels can inform outcome counseling after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2011;96:505–7. 8. Ramu S, Acacio B, Adamowicz M, Parrett S, Jeyendran RS. Human chorionic gonadotropin from day 2 spent embryo culture media and its relationship to embryo development. *Fertil Steril* 2011;96:615–7.

P111

Deneyisel ivf modelinde kültür ortamına tiroid hormon desteğinin bovine embriyosu klivajı ve kalitesi üzerine etkilerinin araştırılması

Emine Özçınar¹, Hüseyin Aktuğ², Fatih Oltulu², Valeri Zakhartchenko³, Tuna Güngör³, Altuğ Yavaşoğlu², Eda Açıkgöz⁴, Gürkan Yiğittürk², Ayşegül Uysal²

¹İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

³Moleküler Hayvan Üretim ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Ludwig-Maximilians-University, Münih, Almanya

⁴Yüzüncüyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van

GİRİŞ-AMAÇ: Tiroid hormonlarının (T3, T4) insan ve hayvan üreme biyolojisindeki etkileri uzun yıllardır bilinmektedir. Ancak in vitro ortamda embriyonel gelişim üzerindeki etkileri ve etki mekanizmaları tam olarak ortaya konamamıştır. Çalışmamızda, fizyolojik olarak ovaryumda ve folikül sıvısında bulunan ve oosit üzerinde reseptörleri tespit edilen tiroid hormonlarının in vitro kültür ortamına ilave edilmesinin bovine oositlerinde in vitro matürasyona, erken klivaj ve erken dönem embriyo kalitesine etkisinin gösterilmesi hedeflenmiştir.

GEREÇ-YÖNTEM: Oosit toplama işlemi takiben elde edilen 640 bovine oositi iki grup olarak kullanılmıştır; Grup I: (320 oosit) İn vitro matürasyon (IVM), fertilizasyon ve erken klivaj için hazırlanan kültür medyumlarına 50 ng/ml T3 + 50 ng/ml T4 eklenmiş ve %5 CO₂'li inkübatörde her aşama öncesi 16 saat gazlanmıştır. Grup II: (320 oosit) Tiroid hormon ilavesi yapılmamış ancak 16 saat gazlanmış IVM, fertilizasyon ve erken dönem klivaj medyumları kullanılmıştır. Her iki grup oositleri, tiroid hormon ilaveli ve ilavesiz olarak hazırlanmış medyumlarla ilave önce 24 saat IVM medyumunda inkübe edilmiş, ara yıkamalar sonrası, boğa spermi ile bir gece IVF'e bırakılmış ve yine ara yıkamalar sonrası erken klivaj medyumuna aktarılmıştır. Sonraki gün 2-4 hücre, bir gün sonra da 8-12 hücre olarak gözlenen embriyoların skorlaması yapılarak, gruplar arası fark araştırılmıştır.

BULGULAR: Bovine oositlerine özgü bir özellik olan yoğun granülasyon sebebi ile polar cisim ve pronükleus tayinleri yapılamadığından, IVM ve IVF sonrası tüm oosit ve embriyolar total olarak erken klivaj medyumuna aktarılmışlardır. Grup I (Tiroid hormon ilaveli kültür): 2-4 hücreli aşamada yapılan skorlama sonucu, klivaja giren embriyo sayısının % 80 olduğu ve kalitelerinin çoğunlukla Grade I ve Grade II olduğu gözlenmiştir. 8-12 hücreli aşamadaki skorlamada da aynı sonuçlar gözlenmiştir. Grup II: (Tiroid hormon ilavesiz kültür): 2-4 hücreli aşamada yapılan skorlamada klivaja giren embriyo sayısı % 65 olduğu ve kalitelerinin Grup I ile kıyaslandığında daha düşük olduğu, Grade III ve Grade IV embriyo sayısının daha fazla olduğu saptanmıştır. 8-12 hücreli aşamadaki skorlama da benzer bulunmuştur.

SONUÇ: Bovine oositlerinde In Vitro Matürasyon (IVM), In Vitro Fertilizasyon (IVF) ve erken klivaj medyumlarına tiroid hormon ilavesinin, elde edilen embriyo sayısına ve erken dönem embriyo kalitesine olumlu etkisi saptanmıştır. Bovine oositlerinde polar cisim ve pronükleus seçilemediği için, klivaj oranları değerlendirilerek, aynı zamanda IVM üzerine etkisinin de olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: IVM, IVF, bovine, T3, T4

Effects of thyroid hormone addition to culture media on bovine embryo cleavage and quality in experimental ivf model

Emine Özçınar¹, Hüseyin Aktuğ², Fatih Oltulu², Valeri Zakhartchenko³, Tuna Güngör³, Altuğ Yavaşoğlu², Eda Açıkgöz⁴, Gürkan Yiğittürk², Ayşegül Uysal²

¹Izmir University School of Medicine, Department of Histology and Embryology, İzmir

²Ege University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, İzmir

³Institute of Molecular Animal Breeding and Biotechnology, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany

⁴Yüzüncüyıl University School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Van

PURPOSE: The effects of thyroid hormones on human and animal reproductive biology has already been known for a long time but their effects and modes of action on embryogenic development in

vitro hasn't been clearly documented. Our aim in this study is to demonstrate the effects of the thyroid hormones which are normally found in the ovarium and receptors of which has been detected on the oocyte, on in vitro maturation, early cleavage and early stage embryo quality in bovine oocytes when they are added to the in vitro culture mediums.

MATERIAL AND METHODE: After their retrieval the 640 oocytes were used in two groups; Group I: 320 oocytes 50ng/ml T3+50 ng/ml T4 were added to the culture media prepared for in vitro maturation and fertilization. Media for group were incubated in %5 CO2 for 16 hours before each stage. Group II: 320 oocytes Culture media prepared for in vitro maturation), fertilization and early cleavage were incubated in %5 CO2 for 16 hours before each stage but thyroid hormones were not added for this group.

Oocytes from both groups were incubated in IVM medium for 24 hours before they were left for in vitro fertilization with bull sperm overnight

FINDINGS: Due to intense granulation which is characteristic for bovine oocytes, polar body and pronucleus discrimination could not be made so all the oocytes and embryos were transferred to early cleavage medium after IVM and IVF stages.

Group I: Culture including the thyroid hormones Scoring done at the 2-4 cell stage revealed that %80 of the embryos showed cleavage and embryo qualities were mainly Grade I and Grade II.

Similar results were obtained while scoring the 8-12 cell stage embryos.

Group II: (The culture without the thyroid hormones) Scoring done at the 2-4 cell stage revealed that %65 of the embryos showed cleavage and the embryo qualities were inferior to the first group with more embryos in Grade III and Grade IV. Similar results were found while scoring the 8-12 cell stage embryos.

RESULTS: The findings showed that the addition of thyroid hormones to IVM, IVF and early cleavage media, had positive effects on the number of obtained embryos and the embryo quality. Since the polar bodies and pronuclei can not be determined in the bovine oocytes we tend to predict a positive effect on IVM too, considering the cleavage rates.

Keywords: IVM, IVF, bovine, T3, T4

P112

İnsan Yenidoğan Sünnet Derisi Kök Hücrelerinin Sinir Öncülü Hücelere Farklılaşma Potansiyellerinin Tespiti ve Bu Hücrelerin Klinikte Kullanılmasına İlişkin Karakterizasyonları

Özge Sezin Somuncu¹, Neslihan Taşlı¹, Salih Somuncu², Fikrettin Şahin¹

¹Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Kayisdagi, 34755 İstanbul, Türkiye

²Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi, Göztepe, 34722, İstanbul, Türkiye

Nöral hastalıklar (felç, bilişsel fonksiyon eksiklikleri, nöron hasarları, gen mutasyonlarına bağlı hastalıklar) günümüzde kesin anlamda çözümü olmayan, olsa bile tekrar riskinin tamamen ortadan kaldırılamadığı hastalık gruplarıdır. Kök hücreler bu hastalıkların çözümünde etkin bir yaklaşım olabilmektedir. Özellikle Alzheimer'da, Parkinson'da müsküler distrofide veya felçte bu hücrelerin çözüm potansiyelleri aktif olarak araştırılmaktadır. İnsan yenidoğan sünnet derisi kök hücreleri daha önce in vitro ortamda nöron hücrelerine benzer hücelere dönüştürülmüştür. Ancak bu çalışma ile spesifik olarak bu nöronların türleri ve işlevselliklerine dair fikir edinebilmek amaçlanmıştır.

Işık mikroskopuyla 27 gün nörojenik optimize edilmiş besiyeriyle muamele edilen hnFSSCs ile farklılaşan ve farklılaştırılmamış hücrelerin fenotipik görüntüleri elde edilmiştir. Sonrasında bu farklılaştırılan hücrelerin tespiti için cresyl violet boyama yapılmıştır. İmmünohistokimyasal olarak nörona spesifik antikorlara bakılmıştır. Bunun dışında ise, dönüşen nöronların tam olarak ne nöronu olduğunu tanımlayabilmek amacıyla soya spesifik takip yapıp akış sitometrisi ile tespit edilmiştir. hnFSSCs in vitro ortamda nörona dönüştürülmüştür ve sonuçlar doğrultusunda hangi tip nöron olduğu tespit edilebilmiştir. Genel olarak astrosit ve glial kökenli oldukları görülmüştür. Fenotipik farklılıklar ve gen ekspresyon farklılıkları da gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda belirgin şekilde farklı çıkmıştır ve farklılaşan hücrelerde neredeyse 2-3 kat farklı bulunmuştur. Bu hücreler nöral hastalıklara tedavi niteliğinde gelecek uygulamalarda kullanılabilirler.

Anahtar Kelimeler: İnsan yenidoğan sünnet derisi kök hücreleri, hnFSSCs, nöral farklılaşma, karakterizasyon

Characterization and Neural Differentiation Potential of Human Newborn Foreskin Stem Cells (hnFSSCs) for Future Clinical Applications

Özge Sezin Somuncu¹, Neslihan Taşlı¹, Salih Somuncu², Fikrettin Şahin¹

¹Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering and Architecture, Yeditepe University, 26 Ağustos Campus, Kayisdagi Cad., Kayisdagi, TR-34755 İstanbul, Turkey.

²Department of Pediatric Surgery, School Of Medicine, Bahçeşehir University, İstanbul, TURKEY

Neural diseases such as stroke, gene mutation related problems, functional deficiencies were identified as scientifically complex problems. Stem cells may be the solution for fixing those problems especially for Alzheimer's disease, Parkinson's disease, muscular dystrophy or stroke. Human newborn foreskin stem cells (hnFSSCs) was utilized for the neurogenic differentiation in vitro previously. However, the neurogenic features of those cells have never been investigated specifically. Regarding to this study, their functionality, phenotype specifications were identified. Light microscopy analysis was performed after 27 days of neurogenic differentiation. After that, cresyl violet staining was applied in order to examine the live and functional cells. Then, immunocytochemistry protocol was established for neuronal based antibodies. As a result, hnFSSCs were successfully differentiated and they were characterized as glial and astrocyte related cells. The neural gene expressions were found almost three times more in differentiated cell lines than the undifferentiated ones. As a conclusion, those cells may be an amazing stem cell source for neuronal diseases for future prospect.

Keywords: Neurogenic Differentiation, characterization, hnFSSCs, human newborn foreskin stem cells

Kaynakça / References: Somuncu, Ö. S., Taşlı, P. N., Şişli, H. B., Somuncu, S., & Şahin, F. (2015). Characterization and Differentiation of Stem Cells Isolated from Human Newborn Foreskin Tissue. *Applied biochemistry and biotechnology*, 177(5), 1040-1054.

P113

İnsan kıl foliküllerinde eksprese edilen markerların farklı deri bölgelerine göre değerlendirilmesi

Arzu Hanım Yay¹, Gözde Özge Önder¹, Saim Özdamar¹, Özge Özçoban¹, İbrahim Suat Öktem², Atilla Çoruh³

¹Erciyes Üniversitesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Kayseri

³Erciyes Üniversitesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahisi, Kayseri

Deri eklerinden birisi olan kıl ve onun bağlı bulunduğu kıl folikülü, dış ve iç faktörlerin etkisiyle büyüme, gerileme ve dinlenme dönemleri geçiren ve kök hücre nişinin en tipik örneklerinden birisini oluşturan, çıkıntı ve kıl germi bölgesinden köken alan kıl folikülü kök hücrelerinden gelişir. Bu çalışmanın amacı, kıl folikülü ile ilgili yapılan çalışmalarda sıklıkla kullanılan K15, K6, Ki-67 ve TUNEL immunofluoresan boyamaları yapılarak bu antikorların terminal ve vellus tipi kıllardaki ekspresyon yoğunluklarını bölgelerine göre belirlemek amaçlanmıştır. Mevcut çalışmada, ameliyat olan ve hiçbir cilt hastalığı bulunmayan bireylerden alınan vücudun 5 farklı bölgesine (baş, bacak, karın, sırt ve bel) ait kıllı deri biyopsi materyalleri kullanıldı. Deney sonunda deneklerden alınan dokuların bir kısmı histolojik incelemeler için bir kısmı da immunofluoresan boyamalar için kullanıldı. Histolojik inceleme için alınan kıllı deri dokuları Hematoksilen-eozin ile boyanırken, farklı bölgelere ait kıl foliküllerinde K15, K6, Ki-67 ve TUNEL ekspresyonlarını belirlemek için immunofluoresan boyama metodu kullanıldı. Çalışmada, skalp dokudan alınan kıl foliküllerinin tam bir histolojik tabakalanma gösterirken, özellikle bel ve karın bölgelerinden alınan kıl foliküllerinde kıl foliküllerinin tüm tabakaları net olarak ayırt edilmediği gösterildi. Bu durum, farklı bölgelerdeki kıl foliküllerinin aynı histolojik yapıya sahip olmadığını göstermektedir. Farklı bölgelerdeki kıl foliküllerinde K15, K6, Ki-67 ve TUNEL ekspresyonları değerlendirildiğinde, K15, K6 ve Ki-67 ekspresyon yoğunluğunun en yüksek skalp ve sırt bölgelerindeki kıl foliküllerinde olduğu tespit edildi. Sonuç olarak; skalp dokuya ait kıl foliküllerindeki kök hücrelerin kullanılmasının yanı sıra sırt bölgesine ait kıl folikülü kök hücrelerinin de kök hücre çalışmaları için uygun olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Kıl folikülü, Kök hücre, K15

The evaluation of markers expressing in human hair follicles according to different skin areas

Arzu Hanım Yay¹, Gözde Özge Önder¹, Saim Özdamar¹, Özge Özçoban¹, İbrahim Suat Öktem², Atilla Çoruh³

¹Department of Histology Embryology, Erciyes University Kayseri, Turkey

²Department of Brain and Nerve Surgery, Erciyes University, Kayseri, Turkey

³Department of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery, Erciyes University, Kayseri, Turkey

A hair follicle is the primary unit that produces a single outgrowing visible hair shaft. All hair follicles have a regeneration cycle consisting growth, destruction and resting phase, all of which are controlled by several intrinsic and extrinsic mechanisms. The purpose of this study, it was aimed to determine the intensity of the expression of these antibodies in terminal hair and vellus type according to the region by using C15, C6, Ki-67 and TUNEL immunofluorescent staining method frequently used in studies related to hair follicles. In the present study, were used hairy skin biopsy specimens of the five different regions of the body (head, legs, abdomen, back and waist) received from individuals having surgery and without any skin diseases. At the end of the experiment, a portion of the tissue obtained from the subject was used for histological examination and other portion of tissue was used for immunofluorescence staining. Hairy skin tissues taken for Histological examination stained with hematoxylin-eosin while, to determine C15, C6, Ki-67 and TUNEL expression was used immunofluorescent staining method in the hair follicle belonging to different regions. In the study, the hair follicles from scalp tissue showed a complete histological layering while, all layers of hair follicle was not distinguished especially in the hair follicles taken from the back and abdomen. This showed that it was not same histological structures in different regions of the hair follicles. When we evaluate C15, C6, when the Ki-67 and TUNEL expression in the hair follicles in different regions evaluation, it was detected that C15, C6, and Ki-67 expression has the highest density in the hair follicles in the scalp and the back. Consequently, we believe that

hair follicle stem cells from the back would be appropriate in stem cell research as well as use of stem cells in the hair follicles of the scalp tissue.

Keywords: Hair follicle, stem cell, C15

Kaynakça / References: Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O: Temel Histoloji, 8. Baskı, Barış Kitapçılık, (1998). 2. Erbeni T. Özel Histoloji. Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş. 1.Baskı, İstanbul (1985). 3.Kierszenbaum, A.L. (2006). Histoloji ve Hücre Biyolojisi: Patolojiye Giriş, Palme Yayıncılık (Çeviri Editörü Ramazan Demir), 300–307. 4. Paker Ş.Histoloji, 1. Baskı, Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa, 1990. 5. Erkoçak A. Özel Histoloji, A.Ü. Tıp Fakültesi Basımevi-1982-Ankara 6. Gartner L.P., Hiatt J.L.: Color Textbook of Histology, First Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, (1997). 7. Paus P. Peker S. Biology of hair and nails. Dermatology. London Mosby 2004; 1007-32. 8. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. J Clin Endocrinol Metab. 2004; 89:2745–2749. 9. Schmidt-Ullrich R and Paus R. Molecular principles of hair follicle induction and morphogenesis. Bioessays 2005; 27: 247–261. 10. Carr BR. Disorders of the ovaries and female reproductive tract. In: Wilson JD, Foster DW, eds. Williams' Textbook of Endocrinology. 9th ed. Philadelphia: WB Saunders; SPCK Publishing; 1998. p.751-817. 11. Deplewski D, Rosenfield RL. Role of hormones in pilosebaceous unit development. Endocr Rev 2000;21:363-92. 12. Cotsarelis G and Botchkarev V.A. Biology of hair follicles. In Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine (New York: McGraw Hill) 2008; 739–749. 13. Cotsarelis G. Gene expression profiling gets to the root of human hair follicle stem cells. J Clin Invest 2006; 116: 19–22. 14. Schneider MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R: The hair follicle as a dynamic miniorgan. Curr Biol 2009;19:132-42. 15. Legue E, Nicolas JF: Hair follicle renewal: organization of stem cells in the matrix and the role of stereotyped lineages and behaviors. Development 2005;132:4143-54. 16. Cotsarelis G: Epithelial stem cells: a folliculocentric view. J Invest Dermatol 2006;126:1459-68. 17. Paus R, Foitzik K: In search of the "hair cycle clock": a guided tour. Differentiation 2004; 72:489-511. 18. Pause R, Cotsarelis G. Mechanisms of diseases: Biology of hair follicles. New Eng J Med 1999; 341:491-498. 19. Köse O. Epidermal Kök Hücreler. Dermatose 2005; 4:176-81. 20. Köse O. Özdoğan S. Epidermal kök hücreler ve klinik kullanımları. Türkiye Klinikleri J Dermatol 2010; 20:74-80. 21.Ghadially R. 25 years of epidermal stem cell research. J Invest Dermatol 2012;132:797-810. 22. Nemeth K, Karpati S. Identifying the stem cell. J Invest Dermatol 2014;134:26. 23. Schepeler T, Page ME, Jensen KB. Heterogeneity and plasticity of epidermal stem cells. Development 2014;141:2559-2567. 24. Fuchs E, Horsley. Ferreting out stem cells from their niches. Nat Cell Biol 2011;13:513-8. 25. Petrova A, Ilic D, Mc Grath JA.Stem cell therapies for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. Br J Dermatol 2010;163:1149-56. 26. Rosenthal M, Goldberg D, Aiello A, Larson E, Foxman B. Skin microbiota: microbial community structure and its potential association with health and disease. Infect Genet Evol. 2011;11(5):839-48. 27. Muller-Rover S, Handjiski B, Van DV, Eichmuller S, Foitzik K, McKay IA, Stenn KS and Paus R. A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages. J. Invest Dermatol 2001;117: 3–15. 28. Forslind B. Structure and function of the hair follicle. In: Camacho FM, Randall VA, Price VH, editors. Hair and its disorders. Biology, pathology and management. 1st ed. London, Martin Dunitz Ltd 2000; 3-15. 29. Otberg N, Richter H, Schaefer H, Blume-Peytavi U, SterryW. and Jurgen Lademann. Variations of Hair Follicle Size and Distribution in Different Body Sites J Invest Dermatol 2004; 122:14 –19. 30. Blume U, Ferracin J, Verschoore M, Czernielewski JM, Schaefer H. Physiology of the vellus hair follicle. Hair growth and sebum excretion. Br J Dermatol 1991; 124: 21–28. 31. Seago SV, Ebling FJ. The hair cycle on the human thigh and upper arm. Br J Dermatol 1995; 135:9–16. 32. Pagnoni AP, Kligman AM, Gammal SEL, Stoudemayer T. Determination of density of follicles on various regions of the face by cyanoacrylate biopsy. Correlation with sebum output. Br J Dermatol 1994; 131:862–865. 33. Fuchs E. Skin stem cells, rising to the surface. J. Cell Biol 2008; 180: 273–284. 25 34. Nishimura EK, Jordan SA, Oshima H, Yoshida H, Osawa M, Moriyama M, Jackson IJ, Barrandon Y, Miyachi Y and Nishikawa S. Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination. Nature 2002; 416: 854–860. 35. Tiede S, Kloepper J E, Bodo E, Tiwari S, Kruse C, Paus R. Hair follicle stem cells: walking the maze. Eur J Cell Biol 2007; 86: 355–376. 36. Cotsarelis G, Sun TT and Lavker RM. Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin Yazım alanları gerektiği kadar uzatılabilir carcinogenesis. Cell 1990; 61: 1329–1337. 37. Morris RJ, Liu Y, Marles L, Yang Z, Trempus C, Li S, Lin JS, Sawicki JA and Cotsarelis G. Capturing and profiling adult hair follicle stem cells. Nat Biotechnol 2004; 22: 411–417. 9. Blanpain C, Lowry WE, Geoghegan A, Polak L and Fuchs E. Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. Cell 2004, 118: 635– 648. 38. Tiede S, Kloepper JE, Whiting DA, Paus R. The 'follicular trochanter': an epithelial compartment of the human hair follicle bulge region in need of further characterization. Br J Dermatol 2007;

157: 1013–1016. 39. Kloepper JE, Tiede S, Brinckmann J, Reinhardt DP, Meyer W, Faessler R, et al. Immunophenotyping of the human bulge region: the quest to define useful in situ markers for human epithelial hair follicle stem cells and their niche. *Exp Dermatol* 2008; 17:592-609. 40. Ohyama M, Terunuma A, Tock C L et al. Characterization and isolation of stem cell-enriched human hair follicle bulge cells. *J Clin Invest* 2006; 116: 249–260. 41. Trempus CS, Morris RJ, Bortner CD, Cotsarelis G, Faircloth RS, Reece JM and Tennant RW. Enrichment for living murine keratinocytes from the hair follicle bulge with the cell surface marker CD34. *J. Invest. Dermatol* 2003; 120: 501–511. 42. Liu Y, Lyle S, Yang Z, Cotsarelis G. Keratin 15 promoter targets putative epithelial stem cells in the hair follicle bulge. *J Invest Dermatol* 2003; 121: 963–968. 43. Waters JM, Richardson GD, Jahoda CAB. Hair follicle stem cells. *Seminars in cell & Developmental Biology* 2007; 18: 245–254. 44. Ukşal Ü. Normal saçın yapısı ve bakımı. *Türkiye Klinikleri. Kozmetoloji* 2004; 5:47-49. 45. Wojcik SM, Bundman DS and Roop DR. Delayed wound healing in keratin 6a knockout mice. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 5248-5255. 46. Wei XJ, Jiang DY, Zong XL, Fu XB, Sheng ZY, Wang W, Shan F. The correlation of the fetal cytokeratin expressing in epidermal cells and the different outcomes of wound repairing. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 2009 Aug 15; 47(16):1245-8. 26 47. Kloepper JE, Sugawara K, Al-Nuaimi Y, Gáspár E, Beek N and Paus R. Methods in hair research: how to objectively distinguish between anagen and catagen in human hair follicle organ culture. *Experimental Dermatology* 2010; 19: 305–312.

P114

Kök Hücre Uygulamalarının İmplantasyon Sırasında Adezyon Moleküllerine Etkisi

İşil Aydemir, Pınar Kılıçaslan Sönmez, Dila Hatun Sal, Fulya Gülbağça, Suna Saygılı, Mahmud Özkut, Mehmet İbrahim Tuğlu
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ AD.

AMAÇ: İmplantasyon, blastosist aşamasındaki embriyonun annenin reseptif endometriyumuna yerleşerek gebeliğin başlamasını sağlayan bir olaydır. Bu süreçte, hem blastosistte hem de endometriyumdan kaynaklanan birçok moleküler ve hücrel mekanizmalar görev almaktadır. Hem normal gebelik hem de yardımcı üreme teknikleri ile oluşturulmaya çalışılan gebelikler sırasında implantasyonun aksaması önemli bir sorun teşkil etmektedir. İmplantasyon mekanizmasında adezyon molekülleri embriyonun tutunması ve endometriyumun reseptivitesinin sağlanmasında önemli rol oynamaktadırlar. Adezyon moleküllerindeki bir eksiklik veya hasar, implantasyonun engellenmesine ve dolayısıyla düşük doğumlara neden olduğu bilinmekle beraber bunun tedavisine yönelik çalışmalar günümüzde hala devam etmektedir. Çalışmamızda kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin sıçan endometriyumuna uygulanmasından sonra blastosistin implantasyonunda rol oynayan adezyon molekülleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

GEREÇ-YÖNTEM: Deneyde, dişi sıçanlar serum fizyolojik grubu (SFG, n:7), besiyeri grubu (BYG, n:7), besiyeri ve mezenkimal kök hücre (BY+KHU, n:7) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Vajinal sitoloji yöntemi ile östrus siklusunda oldukları belirlenen deneklere serum fizyolojik (200 µL), besiyeri (200 µL) ve 200 µL BY içinde 1x10⁶ kemik iliği kaynaklı farklılaşmamış mezenkimal kök hücreler uterus ve periton içine uygulandı ve çiftleşmeye bırakıldı. Gebeliğin yedinci gününde alınan uterus örnekleri histokimyasal olarak hematoksilen-eozin ile, immunohistokimyasal olarak kök hücre varlığı anti-Stro-1 ile, adezyon molekülü belirteçlerinden anti-Laminin, anti-Fibronektin, anti-L-Selektin ve anti-İntegrinβ-1 ile boyama yöntemleri ile uygulanarak ışık mikroskop altında incelendi. H-skor ile immünoreaktiviteler arasındaki farklılıklar One-Way ANOVA istatistik analizi kullanılarak değerlendirildi.

BULGULAR: Değerlendirme sonucunda gebeliğin yedinci gününde uterusu Stro-1, Laminin, Fibronektin, L-Selektin ve İntegrinβ-1 varlığı görüldü ve besiyeri ile birlikte verilen kök hücrenin bu parametrelerde artış sağladığı izlendi. Stro-1, Laminin ve Fibronektin immünoreaktivitelerinin intraperitoneal olarak kök hücre verilen grupta artmış olduğu, L-Selektin ve İntegrinβ-1 artışının ise uterus içi kök hücre uygulanması sonrası sağlandığı saptandı.

SONUÇLAR: Bu çalışmada, implantasyon sürecinde rol oynayan adezyon moleküllerinin, farklı şekillerdeki kök hücre uygulamaları sonrası meydana gelen farklı dağılımları ortaya konmuştur. Kök hücre uygulamalarının, infertiliteye neden olan mekanizmaların içerisinde yer alan bu moleküllerin tedavisine klinikte katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Mezenkimal kök hücre, İmplantasyon, Endometriyum, Adezyon molekülleri, Histoloji

Effects of Stem Cell Applications on Adhesion Molecules During Implantation

İşil Aydemir, Pınar Kılıçaslan Sönmez, Dila Hatun Sal, Fulya Gülbağça, Suna Saygılı, Mahmud Özkut, Mehmet İbrahim Tuğlu
MANİSA CELAL BAYAR UNIVERSITY FACULTY OF MEDICINE DEPARTMENT OF HISTOLOGY AND EMBRYOLOGY

AIM: Implantation is the crucial invasion mechanism of the blastocyst into the maternal receptive endometrium. Many cellular and molecular mechanisms from both the endometrium and blastocyst are involved in implantation. The failure of implantation is a major problem during normal pregnancy and assisted reproductive technologies. Adhesion molecules play an important role in the attachment of the embryo and ensuring the receptivity of the endometrium. It is known that the lack or damage of adhesion molecules cause failure of implantation and abortus, nowadays research about these problems continues. In our study, we aimed to investigate the effects of bone marrow derived mesenchymal stem cells (BMSC) application on adhesion molecules during blastocyst implantation.

MATERIALS-METHOD: In our study, female rats were divided into three groups which were saline

(SFG, n: 7), media (BYG, n: 7), BMSC in media (BY+KHU, n: 7). After vaginal smear technique, female rats in estrous cycle were injected into the uterine and periton 200 µL saline, 200 µL culture media and 1x10⁶ BMSC/200 µL culture media. The pregnant female rats on the 7. day were sacrificed and uterine samples removed and were stained with heamatoxylin-eosin histochemically and stem cell marker anti-Stro-1, adhesion molecule markers anti-Laminin, anti-Fibronectin, anti-L-Selectin and anti-İntegrinβ-1 immunohistochemically and obseved under light microscope. H-score results were determined using One-Way ANOVA test statistically.

RESULTS: On the seventh day of pregnancy, immunoreactivities of Stro-1, Laminin, Fibronectin, L-Selectin and İntegrinβ-1 were determined in the uterine and it was obseved an increase in these parameters into the BMSC application group. Immunoreactivities of Stro-1, Laminin and Fibronectin were increased in the intraperitoneal application of BMSC whereas L-Selectin and İntegrinβ-1 were rised in the intrauterine administration of BMSC.

CONCLUSION: In this study, it was revealed that distribution of adhesion molecules play role in implantation were changed due to different stem cell applications. It is supposed that stem cell applications can be contribute to treatment of the adhesion molecules caused infertility.

Keywords: Mesenchymal stem cell, Implantation, Endometrium, Adhesion molecules, Histology

P115

3D Baskı Yöntemi ile Elde Edilen Biyomalzemenin Kemik İliği Mezenkimal Kök Hücre ile in vivo ve in vitro Uyumu

H. Seda Vatansever¹, Feyzan Ozdal Kurt², Remziye Kendirci³, Ersin Aytaç⁴, Görkem Say⁴, Emil Mamadov⁵

¹Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji AD, Manisa, Yakın Doğu Üniversitesi, Deneysel Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi, Lefkoşe, Kuzey Kıbrıs

²Celal Bayar Üniversitesi, Fen -Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Manisa

³Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji AD, Manisa

⁴Yakın Doğu Üniversitesi, NEU 3D Laboratories, Lefkoşe, Kuzey Kıbrıs

⁵Yakın Doğu Üniversitesi, NEU 3D Laboratories, Lefkoşe, Kuzey Kıbrıs, Yakın Doğu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi AD, Lefkoşe, Kuzey Kıbrıs

Doku mühendisliği alanında 3D baskı yöntemi, hem biyomalzemenin in vivo kullanılabilirliğinin artırılması, hemde in vitro ortamda üretilen hücrelerin transferi için alternatif bir yöntemdir. Son yıllarda biyoyumlu ve biyobozunur malzemeler ile hücrenin birleştiği alanda 3D baskılama yöntemi ile elde edilen ürünlerin sağlık alanında kullanılma potansiyelleri kök hücre çalışmaları ile hız kazanmıştır. Hücresel tedavi prensipleri içerisinde kök hücrenin "ilaç" olarak olası kaynak olmasından dolayı farklı kök hücre kaynaklarından elde edilen kök hücreler bu amaç için araştırma konularındadır. Mezenkimal kök hücre kaynakları bu alanda hem elde edilmelerinin kolaylığı, hem de etik problemler oluşturmaması adına en sık kullanılan hücrelerdir. Çalışmada 3D baskı yöntemi ile Polilaktik Asit (PLA) polimeri kullanılarak elde edilen biyomalzemenin kemik iliği mezenkimal kök hücreler ile uyumu, osteoblast ve kondroblastta farklılaşma potansiyeli ile in vivo kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Sıçandan elde edilen kemik iliği mezenkimal kök hücreler α -MEM, %10 fetal sığır serumu, %1 L-glutamine ve %1 penisilin-streptomycine içeren kültür vasatında %80 konfluent oluncaya kadar kültüre edildi ve 3. Pasajdaki hücreler osteojenik veya kondrojenik farklılaştırma için kullanıldı. Hücreler osteoblastik farklılaşması için MesenCult™ Osteogenic Stimulatory Kit, kondrojenik farklılaşma için ise StemPro® Chondrogenesis Differentiation Kit protokollerine uygun şekilde 14 gün kültüre edildi. Osteoblast ve kondroblastların karakterizasyonu histokimyasal olarak Alizarin Kırmızısı (AK) ve Alisan mavisi ile rutin boyama protokolleri ile, immunohistokimyasal olarak ta osteonektin ve kollajen II dağılımları incelenerek yapıldı. Daha sonra hücreler biyomalzeme üzerine ekildi.

Biyomalzeme+hücre inkübasyonunun 14. Gününde örneklerin bir kısmı histokimyasal ve immunohistokimyasal analizler için %10 formalinde tespit edilir iken, diğer örnekler in vivo analizler için deneklere transfer edildi. Transferin 4. Ayında denekler sakrifiye edilerek örnekler analizler için tespit edildi. Rutin paraffin takibinden sonra tüm örneklerden alınan kesitlerde histokimyasal ve immunohistokimyasal boyamalar yapıldı.

Histokimyasal ve immunohistokimyasal analizler sonucunda kemik iliği mezenkimal kök hücrelerin osteoblastta ve kondrosite farklılaşmalarının 14. Gününde gerçekleştiği gözlemlendi. Farklılaşan hücrelerin PLA yüzeyinde tutunduğu, osteonektin veya kollajen II pozitifliklerinin devam ettiği saptandı. In vivo örneklerde ise, hücrelerin biyomalzeme üzerinde canlılıklarını korudukları, fakat biyobozunurluğun az olduğu görüldü.

PLA ile elde edilen biyomalzemenin osteoblast ve kondroblast hücreleri ile uyumunun olumlu olması, kemik ve kıkırdak matriks desteği için 3D baskı yöntemi kullanılarak alternatif seçenek olabileceğini düşündürdü.

Anahtar Kelimeler: Kök hücre, 3D printing, biyomaterial

Compatibility of 3D Printed Biomaterials with Mesenchymal Stem Cells in vivo and in vitro

H. Seda Vatansever¹, Feyzan Ozdal Kurt², Remziye Kendirci³, Ersin Aytaç⁴, Görkem Say⁴, Emil Mamadov⁵

¹Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Manisa, Turkey, Near East University, Experimental Health Science Research Center, Nicosia, North Cyprus

²Celal Bayar University, Faculty of Science, Department of Biology, Manisa, Turkey

³Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Manisa,

Turkey,

⁴Near East University, NEU 3D Laboratories, Nicosia, North Cyprus

⁵Near East University, NEU 3D Laboratories, Nicosia, North Cyprus, Near East University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Surgery, Nicosia, North Cyprus

In tissue engineering, 3D printing method is an alternative method both to increase the availability of biomaterial in vivo, and for the transfer of the cells which produced in vitro. In recent years, the potential of biocompatible and biodegradable materials with cells used in the field of health in the confluence area of the product obtained with the 3D printing process has gained speed with stem cell research. The stem cells because of as a " drug " in cell therapy principles, stem cells derived cells from different sources due to the possible source of research topics for this purpose.

Mesenchymal stem cells are the most commonly used cell both easy obtaining and non-ethical problems in this area. In the study, we aimed to investigate to compatibility of 3D-printing of Polylactic acid (PLA) biomaterial with bone marrow mesenchymal stem cells, to differentiation potential of osteoblasts and chondroblasts to availability in vivo.

Rats bone marrow mesenchymal stem cells were cultured in α -MEM medium containing 10% fetal bovine serum, 1% L-glutamine and 1% penicillin-streptomycin until 80% confluency and 3. passage cells were used for the osteogenic or chondrogenic differentiation. They were cultured 14 days according to for osteogenic differentiation Mesencult™ Osteogenic Stimulatory Kit, for chondrogenic differentiation Stempro® Chondrogenesis Differentiation Kit protocols. For histochemical characterization of osteoblasts and chondroblasts for Alizarin Red and Alcian blue staining, for immunohistochemical analyses, osteonectin and collagen II distributions were examined. The cells were then seeded onto the biomaterial.

On 14 day of incubation of biomaterials + cells, a part of the samples were fixed with 10% of formalin solution for histochemical and immunohistochemical analysis, rest of them were transferred in to animals for in vivo assays. After 4 month, they were sacrificed and samples were fixed for analyses. After following routine paraffin sections from all samples histochemical and immunohistochemical staining were performed.

Histochemical and immunohistochemical analysis results showed that bone marrow mesenchymal stem cells were differentiated to osteoblasts and chondrocyte in 14 days. Differentiated cells were detected on surface of the PLA, osteonectin and collagen II immunoreactivities were positive. In in vivo samples, viability of the cells was still continue on surface of biomaterials, but biodegradation of it was found to be less.

PLA obtained by biomaterial compliance with osteoblasts and chondroblasts cells is positive, there would be an alternative option using bone and cartilage matrix support for 3D printing method

Keywords: Stem cell, 3D printed, biomaterial

P116

Deneysel diyabet oluşturulan ratlarda beta hücrelerinin sayılarında ve pankreas progenitor hücrelerin Ngn-3, nestin ve Pdx-1 ekspresyonlarında meydana gelen değişimler ve bu değişimler üzerine likopenin etkisi

Mustafa Sandıkcı¹, Levent Karagenç¹, Mustafa Yıldız²

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji- Embriyoloji Anabilim Dalı, Aydın

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çan Uygulamalı Bilimler Yüksek Okulu, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü, Çanakkale

Bu çalışmada, deneysel diyabet oluşturulan erişkin ratlarda beta hücrelerinin sayılarında ve pankreas progenitor hücrelerin Ngn-3, nestin ve Pdx-1 ekspresyonlarında meydana gelen değişikliklerin belirlenmesi ve oral olarak verilen likopenin bu değişiklikler üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada erişkin 42 adet dişi rat kullanıldı. Tek doz 50 mg/kg streptozotosin verilerek 30 adet ratta deneysel diyabet oluşturuldu. Deneysel diyabet oluşturulduktan 3 hafta sonra hayvanlar kontrol+mısır yağı (n=6), kontrol+likopen (n=6), diyabet+mısır yağı (n=15) ve diyabet+likopen (n=15) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Kontrol+likopen ve diyabet+likopen gruplarına gavaj yoluyla 4 hafta boyunca her gün, 4 ml/kg mısır yağında çözdürülerek 4 mg/kg likopen verilirken, kontrol+mısır yağı ve diyabet+mısır yağı gruplarına 4 ml/kg mısır yağı verildi. Deney sonunda alınan pankreas örneklerinden elde edilen kesitlerde insülin, Ngn-3, nestin ve Pdx-1 ekspresyonları immunohistokimyasal olarak belirlendi. Yapılan incelemelerde, diyabet gruplarında insülin pozitif hücre sayılarının belirgin bir şekilde azaldığı görüldü. Yine diyabet gruplarında adacıkların çevresindeki ekzokrin bölümde çok sayıda Ngn-3 ve nestin pozitif hücrenin varlığı dikkati çekti. Likopen uygulamalarının ise söz konusu parametrelere genel olarak etkisinin olmadığı görüldü. Sunulan çalışmada, diyabetik hayvanların pankreasında Langerhans adacıklarının etrafında Ngn-3 ve nestin (progenitor hücreler) pozitif hücrelerin varlığı ilk kez ortaya konmuştur. Bu köken hücrelerin zaman içerisinde kaybedilen beta hücrelerinin yerini alacağı kanısına varıldı. Diyabetik hayvanlarda likopenin dozunu ve uygulama süresini artırarak yapılacak çalışmaların pankreas üzerinde likopenin antioksidan etkisini ortaya çıkarabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Beta hücresi, deneysel diyabet, likopen, pankreas, progenitor hücre, rat

Changes in the pancreas as for the number of beta cells and Pdx-1, Ngn-3 and nestin expressions of progenitor cells, in experimentally induced diabetes mellitus in rats and the effect of lycopene on these changes

Mustafa Sandıkcı¹, Levent Karagenç¹, Mustafa Yıldız²

¹Department of Histology-Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey

²Department of Occupational Health and Safety, School of Applied Sciences at Çan, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, Turkey

The aim of the present study was to investigate changes occurring in the number of beta cells as well as the expression of Ngn-3, nestin and Pdx-1 by pancreatic progenitor cells in the pancreas of experimentally-induced adult diabetic rats and to determine the effect of orally-administered lycopene on these changes. To this end, a total of 42 rats were used in the study. Rats were induced to become diabetic by the administration of 50 mg/kg streptozotocin as a single dose. Following the administration of streptozotocin, four groups of animals were established: Control+corn oil (n=6), Control+lycopene (n=6), Diabetic+corn oil (n=15) and Diabetic+lycopene (n=15). Corn oil at a dose of 4 ml/kg was given to animals in the Control+corn oil and diabetic+corn oil groups, whereas animals in the Control+lycopene and Diabetic+lycopene groups received 4 mg/kg lycopene dissolved in corn oil (4 ml/kg) every day for a period of four weeks. The expression of insulin, Ngn-3, nestin and Pdx-1 was determined through immunohistochemistry in sections taken from pancreas tissue samples at the end of the experiment. The number of insulin-positive cells was found to be significantly low in the diabetic groups (compared to the control groups). In addition, the presence of Ngn-3 and nestin-positive cells within the exocrine pancreas surrounding the islands was noted in the diabetic groups. Lycopene in general did not have any

effect in any of the parameters analyzed in the present study. The presence of Ngn-3, nestin-positive progenitor cells around the islands was demonstrated for the first time in the present study. It is suggested that these cells would function as stem cells to replace the lost beta-cell population. It is also suggested that it is possible to demonstrate the antioxidant effects of lycopene in the pancreas of diabetic rats by increasing the dose and duration of lycopene administration.

Keywords: Beta cell, experimental diabetes, lycopene, pancreas, progenitor cell, rat

P117

Oksitosin ve Takrolimus Kombinasyonunun Yağ Kaynaklı Mezenşimal Kök Hücreler Üzerine Antagonistik Etkileri

Gözde Sır¹, Bakiye Göker Bağca², Gürkan Yiğittürk³, Türker Çavuşoğlu⁴, Çığır Biray Avcı², Cumhuriyet Gündüz², Yiğit Uyanıkgil⁴

¹Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre Anabilim Dalı, İzmir,

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

⁴Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı & Ege Üniversitesi, Kordon Kanı, Hücre- Doku Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir

GİRİŞ: Bu çalışmada takrolimusun (immünyosupresif ilaç), adipoz doku kökenli mezenşimal kök hücreler (AD-MKH) üzerindeki negatif etkileri, bir antioksidan olan oksitosin ile elimine etmek amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: AD-MKH hattı ticari olarak temin edildikten sonra orijinal hattın 5. pasajı elde edildi. Takrolimus ve oksitosinin AD-MKH'ler üzerindeki sitotoksik etkilerini belirlemek amacıyla WST-1 testi yapıldı. Aynı zamanda takrolimus ve oksitosinin kombinasyon değerleri ile izobologram analizi yapıldı. İki etken maddenin IC50 ve kombinasyon değerleri belirlendikten sonra 24, 48 ve 72 saatlik periyotlar ile apoptoz analizleri yapıldı. Çalışma gruplarında Muse Cell Analyzer ile birlikte Muse® Annexin V and Dead Cell Assay Kit kullanılarak canlılık, apoptoz ve ölü hücre sayıları belirlendi. AD-MKH hattında Kİ67 ve vimentin ile immünyofloresan boyama yapıldı. AD-MKH takrolimus, oksitosin ve kombinasyonlarının IC50 dozları ile 96 saat boyunca muamele edildi. Hücresel boyama FITC ile konjuge edilmiştir. Nükleer boyama için DAPI kullanılmıştır. İstatistiksel analizler Tukey's or Dunett's test ile tek yönlü analizi kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı fark p<0.05 kabul edilerek hesaplama yapılmıştır. AD-MKH üzerinde oluşan toksisiteyi belirlemek amacıyla oksidatif stres parametreleri (MDA, CAT, SOD, GSH-Px) değerlendirilmiştir.

BULGULAR: Takrolimus ve oksitosinin IC50 değeri sırasıyla 17.44µM and 13.43µM olarak belirlenmiştir. İzobologram analizinin kombinasyon değeri iki maddenin antagonistik olduğunu göstermiştir. Takrolimus grubunda Kİ67 ekspresyonu kontrol grubuna göre düşük olarak belirlenmiştir (p<0.05) fakat kombinasyon grubu kontrol grubu ile benzerdir (p<0.05). Oksitosin grubunun Kİ67 ekspresyonu diğer tüm gruplardan yüksektir (p<0.05). Vimentin ekspresyonu diğer üç gruptan düşük çıkmıştır. Diğer gruplar arasında önemli bir farklılık yoktur. Takrolimus ile muamele edilen AD-MKH hattının lipid peroksidasyon seviyesinde artış görülmüştür.

SONUÇ: Takrolimustan kaynaklanan sitotoksitenin oksitosin ile elimine edilebileceğini düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Oksitosin ve Takrolimus Kombinasyonunun Yağ Kaynaklı Mezenşimal Kök Hücreler Üzerine Antagonistik Etkileri

Antagonistic Effect of Oxytocin and Tacrolimus Combination On Adipose Tissue- Derived Mesenchymal Stem Cells

Gözde Sır¹, Bakiye Göker Bağca², Gürkan Yiğittürk³, Türker Çavuşoğlu⁴, Çığır Biray Avcı², Cumhuriyet Gündüz², Yiğit Uyanıkgil⁴

¹Department of Stem cell, Ege University, Healty Science Institue, Izmir, Turkey

²Department of Medical Biology, Ege University, Faculty of Medicine, Izmir, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Ege University, Faculty of Medicine, Izmir, Turkey

⁴Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Ege University & Cord Blood, Cell And Tissue Research And Application Centre, Ege University, Izmir, Turkey Izmir, Turkey

INTRODUCTION: In this study we aimed to eliminate the negative effects of tacrolimus (immunosuppressive drug) on adipose tissue-derived mesenchymal stem cells (ATMSC) by using an antioxidant agent oxytocin.

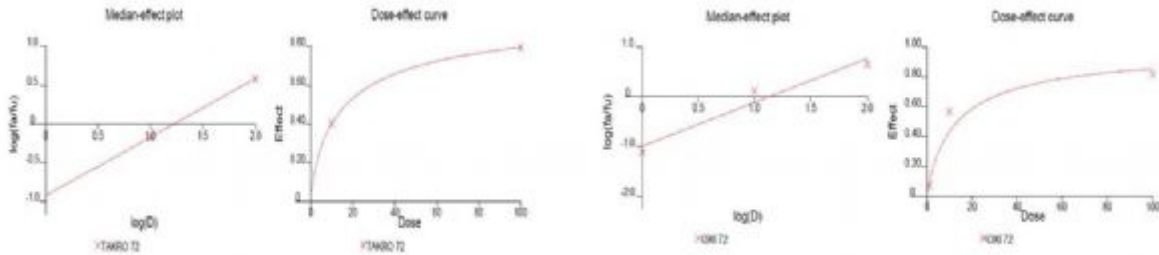
Material/METHOD: ATMSC cell line was obtained commercially and 5th passage of the original line was obtained. To evaluate the cytotoxic effects of tacrolimus and oxytocin on ATMSC, WST1 test was applied. Also Isobologram analyses were conducted to evaluate combinational effects of tacrolimus and oxytocin. After calculating the IC50 values of tacrolimus and oxytocin and

combination indexes, determined doses were given to cells and apoptosis analyses were conducted in 24th, 48th and 72nd period. Study groups were tested using Muse Cell Analyzer with Muse® Annexin V and Dead Cell Assay Kit for determining viability, apoptosis and death cell numbers. Immunofluorescence staining of Ki67 proliferation and vimentin stem cell marker in untreated AT-MSC cell line. ATMSCs treated with IC50 values of tacrolimus, oxytocin and the combination of both for 96 hours. Cellular staining was visualized using FITC conjugated secondary antibodies (green). Nuclear staining was visualized using DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole) (blue) staining. Images are representative of five independent experiments. Statistical analysis was tested by oneway analysis of variance, followed by Tukey's or Dunett's post hoc test. $p < 0.05$ was considered to indicate a statistically significant difference. The reference values of principal parameters of oxidative stress (MDA, CAT, SOD, GSH-Px) were determined in AT-MSC.

RESULTS: IC50 values for oxytocin and tacrolimus were 17.44 μ M and 13.43 μ M, respectively. Combination indexes of Isobologram analysis revealed that the two agents were antagonistic. ANOVA test followed by Tukey test was used determine difference between immunoexpression of Ki 67 and vimentin in four groups. Ki 67 immunoexpression of tacrolimus group significantly lower compared with negative control group but tacrolimus-oxytocin combination group similar to negative control group. Ki 67 immunoexpression of oxytocin group significantly higher from another three group ($p < 0.000$). Vimentin immunoexpression of oxytocin group significantly lower from another three group ($p < 0.000$). There was no significant difference between another groups ($p > 0.05$). Levels of lipid peroxidation were increased after the AT-MSC treatment with tacrolimus. **CONCLUSION:** The results clearly points out that, oxytocin could be used to eliminate the cytotoxicity caused by tacrolimus.

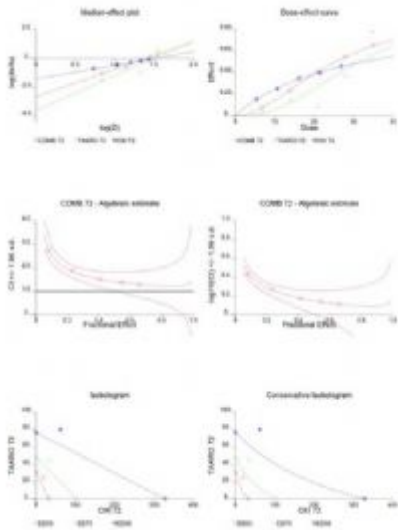
Keywords: Antagonistic Effect of Oxytocin And Tacrolimus Combination on Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells

resim 1
Fig1



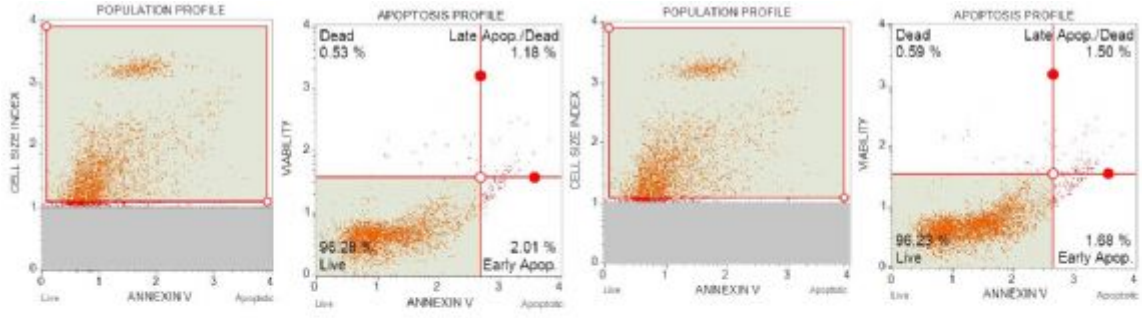
Grafik 1: ADKH' lerinde takrolimusun IC₅₀ dozu

Grafik 2: ADKH' lerinde oksitosinin IC₅₀ dozu



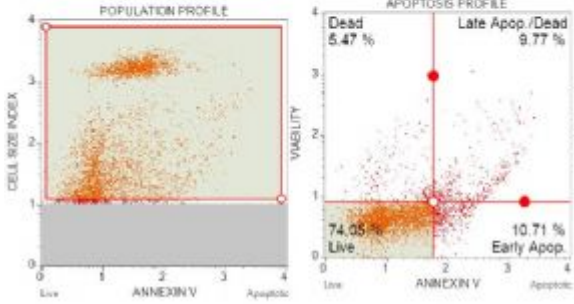
Grafik 3: Takrolimus ve oksitosinin 72. Saatteki IC₅₀ değeri baz alınarak kurulan izobologram analizi bulgusu

resim 2
Fig 2

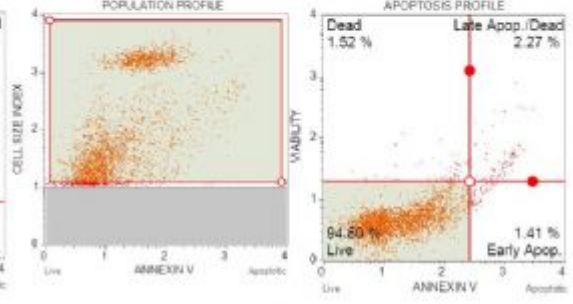


Grafik 4: Kontrol grubunda Muse analizler sonuçları

Grafik 5: Oksitosin grubunda Muse analizler sonuçları

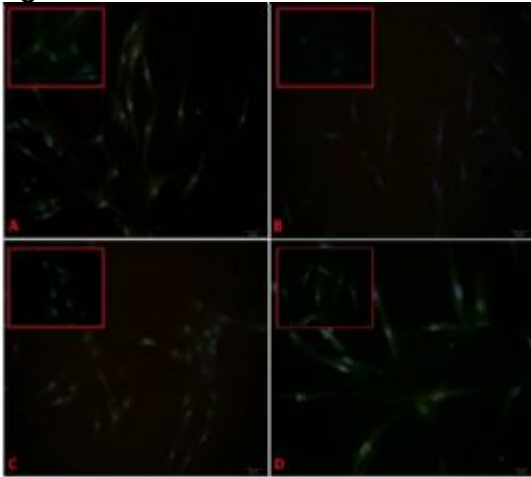


Grafik 6: Takrolimus grubunda Muse analizler sonuçları

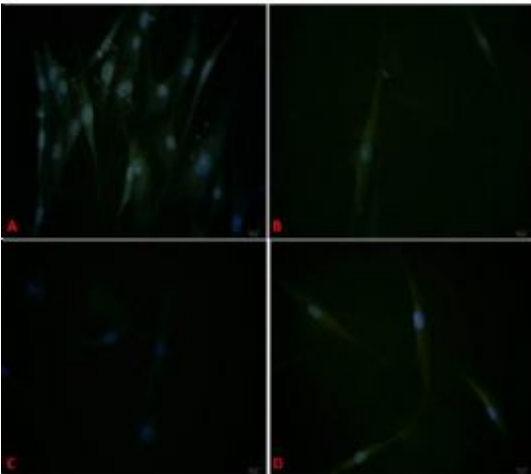


Grafik 7: Kombine grup (Oksitosin + Takrolimus) grupta Muse analizler sonuçları

resim 3
fig 3



Resim 1: Anti-Ki-67 boyaması. A. Kontrol grubu B. Takrolimus grubu C. Oksitosin grubu D. Kombine grup



Resim 2: Vimentin boyaması. A. Kontrol grubu B. Takrolimus grubu C. Oksitosin grubu D. Kombine grup

Kaynakça / References: 1-Felix MJ, Felipe CR, Tedesco-Silva H, Osmar Medina-Pestana J. Time-Dependent and Immunosuppressive Drug-Associated Adverse Event Profiles in De Novo Kidney Transplant Recipients Converted from Tacrolimus to Sirolimus Regimens. *Pharmacotherapy*. 2016; 36: 152-165. 2-Lajtha LG, Schofield R. Regulation of stem cell renewal and differentiation: possible significance in aging. *Adv Gerontol Res*. 1971; 3: 131-46. 3- Sır G, Arısu E, Yiğittürk G, Çavuşoğlu T, Avcı ÇB, Çelik S et. al. Oksitosinin hücresel tedavide kullanılma potansiyeli. *FNG & Bilim Tıp Dergisi*. 2015; 1: 163-169.

P118

Dormansi Modulatorlarının Küçük Moleküllerle Hedeflenmesi ile İnsan Hematopoetik Kök Hücrelerinin ex vivo Çoğaltılması

Esra Albayrak¹, Seyhan Genç¹, Pinar Siyah¹, Emre Can Tüysüz², Serli Canikyan³, Neslihan Meriç⁴, Zafer Gülbaş⁴, Remziye Döğür¹, Fatih Kocabaş¹

¹Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul/ Türkiye

²Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Bölümü, İstanbul/ Türkiye

³İstanbul Teknik Üniversitesi ONKİM Kök Hücre Teknolojileri-KOSGEB, İstanbul/ Türkiye

⁴Özel Anadolu Sağlık Merkezi Hastanesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Kocaeli/ Türkiye

Kordon Kanı (KK), allojenik kemik iliği transplantasyonuna alternatif olarak önerilmektedir. KK transplantasyonunun, donörden kolayca elde edilmesi ve transplantasyon sonrası graft kökenli konak hastalığı insidansının düşük seviyede olması gibi avantajları bulunmaktadır. Fakat KK`dan elde edilen hematopoetik kök hücre (HKH) sayısı başarılı bir transplantasyon ve kemik iliği iyileşmesi için yeterli değildir. Daha önce HKH dormansi genlerinin nakavtı ile in vivo olarak HKH havuzunun büyütülebileceğini kendi yaptığımız çalışmalarla gösterdik [1,2,3]. Bu çalışmalar, dormansi regülatörlerinin küçük moleküller ile hedeflenmesinin insan KK ve kemik iliği kökenli HKH`lerinin ex vivo çoğaltılabileceğini göstermektedir. Bu çalışmamızda, KK ve kemik iliği kökenli HKH`ler, dormansi regülatörlerini hedefleyen 35 küçük molekülün çeşitli dozları ile muamele edildi. 7 gün sonra, HKH`ler aldehit dehidrogenaz (ALDH) enzim aktivitesi ve HKH içeriği açısından akış sitometri ile analiz edildi. 14 küçük molekülün toplam KK hücre sayısını 2 kattan fazla arttırdığını belirledik. 13 küçük molekül CD34+ HKH oranını artırırken, yalnızca 7 molekül CD133+ HKH oranını arttırmaktadır. Bunun yanında, 7 molekül de ALDHhi hücre oranını doza bağımlı olarak arttırmaktadır. Ayrıca, KK CD34+ hücre sayısı üzerinde artırıcı etkiye sahip olan küçük moleküllerle hücre döngüsü analizi gerçekleştirdik ve 6 küçük molekülün CD34+ hücrelerin hücre döngüsüne tekrar girmesini sağladığı gözlemledik. Bunlara ek olarak, 2 küçük molekülün de kemik iliği kökenli CD34+ HKH`lerin çoğaltılmasını indüklediğini bulduk. Sonuç olarak, bu veriler transplantasyon verimini arttırmak için küçük moleküller tarafından HKH dormansi regülatörlerinin hedeflenmesinin insan HKH çoğaltılmasının indüksiyonunu sağlamak için kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: ALDH, GKK Kök Hücreleri, Hematopoietik inhibitörler, Hematopoietik progenitor ve kök hücreler, Kök Hücre dormansisi, Küçük Moleküller

Ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells by targeting quiescence modulators with small molecules

Esra Albayrak¹, Seyhan Genç¹, Pinar Siyah¹, Emre Can Tüysüz², Serli Canikyan³, Neslihan Meriç⁴, Zafer Gülbaş⁴, Remziye Döğür¹, Fatih Kocabaş¹

¹Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

²Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

³Onkim Stem Cell Technologies, Istanbul Technical University- KOSGEB, Istanbul, Turkey

⁴Department of Internal Medicine, Private Anadolu Health Center Hospital, Kocaeli, Turkey

Umbilical Cord Blood (UCB) provides an alternative to allogeneic bone marrow (BM) transplantation. UCB transplantation has been characterized by its easy collection from donor, and lower incidence of graft-versus-host disease post transplantation. However, hematopoietic stem cell (HSC) number obtained from UCB is not sufficient for successful transplantation and bone marrow recovery. We have previously shown that knockout of HSC quiescence genes could increase HSC pool in vivo [1,2,3]. Thus, we hypothesized that targeting the quiescence regulators using small molecules (SM) may be utilized for ex vivo expansion of human UCB and BM derived HSCs. In the study, UCB and BM HSCs were treated with various doses of 35 SMs, which are targeting quiescence modulators. After seven days of treatment, hematopoietic cells were analyzed for aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity and HSC content by flow cytometer. We have found that fourteen SMs induced more than two-fold increase in total UCB cell number. While thirteen SMs increased CD34+ HSC ratio, only eleven SMs elevated CD133+ HSC ratio. Besides, seven SMs increased ALDHhi cell ratio in a dose dependent manner. We also performed cell cycle analysis

after treatment with selected SMs which have positive effect on cell number in UCB CD34+ cells and thus, we found that 6 SMs provide re-entry of the cells to cell cycle. In addition, we have confirmed that two SMs could induce ex vivo expansion of BM derived CD34+ HSCs. In conclusion, these results suggest that targeting HSC quiescence regulators by SMs may be used for induction of ex vivo human HSC expansion, which may eventually be used to increase the transplantation efficiency.

Keywords: ALDH, hematopoietic inhibitors, hematopoietic progenitor and stem cells, small molecules, stem cell quiescence, UCB stem cells

Kaynakça / References: 1) Kocabas, Fatih (co-first author) & Simsek, Tugba, et al. "The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche." *Cell stem cell* 7.3 (2010): 380-390. 2) Kocabas, Fatih, et al. "Meis1 regulates the metabolic phenotype and oxidant defense of hematopoietic stem cells." *Blood* 120.25 (2012): 4963-4972. 3) Kocabas, Fatih, et al. "Hypoxic metabolism in human hematopoietic stem cells." *Cell & bioscience* 5.1 (2015): 1.

EditorToSelf: DESTEK ALMAK İÇİN SÖZLÜ BİLDİRİ OLARAK KABUL EDİLMESİNİ İSTİYOR.

P119

Deride Yanık Zemininde Kök Hücre Uygulaması ve Damar Anastomozunu Patensinin Araştırılması

Ersin Gür¹, Yiğit Özer Tiftikcioğlu¹, Gülinnaz Ercan², H.seda Vatansever³, Yakup Işık¹, Ayfer Karlıtepe², Hilal Kabadayı⁴

¹Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye Yakın Doğu Üniversitesi, Deneysel Sağlık Hizmetler Araştırma Merkezi, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs

⁴Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

Yanık; deri kaybı ile sonuçlanan ve farklı derecelerde epithelial hasara neden olan travmalardan biridir. En sık yanık tipi termal yanıklardır. Yanık tedavisinde hala en geçerli yöntem, vücudun başka bölgelerinden alınan dokuların bu alanlara nakil edilmesini içeren serbest doku nakilleridir. Geniş doku hasarının olduğu yanıklarda planlanan serbest doku nakillerinde, damar onarımı için bahsi geçen komşu hasarsız alan bulmak her zaman mümkün olmamaktadır. Bu çalışmada deri ve deri altı dokuları kapsayan termal yanık modelinde adipojenik kök hücre uygulamasının yara iyileşmesi ve damar anastomozu üzerine etkililerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada wistar-albino sıçanlar (n=25) kullanıldı. Deneklerden dördü retroperitoneal yağ dokusu alınarak adipojenik kök hücre elde edildi. Diğer denekler randomize her grupta 7 denek olacak şekilde ayrıldı. 1. Grup kontrol grubu olup yalnızca femoral arter anastomozu (FAA) yapıldı. 2. Grup çalışma grubu olup FAA ile beraber femoral bölgede 100 °C ısı 7mm çaplı bakır çubuğun 45sn temasıyla 2. Derece termal yanık modeli (YM) oluşturuldu. 3. Grup ise tedavi grup olup sırasıyla YM, kök hücre uygulaması ve FAA yapıldı.

Adipojenik kök hücre eldesi için alınan yağ dokusu örnekleri %0.075 kollajenaz tip I içeren α -MEM vasatında 37 °C, %5 CO₂ ortamında 30 dakika inkübe edildikten sonra kültür vasatına (α -MEM, %20 FCS, %1 L-glutamin) alınarak en az 2 santrifüj işleminden sonra ayrıştırılarak kültüre edildi ve 3. Pasaj hücreler çalışmada kullanıldı.

Uygulamanın 3. Gününde deri ve damar örnekleri %10 formalin solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin parafin takip işlemine alındı. Örneklerde anti-VEGF, anti-Thy-1, Kollajen I ve Antitrombin III dağılımları indirekt immunoperoksidaz yöntemi ile analiz yapıldı.

Sonuç olarak kök hücre uygulaması sonrasında angiogenesis belirteci olan VEGF in arttığı, Thy-1 ekspresyonunda diğer gruplara oranla daha fazla olduğu saptandı. Kollajen-1 immunoreaktivitesinin benzer olması kök hücre uygulaması sonrasında fibrosis e arttıracak şekilde kollajen 1 salınımının olmadığını, normal iyileşme sürecindeki kollajen varlığı ile benzer olduğu sonucuna varıldı. Özellikle kök hücre uygulaması sonrasında angiogenesis in artması iyileşmeyi desteklediğini düşündürdü.

Thy-1

in varlığı ise mezenkimal kök hücreler ile inflamatuvar hücreler arasındaki doğrudan ilişkiden dolayı olabileceğini, iyileşme içinde pozitif etkinin sağlanmış olabileceğini düşündürdü. Trombin III immunoreaktivitesinin yanık grubunda en fazla olduğu, kök hücre uygulaması ile Trombin III ekspresyonun azaldığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: kök hücre, yara iyileşmesi, anastomoz

Investigation of stem cell application and vessel anastomosis patency on burn skin

Ersin Gür¹, Yiğit Özer Tiftikcioğlu¹, Gülinnaz Ercan², H.seda Vatansever³, Yakup Işık¹, Ayfer Karlıtepe², Hilal Kabadayı⁴

¹Ege University, Faculty of Medicine, Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery Department, İzmir, TURKEY

²Ege University, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry, İzmir, TURKEY

³Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Manisa, TURKEY, Near East University, Experimental Health Science Research Center, Nicosia, North Cyprus

⁴Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Manisa, TURKEY

Wound healing is a complex biological process that results in skin loss and causes different grade of epithelial damage. The most common type of burns are thermal burns. Tissue transplanting that obtained from different part of the body, is the most validated method for wound treatment. In this study we aimed to investigate the role of adipogenic stem cells on the thermal burn skin and subcutaneous tissues and effects of stem cells on wound healing and vascular anastomosis. In this study wistar-albino rats (25) were used. Four rats were utilized for adipogenic stem cell (ADSCs) derivation. The other rats were separated into three groups and each group was consisted 7 rats. Femoral artery anastomosis (FAA) was applied in Group 1 which was named as a control group. In Group 2 addition to FAA application, 100°C heated 7 mm diameter copper applied to the femoral area of rats for 45 seconds and thermal burn model (BM) was obtained. Lastly in Group 3 BM, stem cells and FAA applications were done, respectively. Adipose tissues were collected and washed with 5% penicillin-streptomycin containing phosphate buffered saline (PBS). Briefly, samples were minced into small pieces, treated with 0.075% collagenase with α -MEM (includes 15% FCS, 1% L-glutamin, 1% penicillin-streptomycin) and incubated at 37 °C, 5% CO₂ for 30 minutes, cells were cultured until 80% confluency and third passage of the cells were used. Three days after application of groups, skin and vessel tissue samples were collected from the rats. They were fixed with 10% formalin solution. Routine paraffin embedding processes were done. Sections were stained both H-E and indirect-immunohistochemical protocols were used for analysing anti-VEGF, anti-Thy-1, anti-collagen-1 and anti-thrombin III immunoreactivity. As a result of the application of stem cells, angiogenic marker VEGF expression level was increased and Thy-1 expression was higher when compare to the other groups. Similar collagen-1 immunoreactivity was found in all groups, there wasn't any improvement on fibrosis. It is found that presence of collagen was the same at normal healing process. Especially after application of stem cells, increasement of angiogenesis suggests that cells support healing process. Presence of Thy-1 expression was evaluated that between mesenchymal stem cells and inflammatory cells may have a correlation and that may cause a positive effect during healing. Trombin III immunoreactivity was found highest in the group 2 and after stem cell application the expression of it was decreased.

Keywords: stem cell, wound healing, anastomosis

P120

DeneySEL İnmemiş Testis Oluşturulmuş Sıçanlarda Oluşan Testis Hasarında Yağ Doku Kökenli Kök Hücrelerinin Oksidatif Stres Üzerine Etkileri

Suna Saygılı¹, Işıl Aydemir¹, Dila Hatun Sal¹, Pınar Kılıçaslan Sönmez¹, Fulya Gülbağça¹, Gökhan Temeltaş², Mehmet İbrahim Tuğlu¹

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

²Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Üroloji Anabilim Dalı

AMAÇ: İnmemiş testis (İT) klinikte sık karşılaşılan bir durum olup genellikle fark edilemediğinden dolayı geç müdahale edilen bir hastalık durumudur. Geç kalınan durumlarda yüksek ısıya maruz kalan testislerde hasar oluşmakta ve bu da kısırlıkla sonuçlanabilmektedir. Kısırlık dışında sonradan inen veya indirilen testislerde tümör oluşma riski daha fazla olmaktadır. Kök hücrelerin hem testiküler hasar hem de tümör gelişiminde önleyici, koruyucu ve tedavi edici etkileri değişik çalışmalarla incelenmeye başlanmış ama en önemli özellik olarak hangi amaçla kullanılırlarsa kullanılınsınlar zarar vermedikleri gözlenmektedir. Bu verile ışığında çalışmada, sıçan testislerinde cerrahi yöntemle oluşturulmuş DİT hasarına karşı YDKH iyileştirici etkilerinin ve oksidatif stres ile apoptoz yönünden ilişkisi araştırılması amaçlandı.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmada 40 adet, ağırlıkları 45±9g arasında değişen 16-19 günlük testisleri henüz skrotuma inmemiş Wistar yavru erkek sıçanlar kullanıldı. Her grupta 20 hayvan olacak şekilde sıçanlar 3 gün beklemeli ve 7 gün beklemeli olarak 2 gruba ayrıldı. Her grup bir kontrol, bir tek taraflı DİT, bir DİT+BY ve bir DİT+YDKH olmak üzere 4 alt gruba ayrıldı. Kontrol grubuna hiçbir işlem yapılmadı. DİT grubunda İT karın içerisine dikilerek sabitlendi. Sham grubu olarak kullanılan BY grubuna 300 µl hücrelerin besiyeri verildi. YDKH uygulanan gruplara operasyon sırasında bir kez 1x106 YDKH 300 µl besiyeri içinde rete testis içerisinden enjekte edildi. Eşit miktarda hücre kültür besiyeri enjekte edildi. Deney sonrası hayvanların testisleri toplanarak ağırlıkları ölçüldü. Histopatolojik değerlendirmeler ve oksidatif stres açısından eNOS, iNOS immünohistokimyasal boyamaları h-skor ile apoptoz TUNEL boyamaları ile değerlendirildi. İstatistiksel analizler için ANOVA testi yapıldı.

BULGULAR: DİT yapılan testislerde seminifer tübüller arasında ödem ve boşluk, seminifer tübül içerisinde dejenerasyon, vakuolizasyon ve piknotik hücreler gözlenerek atrofik yapı bulundu. BY ile az miktarda YDKH ile belirgin bir şekilde oluşan histopatolojik değişiklikler azaldı. Hasarın oluşumunda oksidatif stresin yer aldığı NOS immünohistokimyası ve apoptozun eşlik ettiği TUNEL işaretlemesi ile gösterildi. Her iki parametrenin KH uygulaması ile gerilediği izlendi.

Sonuç ve YORUM: KH için DİT tedavisinde kullanım potansiyeli olan önemli bir ürün olabileceği ve etkisinin oksidatif stres ve apoptoz ile gerçekleştiği bulundu. Bu çalışmada bu ürünün oldukça etkin yararları saptanmış ve daha önemlisi olabilecek hiçbir zarar vermediği görüldü. Testise vermiş olduğu olumlu katkılar infertilite ve Üremeye Yardımcı Tedavi Yöntemleri açısından önemli olabilecek değerli bulgulardır. Kaliteli bir üretkenliğin sağlanmasında KH tedavinin çok değerli olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: İnmemiş testis, kök hücre, oksidatif stres, apoptoz, kısırlık, IVF.

Effects Of Adipose Drived Stem Cells In Experimentally Undescended Testes Rat Model

Suna Saygılı¹, Işıl Aydemir¹, Dila Hatun Sal¹, Pınar Kılıçaslan Sönmez¹, Fulya Gülbağça¹, Gökhan Temeltaş², Mehmet İbrahim Tuğlu¹

¹Department of Histology and Embryology, Manisa Celal Bayar University

²Department of Urology, Manisa Celal Bayar University

AIM: Undescended testes is common clinical condition and it is started being treated late because generally not realised. In delayed situations testicles are damaged by the higher temperatures and can lead to infertility. Besides infertility, there is a higher risk of tumor formation in belated dropping or surgical dropping. In various studies, stem cells were found to be protective, curative in testicular damage and preventive in tumor formation, moreover, independent from what aim they are used, they were found to be unharmed. This lead to start human experiments and phase studies to be done more fearlessly.. In this study, it was aimed to investigate the curative effects of ADSC of surgical EC damage and to define the behaviours of the non-testicular stem cells in the

testicle tissue.

MATERIALS-METHODS: In this study 40 Wistar male rats, which weight $45\pm 9g$, 16-19 days old and those who their testicles did not drop to scrotum, were used. Rats were seperated in two groups that 3 days waiting and 7 days waiting with 20 animals in each. In every group, there were 1 control, 1 single EUT, 1 EUT + medium, 1 EUT + ADSC. In control animals no application was done. In EC animals, testicle was stitched intraabdominally. In medium animals which were used as SHAM group, 300 μl broth of the cell culture was injected. In ADSC treated animals, one set of 1×10^6 ADSC in 300 μl broth was injected in rete testis. After the experiment, testicles from the animals were collected and weighted. eNOS and iNOS antibodies for oxidative stress evaluation, TUNEL staining for apoptosis were done. For statistical analysis ANOVA test was applied.

RESULTS: In EUT applied testicles, eudemma and space in between seminifer tubules, degeneration inside seminifer tubule, vacoulation and picnotic cells and atrophic structures were observed. There were retreat in explicit histopathologic differences via medium and low amount of ADSC. With NOS immunohistochemistry the oxidative damage, with TUNEL the apoptotic death were shown. Similarly in H&E results, little positive changes with broth were found to be significant and increased in ADSC samples.

CONCLUSION: Undescended testes is an important problem of infertility and there are needs for methods to improve curability. Stem cells are substantial product for EUT treatment with everyday increasing potential. The positive contributions they gave to the testicles might be valuable findings in fields of infertility and assisted reproductive techniques.

Keywords: Undescended testes, stem cell, oxidative stress, apoptosis, infertility, IVF.

P121

İmmunomodulator olarak İnsan Diş Jerm Kök Hücrelerinin Özellikleri

Raife Dilek Turan, Pakize Neslihan Taşlı, Özge Sezin Somuncu, Fatih Kocabaş, Fikrettin Şahin
Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul

Kök hücrelerin klinik araştırmalarda kullanılması günümüzde dikkatleri üzerine çeken araştırma konularının başında gelmektedir. Özellikle doku transplantasyonunda ve otoimmün hastalıklarında bağışıklık sisteminin lokal olarak baskılanmasında kök hücrelerin umut olabileceği son zaman da yapılan araştırmalarda gösterilmiştir [1,2,3]. İnsan adipoz kök hücrelerinin bağışıklık sistemini baskılayıcı etkileri, bağışıklık sistemini düzenleyici temel araştırmalarda kullanılmasına rağmen 3. molar diş jerm kök hücrelerinin T hücrelerinin aktivasyonundaki rolü bilinmemektedir. Bu çalışmada insan adipoz kök hücrelerinin ve 3. molar diş jerm kök hücrelerinin T hücre aktivasyonundaki immuno-repressor ilişkisini karşılaştırmalı olarak tanımlamayı amaçlanmaktadır. Tek hücreli periferik kan hücreleri kandan ficol ve gradyan santrifüj tekniği kullanılarak izole edilmiş ve T hücrelerini aktive etmek için hücre kapları CD3 ile kaplanmış ve IL12 ile muamele edilmiştir. Kök hücreler insan adipoz kök hücrelerinin ve insan diş jerm kök hücrelerinin aktivasyonu öncesinde ve sonrasında aktive olmuş ve olmamış hücreler olarak kültüre edilmiştir. Aktive edilmiş hücrelerde kültüre edilerek 1., 4. ve 7. günlerde hücreler toplanarak MTS, ELISA ve akan hücre ölçer metotları uygulanmıştır. 7. günün sonunda yapılan MTS analizlerinden, periferik kan ve kök hücrelerinin çoğaldığı gözlemlenmiştir. Hücredeki sitokinler ise IL6, TNF, IL1B ve IL2 kullanılarak ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. Son olarak CD25 ve CD3 antikorları kullanılarak flow sitometri ile ölçülmüş kök hücrelerin kültüre edilmesiyle antikor seviyelerinde düşüş gözlemlenmiş olup T hücre aktivasyonu kanıtlanmıştır. Bunun yanı sıra inflamatuvar durumlarda insan diş jerm kök hücrelerinin bağışıklık sistemini baskılama kapasitesi, insan adipoz kök hücrelerden daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçların ışığında insan diş jerm kök hücrelerinin doku mühendisliğinin yanı sıra, bağışıklık sistemini baskılayıcı hastalıkların tedavisinde ve doku transplantasyonuna yeni bir bakış açısı kazandıracağına inanmaktayız.

Anahtar Kelimeler: Immuno-modulation, peripheral blood mononuclear cell, T cell activation, human tooth germ stem cells, human adipogenic stem cells.

Immunomodulation properties of human tooth germ stem cells

Raife Dilek Turan, Pakize Neslihan Taşlı, Özge Sezin Somuncu, Fatih Kocabaş, Fikrettin Şahin
Department of Genetics and Bioengineering, Faculty of Engineering, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

Introduction & Aim

Clinical therapies of stem cells have become a conspicuous research field especially with the fact of them being needed for autoimmune diseases and tissue transplantations for local immune repression. Recent studies show that stem cells carry high capacity of immunomodulation [1,2,3]. Despite human adipogenic stem cells (hASCs) were used as an immunomodulator in basic studies, immunorepression effects of hASCs and human tooth germ stem cells (hTGSCs) stay unknown on T cells. In this study, it was aimed to show immunomodulation properties of hASCs and hTGSCs comparatively in order to check whether they modulate the T cell activity.

Material & Methods

Peripheral blood mononuclear cell (PMBC) were obtained from whole blood by using ficoll gradient centrifuge technique. PMBC were seeded on CD3 coated plates and treated with IL12 to activate T cells. hASCs and hTGSCs were co-cultured with activated and non-activated cells. At the 1st, 4th and 7th day, conditioned medium and cells were collected and MTS, ELISA and flow cytometry were done respectively.

Result & Discussion

Proliferated PMBCs and stem cells are evident at the end of the 7th day as measured by MTS assay. T cell activation was confirmed by CD25 and CD3 antibodies with flow cytometry, which decrease after stem cells co-culture studies. In addition, we measured IL6, TNF, IL1B and IL2 by ELISA. Overall, we found that hTGSCs have comparably higher immunomodulatory capacity than hASCs. Thus, hTGSCs transplantation may carry a new prospect as an immunosuppressant for

treatment of autoimmune disorders.

Keywords: immuno modülasyon, Periferik kan hücreleri, T hücre aktivasyonu, insan 3. molar diş jerm kök hücreleri, insan adipoz kök hücreleri

Kaynakça / References: 1. Ma, S. et al. Immunobiology of mesenchymal stem cells. *Cell Death Differ* 21, 216–25 (2013). 2. Hashemi, S. et al. In vitro immunomodulatory properties of osteogenic and adipogenic differentiated mesenchymal stem cells isolated from three inbred mouse strains. *Biotechnol Lett* 35, 135–42 (2012). 3. Yamaza, T. et al. Immunomodulatory properties of stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Stem Cell Res Ther* 1, 5 (2010).

EditorToSelf: üniversitesinden destek alabilmek için sözlü bildiri olarak kabul edilme şartı varmış. Değerlendirmeye alınabilir mi diye iletti.

P122

Plateletten Zengin Plazma ile Kombine Periferik Kan Mononükleer Hücrelerinin Osteojenik Farklılaşması

Kaan Çelen, Pınar Kılıçaslan Sönmez, Mahmud Mustafa Özkut, Fulya Gülbağça, Suna Saygılı, Dila Hatun Sal, Işıl Aydemir, Mehmet İbrahim Tuğlu
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Ad., Manisa

Dolaşan periferik kan mononükleer hücrelerinden (PKMH) köken olan bir primitif hücre popülasyonunun, çeşitli organların normal doku yenilenmesine katıldığı iyi bilinmektedir. Monositler, makrofajlar, dendritik hücreler (DH), osteoklastlar, Kupffer hücreleri ve mikrogliaları da içeren çeşitli farklı fagositer hücrelere farklılaşmaktadır. Güncel bulgular, mononükleer hücrelerin fagositer hücreler dışında kemik, kartilaj, yağ, iskelet ve kalp kaslarına dönüşme potansiyelinin olduğunu göstermesi bunları kemik için potansiyel onarıcı hücre adayı yapıyor. Bu çalışmanın amacı PKMHlerin osteoblastik farklılaşma yeteneğinin plateletten zengin plazma (PRP) ile ko-kültüründe ve PRP olmaksızın araştırılmasıdır.

Sıçan PKMH santrifüj ile izole edildi ve yapışan PKMHlerinin osteojenik soya farklılaşma yetenekleri değerlendirildi. Deneilerin bu aşamasında mononükleer hücreler taze olarak ya da hücre kültür kabında yapışmaya ve çoğalmaya bırakılarak kullanıldı. PKMHler 10% FBS, 1% L-glutamin, 1% penisilin-streptomisin, deksametazon, askorbik asit and β -Gliserofosfat içeren alfa-memden oluşan osteojenik hücre kültür medyumunda PRP olmaksızın ve PRP ile birlikte ko-kültüre edildi. Deneinin sonunda PRP içeren grupta osteojenik farklılaşma daha iyi düzeydeydi. Çalışmamız PKMH'lerin osteokondral lezyonlarının iyileşmesini desteklemek için bir hücre kaynağı olabileceğine dair kanıtlar sunmuştur.

PKMH tedavisinin avantajları, diğer multipotent hücre kaynaklarından farklı olarak periferik kan izolasyonunun minimal invaziv olmasını ve genel anestezi gerektirmemesini içeriyor. PRP ise rejeneratif büyüme faktörleri ve kemokinlerin otolog bir kaynağıdır dolayısıyla PRP ile kombine yapışmayan hücrelerin uygulanması osteokondral defektlerde yararlı etkiler ortaya koymaktadır. Bulgularımız, dolaşan mononükleer hücrelerin daha önce düşünüldüğünden daha farklı olduğunu göstermektedir bu da PRP ile kombine dolaşan mononükleer hücrelerin kullanıldığı hücre transplantasyon terapilerini gelecekte doku rejenerasyonu için potansiyel bir yaklaşım haline getiriyor.

Anahtar Kelimeler: PRP, Mononükleer Hücre, Osteojenik

Osteogenic Differentiation Of Peripheral Blood Mononuclear Cells Combined with Platelet Rich Plasma

Kaan Çelen, Pınar Kılıçaslan Sönmez, Mahmud Mustafa Özkut, Fulya Gülbağça, Suna Saygılı, Dila Hatun Sal, Işıl Aydemir, Mehmet İbrahim Tuğlu
Faculty of Medicine, Department of Histology & Embryology, Celal Bayar University, Manisa, Turkey

It is well known that a primitive cell population derived from circulating peripheral blood mononuclear cells (PBMC) can participate in the normal tissue renewal of various organs. Monocytes are known to differentiate into several distinct phagocytes, including macrophages, dendritic cells (DS), osteoclasts, Kupffer cells, and microglia. Current findings however, suggest that mononuclear cells have the potential to differentiate into cell types other than phagocytes, including bone, cartilage, fat, and skeletal and cardiac muscles, making them potential candidate repair cells for bone. The aim of this study was to investigate if the osteoblastic differentiation of PBMCs can be enhanced by co-culturing with or without platelet rich plasma (PRP).

Human PBMCs were isolated with gradient centrifugation and adherent PBMC's were evaluated for their ability to differentiate into osteogenic lineages. Mononuclear cells were either used fresh in the experiments at this stage or left to adhere and grow on a cell culture plastic. PBMCs were co-cultured with or without PRP in osteogenic cell culture medium alpha-mem containing 10% FBS, 1% L-glutamine, 1% penicillin-streptomycin, dexamethasone, ascorbic acid and β -

Glycerophosphate.

At the end of the experiment osteogenic differentiation was better in the PRP group. Our study has provided evidence that PBMC can be a source of cells to stimulate the healing in osteochondral lesions

The advantages of PBMC therapy includes the fact that in contrast to other sources of multipotent cells, the isolation of peripheral blood is minimally invasive and does not require general anaesthesia. PRP is an autologous source of pro-regenerative growth factors and chemokines so PRP combined with nonadherent cells application demonstrates beneficial effects in osteochondral defects. Our findings, indicate that circulating mononuclear cells are more diverse than previously thought, making cell transplantation therapies using circulating mononucleated cells with PRP a potential approach for future tissue regeneration

Keywords: PRP, Mononuclear Cell, Osteogenic

P123

DeneySEL Yara İyileşmesinde Laminin İle Kombine Hematopoetik Kök Hücrenin Etkisi

Pınar Kılıçaslan Sönmez, Mahmud Mustafa Özkut, Işıl Aydemir, Fulya Gülbağça, Dila Hatun Sal, Suna Saygılı, Mehmet İbrahim Tuğlu
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa

DENEYSSEL YARA İYİLEŞMESİNDE LAMİNİN İLE KOMBİNE HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE ETKİSİ

Yara iyileşmesi, doku hasarına karşı doğal bir iyileştirici yanıt olarak, hasar bölgesine giden yerleşik ve dolaşan hücrelerin ayrıntılı cevabı ile yara iyileşmesini hızlandıran birçok büyüme faktörünü ve laminini içeren ekstraselüler matriksten kaynaklanan sinyallerin ve çözünebilir mediyatörlerin salınması sürecini kapsar.

Hematopoetik kök hücreler (HKH), günümüzde kanser tedavisinde kullanılmaktadır, ancak yara iyileşmesi üzerindeki etkisi henüz bilinmemektedir. Dolayısıyla, bu çalışmada deri yara iyileşme süreci için laminin ile muamele edilmiş kemik iliği kaynaklı HKH etkileri araştırılmıştır.

HKH, sıçan kemik iliğinden elde edilerek alpha-MEM besiyerinde kültüre edildi. 3 gün sonra yüzen hücreler santrifüj edildi ve laminin ile kombine edilerek intralezyonel uygulama ile iyileşmeyi hızlandırmak amacıyla deri yarasına uygulandı.

Kemik iliğinin yapışmayan hücrelerinden kültüre edilen HKH, laminin ile kombine edilerek ve laminin olmaksızın yaraları iyileştirmek için kullanıldı. HKH ile kombine edilen laminin, yalnızca laminin kullanılan yara iyileşmesine kıyasla daha iyi bir iyileşme sağladı, yara çapı daha küçüktü ve yara kapanması daha hızlı gerçekleşti. Histolojik çalışmada, yara bölgesine laminin ile kombine HKH uygulamasının daha fazla granülasyon formasyonu, daha hızlı epitelizasyon ve anjiyogenez ile sonuçlandığı görüldü.

Lamininler, hücre farklılaşmasını, migrasyonunu ve adhezyonunu etkileyen, bazal laminanın önemli ve biyolojik olarak aktif bir kısmıdır. Bulgular, hücrenin kusursuz ekstraselüler matriks molekülleri ile temasının matriks birikiminin miktar ve kalitesini düzenleyerek hücre davranışını etkilediğini gösteriyor ve bu da laminin üzerine HKH uygulamasının yara iyileşmesinde yararlı etkileri olduğunu gösteriyor. İntralezyonel enjeksiyon laminin üzerine HKH uygulaması için yara yönetiminde iyi bir tedavi seçeneği olabilecek bir yöntem olarak görünüyor.

Anahtar Kelimeler: Hematopoetik kök hücre, laminin, kemik iliği, yara iyileşmesi

The Efficacy Of Hematopoietic Stem Cell Combined With Laminin For Experimental Wound Healing

Pınar Kılıçaslan Sönmez, Mahmud Mustafa Özkut, Işıl Aydemir, Fulya Gülbağça, Dila Hatun Sal, Suna Saygılı, Mehmet İbrahim Tuğlu
Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Manisa, Turkey

Wound healing, a natural restorative response to tissue injury, is governed by an elaborate response driven by resident and circulating cells, homing to the injury site, that release soluble mediators or signals generated from the extracellular matrix contains many growth factors and laminin that can accelerate wound healing. Hematopoietic stem cells (HSC) have been already used in cancer treatment but their effect on wound healing is not known yet. Therefore, the effects of bone marrow derived HSC on laminin for the cutaneous wound healing process were investigated. HSC were collected from rat bone marrow and were cultured in alpha- MEM medium. After 3 days the floating cells were centrifuged and were combined with laminin which applied as mixture to a skin wound to promote healing by intralesional application.

HSC from cultured non adherent cells of bone marrow combined with or without laminin were used to treat wounds. There was better healing with HSC on laminin compared to that of only laminin. The mean diameter of wounds was smaller and wound closure rate was higher than control. In histological study, HSC on laminin treated wounds showed more granulation formation, faster epithelialization and angiogenesis.

The laminins are an important and biologically active part of the basal lamina, influencing cell differentiation, migration, and adhesion. Findings suggest that cell contact with precise extracellular matrix molecules influence cell behavior by regulating the quantity and quality of matrix deposition so HSC on laminin application demonstrates beneficial effects in wound healing. Intralesional injection was useful method for application of HSC on laminin which could be a good therapeutic option for wound management.

Keywords: Hematopoetic stem cells, laminin, bone marrow, wound healing

P124

Kök Hücre Uygulanan Testis Biyopsi Modelinde PI3K/AKT Sinyali

Mahmud Mustafa Özkut, Mehmet İbrahim Tuğlu, Kemal Özbilgin, Tuna Önal
Celal Bayar Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Manisa

Testisler skrotum içinde bir çift organ olarak yerleşmiş olup türün devamı için gerekli olan spermatozoanın üretimi, testosteron ve diğer bazı erkeklik seks hormonlarının sekresyonundan sorumludurlar. Kök hücreler, kendilerini yenileme, bir organizmanın yaşamı boyunca kayıp hücrelerin yerini doldurabilme ve fonksiyonel olarak farklılaşmış hücreleri oluşturabilme kapasitesine sahip hücrelerdir. Kemik iliği stromal kök hücreleri, doku kültür plastiklerine yapışma eğilimleriyle ilikteki diğer hücrelerden ayrılabilirler ve bu hücrelerin, hücre ve gen tedavisi için potansiyel olarak kullanışlı olan birçok özellikleri vardır. Bu hücreler dokulara özgü kök hücrelerin birçok özelliklerini taşıdıklarından mezenşimal olarak tanımlanmakta ve kültürlerde değişik dokulara farklılaşma potansiyelinde olan multipotent hücrelerdir. Kök hücrelerin transplantasyon uygulamaları hasara uğramış dokuların tamirinde umut verici tedaviler olarak kullanılmaktadır. Bu çalışma, sıçan testisinde biopsi uygulamasına benzer şekildeki yara modelinde kök hücre uygulamasının hücreler açısından yararı ve iyileşmeye olan etkilerinin araştırılması amacıyla gerçekleştirildi. Kök hücre uygulamasının hasarın zaman bağımlı histolojik incelemesi yapılarak oluşan PIEK/AKT sinyalizasyonu ile ilişkisi araştırıldı.

Kök hücre uygulaması erişkin sıçanların tibiasından kemik iliği stromal hücrelerin aspirasyon ile alınarak değişik besiyerleri ile muamelesi sonrasında kendi yavrularına transplantasyon ile gerçekleştirildi. Kontrol örnekleri olarak besiyeri uygulaması yapılmamış kök hücre, hücresiz ve serum fizyolojik örnekleri ile karşılaştırmalar yapıldı. Uygulamaları takiben, 7 ve 14 günlük bekleme süreleri sonrasında testis dokusu histolojik, immunohistokimyasal ve morfolometrik olarak incelendi. Doku örnekleri Hematoksilen-Eozin (H.E.), PI3K, AKT immunohistokimyası için boyandı. İmmunoreaktivite skorları, pozitif boyanan hücreler ile boyanma şiddetleri H-Score ile belirlenip, sonuçlar ANOVA istatistik testi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Kök hücre uygulanan grupta 7 günde immunitede artma gözlenmekte fakat 14. günde hafif şiddette izlenmektedir. Kök hücre uygulanmayan grupta ise hem 7 hem 14. gün hafif bir immunitite vardır. Kök hücre ile beraber artması bize migrasyon ve proliferasyonda görevli olan PI3K-AKT yolağının kök hücre ile birlikte aktif bir rol oynadığının kanıtıdır.

Sonuçlarımız kök hücre uygulamasının testis hasarında iyileşmeye olan büyük katkısını, testis hücrelerine verdiği desteği, seminifer tübül rejenerasyonunda oldukça anlamlı yararını ortaya koyarak klinik uygulamalarının getireceği olumlu etkileri gösterdi.

Anahtar Kelimeler: kök hücre, kemik iliği stromal hücresi, testis, migrasyon, PI3K/AKT sinyali

Stem Cell Application Testis Biopsy Model PI3K / AKT Signaling

Mahmud Mustafa Özkut, Mehmet İbrahim Tuğlu, Kemal Özbilgin, Tuna Önal
Department of Histology and Embryology, Celal Bayar University, Manisa

The testicles are a pair of organs found within the scrotum which are responsible for the production of spermatozoa necessary for the continuity of the species, testosterone and the secretion of some other male sex hormones. The stem cells have the capacity of self-renewal, filling in the places of cells which are lost by an organism throughout its life and forming functionally differentiated cells. Bone marrow stromal cells can be detached from the other cells in the marrow with their tendency of adhesion to the tissue culture flask and these cells have many characteristics which are potentially useful for cell and gene treatments. The transplantation applications of the stem cells are used as hopeful treatments for repairing the damaged tissues.

This study was carried out in order to research the advantages of the stem cell application in the wound model similar to the biopsy application in the rat testicles and its effects on the healing process. The histological analysis of the time-dependent damage of the stem cell application and the emerging PI3K/AKT signalling was researched.

Ten rats were used in stem cell derivation and five rats were used for every group in experiment applications. After finding the best ideal medium which is morphologically the most similar to the sperm, the transplantation was further carried out on mature rats by injecting a pin into the middle

of the testicle and releasing the cells in the testicle in phase of recession. Control samples of stem cells which lacked medium application were compared to acellular and serum physiologic samples. Following the applications, after the 7 and 14 days of waiting period the testicle tissue was histologically, immunohistochemically and morphometrically analysed. The tissue samples were painted with Hematoxilen Eozin, PI3K and AKT for immunohistochemistry. The results were compared with ANOVA statistical test.

Stem cell treatment group than 7 days is observed increase in immunity but 14. are monitored mild day. In the group without stem cells are both 7 and 14 days a slight immunity. increased with stem cell migration and proliferation in us is evidence that PI3K-AKT pathway officials who play an active role with stem cells.

Our results show the positive effects which clinic applications can bring by displaying the great contribution of the stem cell application in the treatment of testicle damage, the support it gives to the testicle cells and the significant benefits it has in seminifer tubule regeneration.

Keywords: stem cell, bone marrow stromal cell, testicle, migration, PI3K/AKT signal

Kaynakça / References: Cakici C, Buyrukcu B, Duruksu G, Haliloglu AH, Aksoy A, Isık A, Uludag O, Ustun H, Subasi C, Karaoz E. Recovery of fertility in azoospermia rats after injection of adipose-tissue-derived mesenchymal stem cells: the sperm generation. *Biomed Res Int.* 2013;2013:529589. Chojnacka K, Zarzycka M, Hejmej A, Mruk DD, Gorowska E, Kotula-Balak M, Klimek M, Bilinska B. Hydroxyflutamide affects connexin 43 via the activation of PI3K/Akt-dependent pathway but has no effect on the crosstalk between PI3K/Akt and ERK1/2 pathways at the Raf-1 kinase level in primary rat Sertoli cells. *Toxicol In Vitro.* 2016 Mar;31:146-57. Tian H, Guo M, Zhuang Y, Chu J, Zhang S. Enhanced proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells by co-culture with TM4 mouse Sertoli cells: involvement of the EGF/PI3K/AKT pathway. *Mol Cell Biochem.* 2014 Aug;393(1-2):155-64.

P125

Over Torsiyon/Detorsiyonunda Mezenkimal Kök Hücrenin Etkisi

Nevin Ersoy¹, Müge Kiray², İmge Kunter³, Ş Esra Erdal³, H Alper Bağrıyanık¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İzmir

³Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İzmir

AMAÇ:

Over torsiyonu acil müdahale gerektiren cerrahi bir patolojidir. İhmal edilmiş ya da geç kalınmış olgularda kan akımı uzun süre kesildiğinden over dokusunda nekroz meydana gelir. Yani overlerde geri dönüşümsüz hasarlar oluşmaktadır. Bu da kadınlarda infertiliteye neden olmaktadır. Mezenkimal kök hücreler genetik ve metabolik hastalık için umut verici sonuçlar ortaya koymuştur. Biz de bu çalışmada sıçanlarda deneysel oluşturulmuş over torsiyonunda mezenkimal kök hücre (MKH) uygulamasının doku onarımındaki katkısının histokimyasal, immünohistokimyasal ve biyokimyasal olarak incelemeyi amaçladık.

YÖNTEM:

35 adet Wistar suşu dişi sıçanlar (200-250g) rastgele 5 gruba ayrıldı (n=7). Kontrol Grubu: Hiçbir müdahale yapılmayan grup. Torsiyon Grubu (T): 2 saat torsiyonun uygulandığı grup. Torsiyon/Detorsiyon Grubu (T/D): 2 saat torsiyon süresini takiben 2 hafta detorsiyon uygulanan grup. MKH Grubu); Torsiyonun uygulanmadığı, sadece over başına 1×10^6 mezenkimal kök hücrenin enjekte edildiği grup. Torsiyon/Detorsiyon + MKH Grubu (T/D+MKH); 2 saat torsiyon süresi sonunda ovaryumlara 1×10^6 mezenkimal kök hücrenin enjekte edilip 2 hafta detorsiyon uygulanan grup. Deney sonunda deneklerin ovaryum dokuları cerrahi yöntemlerle alındı. Histokimyasal incelemeler için Hematoksilin & Eozin (H&E) ve Masson Trikrom ve immünohistokimyasal olarak da apoptozun belirlenmesi için TUNEL ve Aktif Kaspaz-3 boyamaları yapıldı. Deneylerde iskemi-reperfüzyon modelinin oluşup oluşmadığını incelemek için ise biyokimyasal olarak doku homojenatlarında total glutatyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri incelendi. Gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak Kruskal Wallis, Mann Whitney-U ve ANOVA testi ile değerlendirildi.

BULGULAR:

Kontrol grubunda her iki ovaryumda da korteks bölgesinde çok sayıda primordiyal, primer, sekonder, graff folikül ve korpus luteumların gözlenmesini yanında medullada bulunan kan damarları ve bağ dokusu yapısı normal histolojik yapıda gözlemlendi. Torsiyon grubunda bunun aksine, deneklerin her iki ovaryumunun medulla bölgesinde şiddetli hemoraji gözlemlendi. Ayrıca bu gruptaki deneklerin ovaryumunda primordiyal foliküllerin sayısı azalırken, atretik folikül sayısında çok ciddi bir artış olduğu gözlemlendi. T ve T/D grubundaki primordiyal folikül sayılarının kontrol grubuna göre azaldığı tespit edildi. Yapılan immünohistokimyasal incelemeler sonucu T ve T/D grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında apoptotik hücre sayısında ciddi bir artış olduğu, MKH ve T/D+MKH grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında ise apoptotik hücre sayısı bakımından istatistiksel olarak bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. Biyokimyasal olarak T grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında MDA seviyesi çok ciddi bir artış göstermiştir.

SONUÇ:

Torsiyon ve torsiyon/detorsiyonun oksidatif strese ve apoptoza bağlı histolojik doku hasarını arttırdığını ve ayrıca biyokimyasal değişikliklere neden olduğunu gözlemledik. Mezenkimal kök hücrelerin de bu hasarı en aza indirdiğini saptadık. Sonuç olarak ovaryum torsiyon/detorsiyonundan etkilenen primordiyal folikül sayısının mezenkimal kök hücre tedavisi ile korunabileceğini söylemek mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Mezenkimal Kök Hücre, Ovaryum, Torsiyon-Detorsiyon, İskemi-Reperfüzyon, Sıçan

Effect of Mesenchymal Stem Cell on Torsion/Detorsion Rat Ovary

Nevin Ersoy¹, Müge Kiray², İmge Kunter³, Ş Esra Erdal³, H Alper Bağrıyanık¹

¹Faculty of Medicine Department of Histology and Embryology, Dokuz Eylül University, Izmir,

Turkey

²Faculty of Medicine Department of Physiology, Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey

³Faculty of Medicine Department of Medical Biology and Genetics, Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey

OBJECTIVE:

Ovarian torsion is a surgical pathology that requires immediate intervention. Necrosis occurs in the tissue blood flow of the ovary is interrupted for a long time. Ovary consist of irreversible damage. It also causes infertility in women.

Mesenchymal stem cells (MSC) have revealed promising results for genetic and metabolic disease. In this study we aimed to investigate effect of MSC on experimentally induced ovarian torsion/detorsion(T/D) ischemia/reperfusion injury of female rats by using different morphometric, immunohistochemically and biochemical analysis.

METHOD:

In this study, thirty-five female Wistar rats (200-250 gr) were divided randomly into five groups (n=7). Control group; No application was performed to this animals. Torsion(T) group; Torsion was performed for 2 hours. T/D group; Following 2 hours torsion, detorsion was performed for 2 weeks. MSC injected group; Ovary torsion was not performed. Only 1×10^6 MSC were injected into for each ovary. T/D+MSC group; After torsion was performed for 2 hours, 1×10^6 MSC were injected into each ovary and following 2 weeks detorsion was performed.

RESULTS:

In control group, both ovary tissues had normal histological structures including many primordial, primer, seconder, mature follicles and corpora lutea in the ovary cortex as well as normal blood vessel and connective tissue organization in medulla. Contrarily, there was severe hemorrhage in medulla of both ovaries in the animals that torsion was performed (Group T). Additionally, atretic follicle numbers were increased significantly, while there was a decrease in primordial follicle numbers in these animals. Primordial follicle numbers were low in the ovaries of T and T/D group's animals with respect to control group. Based on immunohistochemical analysis, apoptotic cell death was increased significantly in both T and T/D groups as compared with control group. MCS and T/D+MCS group were observed no significant difference in number of apoptotic cells compare with control group. Furthermore, Level of MDA was significant increased in T group animals as compare with control groups.

CONCLUSION:

We found that torsion and torsion/detorsion caused increase in histological tissue damage including oxidative stress and apoptosis as well as biochemical changes in ovary. MSC minimizes damage effect of torsion/detorsion in ovary tissue. In conclusion it is possible to tell that treatment of MSC might be possible way to protect the numbers of primordial follicle affected by torsion/detorsion in ovary.

Keywords: Mesenchymal Stem Cell, Ovary, Torsion-Detorsion, Ischemia-Reperfusion, Rat

P126

Miyelin oluşumunun ve myelinizasyon hastalıklarının kök hücre kullanarak modellenmesi

Bilal Ersen Kerman¹

¹İstanbul Medipol Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Medipol Üniversitesi, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi, İstanbul

Miyelin özelleşmiş glial hücreleri tarafından üretilen, aksonlar etrafında yalıtıcı bir tabaka oluşturup, nöronal elektriksel impulsun iletimini hızlandırıcı bir materyaldir. Dismiyelinizasyon veya demiyelinizasyon (sırasıyla, miyelinin hatalı gelişimi veya miyelin kaybı), Multiple Sclerosis (MS), Pelizaeus-Merzbacher hastalığı, ve diğer lökodistrofiler gibi nörolojik rahatsızlıklarda görülen durumlar olup, elektriksel impuls iletkenliğinde aksamalara, nöronlarda atrofiye ve sinir sisteminde kalıcı işlevsel bozukluklara neden olurlar. Miyelin biyolojisini ayrıntılı incelemek ve miyelinizasyon hastalıklarını in vitro modellenmek amacıyla kök hücre-tabanlı bir miyelinizasyon sistemi geliştirdik. Bu ortak-kültür sisteminde fare kök hücrelerinden-türetilen oligodendrositlerin aksonları sarması birkaç gün boyunca izlendi ve yeni bir miyelinizasyon modeli önerildi. Ayrıca, geliştirilen yarı-otomatik miyelin kantite programı, kimyasal maddelerin miyelinizasyona etkilerini değerlendirmek için kullanıldı. Bizim genel amacımız miyelinizasyonun temel mekanizmalarını anlamak ve bu bilgileri miyelinizasyon bozukluklarına yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasında kullanmaktır.

Anahtar Kelimeler: Miyelin, oligodendrosit, kök hücre, canlı görüntüleme, bilgisayar destekli kantitasyon

Modeling myelin formation and myelination disorders using stem cells

Bilal Ersen Kerman¹

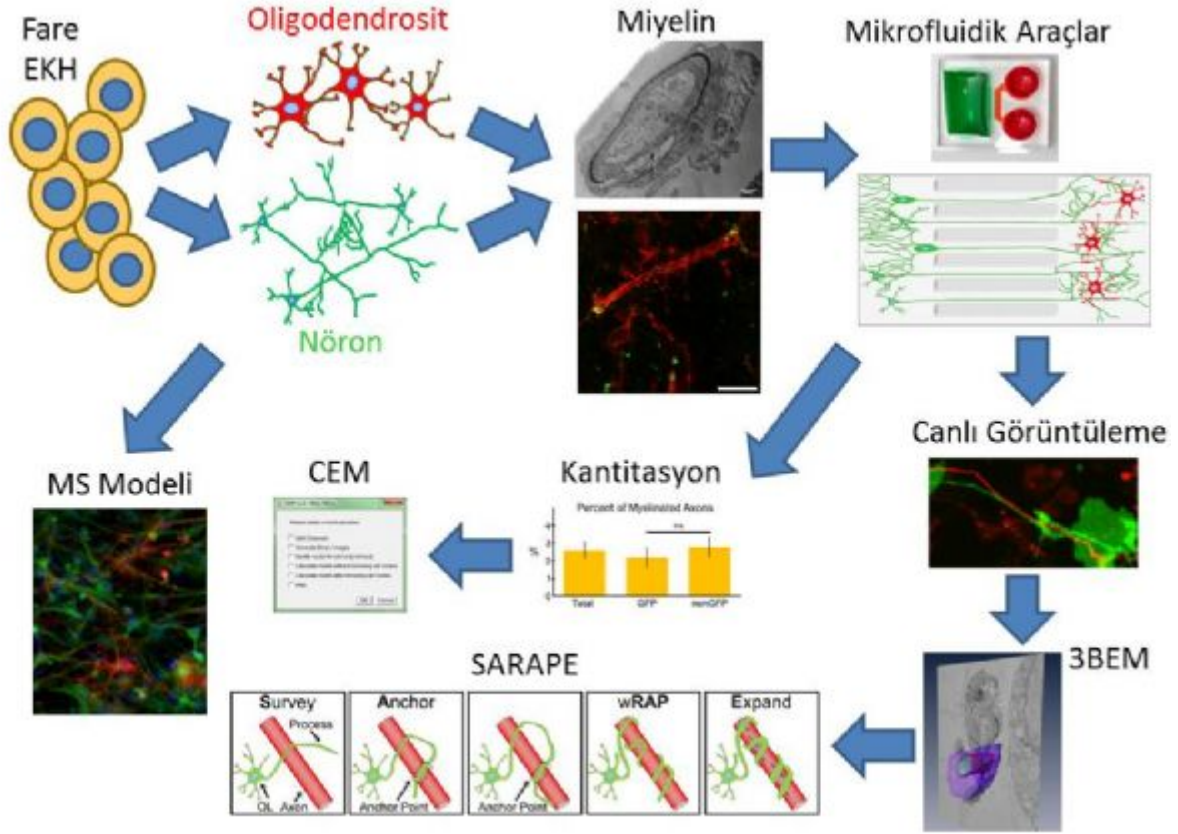
¹İstanbul Medipol University, Histology and Embryology Department, İstanbul

²İstanbul Medipol University, Regenerative and Restorative Medicine Research Center, İstanbul

Myelin is a material produced by specialized glial cells of the nervous system that forms an isolating layer around axons, facilitating neuronal electrical impulse propagation and communication. Dysmyelination or demyelination (improper development or loss of myelin, respectively) occurs in many neurological disorders, such as multiple sclerosis, Pelizaeus–Merzbacher disease and other leukodystrophies leading to disruption of electrical impulse conductivity, atrophy of neurons, and permanent functional deficits. In order to exploring myelin biology and to model myelination disorders in vitro we established a stem cell-based myelination assay. In this co-culture system, the wrapping of mouse stem cell-derived oligodendrocytes was tracked live over several days and a novel model of myelination was proposed. Additionally, a semi-automated myelin quantification program was developed and used to evaluate effects of compounds on myelination. Our overall goal is to further the understanding of underlying mechanism by which myelination occurs and to develop novel therapies against myelination disorders.

Keywords: Myelin, oligodendrocyte, stem cell, live imaging, computer assisted quantification

Grafik Özet
Grafical Abstract



*Sunumu özetleyen bir şekil
A figure summarizing the presentation*

Kaynakça / References: Kerman, B. E. Kim, H. J. Padmanabhan, K. Mei, A. Georges, S. Joens, M. S. Fitzpatrick, J. A. Jappelli, R. Chandross, K. J. August, P. Gage, F. H. 2015. "In vitro myelin formation using embryonic stem cells", *Development*, 142(12), 2213-25.

P127

Mezenkimal kök hücre kaynağı göbek kordonu için farklı kriyoprezervasyon protokollerinin karşılaştırılması

Başak Işıldar¹, Serbay Özkan¹, Mahmut Öncül², Zafer Başlar³, Semih Kaleli², Mustafa Taşyürekli¹, Meral Koyutürk¹

¹İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

Mezenkimal kök hücreler (MKH); teröpatik potansiyelleri yüksek, kendilerini yenileyebilen, çoklu hücre serilerine farklılaşabilen, hipoimmünojenik özellikte, pluripotent hücrelerdir. Bu hücreler; plastik kültür yüzeyine yapışarak çoğalırlar ve fibroblastik morfoloji gösterirler [1, 2]. CD44, CD90, CD105 gibi CD serisi bazı belirteçleri yüksek düzeyde eksprese ederken, CD34, CD45, CD14 gibi bazı belirteçleri eksprese etmezler veya düşük düzeyde eksprese ederler [3]. MKH'ler; kemik iliği, yağ dokusu, amniyon zarı, göbek kordonu ve dental pulpa gibi kaynaklardan izole edilebilmektedirler. Son yıllarda yapılan çalışmalarda kemik iliğine alternatif kaynak arayışlarına gidilmiştir. Elde edilme işlemleri sırasında invaziv prosedür gerektirmemesi, düşük viral kontaminasyon riski, yaşa bağlı olarak elde edilen hücre sayısında azalma olmaması gibi özellikleri sebebiyle göbek kordonu diğer kaynaklara göre avantajlı bir konuma gelmiştir [4]. Göbek kordonunun otolog bir kök hücre kaynağı olarak gerektiği zaman kullanılmak üzere başarıyla dondurularak saklanması günümüz kök hücre çalışmalarının önemli amaçlarından birini oluşturmaktadır. Bu çalışmada, %10 dimetil sülfoksit (DMSO) + 0,2 M sükröz ve %10 1,2 propandiol (PrOH) + 0,2 M sükröz içeren iki farklı kriyoprotektan solüsyon uygulanarak kriyoprezervasyon gerçekleştirilmiş, sonrasında bu dokulardan doku eksplanti metodu ile izole edilen hücreler kriyoprezervasyon uygulanmayan dokulardan izole edilen hücrelerle; morfoloji, immünofenotip, büyüme kinetikleri ve ultrastrüktürel özellikleri bakımından karşılaştırılmıştır. Yapılan incelemeler sonucu, kriyoprezervasyon uygulanan ve uygulanmayan dokulardan izole edilen mezenkimal kök hücreler arasında morfolojik olarak bir fark gözlenmemiştir. Elde edilen hücreler MKH'ler için pozitif belirteçler olan CD44 ve CD90 için yüksek düzeyde ekspresyon gösterirken, negatif belirteçler olan CD34 ve CD45 belirteçleri için düşük düzeyde ekspresyon göstermişlerdir. İzole edilen hücrelerin ultrastrüktürel incelemelerinde, mikrovillus ve filopodyum uzantıları, çok miktarda yuvarlak veya uzamış mitokondri, oldukça genişlemiş granüllü endoplazmik retikulum sisternaları, endositotik ve otofajik veziküller ile pasaj sayısı ilerledikçe artış gösteren vakuolizasyon belirlenmiştir. Büyüme kinetikleri analiz edildiğinde; DMSO grubuna ait hücrelerin, kriyoprezervasyon uygulanmayan dokulardan izole edilen hücrelerle benzer düzeyde proliferasyon gösterdiği ancak PrOH grubuna ait hücrelerin proliferasyon yeteneklerinde düşüş olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, DMSO ve PrOH içeren kriyoprezervasyon uygulamaları karşılaştırıldığında izole edilen mezenkimal hücrelerin proliferasyon hızları dışında morfolojik, ultrastrüktürel ve yüzey belirteçlerinin ekspresyonları açısından belirgin bir farklılığa rastlanmamış olup klinik uygulanabilirliklerinin ileri araştırmalarla karşılaştırılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Mezenkimal kök hücre, göbek kordonu, kriyoprezervasyon, dimetil sülfoksit, 1,2 propandiol

Comprasion of different cryopreservation protocols for human umbilical cord as source of mesenchymal stem cells

Başak Işıldar¹, Serbay Özkan¹, Mahmut Öncül², Zafer Başlar³, Semih Kaleli², Mustafa Taşyürekli¹, Meral Koyutürk¹

¹Istanbul University, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Istanbul

²Istanbul University, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Gynecology and Obstetrics, Istanbul

³Istanbul University, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Istanbul

Mesenchymal stem cells (MSCs) are self-renewal, pluripotent cells which have great therapeutic

potential and low immunogenicity. They have the ability to differentiate into multiple cell lines. These are plastic adherent cells which show fibroblastic morphology [1, 2]. They show high rates of expression for some CD markers such as CD44, CD90, CD105 and low rates of expression for some CD markers such as CD34, CD45, CD14 [3]. MSCs can be isolated from bone marrow, adipose tissue, amniotic membrane, umbilical cord tissue and dental pulp. In recent studies, the researchers have been searching for alternative sources of the bone marrow. In this context, they have seen that umbilical cord is an advantageous source for MSCs. Because it does not include invasive procedures during acquisition, it has fewer risks of contamination and fewer bioethics issues [4]. In clinics, successful cryopreservation of umbilical cord tissue as autologous stem cell source is important for usage when the necessity arises. It constitutes one of the major objectives of the present stem cell research.

In this study, two different cryoprotectants using %10 dimethyl sulfoxide (DMSO) + 0.2 M sucrose and %10 1,2 propanediol (PrOH) + 0,2 M sucrose, was prepared and used in cryopreservation. The cells which isolated from these cryopreserved tissues are compared with untreated tissue cells in terms of: morphology, immunophenotype, growth kinetics and ultrastructural features. Isolation was performed by tissue explant method. Based on the research results, no significant morphological difference observed between mesenchymal stem cells isolated from cryopreserved tissues and untreated tissues. The isolated cells resulted in high rates of expression for the positive markers of MSCs, CD44 and CD90, and low rates of expression for the negative markers for MSCs, CD34 and CD45. Ultrastructural studies of isolated cells showed: Abundance of vacuolization when the number of passages increased, microvilli and filopody extensions, a large quantity of round/elongated mitochondria, enlarged rough endoplasmic reticulum cisternae, endocytotic and autophagic vesicles. In the growth kinetics analysis; the cells of DMSO group showed similar results in proliferation with untreated tissues; however the cells from PrOH group showed decline in the ability of proliferation.

In conclusion, when two different cryopreservation groups are compared, no significant differences observed except for proliferation rates. It was concluded that further research should be necessary for clinical applicability.

Keywords: Mesenchymal stem cell, umbilical cord, cryopreservation, dimetyl sulfoxide, 1,2 propanediol

Kaynakça / References: [1] Roy, S., Arora, S., Kumari, P., Ta, M. (2014). A simple and serum-free protocol for cryopreservation of human umbilical cord as source of Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Cryobiology*, 68(3), 467-472. [2] Kim, N. ve Cho, SG. (2013). Clinical applications of mesenchymal stem cells. *Korean J Intern Med.*, 28, 387-402. [3] Bourin, P., Gadelorge, M., Peyrafitte, JA., Cappellesso, SF., Gomez, M., Rage C. ve ark. (2008). Mesenchymal progenitor cells: Tissue origin, isolation and culture. *Transfus Med Hemother.*, 35, 160-167. [4] Wang, HS., Hung, SC., Peng, ST., Huang, CC., Wei, HM., Guo, YJ. ve ark (2004). Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells*, 22, 1330-1337.

P128

İnsan göbek kordonunun farklı bölgelerinden enzimatik ve doku eksplantı yöntemleri ile izole edilen mezenkimal kök hücrelerinin karakterizasyonu

Serbay Özkan¹, Başak Işıldar¹, Mahmut Öncül², Zafer Başlar³, Semih Kaleli², Meral Koyutürk¹

¹Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Hematoloji Bölümü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Mezenkimal kök hücreler (MKH'ler) üç farklı germ tabakasından köken alan hücrelere farklılaşabilme yeteneğine sahip pluripotent kök hücreler olup, rejeneratif tıpta oldukça önemli bir yer tutmaktadır [1]. MKH'ler kemik iliği, yağ dokusu, plasenta ve göbek kordonu gibi birçok farklı kaynaktan izole edilmektedir. Bu kaynaklar arasında, göbek kordonu (GK), invaziv yöntem gerektirmemesi ve bio-etik açıdan daha az sorun teşkil etmesi bakımından avantajlıdır [2-4]. Bu çalışmada insan GK'nun subamniyotik (SAA), intervasküler (IVA) ve perivasküler alanlarından (PVA), enzimatik ve doku eksplantı yöntemleri kullanılarak, MKH izolasyonu ve karakterizasyonu amaçlanmıştır.

Sezaryen ile doğum yapan term gebelerden elde edilen insan GK (iGK) dokularının farklı bölgelerinden -SAA, PVA ve IVA- enzimatik ve doku eksplantı yöntemleri kullanılarak MKH'ler izole edildi. Farklı bölgelerden farklı yöntemler ile izole edilen iGK-MKH'lerinin ilerleyen pasajlardaki morfolojileri ışık ve elektron mikroskopik yöntemler ile incelendi. Hematopoetik kök hücre (HKH) belirteçleri olan CD34 ve CD45 ve MKH belirteçleri olan CD44 ve CD90 proteinlerinin ekspresyon seviyeleri, flow sitometrik analizler ile değerlendirildi. Proliferasyon hızları, her bir grup için birbirine takip eden pasajlar arasındaki popülasyon katlanma sürelerinin hesaplanmasıyla belirlendi.

Farklı bölgelerden, farklı yöntemler kullanılarak izole edilen iGK-MKH'lerinde ışık mikroskopik olarak, 1. ve 3. pasajları içine alan erken dönemde genel olarak dallanmış fibroblast hücre morfolojisi, 4. ve 7. pasajları içine alan geç dönemde ise iğ şekilli fibroblast hücre morfolojisi izlenmiştir. Elektron mikroskopik incelemelerinde ökromatik nukleusları, belirgin nucleolusları, genişlemiş granüllü endoplazmik retikulum yapıları, filopod ve mikrovillus benzeri uzantıları ayırt edilmiştir. Bu bulgular ultrastrüktürel kök hücre morfolojisi ile uyum göstermekte olup gruplar arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir. Aynı şekilde, gruplar arasında, proliferasyon hızlarında da belirgin bir fark izlenmemiştir. Flow sitometrik analizlerde, MKH belirteçleri olan CD44 ve CD90 yüksek oranda eksprese edilirken, HKH belirteçleri olan CD34 ve CD45 ekspresyonları ise düşük seviyelerde bulunmuştur.

Elde edilen bulgular, farklı bölgelerden ve farklı yöntemler ile izole edilen iGK-MKH'leri arasında belirgin bir üstünlüğün olmadığını göstermiştir. Ancak bununla birlikte gruplar arasındaki anlamlı olmayan küçük farklılıklar, MKH'lerin rejeneratif tıp alanındaki uygulamalarının geliştirilmesine önemli katkılar sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Mezenkimal Kök Hücre, Göbek Kordonu, Enzimatik, Doku Eksplantı, Elektron Mikroskopisi.

Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from different compartments of the human umbilical cord by enzymatic and tissue explant methods

Serbay Özkan¹, Başak Işıldar¹, Mahmut Öncül², Zafer Başlar³, Semih Kaleli², Meral Koyutürk¹

¹Department of Histology and Embryology, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turkey

²Department of Obstetrics and Gynecology, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turkey

³Division of Hematology, Department of Internal Medicine, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turkey

Mesenchymal stem cells (MSCs) are pluripotent stem cells, which can give rise to all cell type derived from the three embryonic lineages. So that MSCs are considered as a significant tool in

regenerative medicine [1]. MSCs can be isolated from different types of sources like bone marrow, adipose tissue, placenta, peripheral blood and umbilical cord (UC). When those sources are compared, UC has some advantages over the rest. In this respect, UC does not require invasive techniques and has less bio-ethical concerns [2-4].

In this research, isolation and characterization of MSCs from subamniotic (SAA), intervacular (IVA) and perivascular areas (PVA) of UC by utilizing two different methods namely enzymatic and tissue explant is aimed.

Human UCs (hUCs) were obtained from full term pregnancies by cesarean section delivery. MSCs were isolated from different regions of UCs, SAA, PVA and IVA by applying enzymatic and tissue explant methods. Morphological characterization of hUC-MSC at different passages were done by light and electron microscopic investigation. Expression levels of CD44 and CD90 MSC markers and CD34 and CD45 hematopoietic stem cell markers were identified by the flow cytometry analysis. Moreover, proliferation rates were evaluated by the calculation of population doubling time between the consecutive passages of every hUC-MSC group.

In light microscopic analysis, generally hUC-MSCs which were isolated from different regions by utilizing different methods have branched fibroblast morphology at early passages covering between the 1st and 3rd passages. On the other hand, in the late passages covering between the 4th and 7th passages the hUC-MSCs mostly have the spindle fibroblast morphology. In electron microscopic analysis, euchromatic nucleus, distinct nucleolus, dilatation in rough endoplasmic reticulum and filopodia and microvilli-like projections were observed. Those findings are consistent with stem cell ultrastructure morphology. And different groups of hUC-MSCs at different passages have no remarkable ultrastructural variation. Among the groups, there was no clear difference in proliferation rate. Furthermore, flow cytometry analysis showed that CD44 and CD90 MSC markers were highly expressed, while CD34 and CD45 hematopoietic stem cell markers were expressed at low degree.

Taken together all results, there is no conspicuous superiority among the different groups of hUC-MSCs. However subtle differences between the groups may serve as potential implications for the future stem cell applications in regenerative medicine.

Keywords: Mesenchymal Stem Cells, Umbilical Cord, Enzymatic, Tissue Explant, Electron Microscopy.

Kaynakça / References: 1-Uccelli, A., Moretta, L. ve Pistoia, V. (2008). Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 8(9), 726-736. 2-Baksh, D., Yao, R. ve Tuan, R. S. (2007). Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells*, 25(6), 1384-1392. 3- Nagamura-Inoue, T. ve He, H. (2014). Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: Their advantages and potential clinical utility. *World J Stem Cells*, 6(2), 195-202. 4- Baghaban Eslaminejad, M. ve Malakooty Poor, E. (2014). Mesenchymal stem cells as a potent cell source for articular cartilage regeneration. *World J Stem Cells*, 6(3), 344-354.

P129

İnsan Adipoz Dokusundan Mezenkimal Kök Hücrelerinin Eksplant Kültür Tekniğiyle İzolasyonu

Murat Serkant Ünal¹, Mehmet Caner Özer¹, Nazlı Çil², Semih Tan², Hatice Oruç³, Gülçin Abban Mete²

¹Denizli Devlet Hastanesi, İnfertilite Merkezi, Denizli

²Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Denizli

³Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana bilim Dalı, Mersin

GİRİŞ: Mezenkimal kök hücreler (MKH) kemik, kemik iliği, kırıkta, kas dokusu, diş pulpası, karaciğer, yağ dokusu ve lipoaspirasyon materyallerinden izole edilmektedir. Son yıllarda MKH'lerin rejeneratif ve reparatif tıpta kullanımı artmaya başlamıştır. Bizim bu çalışmamızdaki amacımız kollajenaz ve tripsin gibi enzimleri kullanmadan MKH'leri insan adipoz dokusundan hızlı ve kolay biçimde eksplant kültür tekniğiyle izole etmektir. Kollajenaz ve tripsin kullanmamamızın avantajı ise enzimatik basamakları atlayarak izolasyon sürecini hızlandırmak ve dokuyu dış ortamın olumsuz etkilerinden koruyarak maksimum sayıda hücre elde etmektir.

MATERYAL ve METHOD: MKH'lerin atık insan adipoz dokusu materyalinden migrasyonunu takiben, eksplant kültür tekniğiyle izole edildikten sonra tam besiyeri içeren kültür plaklarında pasajlanmaya başlanmıştır. Daha sonra elde edilen hücreler karakterizasyon için immunohistokimyasal teknikle STRO-1, CD73, CD105 (MKH yüzey belirteçleri) ve CD34 (Hematopoetik Kök Hücre yüzey belirteci) ile boyanmıştır.

SONUÇLAR: İzole edilen hücreler plastik kültür plaklarına yapışmıştır. Bu hücrelerin CD34 belirteciyle immunonegatif, CD73, CD105 ve STRO-1 belirteçleriyle immunopozitif boyandığı görülmüştür.

TARTIŞMA: MKH'ler, daha önceleri çoğunlukla kemik ve kemik iliğinden izole edilirdi. Yağ dokusu ve lipoaspirasyon materyallerinde bol miktarda olduğunun görülmesinden sonra, adipoz dokulardan MKH izolasyonu ön plana çıkmıştır ve bununla birlikte, bu hücrelerin izolasyonunda güvenilir ve karmaşık olmayan yeni yöntem arayışları başlamıştır. Eksplant kültür tekniği de bunlardan biridir. Çalışmamızda kullandığımız bu teknikle MKH'ler yağ dokusundan başarılı bir şekilde izole edilmiştir. Klinik uygulamalara sokulması için ise Flow Sitometri gibi ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Mezenkimal Kök Hücre, İnsan Adipoz Dokusu, Eksplant Kültür Tekniği

Isolation of Mesenchymal Stem Cells from Human Adipose Tissue Using Explants Culture Method

Murat Serkant Ünal¹, Mehmet Caner Özer¹, Nazlı Çil², Semih Tan², Hatice Oruç³, Gülçin Abban Mete²

¹State Hospital of Denizli, Infertility Centre, Denizli

²Department of Histology and Embryology, Pamukkale University Faculty of Medicine, Denizli

³Department of Histology and Embryology, Mersin University Faculty of Medicine, Mersin

INTRODUCTION: Mesenchymal stem cells (MSCs) isolated from bone, bone marrow, cartilage, muscle, dental pulp, liver, adipose tissue and lipoaspiration materials. Usage of MSCs in regenerative and reparative medicine began to rise in recent years. The aim of this study is to isolate human adipose tissue derived MSCs by an easy, rapid and reliable explant culture technique without using collagenase and trypsin. The advantage of not using collagenase and trypsin is to accelerate isolation step by skipping enzymatic reactions and to achieve maximum number of cells by preventing tissues from the negative effects of the external environment.

MATERIAL and METHODOLOGY: After migration of MSCs from waste human adipose tissue and isolated by explant culture technique, MSCs began to passage in complete medium containing culture plate. Then passaged cells characterised by STRO-1, CD73, CD105 (MSC surface markers) and CD34 (hematopoetic stem cell surface marker) immunohistochemical staining.

RESULTS: The isolated cells were adhered to plastic culture plates. This cells have been shown immunonegative to CD34 marker and immunopositive to CD73, CD105, STRO-1 markers.

DISCUSSION: Previously MSCs were mostly isolated from bone and bone marrow. MSC isolation from adipose tissue has come to the forefront after plentifully seen in fat tissue and lipoaspiration materials, hereupon scientists has begun to search for reliable and uncomplicated new isolation methods. Explant culture technique is one of them. MSCs were successfully isolated from adipose tissue by explant culture technique in this study. Further studies like flow cytometry is needed to integrate this technique in clinical applications.

Keywords: Mesenchimal stem cells, Human Adipose Tissue, Explant Culture Method

P130

Resveratrol ortak kültüre edilmiş A549 akciğer kanser hücreleri ve yağ doku kaynaklı mezenseşimal kök hücrelerde IL-6 ve VEGF salınımını azaltmaktadır

Erhan Şahin¹, Cengiz Bayçu¹, Ayşe Tansu Koparal², Dilek Burukoğlu Dönmez¹, Ezgi Bektur¹

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

²Anadolu Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir

Günümüzde kök hücre tedavisi, tıbbın birçok alanında deneysel olmakla birlikte bazı alanlarında klinik olarak da kullanılan önemli bir tedavi yöntemidir. Farklı tedavi yöntemleri kullanılmasına rağmen henüz kanseri eradike edebilecek bir tedavi yöntemi mevcut değildir. Birçok deneysel çalışmada tedavi edici ve koruyucu özelliği gösterilen mezenseşimal kök hücrenin (MKH) kanser modellerinde kanserli hücreleri baskıladığı ve çoğalmalarını durdurduğu bildirilmiştir. Ancak son yıllarda kanser hücreleri ve kök hücrelerin beraber kullanıldığı çalışmalarda; kök hücrelerin kanser oluşumunu tetiklediği, kitleyi büyüttüğü, yeni damarların oluşumuna ve kanserin invazyonuna yardımcı olduğu gösterilmiştir. MKH'ler ile kanser hücreleri arasındaki iletişimin MKH'lerden salınan sitokinler yardımıyla sağlandığı bilinmektedir. MKH'nin salgıladığı bu sitokinlerin varlığı ve kanserli hücreler üzerindeki etkisi MKH'lerin tedavideki güvenilirliğini azaltmaktadır. Resveratrolün inflamasyon, oksidatif stres, kanser oluşması ve ilerlemesi, platelet agregasyonu, aterosklerozis ve yaşlanma gibi birçok biyolojik aktivitede olumlu görev aldığı gösterilmiştir. Çalışmanın amacı, MKH'ler ile A549 akciğer kanser hücrelerini in-vitro olarak aynı ortamda tutarak, MKH'lerin kanserli hücrelere karşı salgıladığı sitokinleri, faydalı ve anti kanserojenik özelliğiyle bilinen resveratrol ile baskılayarak, kanserin tedavisinde çok önemli yeri olan MKH'lerin kullanımını ve tedavinin güvenilirliğini araştırmaktır. Çalışmada hücre kültürü seviyesinde 6 ayrı grup (Grup 1: A549 Kanser hücresi, Grup 2: MKH, Grup 3: A549+MKH, Grup 4: A549+MKH+resveratrol, Grup 5: A549+Resveratrol, Grup 6: MKH+resveratrol) oluşturulmuştur. MKH'lerden salınan sitokinler (IL-6 ve VEGF) ve resveratrolün bu sitokinler üzerindeki etkileri toplanan medyumalarda ELISA ve western blot yöntemleriyle araştırılmıştır. Deneyimizde in-vitro sitotoksitesite testleri ve floresan boyama ile morfolojik inceleme (DAPI boyama) yapılmıştır. Yaptığımız sitotoksitesite deneyleri sonucunda A549 kanser hücrelerinde ve MKH'de resveratrolün güvenli dozu 1µM olarak bulunmuştur. DAPI floresan boyaması sonucunda resveratrolün ve MKH'nin A549 kanser hücresi üzerinde apoptotik etkisi görülmemiştir. Toplanan medyumalarda IL-6 ve VEGF miktarlarına bakıldığında en yüksek değer A549+MKH grubunda görülmüştür. 1µM resveratrol uygulanan A549+MKH grubunda bu sitokinlerin salınımının anlamlı bir şekilde düştüğü gözlenmiştir. Çalışmamızda, resveratrolün belirtilen sitokinlerin salınımını azalttığı saptanmıştır. Kanser tedavisinde kullanımı tartışılmalı olan kök hücreler, çalışmamız bulguları ile de desteklendiği üzere resveratrol gibi bitkisel kaynaklı bileşiklerle muamele edilip tedavide kullanılabilir. Gelecek çalışmalarda, MKH'lerin tedavi edici özelliğinden yararlanabilmek için genetiği değiştirilmiş kök hücreler kullanılabilir. Örnek olarak genetik olarak IL-6 ve VEGF gibi sitokinleri salgılayamayan kök hücreler üretilebilir.

Anahtar Kelimeler: Mezenseşimal kök hücre, A549 kanser hücresi, IL-6, VEGF ve resveratrol

Resveratrol reduces IL-6 and VEGF secretion from co-cultured A549 lung cancer cells and adipose-derived mesenchymal stem cells

Erhan Şahin¹, Cengiz Bayçu¹, Ayşe Tansu Koparal², Dilek Burukoğlu Dönmez¹, Ezgi Bektur¹

¹Eskişehir Osmangazi University, Histology and Embryology Department, Eskişehir

²Anadolu University, Department of Biology, Eskişehir

Stem cell therapies are very important treatment methods that are used in many areas of experimental medicine or clinical part. Despite the use of different treatment methods, there has been no definitive treatment for cancer treatment yet. Of all cancer types, lung cancer is the most common one. MSCs therapeutic and protective features have been demonstrated in various experimental studies. In cancer models, MSCs suppressed and stopped the growth of cancer cells in recent studies. However, recently the stem cells used in cancer treatment studies trigger the formation of cancer, make larger its mass, help the formation of new vessels and lead to cancer invasion. The communication between cancer cells and MSCs are known to be done with MSC's released cytokines. The presence of these cytokines that secreted by MSC's and effects on cancer

cells reduces the reliability of MSC treatment. Resveratrol has been shown to have positive role in many biological activities such as atherosclerosis, aging, inflammation, oxidative stress, cancer development and progression, platelet aggregation. Within this scope the aim of this study is to co-cultured the MSCs with the A549 cancer cells, to suppress the releasing of cytokines that released from MSCs for supporting the cancer cells and increased the usage of stem cell therapies and therapy reliability with resveratrol known for its beneficial and anti-carcinogenic properties. Experimental studies in the thesis investigated at the cell culture level. Six separate groups were formed. MSCs secreted cytokines (IL-6 and VEGF) and effect of resveratrol on these cytokines analyzed by ELISA and western blot at conditioned medium. The in-vitro cytotoxicity assays were performed. Morphological investigation was performed with DAPI staining. 1 μ M resveratrol was found safety dose for A549 cancer cells and MSCs with in-vitro cytotoxicity assays. As a result of DAPI fluorescence staining apoptotic effects of resveratrol and MSCs not observed on A549 cancer cells. We observed the highest release of IL-6 and VEGF from the co-cultured A549 cells and MSCs, and resveratrol was found to significantly decrease the release of these cytokines. Using stem cells in cancer treatment is controversial, and it is not recommended to use stem cells in a clinical setting without a clear determination that they are beneficial. Our results indicate that we can achieve this by co-treating stem cells with plant-derived substances like resveratrol, which has been previously studied and been proven to be scientifically beneficial.

Keywords: Mesenchymal stem cells, cancer cells, A549, IL-6, VEGF and Resveratrol.

P131

Siğir yağ doku kaynaklı kök hücreler ile hücreleri uzaklaştırılmış yağ dokusu ve fibroini içine alan hidrojel doku iskelesi

Özlem Özden Akkaya¹, Korhan Altunbaş¹, Artay Yağcı¹, Mustafa Volkan Yaprakçı², A.s.m. Golam Kibria¹, Ayşegül Kavas³, Alişan Kayabölen³

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

³Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Bilimleri, Ankara

AMAÇ: Veteriner hekimlikte sıkça karşılaşılan mekanik travma, tümör, enfeksiyon gibi nedenlerle vücutta oluşan doku kayıplı hasarların iyileşmesi oldukça zor olmaktadır. Son yıllarda doku hasarının tedavisinde allogreftlerin yerini biyo uyumluluğu yüksek ve daha az immun reaksiyona neden olan biomateriyaller almaya başlamıştır. Bu alanda kullanılan ipek fibroin iskeleleri mekanik ve minimum immun reaksiyon özelliklerinden dolayı doku mühendisliği için uygun bir substrat olarak kabul edilmektedir. Diğer bir materyal olan hücreleri uzaklaştırılmış yağ dokusu (HUYD) ise içerdiği kollajen ve glikozaminoglikanlarla yumuşak doku defektlerinde ve yara iyileşmelerinde kullanılan doğal bir biomalzemedir. Biz de çalışmamızda veteriner hekimlikte doku kayıplı hasarların tedavisinde, dokuyla mekanik olarak uyumlu ve farklı yapısal özelliklere sahip bu iki materyalden (HUYD ve fibroin) oluşan ve mezenkimal kök hücreleri (MKH) içeren hücreler arası matris yapısına benzer üç boyutlu bir biomateriyal üretmeyi amaçladık.

MATERYAL-METOD:

HUYD Hazırlanması: Mezbahalarda kesilen siğirlardan yağ dokusu toplandı. Yağ dokusunun hücreleri SDS solüsyonu ile, dokunun yağı sodyum deoksikolat, lipaz ve kolipaz ile, hücresel DNA ise DNase ve RNase ile uzaklaştırıldıktan sonra -80°C'de dondurulup liyofilize edildi. Etilen oksit ile de steril edildi. Çözünmüş HUYD hazırlamak için HUYD pepsin/HCl içinde çözdürüldü, pH'sı 7.4'e ayarlandı ve 9:1 oranında 10X PBS ile sulandırıldı.

Fibroin Hazırlanması: İpek böceği kozası kullanılarak fibroin elde edildi. Küçük parçalara ayrılan kozalar 0.002 M Na₂CO₃ solüsyonu içinde kaynatıldı. Kozalar iplikleri distile su ile yıkandı ve 37°C'de kurutuldu. Ardından 9.3 M LiBr solüsyonu üzerine eklenerek 60°C'de inkübe edildi. İpek solüsyonu diyaliz tüpü içerisinde distile suya karşı diyaliz edildikten sonra filtre edilip, otoklavlandı.

MKH elde edilmesi: Siğir yağ dokusundan MKH'ler izole edildi. Yağ dokusu antibiyotik ve amfoterisin B içeren fizyolojik tuzlu su ile yıkandı. Yağ dokusu kollejenaz tip II enzim ile inkübe edildi. 250 g'de 10 dk santrifuj yapıldı. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pelet, %15 FBS, %0.1 L-Glutamine, antibiyotik ve amfoterisin B içeren α -MEM içinde süspanse edilerek T25'lik flasklara hücreler ekildi.

Gel Sistemi: Çözünmüş HUYD ve fibroin solüsyonu 1:3 oranında karıştırıldı ve jelleşmesi için vortekslendi. Jelleşmeden hemen önce MKH ler eklendi ve MKH'leri içeren üç boyutlu bir hidrojel elde edildi.

SONUÇLAR: HUYD ve fibroinden oluşan 3 boyutlu jel sistemi içerisinde mezenkimal kök hücrelerin canlılıklarını korudukları gözlemlendi.

TARTIŞMA: HUYD/Fibroin hidrojellerinin organizmadaki dokuları taklit edebilen ve doku kayıplarını doldurabilen potansiyel bir biyomalzeme olacağını düşünmekteyiz. İleride geliştirmiş olduğumuz hidrojelin in vivo hayvan çalışmaları yapılacaktır.

Bu çalışmanın kök hücre bölümü AKÜBAPK (15VF01) tarafından desteklendi

Anahtar Kelimeler: DAT, fibroin, mezenkimal kök hücre, siğir

Hydrogel scaffolds incorporating decellularized adipose tissue and fibroin with bovine adipose derived stem cells

Özlem Özden Akkaya¹, Korhan Altunbaş¹, Artay Yağcı¹, Mustafa Volkan Yaprakçı², A.s.m. Golam Kibria¹, Ayşegül Kavas³, Alişan Kayabölen³

¹Department of Histology and Embriology, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

²Department of Surgery, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

³Department of Engineering Sciences, Middle East Technical University, Turkey

AIM: Healing of the defects occurred due to mechanical trauma, tumor, infection is quite difficult especially in the cases when large tissues are lost. The implementation of the allograft for the treatment of tissue damage in recent years has begun to take biomaterials, which lead to higher biocompatibility and less immune rejection. Silk fibroin scaffolds could be a suitable substrate for tissue engineering because of the mechanical properties and minimal immune reaction characteristics. The decellularized adipose tissue (DAT) which contains collagen and glycosaminoglycans is another natural biomaterial that are also being used on soft tissue defects. In this study we aimed to develop a concordant, 3-dimensional biomaterial consisting of mesenchymal stem cells (MSC), DAT and fibroin that would be close to physiological extracellular matrix to be used in veterinary practice.

MATERIALS-METHODS:

DAT preparation: Adipose tissues were obtained from bovine and was decellularized with SDS solution, delipidized with sodium deoxycholate, lipase and colipase. DNA fragments were removed by DNase and RNase followed by frozen at -80 °C and lyophilized. After ethylene oxide sterilization, DAT was obtained and was dissolved in pepsin/HCl solution. Adjusting pH at 7.4, before 10X PBS was added.

Fibroin preparation: To obtain the fibroin, silkworm cocoon were boiled in 0.02 M Na₂CO₃. Silk fibers were rinsed with dH₂O, dried at 37°C. Then, 9.3 M LiBr solution was added and it was incubated at 60 °C. Silk solution was dialyzed against dH₂O in dialysis tube followed by filtration and autoclaved.

MSCs isolation: To harvest MSCs, bovine adipose tissue was washed in saline solution with antibiotics and Amphotericin B. Next, the tissue was digested with type II collagenase. After centrifugation at 250g for 10 minutes, supernatant was discarded and pellet was cultured into α -MEM medium containing 15 % FBS 0.1% L-Glutamine, antibiotics and Amphotericin.

Gel system: Solubilized DAT and fibroin solution were mixed in 1:3 (v/v) ratio and vortexed, before gelation, MSC added in this gel system.

RESULTS: It was observed that MSCs saved their viability in 3 dimensional gel system consisting of DAT and fibroin

CONCLUSION: We suggest that MSCs containing DAT/Fibroin hydrogels may suitable to mimic the tissue repair and will be potential biomaterial for filling defects. It is planned to be supported by in vivo experiments in the near future.

Stem cell parts of this study was supported by AKUBAPK (15VF01)

Keywords: Bovine, DAT, fibroin, mesenchymal stem cell

P132

Göbek Kordonu Stromasından elde edilen mezenkimal kök hücrelerin karakterizasyonu

Özge Özgenc, Ahmet Ceylan, Alev Gürol Bayraktaroğlu, Asuman Özen
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Göbek kordonunun yapısında amniyon membran, ikisi arter biri vena olmak üzere üç adet damar ve damarların arasında Wharton jeli olarak bilinen müköz bağ dokusu bulunmaktadır. Amniyon membranının hemen altında ise subamniyotik stroma bulunur (1). Göbek kordonu kanından ilk hematopoietik kök hücreler 1982’de elde edilmiş ve ilk transplantasyon 1988’de yapılmıştır (2).

Mezenkimal kök hücrelerin yağ doku, tendon, peridontal ligament, sinoviyal membran, trabeküler kemik ve kemik iliği, göbek kordonu, plasenta, sinir sistemi, deri, periost (3), kırık dokusu (4) ve kas dokudan izole edildiği bildirilmiştir. Göbek kordonu stromasından elde edilen mezenkimal kök hücreler, göbek kordonunun Wharton jelinden, perivasküler alanından, subamniyotik membranından izole edilebilmektedir (1).

Yapılan çalışmada 5 adet fetüsün göbek kordonu stromasından eksplant hücre kültür yöntemiyle mezenkimal kök hücreler elde edilmiştir. Elde edilen hücreler pasaj 3’e kadar çoğaltılmış ve ardından farklılaştırılmıştır. Çalışmada, göbek kordonu stromasından elde edilen mezenkimal kök hücrelerin diğer fetal dokulara göre üreme ve farklılaşma yeteneklerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Çalışma aşamasına geçilmeden önce Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu onayı alındı (2016-4-35). Genel anestezi altında Wistar Albino siçan fetüslerinden göbek kordonu, karaciğer, pankreas ve böbrek dokusu örnekleri toplandı. Alınan örnekler laminar flow altında Dulbecco’s modified Eagle’s medium (DMEM) (Lonza, Belgium) içeren steril petriye aktarıldı ve burada küçük parçalara ayrıldı. Hücrelerin üretilmesi için eksplant kültür yöntemi kullanıldı. Doku parçaları 15 dakika boyunca %5 CO₂ li, 37°C olan etüvde inkübe edildikten sonra, %20 fetal dana serumu (Lonza, Belçika), %2 L-Glutamin (Lonza, Belçika), %1 penisilin, streptomisin, ve amfomisin (Biyolojik Industries, İsrail) ve %77 Dulbecco’s modified Eagle’s medium (DMEM) (Lonza, Belgium) ile inkübe edildi. Konfluent (%80) olan flask 1:2 oranında pasajlandı. Üçüncü pasajın sonunda hücreler osteojenik, kondrojenik ve adipojenik farklılaşma için uyarıldı.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre göbek kordonu stroması kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin diğer organlardan elde edilen kök hücrelere göre daha kısa sürede %80 oranında konflüentliğe ulaştığı ve farklılaşma kabiliyetlerinin daha yüksek olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Mezenkimal kök hücre, göbek kordonu, rat, eksplant kültür

Characterization of mesenchymal stem cells isolated from umbilical cord stroma

Özge Özgenc, Ahmet Ceylan, Alev Gürol Bayraktaroğlu, Asuman Özen
Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ankara, Turkey

Umbilical cord possess umbilical vein and two umbilical arteries surrounded by Wharton’s jelly which is a mucous connective tissue covered by amniotic epithelium. Additionally, subamniotic stroma is found underneath the amniotic membrane (1). In 1982, hematopoietic stem cells were isolated from umbilical cord blood for the first time and a few years later first succesfull transplantation was performed (2).

Mesenchymal stem cells have been isolated from adipose tissue, tendons, the periodontal ligament, synovial membrane, trabecular bone and bone marrow, nervous system, skin, periosteum (3), cartilage tissue (4) and muscles so far. The cells can be derived from Wharton’s jelly, perivascular space and the subamniotic membrane of the umbilical cord (1).

In this study, mesenchymal stem cells obtained from umbilical cord stromas of 5 rat fetuses by using explant culture method. Upon reaching passage 3, cells were differentiated and characterized

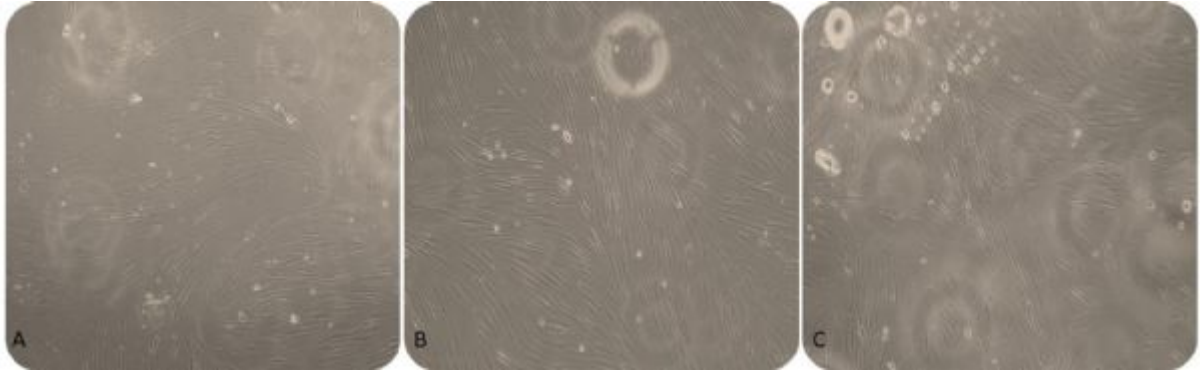
by histological staining techniques. The aim of this research is to present the differentiation and proliferation capabilities of umbilical cord mesenchymal stromal cells compared to other foetal tissues.

This study was approved by the Ethics Committee of the Ankara University (2016-4-35). Umbilical cord samples were collected from pancreas, kidney and liver tissues of the Wistar albino rat (200-250 g) fetuses under general anesthesia. At the laboratory, the samples were transferred into Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Lonza, Belgium) under laminar flow, and were minced in sterile petri dishes. Cell expansion was performed in T25 flasks using the explant culture method. Following incubation in a 5% CO₂ incubator for 15 minutes, a medium containing 20% foetal bovine serum (Lonza, Belgium), 2% L-Glutamine (Lonza, Belgium), 1% penicillin, streptomycin and amphotericin (Biological Industries, Israel), and 77% Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Lonza, Belgium), was added. The flasks, which reached a confluence of 80%, were passaged at a ratio of 1:2, and before seeding, the number and viability of the cells were checked.

According to our results, it is found that umbilical cord mesenchymal stromal cells have higher differentiation capacity and they reached 80% confluency sooner than other fetal tissues.

Keywords: mesenchymal stem cells, umbilical cord, rat, explant culture

Konfluent Flask Confluent



A- Göbek kordonu pasaj 1 gün 7 B- Böbrek pasaj 1 gün 9 C- Pankreas pasaj 1 gün 10
A- Umbilical cord passage 1 day 7 B- Kidney passage 1 day 9 C- Pancreas passage 1 day 10

Kaynakça / References: 1. Nagamura-Inoue T, Haiping H (2014): Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: Their advantages and potential clinical utility. *World J Stem Cells*, 6.2: 195-202. 2. Lim IJ, Phan TT (2014): Epithelial and mesenchymal stem cells from the umbilical cord lining membrane. *Cell transplantation*, 23(4-5): 497-503. 3. Orbay H, Tobita M, Mizuno H (2012): Mesenchymal Stem Cells Isolated from Adipose and Other Tissues: Basic Biological Properties and Clinical Applications. *Stem Cells International Volume*, Article ID 461718, 9. 4. Diaz-Romero J, Quintin A, Schoenholzer E, Pauli C, Despont A, Zumstein MA, Kohl S, Nestic D (2013): S100A1 and S100B Expression Patterns Identify Differentiation Status of Human Articular Chondrocytes. *J Cell Physiol*, 229: 1106-1117.

P133

Bor İçeren Nano Hidroksiapatit Seramikler, Mezenkimal Kök Hücrelerle Osteoporozlu Tavşan Uzun Kemiklerinde İyileştirici Etki Göstermektedir

Eda Çiftci Dede¹, Petek Korkusuz², Sevil Köse³, Elif Bilgiç², M. Alper Çetinkaya⁴, A. Atilla Ertan⁵, Muharrem Timuçin⁶, Feza Korkusuz⁷

¹Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Abd., Beytepe, ANKARA

²Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Abd., Sıhhiye, ANKARA

³Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Sıhhiye, ANKARA

⁴Hacettepe Üniversitesi, Deneysel Hayvanlar Araştırma Merkezi, Sıhhiye, ANKARA

⁵Hacettepe Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Protetik Diş Tedavisi Abd., Sıhhiye, ANKARA

⁶Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Abd., Çankaya, ANKARA

⁷Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği Abd., Sıhhiye, ANKARA

Osteoporoz (OP) kemik dokusunun mineral kaybı ile sağlamlığı ve yapısının bozulduğu, ölüm ya da sakatlanmaya yola açan toplumda yaygın bir hastalıktır. Osteoporozla ilgili kırıklarda dış ve iç tespitin yanı sıra var olan kemiği iyileştirici (osteokondüktif) veya kemik yapımını en baştan uyaran (osteoindüktif) malzemeler ya da kök veya öncül hücrelerin kullanılması gerekir. Kemik hücrelerini destekleyen mezenkimal kök hücreler (MKH) bu alanda denenmektedir(1). Kemiğin hücreler arası maddesinde bulunan hidroksiapatit, gelişen nanoteknoloji ile birlikte yüzey alanını genişletmek ve doku uyumunu arttırmak için nanometre boyutunda (n-Hap) üretilmiştir(2). İnflamasyonu baskılayarak damar oluşumunu uyardığı bilinen bor mineralinin kemikteki iyileştirici etkilerine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Nanoteknoloji kullanılarak bor n-HAP ile birleştirilerek üretilen ve in vitro koşullarda etkileri doğrulanan malzeme, mezenkimal kök hücrelerle beraber uygulandığında OP'lu tavşan uzun kemiklerinde güçlü iyileştirici etki gösterebilir. Bu varsayımı test etmek amacıyla; bor içeren n-Hap seramikler üretildikten sonra in vitro koşullarda insan MKH'leriyle etkili doz çalışması yapıldı. Belirlenen doz, ovariyektomi ve düşük kalsiyum ve D vitamini diyet uygulanarak osteoporoz oluşturulmuş beyaz yerel erişkin tavşan uzun kemiklerine tek başına ve MKH'lerle uygulanarak, iyileşme mikrotomografi, kemik mineral yoğunluğu (DEXA) ölçümü, sanal ortamda basma ve üç nokta eğme biyomekanik inceleme yöntemi ve histomorfometrik yöntemlerle değerlendirildi. Prospektif, kontrollü bir çalışma tasarlandı. Bağımsız değişkenler gruplar ve zaman olarak; (a) kemik mineral yoğunluğu, (b) kemik hacmi, (c) kemik yüzey alanı, (d) trabeküler kalınlık ve (e) trabeküler yüzey ile (f) histomorfometri ise bağımlı değişkenler olarak kararlaştırıldı. Deneysel grupları (her bir grupta n=6), (1) Hyaluronan-B-n-HAP, (2) Hyaluronan-B-n-HAP-MKH, (3) Hyaluronan, (4) Hyaluronan-n-HAP, (5) Hyaluronan-n-HAP-MKH ve (6) Hyaluronan-MKH olarak tasarlanırken, kontrol grubundaki tavşanlara (n=6) ise sham operasyonu uygulandı. OP oluşumu, tavşanların kemik mineral yoğunluklarının düzenli ölçümüyle denetlendi. OP'lu deneysel gruplarının femur kemik iliği boşluğuna 12. haftada borlu nHap enjeksiyonu gerçekleştirildi. Tüm gruplara, yeni kemiği işaretlediği bilinen iki farklı renkli florokrom (Xylenol Orange ve Tetracycline; Sigma Almanya) 18 ve 21. haftalarda iv olarak uygulandı. Kemik trabekül kalınlığı, kemik hacim ve yüzey alanları tomografik ve histomorfometrik olarak hesaplandı. Elde edilen sonuçlara göre borlu nHap'in osteoporozlu uzun kemiklerde kemik mineral yoğunluğu ve dayanıklılığında kontrol ve bor uygulanmamış gruplara göre anlamlı artışa neden olduğu belirlendi (p < 0,05). Borlu nHap ile MKH uygulaması kemik mineral yoğunluğu ve biyomekanik sağlamlığa anlamlı olumlu etki göstermedi. Mikrotomografik bulgular yeni kemik miktarının hesaplandığı histomorfometrik ölçümlerle anlamlı korelasyon gösterdi. Buna göre borlu n-HAP seramiklerin klinikte proflaktik olarak uygulanmasının osteoporotik kırıkların önlenmesinde etkili olabileceğini düşündürdü.

(*) Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (#013D06101002)

Anahtar Kelimeler: osteoporoz, bor, hidroksiapatit, nano- seramik, mezenkimal kök hücre

Boron containing Nano Hydroxyapatite Ceramics and Mesenchymal Stem Cells Stimulate Bone Regeneration in Osteoporotic Rabbit Long Bones

Eda Çiftci Dede¹, Petek Korkusuz², Sevil Köse³, Elif Bilgiç², M. Alper Çetinkaya⁴, A. Atilla Ertan⁵, Muharrem Timuçin⁶, Feza Korkusuz⁷

¹Hacettepe University, Graduate School of Science and Engineering, Department of Bioengineering, Beytepe, ANKARA

²Hacettepe University, Medical School, Department of Histology and Embryology, Sıhhiye, ANKARA

³Hacettepe University Stem Cell Research and Application Center, Sıhhiye, ANKARA

⁴Hacettepe University, Laboratory Animals Research Center, Sıhhiye, ANKARA

⁵Hacettepe University, Faculty of Dentistry, Department of Prosthetic Dentistry, Sıhhiye, ANKARA

⁶Middle East Technical University, Faculty of Engineering, Department of Metallurgical and Materials Engineering, Cankaya, ANKARA

⁷Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Sports Medicine, Sıhhiye, ANKARA

Osteoporosis (OP) is a prevalent disease emerged with mineral loss and resulted with the deterioration of bone structure and strength, death or mutilation. For the osteoporosis related fractures, along with the outer and inner determination, bone healing (osteoconductive) or bone formation stimulating (osteoinductive) materials, stem or progenitor cells must be used. Bone cell supporting mesenchymal stem cells (MSC) are used for this purpose(1). By the evolving nanotechnology, bone intracellular material, hydroxyapatite fabricated in nanometer size (n-Hap) to expand the surface area and increase the biocompatibility(2). Boron mineral is suppressing the inflammation and stimulating angiogenesis, but its effects on bone healing are limited. According to its effects in vitro, boron containing n-Hap with MSCs can show healing effect in osteoporotic rabbit long bones. In order to test this hypothesis; boron containing n-Hap ceramics were cultured with human MSCs in vitro to optimize the effective dose. OP model was formed in white, 6 months old adult rabbits with ovariectomy, low calcium and vitamin D diet and, optimized dose was applied alone or with MSCs to these osteoporotic animal long bones. The healing was evaluated according to microtomography, bone mineral density (DEXA), virtual environment compression and three point bending biomechanical testing and histomorphometrically.

The study was a prospective, controlled study. The independent variables were groups and time whereas the dependent variables were (a) bone mineral density, (b) bone volume, (c) bone surface area, (d) trabecula thickness, (e) trabecula surface and (f) histomorphometry. Experimental groups were designed as (1) Hyaluronan-B-n-Hap (n=6), (2) Hyaluronan-B-n-HAp-MSC (n=6), (3) Hyaluronan (n=6), (4) Hyaluronan-n-Hap (n=6), (5) Hyaluronan-n-HAp-MSC (n=6) ve (6) Hyaluronan-MSC (n=6). Sham operation was performed in control group (n=6). Development of OP was controlled with regular bone mineral density measurement. In the OP experimental groups, boron containing n-Hap was injected into femur bone marrow lacuna at week 12. In all groups, newly formed bone markers Xylenol Orange and Tetracycline (Sigma, Germany) were applied i.v at weeks 18 and 21. Bone trabecula thickness, bone volume and surface areas were calculated tomographic and histomorphometrically. In boron containing n-Hap applied osteoporotic long bones, bone mineral density and strength was significantly higher than control and boron unapplied groups ($p < 0.05$). Boron containing n-Hap with MSCs did not show any significant effect to bone mineral density and biomechanic strength. Microtomographic findings showed significant correlation with histomorphometric measurements. As a result; in clinic, prophylactic boron containing n-Hap ceramic administration can prevent osteoporotic fractures.

Keywords: osteoporosis, bor, hydroxyapatite, nano- ceramic, mesenchymal stem cells

Kaynakça / References: 1. Vaughan TJ, Voisin MM, Niebur GL, McNamara LM. Multiscale Modeling of Trabecular Bone Marrow: Understanding the Micromechanical Environment of Mesenchymal Stem Cells During Osteoporosis. ASME. J Biomech Eng. 2015; 137(1):011003-011003-10. doi:10.1115/1.4028986. 2. E. Ciftci, S. Köse, P. Korkusuz, M. Timuçin, F. Korkusuz, "Boron Containing Nano Hydroxyapatites (B-n-HAp) Stimulate Mesenchymal Stem Cell Adhesion, Proliferation and Differentiation", Key Engineering Materials, Vol. 631, pp. 373-378, 2015

P134

Vankomisin İçeren Biyoseramik/Polimer Kompozitlerin Biyofilim Engelleme, Biyoyumluluğu Ve Mezenkimal Kök Hücrelerin Osteojenik Farklılaşmasına Etkilerinin Analizi

Berna Kankılıç¹, Feza Korkusuz², Burçin Şener³, Hakan Eroğlu⁴, Erdal Bayramlı⁵

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, Çankaya, ANKARA

²Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği AbD., Sıhhiye, ANKARA

³Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji AbD, Sıhhiye, ANKARA

⁴Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji AbD., Sıhhiye, ANKARA

⁵Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Çankaya, ANKARA

Osteomyelit tedavisi oldukça zor bir kemik hastalığıdır. Klinikte osteomyelit tedavisi cerrahi debridman sonrası sistemik olarak verilen antibiyotikler ile sağlanmaktadır¹. Ancak enfeksiyon bölgesinde yeterli kan akışının olmaması ve enfeksiyon etkeni patojenin oluşturduğu, biyofilim adı verilen ekzopolisakkarit yapının içinde antibiyotiklere karşı dirençli olması nedeniyle enfeksiyon tam anlamıyla tedavi edilememektedir². Bu nedenle enfeksiyon bölgesine ilaç taşıyıcı bir sistem yerleştirilerek enfeksiyonun önlenmeye çalışılmaktadır. Bu sistemlerin toksik etki göstermeden enfeksiyon bölgesine doğrudan etkili dozu ulaştırması gerekmektedir³. Bunu sağlamak üzere, sert dokuda etkili olduğu bilinen vankomisin içerikli PDLLA/β-TCP ve PLGA/β-TCP kompozitler geliştirilmiş ve bunlar içerikleri açısından karakterize edilmiştir. Geliştirilen kompozitlerin biyoyumlu olması, etkin antibiyotik salımı gerçekleştirerek antimikrobiyal özellik gösterip, biyofilim oluşumunu engelleme ve mezenkimal kök hücreler ile kültüre edildiğinde kemiğe özgü sinyal moleküllerini ifade ederek kök hücrelerde osteojenik farklılaşma meydana getirmesi çalışmanın hipotezini oluşturmaktadır. Vankomisin içeren PDLLA/β-TCP ve PLGA/β-TCP kompozitler altı hafta boyunca 3.1 ± 0.2 mg ve 3.4 ± 0.4 mg vankomisin salmıştır ve salınan miktar metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) duyarlılığı için yeterlidir. Salım ortamlarından alınan örneklerle gerçekleştirilen biyofilim oluşumu engelleme çalışmasında, geliştirilen kompozitlerin MRSA biyofilim oluşumunu engellediği gösterilmiştir. Geliştirilen kompozitler mezenkimal kök hücreler ve SaOS-2 osteosarkoma hücreleri ile biyoyumludur. Ayrıca, kompozitlerin hücrelerle 21 günlük kültürü sonunda hücreler alkalik fosfataz aktivitesi göstermiştir. Ancak, kompozitlerden salınan maddelerin bulunduğu besiyerlerinin kullanıldığı RT-PCR çalışmasında kompozit grupları bazı osteogenez ilintili sinyal moleküllerini ifade etmeyerek mezenkimal kök hücrelerin farklılaşmasını tetiklememiştir. Temassız çalışma tasarımı gene ifade sonuçlarını etkilemiş olabilir, temaslı çalışma daha iyi gen ifade düzeyleri elde etmemizi sağlayabilir. Sonuç olarak, biyoyumlu, antimikrobiyal, biyofilim oluşumunu engelleyici kompozitler geliştirilmiştir. Gelecekte yapılacak in vitro ve in vivo çalışmalar ile temaslı ortamda kompozitlerin osteojenik kapasiteleri değerlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Osteomyelit, biyobozunur PDLLA, biyobozunur PLGA, Vankomisin, MRSA, kontrollü salımlı ilaç taşıyıcı sistemler

Analyzing The Effects Of Vancomycin Containing Bioceramic/Polymer Composites On Biofilm Prevention, Biocompatibility And Osteogenic Modification Of Mesenchymal Stem Cells

Berna Kankılıç¹, Feza Korkusuz², Burçin Şener³, Hakan Eroğlu⁴, Erdal Bayramlı⁵

¹Middle East Technical University, Graduate School of Applied Sciences, Department of Biotechnology, Çankaya, ANKARA

²Hacettepe University, Medical School, Department of Sports Medicine, Sıhhiye, ANKARA

³Hacettepe University, Medical School, Department of Microbiology,, Sıhhiye, ANKARA

⁴Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Sıhhiye, ANKARA

⁵Middle East Technical University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Chemistry, Çankaya, ANKARA

Osteomyelitis is a difficult to treat bone infection. In clinic, osteomyelitis is treated with surgical debridement followed by the antibiotic therapy¹. But, due to the low blood circulation in the infection area and the production of an exopolysaccharide, biofilm, by the pathogen violences the treatment². Therefore local drug delivery systems are generated. These systems transmit the

effective dose to the infection area without any toxic effects³. In order to provide this necessity, vancomycin containing PDLLA/ β -TCP and PLGA/ β -TCP composites known as effective in hard tissue were developed and characterized according to their contents. The hypothesis of the study was to develop biocompatible, effective antibiotic releasing, antimicrobial, biofilm formation inhibiting composites which induced the expression of bone signaling molecules in mesenchymal stem cells for osteogenic differentiation. Vancomycin containing PDLLA/ β -TCP and vancomycin containing PLGA/ β -TCP composites released 3.1 ± 0.2 mg and 3.4 ± 0.4 mg vancomycin for six weeks, respectively and the released vancomycin was sufficient for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) susceptibility. Also, the released vancomycin inhibited the biofilm formation of MRSA. Vancomycin containing PDLLA/ β -TCP and vancomycin containing PLGA/ β -TCP composites were biocompatible with mesenchymal stem cells (MSC) and SaOS-2 osteosarcoma cells. The composites showed alkaline phosphatase activity at day 21. But for the RT-PCR studies conducted with the extraction medium of the composites, the vancomycin containing PDLLA/ β -TCP and vancomycin containing PLGA/ β -TCP composites were not induced the differentiation of mesenchymal stem cells by not expressing some of the osteogenesis related signalling molecules. The non-contact mode study design may effect the gene expression results, since in the contact mode the gene expression can be elevated. As a result; biocompatible, antimicrobial and biofilm formation inhibiting composites were developed. Future studies can be conducted both in vitro and in vivo in order to find out the osteogenic capability of the composites in contact mode.

Keywords: Osteomyelitis, biodegradable PDLLA, biodegradable PLGA, Vancomycin, MRSA, controlled release drug delivery systems

Kaynakça / References: 1. Brooks BD, Sinclair KD, Davidoff SN, Lawson S, Williams AG, Coats B, et al. Molded polymer-coated composite bone void filler improves tobramycin controlled release kinetics. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater.* 2014;102:1074–83. 2. Getzlaf, M. A., Lewallen, E. A., Kremers, H. M., Jones, D. L., Bonin, C. A., Dudakovic, A., van Wijnen, A. J. (2015). Multi-disciplinary antimicrobial strategies for improving orthopaedic implants to prevent prosthetic joint infections in hip and knee. *J Orthop Res.* 2016 Feb;34(2):177-86. 3. Kankilic B, Bilgic E, Korkusuz P, Korkusuz F. Vancomycin containing PLLA/ β -TCP controls experimental osteomyelitis in vivo. *J Orthop Surg Res.* 2014; 9: 114.

P135

Hipoksik koşulların insan göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerinde kök hücre özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması

Ferda Topal Çelikkın¹, Ceren Mungan², Merve Sucu², Özgür Çınar¹, Ahmet Tulga Ulus³, Alp Can¹

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara

Kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde mezenkimal kök hücre (MKH) uygulamaları umut vericidir. 2015 yılında çalışma protokolü yayınlanan (1) ve www.clinicaltrials.gov adresinde NCT02323477 koduyla kayıtlı bulunan klinik çalışmamızda koroner baypas ameliyatı sırasında MKH uygulanan doku ortamının hipoksik olması nedeniyle hipoksi/normoksi ortam değişkenleri üzerine yoğunlaştık. Hücrelerin mikroçevresindeki değişikliklerin hücre davranışını doğrudan etkileyen faktörler olduğu bilinmektedir. Bu faktörlerin en önemlilerinden birisi de oksijen miktarıdır (2). Bu çalışmada insan göbek kordonu stroması (İGKS) kaynaklı MKH'nin hipoksik (%5) ve normoksik (%20) ortamda kültüre edilmelerinin hücrede yüzeyinde ve sitoplazmasında yapmış olduğu değişiklikler ele alındı. Proje kapsamında ATİGEN-CELL hücre ve gen merkezinden tedarik edilen CGMP standardındaki İGKS-MKH hipoksik (%5) ve normoksik (%20) ortamda kültüre edilerek canlılık-çoğalma deneyleri, akım sitometride MKH belirteç ölçümleri ve tutunma deneyleri yapıldı. Hücrelerin sayıca ikiye katlanma zamanını değerlendirmek için 3. ve 7 günlerde hücre sayım cihazında sayıldı. Hücreler aynı zaman aralıklarında CD73, CD90, CD105, CD34 ve CD45 yüzey belirteçleri açısından akım sitometri cihazında değerlendirildi. Hipoksi ile tutunma kapasitesini ortaya koyan aktin ve hipoksi faktörü olan HIF1 α düzeylerini gösterebilmek için 96 kuyucuklu plakalara ekilip %0,1 Triton-X 100 içeren PFA ile fiske edilen hücreler, anti- β aktin veya anti-HIF1 α primer antikor ve IRDye 800CW (anti mouse ve rabbit IgG) sekonder antikor ile işaretlendikten sonra In-Cell Western® yöntemiyle ölçüm gerçekleştirildi (Odyssey CLx- Licor).

Normoksik ve hipoksik ortamda kültüre edilen MKH'nin 0., 3. ve 7. gün canlılık oranlarında bir farklılık gözlenmedi (canlılık; 0. gün: %94,2, hipoksi 3. gün; %94,5, hipoksi 7. gün; 94,8, normoksi 3. gün %93,1, normoksi 7. gün %91,9). Buna karşın hipoksik ortamdaki hücrelerin daha hızlı çoğaldıkları, ikiye katlanma zamanının normoksik ortamda kültüre edilen hücelere oranla iki katı kadar olduğu hesaplandı (hipoksik koşulda PDT; 314 saat; normoksik koşulda 764 saat). İlk gün, 3. ve 7. gündeki akım sitometrik belirteç ölçümlerinde bir değişiklik olmadığı gözlemlendi (Tablo-1). In cell western tekniği ile yapılan aktin ve HIF1 α karşılaştırma sonuçlarında 3. günden 7. güne giderken azalma izlendi.

İGKS-MKH'nin hipoksik ortamda kültüre edildiklerinde daha fazla oranda çoğaldıkları ve kök hücre belirteçlerini ifadeleri azalmadığı için, bu ortamda çoğaltılarak hücresel tedavi süreçleri için kullanılabilirler sonucuna varıldı. Hipoksik ortamda kemotaktik faktör reseptörleri ve hücre içi aktin değişimi tedaviyi doğrudan etkileyen faktörlerin başında gelmektedir. (Bu çalışma 0741-STZ-2014 no'lu SANTEZ projesi tarafından desteklenmiştir)

Anahtar Kelimeler: mezenkimal kök hücre, hipoksi, in cell western®

The effects of hypoxic conditions on the behaviour of human umbilical cord derived mesenchymal stem cell

Ferda Topal Çelikkın¹, Ceren Mungan², Merve Sucu², Özgür Çınar¹, Ahmet Tulga Ulus³, Alp Can¹

¹Department of Histology and Embryology, School of Medicine, Ankara University, Ankara

²Biotechnology Institute, Ankara University, Ankara

³Department of Cardiovascular Surgery, School of Medicine, Hacettepe University, Ankara

Implementation of mesenchymal stem cells (MSC) in cardiovascular disease seems to be promising. The study design of our clinical trial was published in 2015 (1) and was registered to www.clinicaltrials.gov with the "NCT02323477" identifier number. Here, we focused on the effects of hypoxic condition, by comparing normoxic one, on the MSCs obtained from human umbilical cord (HUC), since these cells are placed in hypoxic milieu when applied to intramyocardial tissue during coronary arterial bypass (1) and also as the microenvironment particularly, oxygen tension (2) may affect cell behavior.

In this study, assays for cell proliferation and viability together with analysis of markers, which are specific for surface or attachment ability of MSC, were performed to HUC-MSCs that were transferred from ATİGEN-CELL genetic diseases diagnosis center that is a GMP laboratory and also one of the shareholder of the project (HUC-HEART). Briefly, cells were subcultured and then cultivated in either hypoxic (5%) or normoxic (20%) air condition. Population doubling time was determined for both oxygen concentrations. CD73, CD90, CD105, CD34 and CD45 levels were also analyzed by flow cytometry. In order to evaluate hypoxia inducible factor 1 α (HIF1 α) and actin levels, fixed and permeabilized cells were first incubated in either anti- HIF1 α or anti-actin antibody and then IRDye 800CW was applied. In-Cell Western® assay was performed in Odyssey CLx- Licor. The viability rate was found comparable between the cells cultured in hypoxic or normoxic conditions during 3 or 7 days (Day 3; hypoxia 94.5% vs normoxia 93.1% / Day 7; hypoxia 94.8% vs normoxia 91.9%). The proliferation rate was higher in hypoxic (PDT=314 hours) group than normoxic one (PDT=764 hours). Flow cytometry analysis revealed that mesenchymal stem cell markers did not change during culture period in both groups (Table 1). The expression of actin and HIF1 α decreased in a time-dependent manner.

Based on our finding, we suggest that application of HUC-MSC cultured in hypoxic conditions into myocardial tissue can give better outcomes since proliferation velocity of these cells is higher than normoxic conditions, whereas cells preserve mesenchymal stem cell characters. Analysis of chemotactic receptors is planned as the next step of this study.

(This study was supported by Republic of Turkey, Ministry of Science, Industry and Technology with the grant number SANTEZ - 0741-STZ-2014).

Keywords: mesenchymal stem cell, hypoxia, in cell western®

Tablo-1: IGK-MKH'nin 0., 3. ve 7 günlerde hipoksik ve normoksik koşullardaki belirteç düzeyleri.

MKH Belirteçleri (%)	0. gün	3. gün		7. gün	
		HİPOKSİ	NORMOKSİ	HİPOKSİ	NORMOKSİ
CD105	98,2	96,5	99,1	95,2	96,1
CD90	99,9	100	100	100	100
CD73	99,9	100	100	100	100
MSC (-) marker (CD34, CD45)	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1

Table-1: HUC-MSC markers at 0, 3 and 7 day in hypoxic and normoxic condition.

MSC MARKERS (%)	Day 0	Day 3		Day 7	
		HYPOXİA	NORMOXİA	HYPOXİA	NORMOXİA
CD105	98,2	96,5	99,1	95,2	96,1
CD90	99,9	100	100	100	100
CD73	99,9	100	100	100	100
MSC (-) marker (CD34, CD45)	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1

Kaynakça / References: 1) Can A, Ulus AT, Cinar O, Topal Celikkan F, Simsek E, Akyol M, Canpolat U, Erturk M, Kara F, Ilhan O. Human umbilical cord mesenchymal stromal cell transplantation in myocardial ischemia (HUC-HEART Trial). A study protocol of a phase 1/2, controlled and randomized trial in combination with coronary artery bypass grafting. Stem Cell Reviews and Reports 11: 752–760, 2015. 2) Paquet J, Deschepper AM, Moya A, Logeart-Avramoglou D, Boisson-Vidal C, Petite H. Oxygen tension regulates human mesenchymal stem cell paracrine functions. Stem Cells Translational Medicine 4: 1–13, 2015.

P136

Östrojen reseptörleri, mitokondri ve hormon tedavisi cevabı

Asli Giray Kurt¹, Bahriye Karakas², Hüveyda Başağa², Şehime Gülsün Temel^{3,4}, Özgür Kütük¹

¹Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

²Sabancı Üniversitesi, Biyolojik Bilimler ve Biyomühendislik Programı, İstanbul, Türkiye

³Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa, TÜRKİYE

⁴Yakın Doğu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histology ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşe, K.K.T.C

AMAÇ: Dünya Sağlık Örgütüne göre meme kanseri kadında en sık rastlanan kanser türlerindedir. Yaklaşık olarak 2012 yılında 1.67 milyon yeni vaka bildirilmiştir. Meme kanseri riskini etkileyen faktörler yüksek östrojen seviyesi ve bozuk östrojen sinyalizasyonunu içerir. Östrojen reseptör durumu önemli bir prognostik faktördür ve antiöstrojen terapisi Er-pozitif meme kanserleri vakalarında ilk seçenek tedavi biçimidir. Bununla birlikte, çoğu tümör tedavi sırasında endokrin tedavisine direnç geliştirir. Doğru biyomarkırlar hang bireylerin endokrin tedaviye yanıt vereceğini tahmin etmek için gereklidir. Endokrin terapiye cevap olarak mitokondriyal apoptotik yolağın aktivasyonu meme kanseri gerilemesi için önemli bir mekanizmadır. Bu çalışmada östrojen reseptörlerinin meme kanser hücrelerinin üzerine olan etkisini mitokondriyal apoptosis ve endokrin terapi cevabı ile araştırmayı amaçladık. YÖNTEM: BH3 profili kanser hücreleri tarafından kullanılan apoptotik blokları belirlemek için kullanıldı. ER durumu RT-qPCR ve immünoiblottlama ile belirlendi. CellTiter-Glo endokrin tedavisine yanıt olarak hücre canlılığını ölçmek için kullandı. Konfokal immünofloresan mikroskopisi ER izoformlarının lokalizasyonu belirlemek için kullanıldı. BULGULAR: Östrojen reseptör izoformlarının farklı ekspresyonu, hem RNA hem protein düzeyinde belirlendi. Endokrin tedavi ajanları ER- α ve ER- β ifade durumundan bağımsız olarak benzer EC50 değerlerine sahipti. Meme kanseri hücreleri farklı mitokondriyal ateşleme durumuna sahipti. İmmünofloresan analiz çekirdek ve sitoplazmaya ek olarak, her iki reseptörün de mitokondriyal lokalizasyonunu ortaya koymuştur. SONUÇLAR: Bulgularımız östrojenler tarafından mitokondrinin hedef alınabileceğini ve bu nokta endokrin tedavi yanıtı ve meme kanseri gelişimine östrojen reseptörlerinin rolünü açığa çıkarabileceğini gösterir. Çalışmamız meme kanseri-endokrin tedavi yanıtını öngörmede BH3 profillemeye tahlilinin kullanımının umut vaat ettiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: östrojen reseptörleri, mitokondri, hormon terapi

Estrogen receptors, mitochondria and hormone therapy response

Asli Giray Kurt¹, Bahriye Karakas², Hüveyda Başağa², Şehime Gülsün Temel^{3,4}, Özgür Kütük¹

¹ Baskent University School of Medicine, Dept. of Medical Genetics, Adana, Turkey

² Sabanci University, Biological Sciences and Bioengineering Program, İstanbul, Turkey

³ Uludag University School of Medicine, Dept. of Histology and Embryology, Bursa, Turkey

⁴ Near East University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, North Cyprus

BACKGROUND: According to WHO, breast cancer is the most frequent cancer in woman, with estimated 1.67 million new cancer cases in 2012. Factors associated with an increased risk of breast cancer include high levels of estrogen and deregulated estrogen signaling. Estrogen receptor status is important prognostic factor and antiestrogen (endocrine) therapy is the choice of first-line treatment in ER-positive breast cancer cases. However, most tumors develop resistance to endocrine therapy during treatment. Accurate biomarkers are needed to predict which individuals will respond to endocrine therapy. Activation of mitochondrial apoptotic pathway is major mechanism for breast cancer regression in response to endocrine therapy. We aim to identify the impact of estrogen receptors on breast cancer cells' proximity to mitochondrial apoptosis and endocrine therapy response. METHODS: BH3 profiling is used to determine the apoptotic blocks employed by cancer cells. ER status is determined with RT-qPCR and immunoblotting. CellTiter-Glo is used to measure cell viability in response to endocrine therapy. Confocal immunofluorescence microscopy is used to determine localization of ER isoforms. RESULTS: Differential expression of estrogen receptor isoforms were detected in both RNA and protein level. Endocrine therapy agents have similar EC50 values regardless of ER- α and ER- β expression status. Breast cancer cells have different mitochondrial priming status. Immunofluorescence analysis revealed mitochondrial localization of both receptors in addition to nucleus and cytoplasm. CONCLUSIONS: Our results indicate mitochondria might be targeted by estrogens and this point outs the role of estrogen receptors in endocrine therapy response and breast cancer development. Our work highlights the

promising potential of using BH3 profiling assay in prediction of breast-cancer endocrine therapy response.

Keywords: estrogen receptors, mitochondria, hormone therapy

P137

{Prostat kanserli sıçan testislerinde metforminin anti-oksidatif etkisi}

Pınar Köroğlu¹, Ömür Karabulut Bulan¹, İsmet Burcu Türkyılmaz², İlkur Bugan¹, Seyhan Altun¹, Refiye Yanardağ²

¹İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü, İstanbul

Reaktif oksijen türlerinin üretimindeki artış, kanser ve diyabet gibi yaşlanmayla ilişkisi olan hastalıkların etiopatogenezinde rol oynayabilmekte ve tümörögenезin hızlanmasına yol açabilmektedir (1,2). Oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengesizlik olarak ifade edilen oksidatif stres, özellikle prostat kanserinin gelişimi, agresif fenotipte ilerlemesi ve tedaviye cevabında etkili olmaktadır (3). Diyabetin prostat kanseri riskinde artışa neden olabileceğini öne süren çalışmalar, diyabet tedavisinde kullanılan bir ilaç olan metforminin prostat kanserinin önlenmesi ve tedavisindeki etkilerinin araştırılmasına temel oluşturmuştur.

Anti-hiperinsulinemik ve anti-hiperglisemik etkilerinin yanında, antioksidatif etkinliği de olan metforminin, kolon ve prostat kanserinde anti-proliferatif etki göstererek hücre siklusunun düzenlenmesine katkı yapabileceği ve kanser riskini azaltabileceği yönünde bulgular ortaya konmuştur(2,4). Metastatik prostat kanseri araştırmalarında deneysel bir model olan, Dunning sıçan prostat kanseri, bu modele ait kuvvetli metastatik Mat-LyLu hücrelerinin Copenhagen ırkı sıçanlara deri altı inokülasyonu ile oluşturulabilmektedir(5). Bu araştırma, deneysel prostat kanseri modelinde, metformin tedavisinin, testis dokusu ile çeşitli oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkisinin değerlendirilmesini amaçlamıştır.

Çalışma, 170 gr erkek Copenhagen sıçanlar ile biri kontrol olmak üzere üç grup halinde yürütülmüştür. Kanser grubu sıçanlara 2×10^4 Mat-LyLu hücresi inoküle edilirken, kanser + metformin grubu sıçanlara hücre inokülasyonunu takiben her gün 250 mg/kg metformin tedavisi yapılmıştır. Kontrol grubu hayvanlara ise, deney süresi olan 14 gün boyunca % 0.9 serum fizyolojik verilmiştir. Deneyin sonlandırıldığı (14.) günde çıkarılan testis dokularına Hematoksilin-Eosin boyası uygulanmıştır. Testis seminifer tübüllerindeki histopatolojik hasar, normal, regresif, dejeneratif ve atrofik olarak değerlendirilmiştir(6). Ayrıca, oksidatif stres parametrelerinden katalaz, superoksit dismutaz, glutatyon-S-transferaz ve alkali fosfataz aktiviteleri incelenmiştir. Histopatolojik değerlendirmelerde, kontrol grubunda normal testiküler morfoloji ve düzenli seminifer tübül yapısı gözlenirken, kanser grubunda seminifer tübül hasarının anlamlı olarak arttığı izlenmiştir. Metformin uygulanması ile regresif ve dejeneratif tübül sayısının azaldığı ve bu azalmanın kanser grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu saptanmıştır. Biyokimyasal verilere göre, kanserli sıçanlarda katalaz, superoksit dismutaz, glutatyon-S- transferaz ve alkali fosfataz aktiviteleri kontrol grubuna oranla artış göstermiştir. Metformin uygulanması ile bu aktivitelerin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir.

Son çalışmalar, metforminin çeşitli kanserlerde doğrudan ve/veya insülin duyarlılığını artırarak, antiproliferatif etki gösterdiğini ve aynı zamanda oksidatif stres hasarlarını azalttığını ortaya koymuştur(4,7,8,9). Dunning modeli prostat kanserli sıçan testislerindeki etkilerin değerlendirildiği çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre metformin, hem seminifer tübül hem de, oksidatif stres parametreleri üzerindeki hasarı azaltarak, anti-oksidatif bir etki göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Prostat kanseri, MAT-LyLu, metformin, testis, oksidatif stres

{Anti-oxidative effects of metformin on rat testes bearing prostate cancer}

Pınar Köroğlu¹, Ömür Karabulut Bulan¹, İsmet Burcu Türkyılmaz², İlkur Bugan¹, Seyhan Altun¹, Refiye Yanardağ²

¹Istanbul University, Faculty of Science, Department of Biology, Istanbul- Turkey

²Istanbul University, Faculty of Engineering, Department of Chemistry, Istanbul- Turkey

The increase of production of reactive oxygen species may play a role in etiopathogenesis of the diseases that relating to aging such as cancer, diabetes and lead to acceleration of tumorigenesis(1,2). Oxidative stress is effective in the development of prostate cancer, the aggressive phenotype progression and response to treatment(3). Studies which suggest that diabetes may cause an increase in the risk of prostate cancer, metformin which is the drug used for

diabetes treatment has formed the basis to the research of the effects in prevention and treatment of prostate cancer. Studies have recently demonstrated that metformin, already known to have anti-hyperinsulinaemic, anti-hyperglycaemic and antioxidative effects, may also help regulate cell cycle and reduce the risk of cancer through its anti-proliferative qualities in colon and prostate cancer(2,4). Dunning rat prostate cancer that is an experimental model in metastatic prostate cancer researches can be formed by subcutaneous injection to Copenhagen rats of strongly metastatic MAT-LyLu cells(5). In this research was aimed evaluating the effects of metformin treatment on testes tissue and on oxidative stress parameters in experimental prostate cancer model. The study were conducted by 170g male Copenhagen rats in three groups that one of them is control. While 2×10^4 Mat-LyLu cells were inoculated to cancer group rats, 250mg/kg metformin treatment was applied every day following inoculation of the cells to cancer+metformin group rats. 0.9 % physiological saline was given during 14 days to control group rats. Testes tissues were taken at 14th days and stained. Histopathological damage in the seminiferous tubules was evaluated as: normal, regressive, degenerative and atrophic(6). Oxidative stress parameters were determined such as catalase, superoxide dismutase, glutathione-S-transferase and alkaline phosphatase activities.

Histologically, the control group presented a normal testicular morphology and regular seminiferous tubule while the damage of seminiferous tubule significantly increased in cancer group. The number of regressive and degenerative tubules was significantly decreased by metformin treatment compared to cancer group. According to biochemical data, catalase, superoxide dismutase, glutathione-S-transferase and alkaline phosphatase activities were significantly increased in cancer groups compared to control groups. It was observed that these activities significantly decreased by administration of metformin.

Recent studies determined that metformin shows antiproliferative effect by increasing insulin sensitivity and decreasing the damages of oxidative stress in various cancers(4,7,8,9). According to the results from our study which was evaluation of metformin effects on rat testes with prostate cancer, it was demonstrated an anti-oxidative effect by decreasing the oxidative damage.

Keywords: Prostate cancer, MAT-LyLu, metformin, testes, oxidative stress

Kaynakça / References: References 1. Jackson AL, Loeb LA. The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutat Res* 2001, 477(1-2):7-21. 2. Behrend L, Henderson G, Zwacka RM. Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans* 2003, 31(6):1441-4. 3. Paschos A, Pandya R, Duivenvoorden WC, Pinthus JH. Oxidative stress in prostate cancer: changing research concepts towards a novel paradigm for prevention and therapeutics. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2013,16(3):217-25. 4. Anwar MA, Kheir WA, Eid S, Fares J, Liu X, Eid AH, Eid AA. Colorectal and prostate cancer risk in diabetes: Metformin, an actor behind the Scene. *J Cancer* 2014, 5(9):736-44. 5. Michaud JE, Billups KL, Partin AW. Testosterone and prostate cancer: an evidence-based review of pathogenesis and oncologic risk. *Ther Adv Urol* 2015, 7(6):378-87. 6. Hess RA, Linder RE, Strader LF, Perreault SD. Acute effects and long term sequelae of 1,3-dinitrobenzene on male reproduction in the rat II. quantitative and qualitative histopathology of the testis. *J Androl* 1988, 9: 327- 342. 7. Tao Z, Peng G, Yinan Z, Hui X, Xiao Y, Shan X, Xinyang W, Dalin H, Xunbo J. The antidiabetic drug metformin inhibits the proliferation of bladder cancer cells in vitro and in vivo. *Int J Mol Sci* 2013, 14: 24603-24618. 8. Thabet KM, Amin EF, Abdelrahman AM. Effect of metformin and sitagliptin on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: impact of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *J Toxicol* 2015, 424813 -424821. 9. Queiroz EA, Puukila S, Eichler R, Sampaio SC, Forsyth HL, Lees SJ, Barbosa AM, Dekker RF, Fortes ZB, Khaper N. Metformin induces apoptosis and cell cycle arrest mediated by oxidative stress, AMPK and FOXO3a in MCF-7 Breast Cancer Cells. *Plos one* 2014, 9 (5): 1-18.

P138

{ In vivo } metastatik fare meme kanseri modelinde primer tümör ve organ metastazlarında nefronektin ekspresyonu azalmaktadır

Sayra Dilmac¹, Nuray Erin², Necdet Demir¹, Mustafa Gökhan Ertosun³, Gamze Tanrıöver¹
¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye
²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye
³Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Meme kanseri kadınlarda en sık gözlenen; akciğer, karaciğer ve beyine metastaz yapma kapasitesi yüzünden mortalitesi oldukça yüksek bir kanser türüdür. Kanserin hücre dışı matriks proteinlerinde (HDM) değişiklikler meydana getirerek yeni bir mikroçevre oluşturduğu bilinmektedir. Nefronektin; epiteliyal mezenkimal geçişte rol oynadığı bilinen bir HDM proteini olup, tümör gelişimi ve metastazında rol alabileceği de düşünülmektedir. Çalışmamızın amacı; farklı metastatik yeteneklere sahip meme kanseri hücrelerinde nefronektin ekspresyonundaki değişimleri belirlemektir.

Çalışmamızda; 4T1 (metastatik meme tümör hücre hattı) hücrelerinin kalp ve karaciğer dokularına metastazları sonrasında elde edilen 4THM ve 4TLM hücre hatları ile benign karakterli 67NR hücre hattı primer tümörler olarak seçildi. 4THM, 4TLM (100.000 hücre/fare) ve 67NR (1.000.000 hücre/fare) hücre hatları 8-10 haftalık Balb/C dişi farelerin meme dokularına ortotopik olarak enjekte edildi. Enjeksiyondan 15 ve 25 gün sonra fareler sakrifiye edilerek primer tümörleri, karaciğer ve akciğer dokuları alındı, parafin bloklar hazırlandı. Nefronektin ekspresyonu immünohistokimya ve Western blot metodlarıyla değerlendirildi. Sonuçlar ekspresyonların anlamlandırılması için image J analizi sonrasında istatistiksel olarak değerlendirildi.

Primer tümörlerde, enjekte edilen tümör hücrelerinin metastatik yetenekleri ile ilişkili olarak nefronektin immünreaksiyonunun azaldığı gözlemlendi. Metastatik olmayan 67NR hücre hattı enjekte edilen hayvanların primer tümörlerinde ise ekspresyon daha yoğun bulundu. Karaciğer ve akciğer dokularında nefronektin ekspresyonunun, 4TLM gruplarında diğer gruplara göre daha zayıf ekspresyon olduğu gözlemlendi. Primer tümörlerde gözlemlenmediğimiz immünohistokimyasal bulgularımız western blot yöntemiyle de doğrulandı. En agresif hücre hattımız olan 4TLM enjekte edilen hayvanların metastatik organlarında ve primer tümörlerinde nefronektin ekspresyonunun en düşük seviyede olması; bu molekülün anti-tümoral etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

Sonuçlarımız, nefronektin ekspresyonunun metastatik nişdeki kaybının 4TLM hücrelerinin agresiviteyi ve metastazlarıyla ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu anlamda tümörün büyümesi ve devamlılığında metastatik nişde nefronektinin rolü bu çalışmayla ilk defa gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, metastaz, nefronektin, 4TLM, 4THM, 67NR

Nephronectin is decreased in metastatic breast carcinoma and related to metastatic organs

Sayra Dilmac¹, Nuray Erin², Necdet Demir¹, Mustafa Gökhan Ertosun³, Gamze Tanrıöver¹
¹Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology
²Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology
³Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics

Breast cancer is one of the leading causes of the death in women. Mortality is due to a type of distant metastasis lung, liver and brain metastasis. It is known that cancer creates a new microenvironment in which changes in extracellular matrix (ECM) proteins occur. Nephronectin is an ECM protein known to play a role in epithelial mesenchymal transition and it might play a role in development of cancer and its metastasis. The goal of this study was to determine changes in Nephronectin expression in breast cancer cells with different metastatic ability.

In our study; 4THM and 4TLM cell lines obtained from the metastasis of 4T1 (metastatic breast tumor cell line) cells to heart and liver tissues were used. Furthermore non-metastatic benign 67NR cells were also used. 4THM, 4TLM (100.000 cell/mouse) and 67NR (1.000.000 cell/mouse) cells were injected to the breast tissues of Balb/C female mice (8-10 weeks old) orthotopically. After 15

and 25 days injection, the primary tumors, liver and lung tissues were obtained and paraffin blocks were prepared. Nephronectin immunoreaction was evaluated by immunohistochemistry and Western blot methods. The results intensity was quantified using image J software.

In primary tumors, depending on metastatic ability of the cancer cells, nephronectin immunoreaction was decreased. It was found that nephronectin expression was higher in primary tumors of non- metastatic 67NR cells. In the liver and lung tissues nephronectin was decreased in 4TLM groups compared to other groups. Our findings were further verified by western blot method in primary tumors. Nephronectin levels were lowest in tumors and metastatic lesions of animals injected with most aggressive cell line (4TLM) which may indicate anti-tumoral effects of nephronectin.

These results show that loss of nephronectin in metastatic niche might be involved in aggressiveness and metastasis of 4TLM cells. This is the first study demonstrating the role of nephronectin in metastatic niche in tumor progression.

Keywords: Breast cancer, metastasis, nephronectin, 4TLM, 4THM, 67NR

P139

Endometriyal kanser hücre hatlarında EZH2 proteininin moleküler yöntemlerle değerlendirilmesi

Oya Korkmaz¹, Sevinc Inan¹, Elgin Turkoz Uluer¹, Muzaffer Sancı², Sevil Sayhan³, Gulden Diniz Unlu³

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

²Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Jinekolojik Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

AMAÇ: Endometriyum kanseri, gelişmiş ülkelerde en sık görülen jinekolojik kanserler arasında ikinci sırada yer almaktadır. EZH2 proteini, Polycomb Repressive Complex-2 (PRC2)'nin bir enzimatik alt-birimidir ve Histon 3 lizin 27 metillenmesini (H3K27me3) indükleyen ve spesifik gen transkripsiyonunu susturan epigenetik bir düzenleyicidir. EZH2'nin tümör büyümesi, hücre döngüsü, metastaz ve anjiyogenez gibi birçok biyolojik olayda önemli rolü olduğu ileri sürülmektedir. Bu çalışmada, malignite açısından farklı iki insan endometriyum kanser hücre hatlarında Enhancer of Zeste Homolog-2 (EZH2)'nin moleküler yöntemler ile rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Bu çalışmada, Ishikawa (Tip 1) ve MFE-319 (ACC-423) (Tip 2) insan endometriyum kanseri hücre hatlarında; EZH2 proteininin indirek immunohistokimyasal ve Western blotting yöntemleri ile değerlendirilmesi yapılmıştır. EZH2 proteininin immunoreaktivite boyanmaları hafif (1), orta (2), şiddetli (3) ve çok şiddetli (4) olarak belirlenmiştir. Boyanan hücre sayıları % olarak sayılıp, boyanma şiddetleri ile H-skor elde edilerek, sonuçlar One-way ANOVA istatistiksel testi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR: Çalışmada, malignite açısından farklı iki insan endometriyum kanser hücre hattı (Resim 1), EZH2 immunoreaktivitesi açısından karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde; invaziv olan MFE319 insan endometriyum hücre hattında çok şiddetli (4) immunoreaktivite gözlenirken, Ishikawa hücrelerinde hafif/orta (1/2) olarak izlenmiştir (p<0,05) (Resim 2). H-Skor indeksleri değerlendirildiğinde invaziv kanserde H-Skorun istatistiksel olarak anlamlı artmış olduğu belirlenmiştir (p<0,001) (Tablo 1). Western Blotting yöntemi ile EZH2 proteini varlığı insan endometriyum kanser hücre hatlarında saptanmıştır (Resim 3).

SONUÇ: Malignite yönünden farklı iki farklı insan endometriyum kanser hattında karsinogenez sürecinde EZH2 proteininin prognostik faktör ve kanser tedavisinde hedef molekül olarak önemi ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: EZH2, endometriyum kanseri, immunohistokimya, western blotting

Anahtar Kelimeler: EZH2 proteini, endometriyum kanseri, immunohistokimya, Western Blotting

Investigating the EZH2 protein in endometrial cancer cell lines by using molecular methods

Oya Korkmaz¹, Sevinc Inan¹, Elgin Turkoz Uluer¹, Muzaffer Sancı², Sevil Sayhan³, Gulden Diniz Unlu³

¹Department of Histology&Embryology, Faculty of Medicine, Manisa Celal Bayar University, Manisa, Turkey

²Department of Gynecologic Oncology, Tepecik Training and Research Hospital, Izmir, Turkey

³Department of Pathology, Tepecik Training and Research Hospital, Izmir, Turkey

OBJECTIVE: Endometrial carcinoma (EC) is the second most common gynecological malignancy of the female genital tract worldwide. Enhancer of Zeste Homolog-2 (EZH2), critical component of the polycomb repressive complex 2 and has an intrinsic histone methyl transferase activity that mediates gene silencing by catalyzing trimethylation on lysine 27 of histone H3. EZH2 has been found to be involved in multiple biological processes, such as tumor proliferation, cell cycle, metastasis and angiogenesis. The aim of this study was to investigate the EZH2's role in two different human endometrial cancer cell lines.

MATERIAL-METHODS: Evaluation of EZH-2 protein was investigated in the Ishikawa (Type 1) and MFE-319 (ACC-423) (Type 2) human endometrial cancer cell lines using the indirect

immunohistochemical and Western blotting methods. The immunoreactivity staining of the EZH2 protein was scored as mild (1), moderate (2), strong (3) and very strong (4). Percentage of positively stained cell numbers and staining intensity were used for the calculation of H-score. The results were assessed in the One-way ANOVA statistical test in a comparative manner. $P < 0.05$ was accepted as significant.

RESULTS: In this study, EZH2 immunoreactivity was appraised in two different human endometrial cancer cell lines (Figure 1). While very strong (4) EZH-2 immunoreactivity was seen in the invasive MFE319 human endometrial cancer cell line, mild/moderate (1/2) EZH-2 immunoreactivity was observed in the Ishikawa cancer cell line ($p < 0,05$) (Figure 2). When comparing the H-score results, intensity and positively stained cell numbers were observed to increase in the invasive MFE319 human endometrial cancer cell line in a statistically significant manner ($p < 0,05$) (Table 1). Also, EZH2 protein presence was detected on the human endometrial cancer cell lines, using the Western Blotting method (Figure 3).

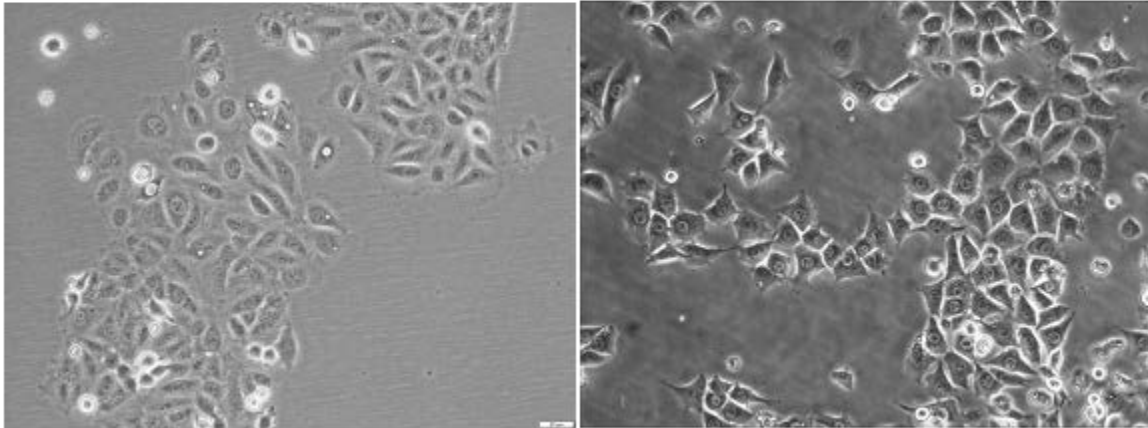
CONCLUSION: In this study, the significance of EZH2 protein was investigated in two different human endometrium cancer cell lines that were different in the way of malignity, which might be a prognostic factor and as a target molecule in cancer treatment.

Keywords: EZH2 protein, endometrial cancer, immunohistochemistry, Western Blotting

Keywords: EZH2 protein, endometrial cancer, immunohistochemistry, Western Blotting

Resim 1
Figure 1

ISHIKAWA **MFE-319 (ACC423)**
Human Endometrial Cell Line **Human Endometrial Cell Line**
Semi-Confluent Appearance

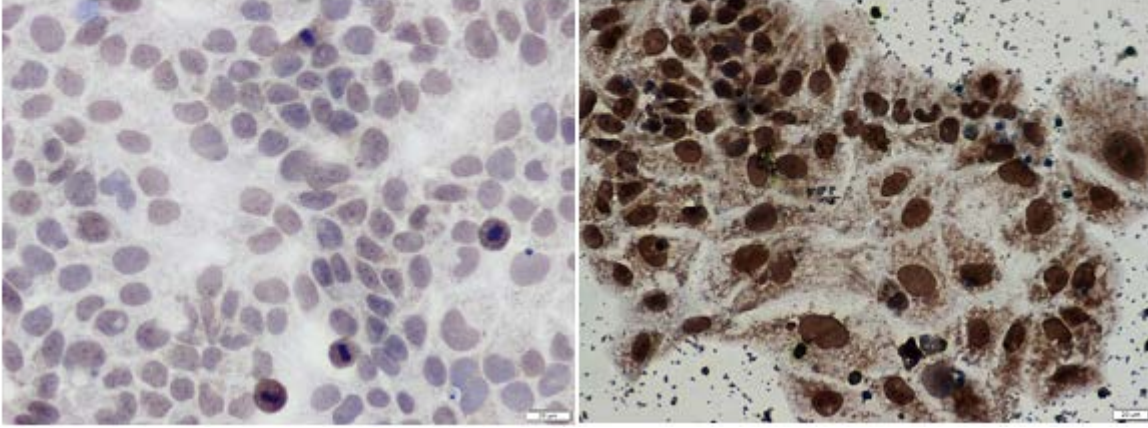


Ishikawa (A) ve invasiv MFE319 (B) insan endometriyum kanser hücre hatlarının yarı-konfluent görüntüleri.

Semi-confluent appearance of Ishikawa (A) and invasive MFE319 (B) human endometrial cancer cell lines.

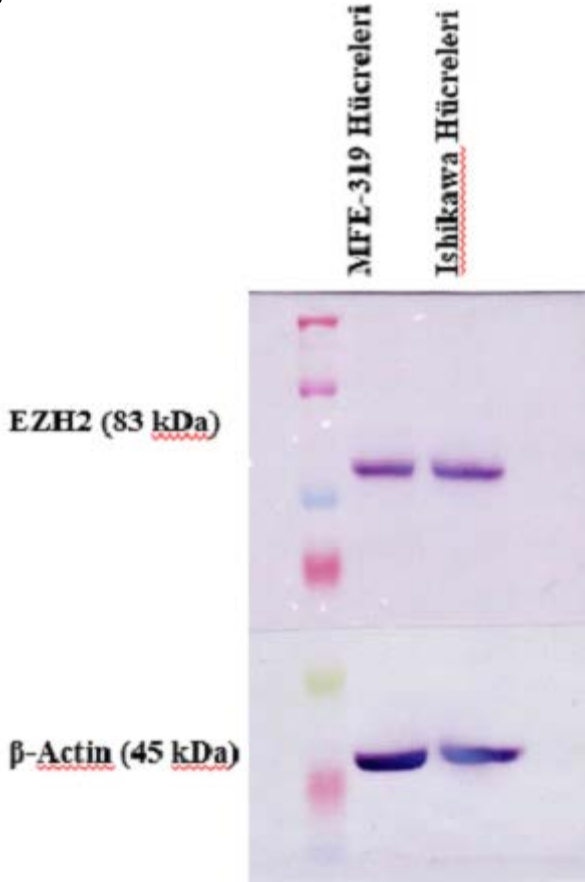
Resim 2
Figure 2

ISHIKAWA **MFE-319 (ACC423)**
Human Endometrial Cell Line **Human Endometrial Cell Line**
EZH 2 protein IHC



Ishikawa (A) ve invasiv MFE319 (B) insan endometriyum kanser hücre hatlarının anti-EZH2 proteini ile immünohistokimyasal boyanma görüntüleri.
Immunohistochemical staining appearance of anti-EZH2 protein in Ishikawa (A) and invasive MFE319 (B) human endometrial cancer cell lines.

Resim 3
Figure 3



Ishikawa ve invasiv MFE319 insan endometriyum kanser hücre hatlarında anti-EZH2 proteininin Western Blotting görüntüleri.
Western Blotting appearance of anti-EZH2 protein in Ishikawa and invasive MFE319 human endometrial cancer cell lines.

Tablo 1

Hücre Hattı	Boyanma şiddeti	Pozitif boyanan hücre %	H-Skor	Sonuç
Ishikawa	1,285	61,285	137,57 ± 31,45	*** p < 0.001
MFE319	3,571	77,428	352,85 ± 78,94	

Ishikawa ve invasiv MFE319 insan endometriyum kanser hücre hatlarında anti-EZH2 proteininin H-Skor sonuçları

Table 1

Cell Lines	Staining Intensity	Positively stained cells %	H-Score	Result
Ishikawa	1,285	61,285	137,57 ± 31,45	*** p < 0.001
MFE319	3,571	77,428	352,85 ± 78,94	

H-Score results of anti-EZH2 protein in Ishikawa and invasive MFE319 human endometrial cancer cell lines

Kaynakça / References: 1. Yamaguchi H, Hung MC. Regulation and Role of EZH2 in Cancer. *Cancer Res Treat.* 2014 Jul;46(3):209-22. 2. Zhou J, Roh JW, Bandyopadhyay S, Chen Z, Munkarah AR, Hussein Y, Alesh B, Jazaerly T, Hayek K, Semaan A, Sood AK, Ali-Fehmi R. Overexpression of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) and focal adhesion kinase (FAK) in high grade endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2013 Feb;128(2):344-8. 3. Zingg D, Debbache J, Schaefer SM, Tuncer E, Frommel SC, Cheng P, Arenas-Ramirez N, Haeusel J, Zhang Y, Bonalli M, McCabe MT, Creasy CL, Levesque MP, Boyman O, Santoro R, Shakhova O, Dummer R, Sommer L. The epigenetic modifier EZH2 controls melanoma growth and metastasis through silencing of distinct tumour suppressors. *Nat Commun.* 2015 Jan 22;6:6051. 4. Vanderstraeten A, Tuyaeerts S, Amant F. The immune system in the normal endometrium and implications for endometrial cancer development. *J Reprod Immunol.* 2015 Jun;109:7-16.

P140

p97/VCP (Valosin içeren protein) ve etkileşimde olduğu proteinlerin insan adrenal tümörlerindeki ekspresyonu

Sevil Çaylı¹, Serdar Balcı², Gülsüm Yarloğlu³, Tuba Özdemir³, Şule Ayık², Mehmet Kılıç², Bekir Çakır⁴

¹Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Patoloji Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁴Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

GİRİŞ: p97/VCP (Valosin içeren protein)'nin Nüklear Faktör kappa B (NFkB) aktivasyon sinyal yolağında çalıştığını, anti-apoptotik fonksiyon gösterdiğini ve tümör metastasında görevli olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur. İnsan adrenokortikal ve adrenal medüller tümörleri tanısı zor olan ve nadir görülen maligniteler arasında yer almaktadır. p97/VCP protein ekspresyonunun adrenokortikal ve adrenomedullar kanserler de klinik önemi belirsizdir. Bu çalışmanın amacı, adrenal tümörü olan büyük hasta gruplarında p97/VCP ve etkileşimde olduğu proteinlerin ekspresyonlarının klinik anlamlarının değerlendirilmesidir.

MATERYAL-METOD: Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD'deki parafin bloklanmış adrenal beze ait arşiv materyallerinden Tissue Microarray yöntemi ile kesitler hazırlandı. p97/VCP ve etkileşimde olduğu bilinen SVIP (Küçük VCP ile etkileşen protein) proteininin ekspresyonları insan adrenomeduller (n: 14) ve adrenokortikal (n: 51) tümör dokularında immunohistokimyasal yöntemlerle belirlendi. H-Score analizi ile immunohistokimyasal ekspresyonlar değerlendirildi. Ek olarak bu proteinlerin tümörlü dokudaki ekspresyonları normal adrenal dokulardaki (n: 6) ekspresyonları ile karşılaştırıldı. Hastalara ait klinik bilgiler protein ekspresyon derecelerine göre değerlendirildi.

BULGULAR: p97/VCP ve SVIP'nin immunohistokimyasal ekspresyonları adrenokortikal ve adrenomedullar tümörlerde normal adrenal dokulara kıyasla, anlamlı derecede artış göstermiştir. p97 / VCP medüller tümör örneklerinin tümünde şiddetli derecede ekspresyon gösterdi. Adrenokortikal tümörlü vakaların %75'inde, p97/VCP şiddetli derecede ekspre olurken %25'inde ise orta derecede ekspresyon gösterdi. SVIP ise tümörsüz adrenal doku örneklerinde zayıf ekspresyon gösterirken, adrenokortikal tümörlü vakaların %80'ninde orta şiddetli, adrenomedüller tümörlü vakalarda ise şiddetli bir ekspresyon sergiledi.

SONUÇ: Adrenal tümörlerde p97/VCP ve SVIP ekspresyonunun normal adrenal dokulara göre anlamlı derece farklılık göstermesi, tanısı ve belirteçleri az olan adrenal tümörlerde p97/VCP ve SVIP'in ek prognostik belirteçler olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Gelecekte planladığımız bu proteinlere ait inhibitör kullanımı ve genetik baskılama çalışmaları ise, metastatik adrenal tümörü olan hastalar için umut verici gözükmektedir.

Anahtar Kelimeler: Adrenokortikal karsinom, Adrenomedüller karsinom, İmmunohistokimya, Doku mikro analizi, Biyobelirteçler

Expression of p97/VCP (Valosin containing protein) and interacting proteins in human adrenal tumors

Sevil Çaylı¹, Serdar Balcı², Gülsüm Yarloğlu³, Tuba Özdemir³, Şule Ayık², Mehmet Kılıç², Bekir Çakır⁴

¹Yıldırım Beyazıt University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Ankara, Turkey

²Yıldırım Beyazıt University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Ankara, Turkey

³Yıldırım Beyazıt University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

⁴Yıldırım Beyazıt University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Ankara, Turkey

INTRODUCTION: p97/VCP (Valosin-containing protein) has been shown to be associated with antiapoptotic function via activation of the nuclear factor- kB (NFkB) signaling pathway and with metastasizing of tumors in several studies. Adrenocortical and adrenomedullar carcinoma are rare

malignancies with a poor prognosis. The clinical significance of p97/VCP and interacting protein expressions in adrenocortical and adrenomedullar carcinoma remain unclear. The aim of this study was to analyze p97/VCP and SVIP expressions that would predict clinical outcomes in a large cohort of patients with adrenal tumors.

MATERIAL-METHODS: A tissue microarray was generated from the paraffin tissue blocks of 71 patients. Immunohistochemistry was performed for p97/VCP and SVIP in both human adrenomedullary (n: 14) and adrenocortical (n: 51) tumors. Immunohistochemistry was evaluated by H-Score analysis. Additionally, expression of proteins in normal human adrenal tissues (n: 6) was compared with their expressions of adrenal tumors. Staining patterns were correlated with clinical outcomes and a multivariate analysis was undertaken to identify potential biomarkers of prognosis.

RESULTS: p97/VCP and SVIP were significantly overexpressed in adrenal tumors compared to normal adrenal tissues. p97/VCP showed aberrant expression throughout the entire specimen in medullar and cortical tumors. Moderate p97/VCP expression in 25% of patients and strong expression was determined in 75% of all cases. Nontumorous tissues showed weak to moderate expression of p97/VCP. SVIP demonstrated low expression in nontumorous adrenal tissues. However, 80% of all cases showed moderate SVIP expression in adrenocortical tumors and adrenomedullar tumors displayed strong expression for SVIP.

CONCLUSION: The level of p97/VCP and SVIP determined by immunohistochemistry could be additional prognostic markers in adrenal tumors. Our results suggest that p97/VCP and SVIP are highly expressed in adrenal tumors and are attractive targets for adrenal tumor therapy. In future studies, inhibitors of these proteins may be a good candidate to test experimental and clinical trials for patients with advanced and metastatic adrenal tumors.

Keywords: Adrenocortical carcinoma, Adrenomedullar carcinoma, Immunohistochemistry, Tissue microarray, Biomarkers

P141

Ehrlich Solid Tümörlerinde Kanser Kök Hücre Varlığının İmmunohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi

Gözde Özge Önder¹, Saim Özdamar¹, Tolga Ertekin²

¹Erciyes Üniversitesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi, Anatomi Anabilim Dalı, Kayseri

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ile karakterize edilen bir hastalıktır. Tümör gelişimi, yayılması ve sürdürülmesinde kanser hücrelerinin kendi başlarına hareket etmeleri yanı sıra kanser kök hücrelerinin kanseri oluşturduğu ve kanserin relapsı ve metastazında kanser kök hücrelerinin rolü olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, stok solüsyondan elde edilen ve farelere transplante edilen Ehrlich solid tümör kitlesinin gelişimi ve morfolojik yapısının incelenmesi ve konak farede kanser kök hücrelerinin varlığının ve niş oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmada stok hayvandan alınan Ehrlich Asit Tümör hücreleri 13 adet Balb/C farenin ense bölgesine subkutan olarak enjekte edildi. Deneyin 14. gününde denekler dekapite edilerek tümör dokuları alındı. Solid tümör dokularından alınan kesit örnekleri, Hematoksilen&Eozin, Masson'un üçlü boyaması ile CD44, CD24 ve periostin ekspresyonunu belirlemek için immunohistokimyasal olarak boyanıp incelendi. Elde edilen immunohistokimyasal boyama yoğunlukları Image J programı kullanılarak rakamsal değerlere döküldü.

Ehrlich solid tümör dokularının hacimleri ortalama 2271.07 mm³'dü. Deneklere aynı sayıda hücre süspansiyonu enjekte edilmesine rağmen denekler arasında tümör boyutları, hacimleri ve denek ağırlıklarının farklı olduğu gözlemlendi. Dokularda hem CD44'ün ve CD24'ün hem hücre sitoplazmasında hem de hücre membranında, periostin'in ekstraselüler matriksde eksprese olduğu belirlendi. Image j ile ekspresyon yoğunlukları sırasıyla ortalama 85.119, 93.941, 84.655 olarak tespit edildi.

Sonuç olarak, CD 44'ün tümör hücrelerinin sitoplazmasında ve membranında eksprese olduğunun gözlenmesi, stok solüsyonundan enjekte edilerek geliştirilen tümör dokularında kanser kök hücrelerinin gelişimi ile ilgili belirsizliği ortaya koymaktadır. CD 24 + hücrelerinin varlığı ise, tümör dokusunun esas olarak olgun kanser hücrelerinden oluştuğunu göstermektedir. Tümör dokusunda periostin ekspresyonu da, enjeksiyon sonrası yeni konakta, Ehrlich solid tümör hücrelerinin kendi nişini oluşturma yeteneğine sahip olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Ehrlich Solid Tümör, Kanser Kök Hücre, CD 44, CD 24, Periostin

Immunohistochemical Investigation of Availability of Cancer Stem Cells in Ehrlich Solid Tumors

Gözde Özge Önder¹, Saim Özdamar¹, Tolga Ertekin²

¹Department of Histology Embryology, Erciyes University Kayseri, Turkey

²Department of Anatomy, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Cancer is a disease characterized by uncontrolled proliferation of cells. As well as cancer cells act their own in tumor growth, dissemination and maintaining, it is thought that cancer stem cells generate cancer and play an important role in cancer relapse and metastasis. The aim of this study was to investigate progression and morphology of the solid tumor which was originated from Ehrlich Ascites Carcinoma cells and to examine the occurrence of cancer stem cells in solid tumor and to determine whether they generate its own niche.

In this study Ehrlich Ascites Carcinoma cells which were collected from reserve host were injected in nape of the 13 Balb/C male mice. Animals were decapitated and solid tumors were taken on 14th day of the study. Paraffin-embedded solid tumor sections were stained Hematoxylin-Eosin, Masson's Trichrome and immunohistochemically with CD44, CD24 and periostin.

Ehrlich solid tumor's volume was average 2271.07 mm³. Although the same numbers of Ehrlich Ascites Carcinoma cells were injected to animal hosts, solid tumor's size and volume and animal host's weight were different from each other. CD44 and CD24 staining were detected both cytoplasm and membrane of tumor cells in solid tumor, periostin was expressed in extracellular matrix of the solid tumor. The intensity of CD44, CD24 and periostin expression was average respectively 85.119, 93.941 and 84.655. Immunohistochemical staining intensities are obtained

using Image J program.

In conclusion, observation that CD44 expressing in both cell membrane and cytoplasm of tumor cells, development of cancer stem cells reveals uncertainty in transplantable tumor tissues. The presence of CD 24 + cells indicate that tumor tissue is mainly formed mature cancer cells. Presence of periostin expression demonstrated that Ehrlich Solid Tumor cells have the ability to generate their own niche.

Keywords: Ehrlich Solid Tumor, Cancer Stem cell, CD44, CD24, Periostin

P142

DeneySEL hepatokarsinoma modelinde arı zehrinin hücreSEL ve moleküler mekanizmalarının araştırılması

Pelin Atmaca¹, Şevki Arslan¹, Ayşegül Uysal², Eda Açıkgöz³, Alaattin Şen¹

¹Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli, Türkiye

²Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, İzmir, Türkiye

³Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji AD, Van, Türkiye

Arı zehrinin, antibakteriyel, antiviral ve antiinflamatuvar etkileri ile birlikte bazı insan kanser hücre hatlarında apoptozu indükleyerek antitümör aktivitesinin de bulunduğu çeşitli araştırmalarda bildirilmiştir. Kanser hücrelerinde arı zehrinin neden olduğu hücre ölüm mekanizması ise tam olarak anlaşılmış değildir. Bu çalışmada, dietilnitrozamin (DEN) ile indüklenen deneySEL hepatokarsinom modelinde Anadolu arı zehrinin (AAZ) in vivo antikarsinojenik etkilerinin moleküler ve hücreSEL mekanizmalarının araştırılması amaçlandı. Wistar cinsi erkek sıçanlara 16 hafta boyunca haftada 1 olmak üzere 40 mg/kg DEN enjeksiyonu yapılarak deneySEL hepatokarsinom modeli oluşturuldu. Daha sonra AAZ 1 mg/kg ve 250 µg/kg olmak üzere belirlenen iki doz 6 hafta boyunca haftada 3 kere uygulandı. Wistar cinsi erkek sıçanlara dört gruba ayrılmıştır: kontrol, DEN grup, düşük doz AAZ uygulanan grup ve yüksek doz AAZ uygulanan grup. Deney periyodunun sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek karaciğerleri çıkarıldı. Karaciğerlerde histopatolojik değişiklikler ışık mikroskopunda incelendi. Prolifere hücre nükleer antijeni (PCNA), α-fetoprotein (AFP) ve matriks metalloproteaz-2 (MMP-2) immunoreaktivitesinde meydana gelen değişimler immunohistokimya boyaması yapılarak incelendi. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (rt-PCR) ile apoptoz, anjiyogenez ve hücre döngüsü ile ilişkili gen ifadelerinin analizleri gerçekleştirildi. Işık mikroskopik incelemeler DEN grubunda Remark kordonlarında hepatik mimarinin bozulduğu ve belirgin dejeneratif lobüler formasyon alanları, yaygın yağlı karaciğer yapısı ve kistik dilatasyonlar görülmüştür. Hepatositlerde vakuolleşme, büyük çekirdek ve yoğun eozinofil gibi dejeneratif değişiklikler gösterilmiştir. Diğer taraftan yüksek doz AAZ ile tedavi grubunda kontrol grubuna benzer histoloji göstermiştir. Tümör progresyon belirteçlerinin immunohistokimyasal değerlendirilmeleri sonucunda DEN grubunda PCNA, AFP ve MMP-2 immunoreaktivitesinin normale kıyasla arttığı görülmüştür. AAZ ile tedavi edilen grupta ise bu belirteçlerin immunoreaktivitesinin DEN grubu ile karşılaştırıldığında azaldığı tespit edilmiştir. Gen ifade analizlerinden elde edilen sonuçlar yüksek doz arı zehri grubunun kanserli dokularda oluşan tümör gelişimini, kanserli hücrelerin proliferasyonunu azalttığı, apoptozu indüklediği, anjiyogenezi inhibe ettiğini göstermiştir. Sonuç olarak, DEN ile indüklenen karaciğer kanser modelinde tedavi amaçlı olarak kullanılan arı zehrinin iyileştirici etkisi morfolojik, histolojik, moleküler ve genetik yöntemlerle incelendi. Elde edilen sonuçlar AAZ'nin tümör büyümesi ve progresyonunun inhibisyonunda etkili olabileceğini desteklemektedir. Anadolu arı zehrinin anti-tümör etki mekanizmasının tüm yönleri ile anlaşılması olası yeni tedavi stratejilerinin belirlenmesi yönünden yararlı olacaktır. Aynı zamanda ileri toksikolojik ve farmakolojik testlerin yapılması arı zehrinin olası yan etkilerinin azaltılması konusunda gerekli görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anjiyogenez, Apoptoz, Arı Zehri, Dietilnitrozamin, Hepatokarsinom

Investigation of the molecular and cellular mechanisms of bee venom in experimental model of hepatocarcinoma

Pelin Atmaca¹, Şevki Arslan¹, Ayşegül Uysal², Eda Açıkgöz³, Alaattin Şen¹

¹Pamukkale University, Faculty of Arts & Sciences, Department of Biology, Denizli, Türkiye

²Ege University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, İzmir, Türkiye

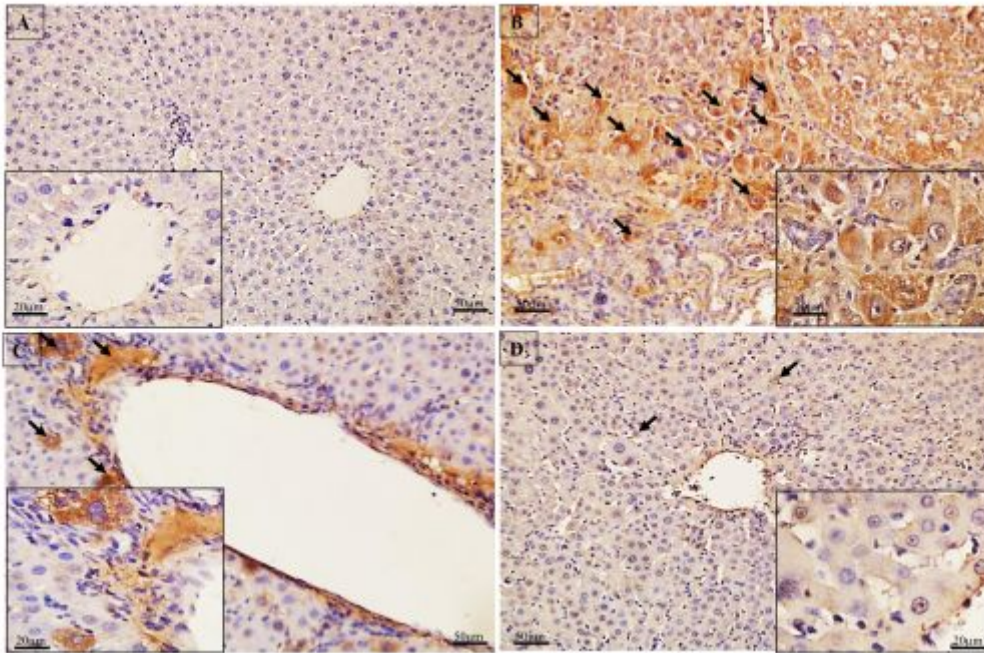
³Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Van-Türkiye

It has been reported that Bee venom has anti-tumor activity by inducing apoptosis in several human cancer cell lines as well as antibacterial, antiviral and anti-inflammatory effects. The cell death mechanism of bee venom in cancer cells is not completely understood. The purpose of this study is to investigate the molecular and cellular mechanisms of anti-carcinogenic effects of Anatolian bee venom (ABV) in diethylnitrosamine-induced hepatocarcinoma. Male Wistar rats

treated with 40 mg/kg diethylnitrosamine (DEN), once a week for 16 weeks. Then ABV was applied to rats at two different doses (1mg/kg and 250µg/kg) three times a week for six weeks. Rats divided in four groups were used: control, DEN group, low dose-treatment of ABV and high dose-treatment of ABV. At the end of the experimental period, animals were sacrificed, and livers were removed. Histopathological changes in the liver were examined by light microscopy. Immunohistochemical staining was performed to examine the immunoreactivity of PCNA, AFP, and MMP-2. RT-PCR was performed to analysis apoptosis, angiogenesis, and cell cycle-related gene expression. In light microscopic examination, livers from animals treated with DEN showed disruption of Remark cords and hepatic architecture. Also significant degenerative lobular formation areas, common fatty liver structure and cystic dilation were observed. Hepatocytes underwent degenerative changes, such as nuclear vacuolation, large nuclei and eosinophilic cytoplasm. On the other hand, the liver tissues treated with high dose-treatment of BV showed normal-like appearance of the structure of liver. Immunohistochemical evaluation of results of tumor progression markers showed that the immunoreactivity of PCNA, AFP and MMP-2 were increased compared to the normal control group. The immunoreactivity of PCNA, AFP and MMP-2 in hhe liver tissues treated with ABV were decreased when compared with the DEN group. The results obtained from gene expression analysis showed that high bee venom dose group caused inhibition of tumor development, decrease proliferation of cancer cells, induce apoptosis and inhibit angiogenesis. Consequently, the therapeutic effects of bee venom used for treatment in diethylnitrosamine-induced hepatocarcinoma were investigated by using morphologic, histologic, and molecular genetic methods. The results obtained from this study supported that ABV should be effective in the inhibition of tumor growth and progression. Understanding all aspects of the antitumor effect of ABV mechanism would be useful in terms of identifying potential new treatment strategies. At the same time, carrying out the further toxicological and pharmacological tests of bee venom is necessary for reducing the possible side effects of bee poison.

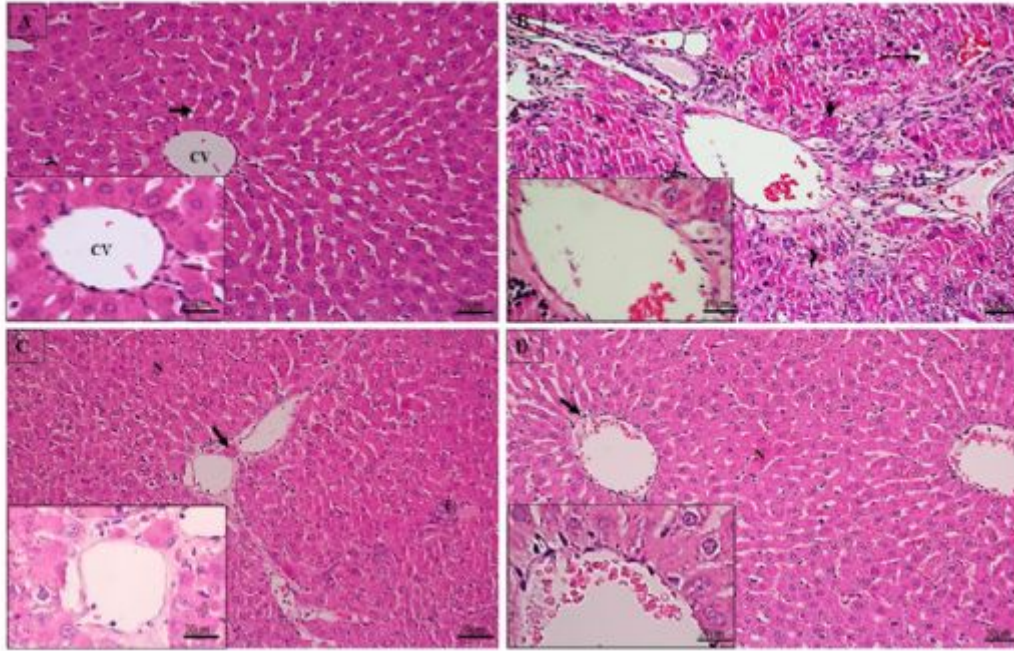
Keywords: Angiogenesis, Apoptosis, Bee venom, Diethylnitrosamine, Hepatocarcinoma

AFP immunoreaktivitesi Immunoreactivity of AFP

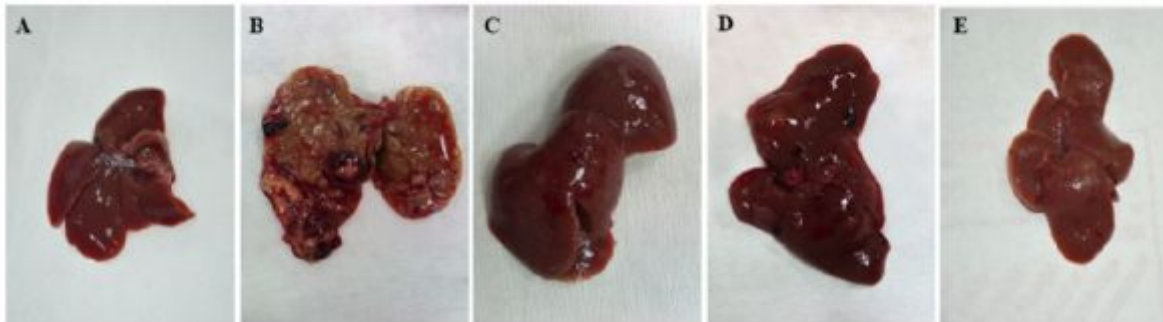


H&E ile boyanan rat karaciğerinin histolojik kesiti

The histological sections of rats liver stained by hematoxylin and eosin.



Karaciğer
Liver



Kaynakça / References: Hong S. J., Rim G. S., Yang H. I., Yin C. S., Koh H. G., Jang M. H., Kim C. J., Choe B. K., Chung J. H., "Bee venom induces apoptosis through caspase-3 activation in synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis", *Toxicon*, 46, 39–45, (2005). Hu H., Chen D., Li Y. & Zhang X., "Effect of polypeptides in bee venom on growth inhibition and apoptosis induction of the human hepatoma cell line SMMC-7721 in-vitro and Balb/c nude mice in-vivo", *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58, 83–89, (2006). Jang, M. H., Shin, M. C., Lim, S., Han, S. M., Park H. J., Shin I., "Bee venom induces apoptosis and inhibits expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human lung cancer cell line NCI-H1299", *Journal of Pharmacology Science*, 91, 95–104, (2003).

P143

Normal, Prostatik İntraepitelyal Neoplazi (PİN) ve Malignant Prostat Dokularında Notch Sinyal Yolağı Üyelerinin İmmunohistokimyasal Lokalizasyonlarının Belirlenmesi

Hakan Soylu¹, Sema Avcı¹, Nuray Acar¹, Özlem Özbey Ünlü¹, İbrahim Türker Köksal², Betül Ünal³, Akif Çiftçioğlu³, İsmail Üstünel¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

³Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Prostat bezi erkek üreme sisteminde fonksiyon gören ekzokrin bir bezdir. Bu organ üç bölge içerir. Bu bölgeler; sentral zon, periferal zon, tranzisyon zonlarıdır. Notch sinyal yolağı, embriyonik ve yetişkin dokularda proliferasyon, farklanma ve hücre kaderinin belirlenmesini düzenler. Bu yolak, dört adet transmembran reseptörü (Notch1-4), beş adet transmembran ligandı (Jagged1-2, Delta1, 3 ve 4) ve aktive Notch'un farklanma ve hayatta kalma ile ilişkili HES ve HEY proteinlerinden oluşur. Prostat kanseri (PCa), erkeklerde kanser ile ilişkili ölümlerde ikinci sırayı almaktadır. PCa gelişiminin, progresyonun ve metastazının, biyolojik ve moleküler mekanizmalarını anlamak için, daha önce, birçok çalışmalar yapılmıştır. Ancak PCa'nın gelişimi ve progresyonunun altında yatan moleküler mekanizmalar ve Notch sinyal yolağı ile ilişkisi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bu nedenle bu çalışmada, insan normal prostat, prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) yapıları ve prostat kanseri dokularında, Notch sinyal yolağı üyelerinden Notch1-4, Jagged1-2, Delta, HES1 ve HES5'in immüno lokalizasyonlarının ve ekspresyon seviyelerinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada, prostatektomi geçirmiş 10 hastaya ait prostat dokuları kullanıldı. Parafin ile bloklanmış doku kesitlerinde Notch1-4, Jagged1-2, Delta, HES1 ve HES5 immüno lokalizasyonları immunohistokimyasal yöntemle belirlendi. Bu çalışmanın bulguları; çalışılan tüm Notch sinyal yolağı üyelerinin PİN yapılarında diğer dokulara oranla daha yüksek oranda lokalize olduklarını ve bu üyelerden özellikle Notch1, Notch4, Jagged1 ve HES1'in daha belirgin düzeyde olduğunu gösterdi. Sonuç olarak bu çalışmanın bulguları, Notch sinyal yolağının, özellikle PIN yapılarının oluşumunda rol alabileceğini gösterebilir.

Anahtar Kelimeler: immunohistokimya, kanser, Notch, prostat

Determination of Immunohistochemical localizations of Notch pathway members in normal, prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) and malignant prostate tissues

Hakan Soylu¹, Sema Avcı¹, Nuray Acar¹, Özlem Özbey Ünlü¹, İbrahim Türker Köksal², Betül Ünal³, Akif Çiftçioğlu³, İsmail Üstünel¹

¹Department of Histology and Embryology, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

²Department of Urology, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

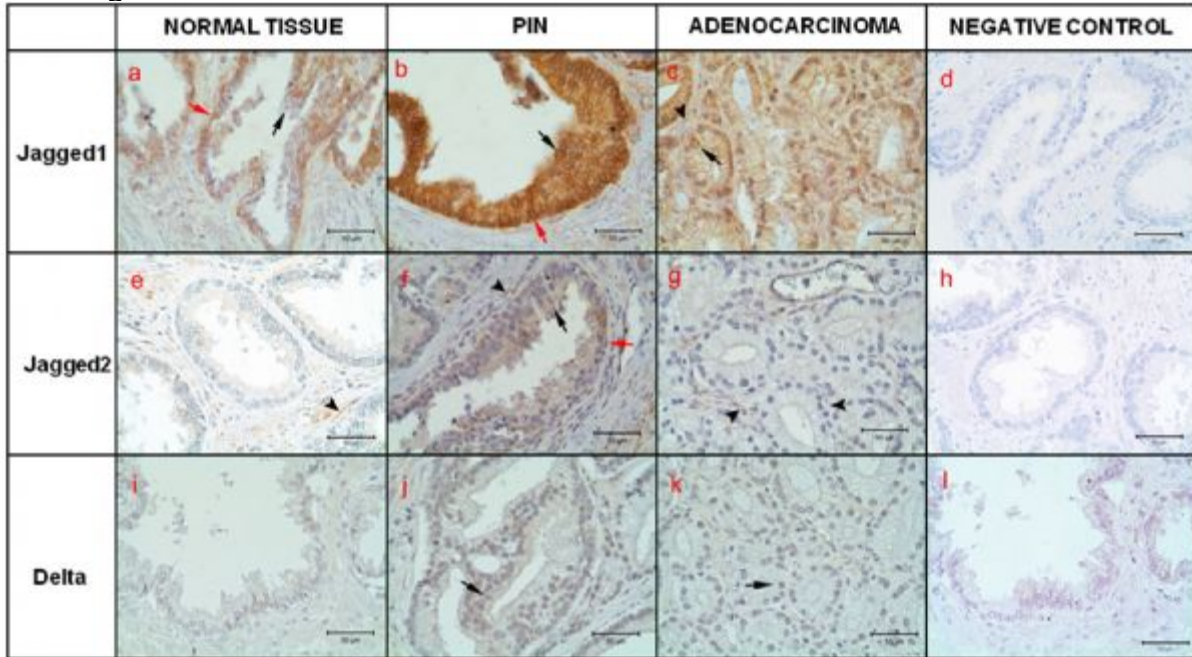
³Department of Pathology, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

The prostate is a gland with exocrine functioning in the male reproductive system. This organ consists of three zones. These zones are the central zone, the peripheral zone and the transition zone. The Notch signalling pathway regulates the proliferation and differentiation in embryonic and adult tissues and determines the cell fate. This pathway consists of four transmembrane receptors (Notch1-4), five transmembrane ligaments (Jagged1-2, Delta1, 3 and 4) and HES and HEY proteins of the active Notch that are relevant for differentiation and survival. Prostate cancer (PCa) mainly occurs in the peripheral zone of the prostate tissue. PCa holds the second place in terms of cancer-related mortality rate among men. Numerous studies have been conducted with the aim of understanding the biological and molecular mechanisms involved in the development, progression and metastasis of PCa. However, the molecular mechanisms underlying the development and progression of PCa and relationship with Notch signaling pathway have not yet been completely brought to light. Therefore, the present study aimed to examine the immuno-localisations and expression levels of Notch1-4, Jagged1-2, Delta, HES1 and HES5 from among the members of the Notch signalling pathway in tissues of normal human prostate, prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) structures and prostate cancer. The study used prostate tissue belonging to 10 patients that had undergone prostatectomy. Tissue cross-sections blocked with paraffin and the immuno-localizations of Notch1-4, Jagged1-2, Delta, HES1 and HES5 were identified through the

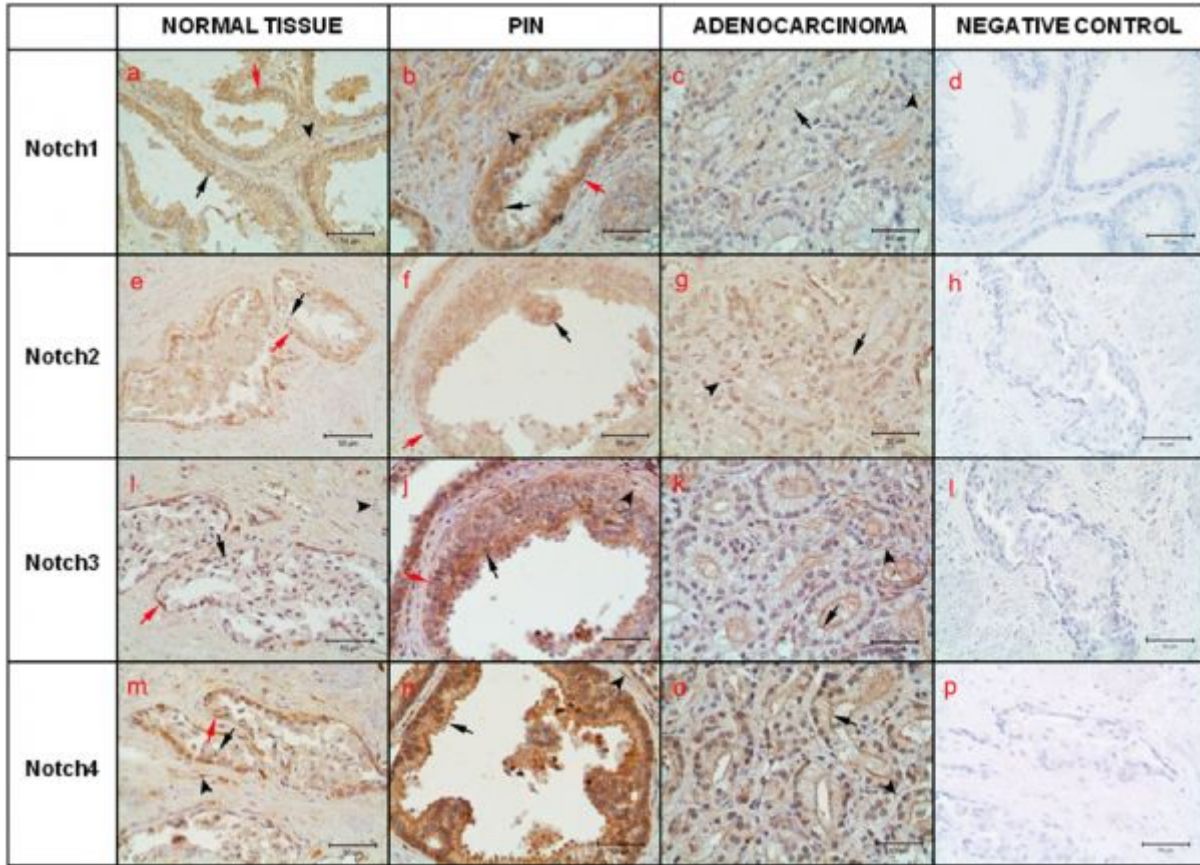
immunohistochemical method. The findings of the present study showed that all in-scope members of the Notch signalling pathway were localised in PIN structures to a greater extent than in other tissues and from amongst these members, specifically Notch 1, Notch4, Jagged1 and HES1 were at more significant levels. Consequently, the findings of the present study may indicate that the Notch signalling pathway can play a role especially in the formation of PIN structures.

Keywords: cancer, immunohistochemistry, Notch, prostate

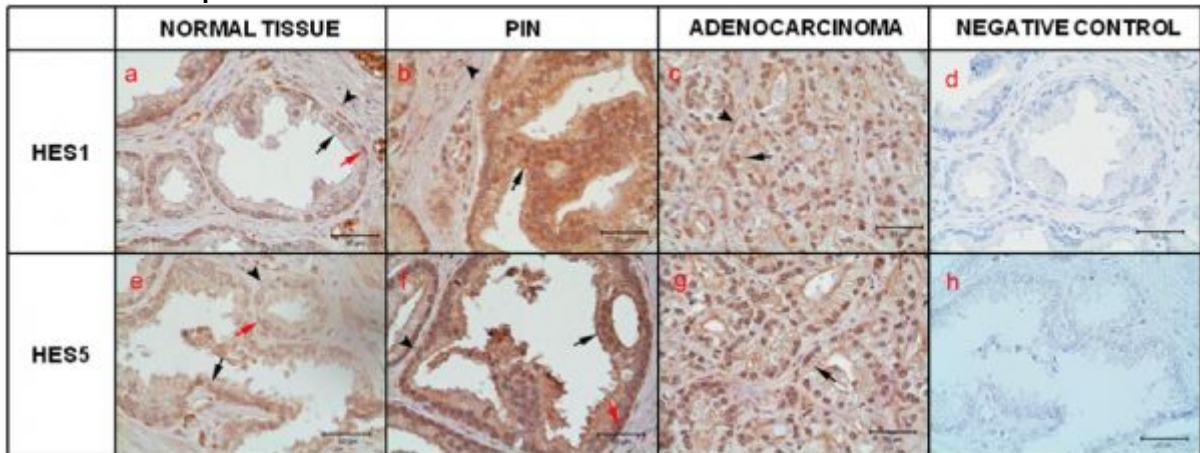
Notch Ligandları
Notch Ligands



Notch Reseptörleri
Notch Receptors



**Notch Transkripsiyon Faktörleri
Notch Transcription Factors**



Kaynakça / References: 1. Abate-Shen C. and Shen M.M. (2000). Molecular genetics of prostate cancer. *Genes & development* 14, 2410-2434. 2. McNeal J.E. (1972). The prostate and prostatic urethra: A morphologic synthesis. *The Journal of urology* 107, 1008-1016. 3. McNeal J.E. (1984). Anatomy of the prostate and morphogenesis of bph. *Progress in clinical and biological research* 145, 27-53. 4. McNeal J.E. (1988). Normal histology of the prostate. *The American journal of surgical pathology* 12, 619-633. 5. Gridley T. (2007). Notch signaling in vascular development and physiology. *Development* 134, 2709-2718 6. Blaumueller C.M., Qi H., Zagouras P. and Artavanis-Tsakonas S. (1997). Intracellular cleavage of notch leads to a heterodimeric receptor on the plasma membrane. *Cell* 90, 281-291. 7. Miele L. (2006). Notch signaling. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* 12, 1074-1079. 8. Miele L., Miao H. and Nickoloff B.J. (2006). Notch signaling as a novel cancer therapeutic target. *Current cancer drug targets* 6, 313-323.

P144

Hipoksi Nöroblastoma Hücrelerinde miRNA Ekspresyonunu Tetikler mi?

Tuna Önal¹, Elgin Türköz Uluer¹, Sevtap Gökalp¹, Mehmet İbrahim Tuğlu¹, Hafize Seda Vatansever²

¹Celal Bayar Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa

²Celal Bayar Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Deneysel Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

AMAÇ: Hipoksi solid tümörlerin mikroçevresinin yaygın bir özelliğidir. Hipoksiyi düzenleyen genler proliferasyon, anjiyogenez, metabolizma, ölümsüzlük, migrasyon, karsinogenez ve mikroRNA (miRNA)'nın düzenlenmesi gibi birçok biyolojik süreçte rolü olduğu bilinmektedir. miRNA'lar gen ekspresyonunun kontrolünden sorumlu olan kodlanmayan kısa RNA'lardır. Her miRNA RNA-işleyen enzim olan Drosha ve Dicer tarafından parçalandıktan sonra primer transkript olarak kopyalanır. miRNA'ların çoğu hipoksiye maruz kaldığında downregüle olduğu gösterilmiştir. Hipoksi indükleyici faktörler (HIF'ler) hipoksi ve miRNA'nın ilişkilendirilmesinde önemli role sahiptir. Bu çalışmada nöroblastoma hücre hattında hipoksi/RNA işleme enzimlerinin ilişkisinin tanımlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD: Nöroblastoma hücre hattı (NB2A) ATCC'den satın alınmıştır. Hücreler 37 °C'de %5'lik CO₂'li ortamda %10 fetal sığır serumu, 2mM L-glutamin ve %1 penisilin-streptomisin ile desteklenmiş DMEM medyumunda kültüre edilmiştir. Hücreler %80 monolayer konfluens olduktan sonra pasaj edilmiştir ve iki gruba ayrılmıştır. Grup 1'deki hücreler normal şartlarda kültüre edilmiştir. Grup 2'deki hücreler %5 CO₂, %3 O₂ ve %92 N₂ gaz karışımı olan hipoksi ortamında 36 saat kültüre edilmiştir. Daha sonra hücreler %4'lük paraformaldehitte fikse edilmiştir ve indirekt immunohistokimya boyama yöntemi kullanılarak anti-HIF-1α, anti-dicer, anti-drosha ve anti eIF2 α dağılımına incelenmiştir.

SONUÇLAR: Grup 1'de HIF-1α immunoreaktivitesi gözlenmez iken, hipoksik uygulamadan sonra HIF1α immunoreaktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Dicer immunoreaktivitesi kontrol ve hipoksi gruplarında benzer iken, drosha ve eIF2α immunoreaktivitelerinin sadece hipoksi grubunda yüksektir.

TARTIŞMA: Sonuç olarak hipoksik şartlar RNA işleyici enzimler olan HIF1α, Drosha ve EIF2α ekspresyonunu tetiklemiştir. Bu nedenle nöroblastoma hücre hattında hipoksi indüklemesi ile RNA işleyici enzimlerin miRNA ekspresyonları değiştirilebileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Nöroblastoma, Hipoksi, miRNA, HIF1α

Can Hypoxia Induced miRNA Expression in Neuroblastoma Cell Line?

Tuna Önal¹, Elgin Türköz Uluer¹, Sevtap Gökalp¹, Mehmet İbrahim Tuğlu¹, Hafize Seda Vatansever²

¹Celal Bayar University, Department of Histology&Embryology, Manisa, Turkey

²Celal Bayar University, Department of Histology&Embryology, Manisa, Turkey, Experimental Health Science Research Center, Near East University, Nicosia, Turkish Republic of Northern Cyprus

AIM: Hypoxia is a common feature of the microenvironment of solid tumors. Hypoxia-regulated genes are known to be involved in multiple biological processes, such as proliferation, angiogenesis, metabolism, immortalization, migration, carcinogenesis and regulation of microRNA (miRNA) expression. miRNAs are short, noncoding RNAs which control of gene expression. Each miRNA is transcribed as a primary transcript that is then cleaved by a series of RNA-processing enzymes, Drosha and Dicer. The large numbers of miRNAs have been shown to be down-regulated upon hypoxic exposure in a variety of cellular contexts. Hypoxia-inducible factors (HIFs) play an important role in the involvement of hypoxia and miRNA expression. In this study, we aimed to identify the hypoxia/RNA-processing enzymes associations in a neuroblastoma cell line.

MATERIAL-METHOD: Neuroblastoma cell line (NB2A) was purchased from ATCC. The cells were cultured in DMEM medium supplemented with 10% fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine and 1% penicillin-streptomycin 37°C in a 5% CO₂ humidified atmosphere. The cells were passaged after reaching 80% monolayer confluency and separated in two groups. In group 1, cells were cultured in normal condition, Group 2 cells were cultured in hypoxia chamber which have a gas mixture of 5% CO₂, 3% O₂ and 92 % N₂ to provide the hypoxic condition for 36 h. They were then fixed with 4% paraformaldehyde and distribution of anti-HIF-1α, anti-dicer, anti-drosha and anti-eIF2α were

investigated using indirect immunohistochemistry staining.

RESULTS: In group 1, immunoreactivity of HIF-1 α was negative staining, after hypoxic condition, increased HIF-1 α staining was observed. While immunoreactivity of dicer was similar in control and hypoxia groups, drosha and eIF2 α immunoreactivities were higher in only hypoxia group.

CONCLUSION: In conclusion, hypoxic condition triggers the expression of HIF-1 α , Drosha and eIF2 α that are RNA-processing enzymes. Therefore, different miRNA expression may be changed, so, hypoxia induced RNA-processing enzymes in neuroblastoma cell line.

Keywords: Neuroblastoma, Hypoxia, miRNA, HIF1 α

P145

Kanser Kök Hücrelerinde Otofaji İlişkili Gen Ekspresyon Analizi

Hadi Rouhrazi¹, Nevbahar Turgan¹, Ümmü Güven³, Ayşegül Üysal², Gülperi Öktem²

¹Ege Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim dalı, İzmir

³Ege Üniversitesi, Kök Hücre Ana Bilim dalı, İzmir

AMAÇ: Kanser kök hücreleri (KKH) kendi kendini yenileyebilme ve farklı tümör alt tiplerine dönüşebilme özelliğine sahip küçük bir hücre popülasyonu olarak, tümör yığını oluşturarak daha az tümörjenik hücrelerden (non-KKH) ayrılmaktadırlar. Tümörün tekrarlamasından, uzak metastazdan, anjiyogenezden ve ilaç direncinden kanser kök hücrelerinin sorumlu olduğu düşünülmektedir. Kanser kök hücrelerini izole edip tanımlayarak özelliklerini ve karakteristiklerini tam olarak anlayabilmek, kanser tanısı ve terapisini hedefleyen çalışmalar için kilit rol oynamaktadır. Yeni yapılan çalışmalar, otofajinin kök hücrelerin sağkalımıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Tüm hücrelerde var olan temel bir mekanizma olan otofaji; protein sirkülasyonu ve organellerin regülasyonu yoluyla homeostazı destekler. Biz bu çalışmada, meme kanseri kök hücrelerini model alarak kanser kök hücrelerini ve kanser kök hücresi olmayan grupta otofaji ilişkili genlerin ekspresyonlarındaki farklılıkları inceledik.

MATERYAL-METOD: CD44+high/CD24-low yüzey belirteçlerine sahip kanser kök hücreleri flow sitometri metoduyla MCF-7 meme kanseri hücre hattından izole edildiler. KKH ve non-KKH gruplarından total RNA izolasyonu yapılarak, cDNA'lar sentezlendi. Ardından 84 önemli otofaji ilişkili genin ekspresyon seviyeleri qRT-PCR array analiziyle incelendi.

SONUÇLAR: İncelenen genler; otofajik vakuol oluşumu, membrana protein hedeflemesi, protein taşıması, ubikütinasyon ve proteaz aktivitesiyle ilişkili olmasının yanı sıra; şaperon aracılı otofajinin oluşumunda rolü olan genler olarak sınıflanmıştır. KKH ve non-KKH gruplarındaki ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında AMBRA1, ATG4B, MAP1LC3A (var 2), MAP1LC3B, ATG16L2, ATG3, RAB24 (var 2), HSP90AA1, HSPA8 (var 1) ve HSPA8 (var 2) genlerinde dikkat çekici up-regülasyonlar ve down-regülasyonlar tespit edilmiştir.

TARTIŞMA: KKH'leri ve non-KKH'lerindeki otofaji ile ilişkili genlerin ekspresyon profillerinde farklılıklar mevcuttur. Bu bulgular daha etkili tedaviler geliştirmek için kanser kök hücrelerini hedef alma yolunda bize önemli bilgiler sağlayabilirler.

Anahtar Kelimeler: Otofaji, Kanser Kök Hücre, Hücre Sağkalımı

Analysis of Autophagy Related Gene Expression in Cancer Stem Cells

Hadi Rouhrazi¹, Nevbahar Turgan¹, Ümmü Güven³, Ayşegül Üysal², Gülperi Öktem²

¹Department of Medical Biochemistry, Ege University, Izmir

²Department of Histology and Embryology, Ege University, Izmir

³Department of Stem Cell, Ege University, Izmir

OBJECTIVE: Cancer stem cells (CSCs) refer to a subset of tumor cells with the potential to self-renew and differentiate into different cancer subtypes, compared to low-tumorigenic bulk tumor cells (non-CSCs). CSCs are thought to be responsible for tumor recurrence, distant metastasis, angiogenesis, and drug/radiation resistance. Understanding the properties and characteristics of CSCs is key to future study on cancer research, such as the isolation and identification of CSCs, the cancer diagnosis, and the cancer therapy. Recent studies demonstrated that the autophagy is involved in the survival of stem cells. Autophagy, which is constitutively executed at basal level in all cells, promotes cellular homeostasis by regulating organelles and proteins turnover. The present study focused on the differences of expression levels of autophagy-related genes between CSCs and non-CSCs, using breast CSCs as a model system.

MATERIAL-METHOD: Cluster of differentiation (CD) 44+high/CD24-low CSCs were isolated from the MCF7 human breast cancer cell line through flow cytometry cell sorting. Total RNA was isolated and extracted followed by cDNA synthesis from both CSCs and non-CSCs. The qRT-PCR array was used to measure the expression levels of 84 key autophagy-related genes.

RESULTS: Significant up-or down-regulation in gene expression was detected in 10 genes in the breast CSCs compared with non-CSCs. The responding genes could be classified as genes involved

in autophagic vacuole formation and genes responsible for protein targeting to membrane, protein transport, ubiquitination, as well as genes with protease activity and genes responsible for chaperone-mediated autophagy. By comparing the gene expression levels between two groups, significant differences were mainly detected in the AMBRA1, ATG4B, MAP1LC3A (var 2), MAP1LC3B, ATG16L2, ATG3, RAB24 (var 2), HSP90AA1, HSPA8 (var 1) and HSPA8 (var 2) genes.

CONCLUSION: There are some differences in expression profile of autophagy related genes in CSCs compared to non-CSCs. This finding may give key information to target these cells for more effective therapy.

Keywords: Autophagy, Cancer Stem Cell, Cell Survival

P146

Meme kanserine bağlı oluşan inflamatuvar yanıtta c-fos aktivasyonunun değerlendirilmesi

Sayra Dilmaç¹, Nuray Erin², Mansur Cici¹, Gamze Tanrıöver¹

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Meme kanseri kadınlarda akciğer kanserinden sonra ölümlerle sonuçlanma ihtimali en yüksek kanser türüdür. Kanserde primer tümör gelişiminin yanı sıra metastazın önemi dikkati çekmekte ve özellikle de metastaz sırasında inflamatuvar yanıt oldukça aktive olmaktadır. Pro-inflamatuvar sitokinlerden özellikle TNF- α ve IL-6 hem tümör gelişimi hem de metastazında önemli rollere sahiptirler. Aktive olan sinyal yolları aracılığıyla p90RSK'nın aktivasyonunun; c-fos'un transkripsiyonunu arttırdığı da düşünülmektedir. Ancak bu aktivasyonun tümör gelişimdeki rolü henüz açıklanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda, metastatik ve metastatik olmayan yollarda tümörün yarattığı inflamatuvar yanıtı bağlı p90RSK aktivasyonu ile c-fos'un ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızda metastatik 4TLM ve metastatik olmayan 67NR hücre hatları Balb/C dişi farelerin meme dokusuna ortotopik olarak enjekte ettikten 27 gün sonra; primer tümör ve karaciğer dokuları çıkartıldı. Tümörün oluşturduğu inflamatuvar yanıtı bağlı olarak karaciğer dokularında p-p90RSK ve c-fos aktivasyonu ile IL-6 ve TNF- α ekspresyonları immunohistokimyasal olarak değerlendirildi. Ayrıca, primer tümör ve karaciğer dokularında IL-6 ve TNF- α ekspresyon değişimleri ELISA ile kantitatif olarak değerlendirildi. Tüm bulgular tümör enjeksiyonu yapılmamış kontrol hayvanları ile kıyaslanarak ve image J analizleri kullanılarak yorumlandı. Karaciğer dokularında yapılan c-fos immun ekspresyonunun deney gruplarında kontrole göre arttığı gözlemlendi. TNF- α ve IL-6 immun ekspresyonlarının ise 4TLM enjekte edilen gruplarda 67NR gruplarına oranla daha yoğun olduğu dikkati çekmekteydi. TNF- α ve IL-6 ELISA sonuçları immunohistokimya sonuçlarını doğrular nitelikteydi. Primer tümörlerde yapılan incelemelerde ise, p-p90RSK ve c-fos immunreaksiyonlarının 4TLM gruplarında 67NR'ye kıyasla arttığı görülmekteydi. Sonuç olarak; inflamasyon yanıtının metastaz yapma yeteneği yüksek 4TLM hücrelerinin enjekte edildiği farelerin visceral dokularında arttığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle, primer tümörlerin salgıladıkları olası inflamatuvar sitokinler metastatik bir niş yaratırlar.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, inflamasyon, c-fos, TNF- α , IL-6

The evaluation of c-fos activation on inflammatory response depending on breast cancer

Sayra Dilmaç¹, Nuray Erin², Mansur Cici¹, Gamze Tanrıöver¹

¹Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology

²Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology

Breast cancer is the second leading cause of cancer death in women, exceeded only by lung cancer. Tumor-induced inflammatory response is believed to be involved in metastasis of breast cancer. Pro-inflammatory cytokines, especially TNF- α and IL-6 play an important role on both tumor development and metastasis. It is thought that p90RSK activation and transcription of c-fos have increased. However; the role of this activation on the tumor development has not been explained yet. Therefore, in our study the aim was to evaluate the changes in p90RSK activation in c-fos pathway in metastatic and non-metastatic.

In our study, the metastatic 4TLM and non-metastatic 67NR tumor cells were injected into the mammary-pad of Balb/C female mice and primary tumor and liver tissues were removed 27 days after injection of tumor cells. p90RSK, c-fos IL-6 and TNF- α expressions were evaluated as immunohistochemistry in liver tissues. In addition changes of IL-6 and TNF- α level in the primary tumors and liver tissues were evaluated with ELISA. All the findings were interpreted by comparing control animals that were not injected with tumor cells.

It was observed c-fos expression increased in liver tissues of tumor injected animals compared to the control group. TNF- α and IL-6 expressions was increased in 4TLM but not 67NR injected mice. TNF- α and IL-6 levels evaluated by ELISA in liver tissues further verified our immunohistochemistry results. Also, we observed that p90RSK and c-fos expression significantly increased in primary

tumors of 4TLM-injected mice.

In conclusion, our results showed that inflammation response increases in visceral tissues of animals injected with highly metastatic 4TLM cells before metastasis occur. Hence primary tumors create metastatic niche by possibly secreting inflammatory cytokines.

Keywords: Breast cancer, inflammation, c-fos, TNF- α , IL-6

P147

Farklı Metastatik Potansiyeli Olan Meme Kanser Hücre Hatlarında Tedavinin Yan Yüz Bağlantı Molekülleri Üzerine Etkisi

Melike Özgül¹, Gamze Tanrıöver², Sevinç Inan¹

¹Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa, TÜRKİYE.

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya, TÜRKİYE.

GİRİŞ-AMAÇ: Kanser tedavisinde hücre çoğalması, metastaz ve invazyon üzerine etkili olabilecek hücre sinyal moleküllerini etkileyen yeni potansiyel yaklaşımlara gereksinim duyulmaktadır. Bu çalışmada, in vitro olarak düşük (67NR) ve yüksek (4T1) metastatik potansiyeli olan meme kanser hücre hatlarında; PI3K inhibitörü Wortmannin ve anti-anjiyogenik Talidomid'in 24 ve 48 saatlik uygulamalarının hücre-hücre sıkı bağlantı kompleks moleküllerinden Occludin, Claudin ve JAM-A üzerine etkisinin indirek immunohistokimyasal yöntemle araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Meme kanser hücre hatlarında, MTT testi ile ilaçların IC50 değerleri, Wortmannin için 2,5 µM ve Talidomid için 25 µM olarak belirlendi. 24 ve 48 saat ilaç uygulaması yapılan hücreler ve kontrol grubu hücreleri %4 paraformaldehit ile tespit edildi ve indirekt avidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak anti-Occludin, anti-Claudin ve anti-JAM-A primer antikoları ile immunohistokimya yöntemi ile değerlendirildi. İmmun pozitif boyanan hücreler sayıldı ve hafif(1), orta(2), şiddetli(3) ve çok şiddetli(4) olarak değerlendirilen immunoreaktivite şiddetleri ile H-Skor değerleri hesaplandı. Sonuçlar One-way ANOVA testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

BULGULAR: Işık mikroskobu altında 24 ve 48 saatlik kontrol grubu 67NR kanser hücrelerinin immunoreaktiviteleri değerlendirildiğinde, Occludin/Claudin/JAM-A immunoreaktiviteleri sırasıyla hafif-orta/şiddetli/şiddetli-çok şiddetli olarak izlendi. 4T1 kanser hücrelerinin immunoreaktiviteleri değerlendirildiğinde ise 24 ve 48 saatlik kontrol gruplarında Occludin/Claudin/JAM-A immunoreaktiviteleri sırasıyla orta/şiddetli/çok şiddetli olarak izlendi. 67NR ve 4T1 hücrelerinin H-Skor sonuçlarının değerlendirilmesinde ilaç uygulanan gruplarda immunoreaktivitelerin kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış olduğu gözlemlendi (p<0.05). 24 ve 48 saat uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05).

SONUÇ: 67NR ve 4T1 meme kanser hücre hatlarında; Wortmannin ile Talidomid'in 24 ve 48 saatlik uygulamalarının hücrelerin sıkı bağlantı komplekslerini meydana getiren, Occludin, Claudin ve JAM-A moleküllerine etki ettiği gösterilmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda Occludin ve Claudin moleküllerinde meydana gelen değişikliklerin kanser hücrelerinin invazyonu ve progresyonu ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Kanser hücrelerinde yuvarlanma, bağlanma ve transmigrasyon/diapedez adımlarıyla gerçekleşen ekstravazasyonda ise JAM-A molekülünün rol oynadığı bildirilmektedir. Çalışmada, Wortmannin ve Talidomid uygulamalarının Occludin, Claudin ve JAM-A molekülleri üzerinde azaltıcı etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Bu moleküllerin azaltılması ile in-vitro ortamda apoptozun arttığı, tümör hücre migrasyonu ve kanser progresyonu azaldığı düşünülmektedir. Bu ilaçların, uygun dozlarıyla geliştirilebilecek ilaçların kanser tedavisinde etkili olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanser Hücre Hattı, Wortmannin, Talidomid, Yan Yüz Bağlantı Molekülleri.

Effects of Treatment on Cell-Cell Adhesion Molecules on Breast Cancer Cell Lines which have Different Metastatic Potentials

Melike Özgül¹, Gamze Tanrıöver², Sevinç Inan¹

¹Manisa Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Histology & Embryology, Manisa, TURKEY

²Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Histology & Embryology, Antalya, TURKEY

Object: A new approach is needed for cancer treatment via cell signaling molecules that could be effective on cell proliferation, metastasis and invasion. In this study, the aim was to evaluate in vitro effect of 24th and 48th hour applications of PI3K inhibitor Wortmannin and angiogenesis inhibitor Thalidomide. We aim to investigate the distribution of tight junction complex molecules, Occludin, Claudin and JAM-A, on breast cancer cell lines which have low (67NR) and high (4T1)

metastatic potential by using indirect immunohistochemistry.

MATERIAL-METHOD: On breast cancer cell lines, IC50 values were determined as 2.5 μ M for Wortmannin and 25 μ M for Thalidomide by using MTT assay. The 24h and 48h drug administration groups and control groups cells were fixed with 4% paraformaldehyde and evaluated by using avidin-biotin-peroxidase indirect immunohistochemistry technique with anti-Occludin, anti-Claudin and anti-JAM-A primary antibodies. The immune positive cells were counted and H-Score values were calculated with immunohistochemical intensities and were graded as mild(1), moderate(2), strong(3) and very strong(4). Results were statistically evaluated by using the One-way ANOVA test.

RESULTS: Under a light microscope, on 24 and 48 hours control groups of 67NR, immunoreactivities of the Occludin/Claudin/JAM-A were observed as mild-moderate/strong/strong-very strong, respectively. On 24 and 48 hours control groups of 4T1, immunoreactivities of Occludin/Claudin/JAM-A were observed as moderate/strong/very strong, respectively. The evaluation of immunoreactivity H-Score results of 67NR and 4T1 cells, decreased significantly in drug administered groups when compared to control groups($p < 0.05$). Between the immunoreactivities of drug administered groups of 24h and 48h, there was no statistically significant difference($p > 0.05$).

CONCLUSION: It was shown that 24h and 48h applications of Wortmannin and Thalidomide were effective on Occludin, Claudin and JAM-A molecules, which generate tight junction complexes on 67NR and 4T1 breast cancer cell lines. In a variety of studies, the changes occurring in Occludin and Claudin molecules have been demonstrated to be associated with the invasion and progression of cancer cells. JAM-A molecules were reported to play a role in extravasation which occurs with rolling, binding and transmigration/diapedesis steps of cancer cells. In this study, the applications of Wortmannin and Thalidomide were found to have a reducing effect on Occludin, Claudin and JAM-A molecules. It was thought that the reduction of these molecules causes an increase in apoptosis, decrease in tumor cell migration and cancer progression in-vitro conditions. These drugs are thought to be effective in the cancer treatment which could be developed with appropriate doses.

Keywords: Breast Cancer Cell Line, Wortmannin, Thalidomide, Cell-Cell adhesion Molecules.

P148

Fare Meme Kanseri Modeli Metastatik ve Non Metastatik Tümörlerde ve Hücre Hatlarında FoxO1, FoxO3 ve FoxO4 Ekspresyonlarının in vivo ve in vitro Değerlendirilmesi

Nilay Kuşcu¹, Sayra Dilmaç¹, Gamze Tanrıöver¹, Nuray Erin², Çiler Çelik Özenci¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya

GİRİŞ: Etkin tedavi yöntemleri henüz olmadığı için metastatik meme kanseri en önemli sağlık problemlerinden biridir. Tümörün gelişimini destekleyen/baskılayan mekanizmaların belirlenmesi, kanser çalışmalarının hedefini oluşturmaktadır. FoxO transkripsiyon faktörleri; stres koşullarında hücrenin yaşam ya da ölüm gibi kararları almalarında önemli rol oynayan faktörleridir. PI3K/Akt sinyal yolağı tarafından fosforile olduklarında, nükleustan sitoplazmaya taşınarak inaktive edilirler. Son yıllarda yapılan çalışmalar, anti-proliferatif özelliği ile FoxO'ların tümör baskılayıcı rolleri olduğunu göstermektedir. Ancak bilinmektedir ki; etkileştikleri sinyal yollarıyla ilişkili olarak FoxO'ların anti-tümoral veya pro-tümoral etkileri arasında bir denge bulunmaktadır. Bu bağlamda literatürde kanser gelişiminde FoxO'ların mekanizmasını anlamaya yönelik yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bildirilmektedir. Bu çalışmanın amacı; FoxO1, FoxO3 ve FoxO4'ün metastatik ve metastatik olmayan in vivo meme tümörü modelinde ve in vitro meme tümörü hücre hatlarında ekspresyonlarını değerlendirmektir.

GEREÇ-YÖNTEM: 4TLM, 4TBM ve 4THM metastatik meme tümörü hücre hatları (100000 hücre/fare) ile metastatik olmayan 67NR hücre hattı (1000000 hücre/fare) 8-10 haftalık Balb/C dişi farelerin meme dokularına ortotopik olarak enjekte edildi. Enjeksiyondan 25 gün sonra fareler sakrifiye edilerek primer tümör dokuları alındı ve parafin bloklar hazırlandı. FoxO1, FoxO3 ve FoxO4 ekspresyonları değerlendirmek için; in vivo primer tümör doku kesitlerine immünohistokimya ve in vitro hücre hatlarına immunofloresan uygulandı. FoxO'ların ekspresyon şiddetleri ve hücresele lokalizasyonları değerlendirildi.

SONUÇLAR: In vivo ve in vitro meme tümörü hücreleri FoxO transkripsiyon faktörlerini sitoplazmik ve nüklear olarak ekspre ederler ve ekspresyon şiddetleri tümörün metastatik özelliğine göre farklılıklar göstermektedir. FoxO1 proteini; in vivo metastatik olmayan primer tümörlerde metastatik olanlara göre daha fazla ekspre olurken, in vitro metastatik meme tümörü hücre hatlarında da yoğun FoxO1 ekspresyonu görülmüştür. FoxO3 ve FoxO4 proteinleri hem in vitro hem de in vivo koşullardaki tümörlerde, benzer şekilde, metastatik olmayan hücre hatları ve primer tümörlerde yoğun ekspre olurken, metastatik hücre hatları ve primer tümörlerinde ise ekspresyonlarının belirgin şekilde az olması dikkat çekicidir.

TARTIŞMA: Sonuçlarımız FoxO proteinlerinin; metastatik olmayan dokularda ve hücre hatlarında yoğun ekspresyonlarının, metastatik dokularda ve hücre hatlarında belirgin olarak azaldığını göstermektedir. Bu doğrultuda; azalmış FoxO ekspresyonunun metastaz yapma potansiyelini arttırabileceğini ve bu nedenle tümör supresor etkiye sahip olabileceklerini göstermiştir. FoxO1 proteininin in vitro ortamda ekspresyon paterninin farklı olması, tümör hücrelerinin bulunduğu kültür ortamından kaynaklanan niş farklılığı olarak yorumlanabilmektedir. FoxO transkripsiyon faktörlerinin metastatik olmayan tümörlerdeki yoğun ekspresyonu, FoxO'ların tümör hücrelerinin hem in vivo ve in vitro koşullarda metastaz yapmalarını önleyen önemli sinyal yollarından biri olabileceğini göstermektedir.

"Teşekkür: Bu çalışma; 114S384 numaralı proje kapsamında TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir."

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, metastaz, FoxO transkripsiyon faktörleri

Evaluation the Expression of FoxO1, FoxO3, and FoxO4 in Metastatic and Non Metastatic Tumors and Cell Lines from Mouse Breast Cancer Model in vivo and in vitro

Nilay Kuşcu¹, Sayra Dilmaç¹, Gamze Tanrıöver¹, Nuray Erin², Çiler Çelik Özenci¹

¹Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology

²Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology

INTRODUCTION: Metastatic breast cancer is one of the most important health problems because of effective treatment does not exist yet. Determining of the mechanism that supporting/suppressing

tumor development is the main aim of cancer study. FoxO transcription factors play important roles deciding cell survival or death under stress conditions. FoxOs are inhibited moving to cytoplasm when they are phosphorylated by PI3K/Akt pathway. Recent studies suggest that FoxOs have tumor suppressor role with anti-proliferative property. However it is known that; there are balance between FoxO's pro-tumoral and anti-tumoral effect regarding to the interaction of signaling pathways. It's reported that further studies are needed for the understanding the mechanisms of FoxOs in cancer development in the literature. The aim of this study, evaluating the expression of FoxO1, FoxO3 and FoxO4 in the metastatic and nonmetastatic breast tumor in vivo and cell lines of breast tumor in vitro.

MATERIALS-METHODS: Cell lines of 4THM, 4TLM (100.000 cell/mouse) and 67NR (1.000.000 cell/mouse) were injected to the breast tissues orthotopically of Balb/C female mice for 8-10 weeks. After 25 days injection, the tissues of primary tumour were obtained. For the evaluating the expression of FoxO1, FoxO3 and FoxO4; immunohistochemistry were applied for primary tumor tissues in vivo and immunofluorescence were applied for cell lines in vitro. The intensity of expression and cellular localization of FoxOs were evaluated.

RESULTS: Breast tumor cells are expressed the FoxO proteins as cytoplasmic and nuclear in vivo and in vitro and the intensity of their expression varies according to the metastatic ability of tumor. FoxO1 is expressed more nonmetastatic primary tumors than metastatic tumors in vivo, and more metastatic cell lines of breast tumors than nonmetastatic cell line in vitro. While FoxO3 and FoxO4 are expressed extensively in nonmetastatic cell line and primary tumors, they are significantly decreased in metastatic cell lines and primary tumors both in vitro and in vivo similarly.

CONCLUSION: Our results showed that; the extensive expression of FoxOs in nonmetastatic cell line and primary tumors are significantly decreased in metastatic cell line and primary tumors. In this context; decreased FoxO expression may increase the potential of metastasis and so FoxOs could have the tumor suppressor effect. The different expression pattern of FoxO1 in vitro can be interpreted as niche differences caused by culture environment containing the tumor cells. Intense expression of FoxOs in nonmetastatic tumors showed that FoxOs could be one of major signaling pathways that prevent the metastasis of tumor cells both in vitro and in vivo.

Keywords: Breast cancer, metastasis, FoxO transcription factors

P149

Benign ve Malign Ovaryum Kanserlerinde EF2-Kinaz Dağılımı

Sevtap Gökalp¹, Bülent Özpolat², Sevil Sayhan³, H. Seda Vatansever⁴

¹Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

²University of Texas, MD Anderson Cancer Research Center, Division of Cancer Medicine, Department of Experimental Therapeutics, Houston-Texas, USA.

³İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁴Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye., Yakın Doğu Üniversitesi, Deneysel Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs.

AMAÇ: Hücre döngüsü ve protein sentezi kanser hücreleri için anahtar fizyolojik olaylardır. Protein sentezi, hassas bir şekilde ayarlanmış ve sıkı kontrollü bir süreçtir. Kanser hücrelerinde bu sürecin uzadığının belirlenmesi üzerine bu konu üzerine yoğunlaşmıştır. Elongasyon faktör 2 (EF2), henüz üretilmemiş proteinlerin uzamasını düzenleyen bir enzimdir ve tedavilerin başarısının artırılması ve yeni tedaviler oluşturulması için araştırılmaktadır. Çalışmada benign ve malign ovaryum kanserlerinde EF2-K'nın dağılımlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmada Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Anabilim dalı arşivinden normal over dokusu kontrol grubu olmak üzere endometrioid karsinom, müsinöz karsinom, seröz karsinom ve metastatik over tümörü örnekleri alındı. Örnekler %10 formalin solüsyonu ile tespit edildikten sonra rutin parafin takip işlemi uygulandı. Histokimyasal analiz için örnekler hematoxilen-eozin boyaması yapıldı, immunohistokimyasal analiz için ise EF2-K dağılımı incelendi. İstatistiki olarak H-SCORE analizi yapıldı.

BULGULAR-SONUÇ: Normal ve seröz adinokarsinomda EF-2 kinaz immunoreaktivitesi negatif iken, müsinöz karsinomda yer yer pozitif immunreaktivite gözlemlendi. Metastatik over kanserinde zayıf şiddette EF2-K immunoreaktivitesi gözlenirken, immunoreaktivitenin en fazla endometrioid karsinomda olduğu saptandı.

TARTIŞMA: Ovaryum kanser gelişim mekanizmaları birçok moleküler yolak tarafından kontrol edilmektedir. Protein sentezinde rol oynayan EF2-K'nın over kanser tiplerinde farklı ekspresyonlarının gözlenmesi EF2-K hedefli tedavi seçeneklerinin de göz önünde bulundurulması gerektirdiğini düşündürdü.

Anahtar Kelimeler: Kanser, elongasyon faktörü 2 kinaz, ovaryum, protein sentezi.

EF2-Kinase Distribution in Benign and Malign Ovarian Cancer

Sevtap Gökalp¹, Bülent Özpolat², Sevil Sayhan³, H. Seda Vatansever⁴

¹Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Manisa, Turkey.

²University of Texas, MD Anderson Cancer Research Center, Division of Cancer Medicine, Department of Experimental Therapeutics, Houston-Texas, USA.

³İzmir Tepecik Education and Research Hospital, Department of Pathology, Izmir, Turkey.

⁴Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Manisa, Turkey, Near East University, Experimental Health Sciences Research Center, Nicosia, North Cyprus..

BACKGROUND-AIM: Cell cycling and protein synthesis are both key physiological processes for cancer cells. Protein synthesis is a finely-tuned and tightly-controlled process. The elongation step of this process has attracted the attention of cancer researchers. Elongation factor 2 (EF2), the critical enzyme governing elongation of nascent proteins, has been investigated as a target for new therapies and as a potential contributor to the success of conventional therapies. In this study we aim to analyze distributions of EF2-K in benign and malignant ovarian cancers.

MATERIALS-METHODS: In this study, we used normal ovarian tissue as a control group, endometrioid carcinoma, mucinous carcinoma, serous carcinoma and metastatic ovary tumor that purchased from Izmir Tepecik Education and Research Hospital, Department of Pathology. All samples were taken up in 10% formalin solution for fixation. After routine paraffin embedding protocol sections were taken, stained with hematoxylin-eosin for histological analyses, and we examined distribution of EF2-K with immunohistochemistry analyses. Statistically, H-SCORE

analysis was performed.

RESULTS: EF2-K immunoreactivity was negative in normal and serous adenocarcinoma, but mucinous carcinoma showed positive immunoreactivity in some places. EF2-K immunoreactivity was observed in low density in metastatic ovarium cancer, the highest immunoreactivity of EF2-K was detected in endometrioid carcinoma.

CONCLUSION: Ovarian cancer development mechanism is controlled by many molecular pathways. EF2-K plays role in protein synthesis. Observing the different expression of EF 2-K in ovarian cancers suggested that we should consider EF2-K targeted therapies in cancer.

Keywords: Cancer, elongation factor 2 kinase, ovarium, protein synthesis.

P150

Fare Embriyonik Kök Hücresi, KLN205 Akciğer Kanseri Hücresi Hattı ve Fibroblast Hücre Hattı Floresan Fotoğraflarının VEGF ve NFkB Ekspresyon Seviyelerinin Karşılaştırma Analizi

Berrin Özdi¹, Çevik Gürel², Kubilay Doğan Kılıç³, Eda Açıkgöz⁴, Hüseyin Aktuğ³

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Isparta

²Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

⁴Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Van

Kanser dünyada başlıca ölüm sebeplerinden biri olmakla beraber, kanser hücrelerinin primer bölgeden sekonder bir bölgeye göç etmesi hastalığı ilerletmekte ve başka lokasyonlara da sıçramasına neden olmaktadır. Kanser metastaz ile farklı dokulara geçmekle beraber dolaşım etkisiyle primer bölgeden sekonder bölgesine geçmekte ve farklı bir dokuya yerleşip oraya adaptasyon sağlayarak farklılaşmakta ve o bölgeye özgü kanser tipini oluşturmaktadır. Metastaz basamaklarında epitelyal mezenşimal geçiş ile dolaşım kanalına geçen kanser hücresi kendisine ikincil bir bölge bulur. Bu geçiş sırasında embriyonik kök hücre benzeri sinyal aktiviteleri gözlemlenebilir. Dolaşım sistemine geçiş sırasında kanser hücresi endotel bariyeri birincil bölgeden dolaşıma katılırken geçmelidir. Bu aşamalarda yeni kan damarları oluşumunun gerekli olduğu bilinmektedir. Yeni damar oluşumunu arttırmak için kullanılan temel mekanizma vaskülogenez ve anjiyogenezi uyaran proanjiyogenik bir sinyal proteini olan vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) üzerinden gerçekleşir. VEGF tirozin kinaz reseptörleri ile etkileşerek endotel hücre çoğalması ve damar geçirgenliğinin artmasında görev alır böylece yeni damar oluşumunu ve damar geçirgenliğini artırarak tümörogenezi indükler. Nükleer Faktör Kappa B (NFkB) transkripsiyon faktörleri ailesi ise; immün gelişim ve inflamasyonda kilit bir rol oynamaktadır. Buna ek olarak NFkB'nin, kanserin oluşum ve ilerleme basamaklarında diğer birçok sinyal molekülü ile etkileşime girerek rol oynadığı düşünülmektedir. Hücre kültürü çalışmaları in vivo çalışmalara paralel olarak kullanılabilir kaynak sağlamaktadır. Yaptığımız çalışmada KLN 205 akciğer kanseri hücre hattı, MSF (mouse skin fibroblast) hücre hattı ve embriyonik kök hücre hattı kullanılmıştır. Bu hücre hatlarında NFkB ve VEGF proteinleri immunositokimyasal yöntemle boyanmış ve epifloresan mikroskop ile görüntülenip fotoğraflanmıştır. ImageJ programıyla proteinlerin spesifik intensite değerleri kullanılarak hücre hatları arasında karşılaştırma yapılmıştır. Bunun için öncelikle fotoğraflar renk kanallarına ayrılmış ve görüntüleme renk veren sekonder antikor rengi seçilmiştir ve daha sonraki aşamalar bu fotoğraf üzerinden gerçekleştirilmiştir. Hücrelerin çevresi el ile çizilmiştir ve çizilen hücrelerin hem alanları hem de çizim alanı içerisinde kalan intensite değerleri karşılaştırılmıştır. Floresan değerlerinin doğrulanmış hali –corrected total cell fluorescence (Ctcf değerleri) intensite değerinden arka plan ortalama değerinin hücre alanından çıkarılmasıyla oluşturulmuştur. NFkB değerlerinin karşılaştırılmasında fibroblast ekspresyon değeri trend olarak yüksek iken her üç hücre hattında fark bulunmamaktadır. VEGF protein ekspresyonu karşılaştırılmasında ise Fibroblast hücrelerinde floresan çok iken embriyonik kök hücrelerde en az ekspresyon görülmektedir. Sonuç olarak VEGF protein ifadenmesi en yüksek fibroblast hücre hattında gözlenmiştir. Bunun nedeni fibroblastların canlıda bağ dokusunda bulunmaları, vaskülerizasyona destek vermeleri ve yara iyileşmesinde görev almalarıdır. Akciğer CA hücre hattında ise ifadenme embriyonik kök hücreden fazla iken fibroblast hücrelerinden azdır.

Anahtar Kelimeler: Kanser, Kök Hücre, Fotoğraf Analizi

Analysis of Mouse Embryonic Stem Cell, KLN 205 Lung Carcinoma Cell Line and Fibroblast Cell Line fluorescence images for comparison of VEGF and NFkB Expression level

Berrin Özdi¹, Çevik Gürel², Kubilay Doğan Kılıç³, Eda Açıkgöz⁴, Hüseyin Aktuğ³

¹Department of Histology and Embryology, Ege University School of Medicine, Isparta, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Harran University School of Medicine, Sanliurfa, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Ege University School of Medicine, Izmir, Turkey

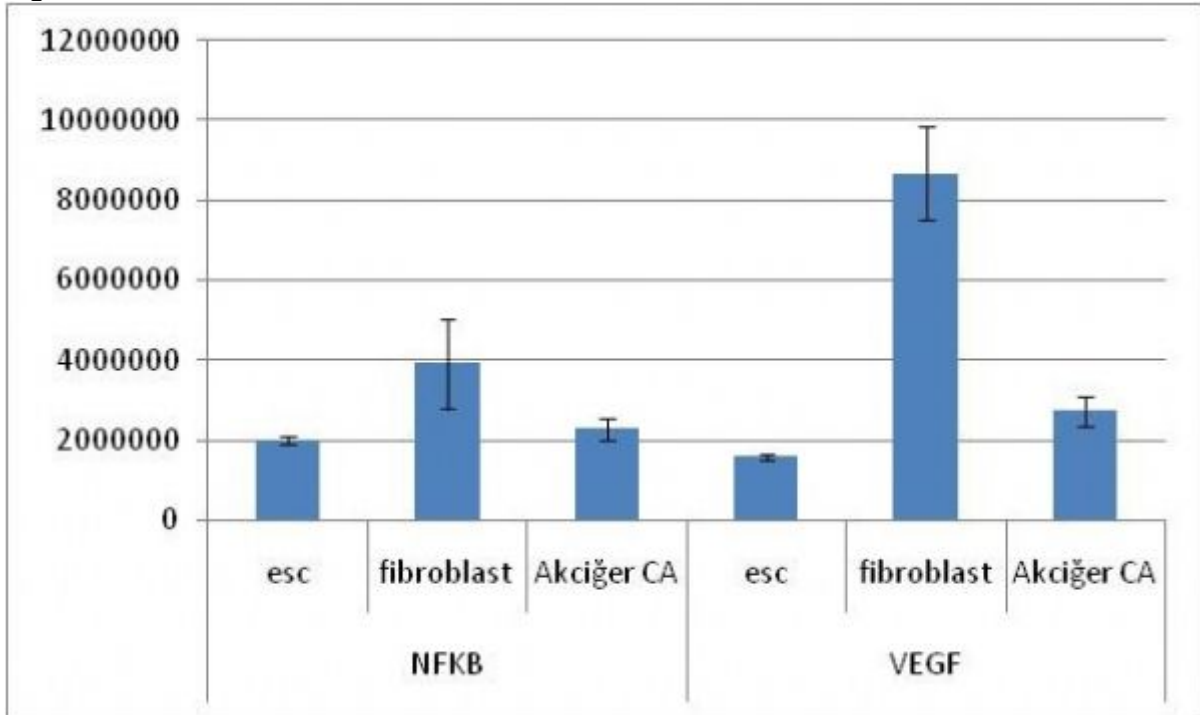
⁴Department of Histology and Embryology, Van Yuzuncu Yil University School of Medicine, Van, Turkey

While cancer is one of the main causes of death in the world, the cancer cells from the primary site to secondary site is caused by metastasis. Metastasis occurs while passing to different tissues as secondary site through circulatory system. Cancer cell adapts and forms specific type of cancer at this site. It participates to circulatory system over epithelial mesenchymal transition finds secondary region. ESC-like signal activity can be observed during that transition. Cancer cells should migrate endothelial barrier while passing through primer side to secondary side. It is known that the process is vascularisation-required. The basic mechanism for neovascularization advances on a proangiogenic signal protein, VEGF which induces vasculogenesis and angiogenesis. VEGF induces tumorogenesis by increasing endothelial cell proliferation, vascular permeability and neovasculogenesis. Nuclear factor Kappa B (NFκB) transcription family has a key role on immune development and inflammation. Furthermore, NFκB has a role on development and progression steps of cancer via interacting with many other signal molecules.

Cell culture studies provide preliminary data source of in vivo studies. In our study KLN 205 lung cancer cell line, MFS (mouse skin fibroblasts) cell line and embryonic stem cell line were used. In these cell lines NFκB and VEGF proteins were stained with immunocytochemical method and observed and photographed with epifluorescence microscope. ImageJ program was used for comparisons of the specific intensity values of proteins between cell lines. First color channels were splitted and selected according to display color of secondary antibodies. Subsequent steps were carried out with these photographs. The cell perimeter was drawn manually and areas and intensity values of drawn cells were compared. Corrected total cell fluorescence (Cfct values) is formed by subtracting multiplication of the cell area of the cell and background average value from intensity values. Comparison of the NFκB value showed that NFκB expression value of fibroblast had higher trend, while statistically there was no difference in all three cell lines. In comparison VEGF protein expression fibroblast cells showed the highest fluorescence, while embryonic stem cells fluorescence was the least. Statistically, all cell lines had different expression level of VEGF. As a result, VEGF protein expression have been observed at the highest fibroblast cell line. The reason for that fibroblasts are found in connective tissue give support to vascularization and are involved in wound healing. The VEGF expression levels in lung cancer cell line was higher than embryonic stem cells and lower than fibroblasts.

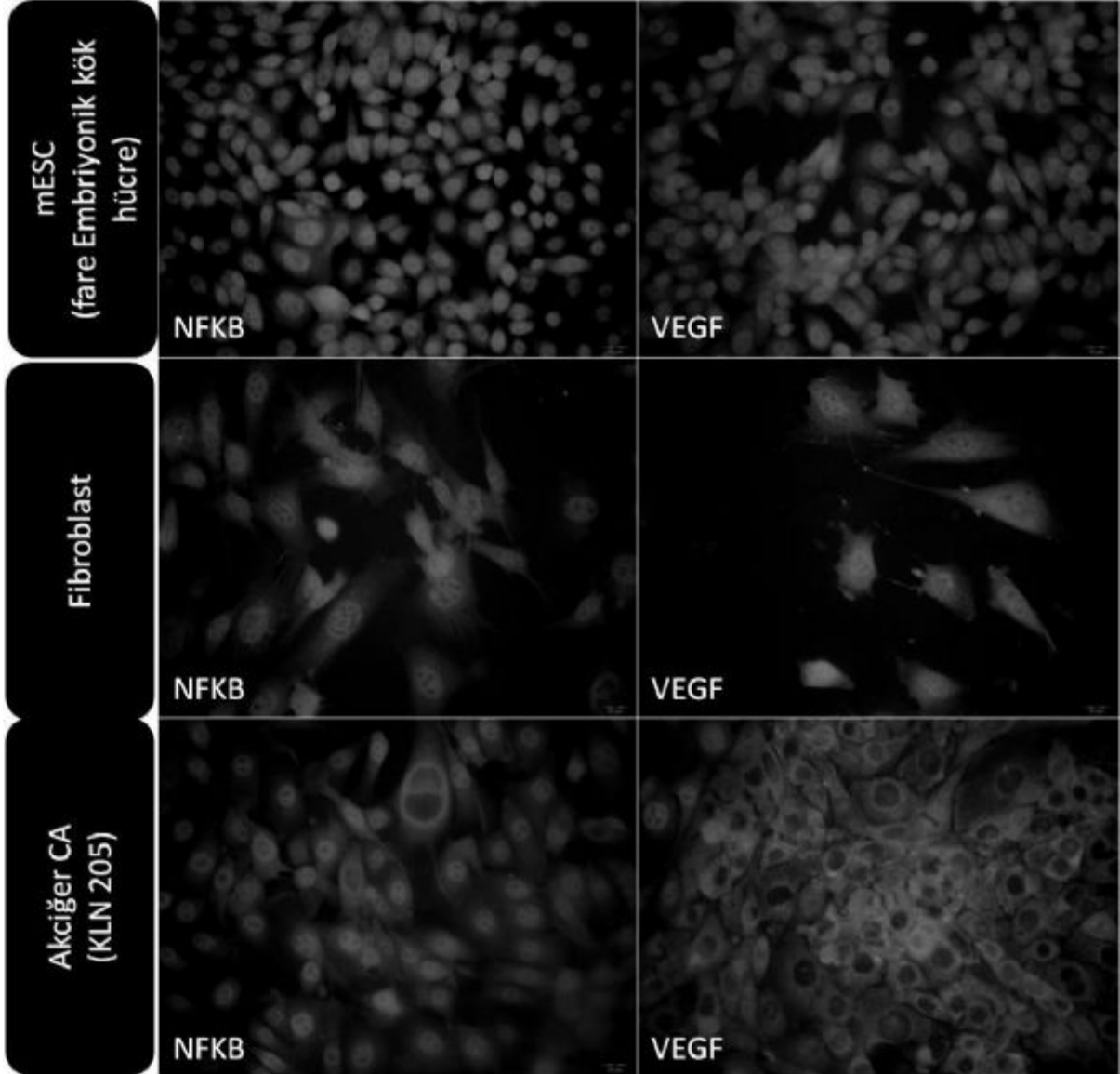
Keywords: Cancer, Stem Cell, Image Analyses

Figür 1
Figure 1



Fare Embriyonik Kök Hücre (mESC), fibroblast ve KLN205 akciğer kanseri hücre hattında doğrulanmış total hücre floresan değerlerinin karşılaştırılması
Comparison of Corrected total cell fluorescence (Cfct values) from fluorescence images of mouse embryonic stem cell (mESC), fibroblast and KLN205 lung carcinoma cell line

Figür 2
Figure 2



Fare Embriyonik Kök Hücre (mESC), fibroblast ve KLN akciğer kanseri hücre hattının ifade düzeyine bakılan proteine özgü renk kanalındaki fotoğrafları

Fluorescence images of mouse embryonic stem cell (mESC), fibroblast and KLN205 lung carcinoma cell line represents NFkB and VEGF protein

Kaynakça / References: 1)McCloy, R. A., Rogers, S., Caldon, C. E., Lorca, T., Castro, A., and Burgess, A. (2014) Partial inhibition of Cdk1 in G 2 phase overrides the SAC and decouples mitotic events. *Cell Cycle* 13, 1400–1412 2)Roskoski, R. (2007). Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Critical reviews in oncology/hematology*, 62(3), 179-213. 3)Chand, R., Chandra, H., Chandra, S., & Verma, S. K. (2016). Role of Microvessel Density and Vascular Endothelial Growth Factor in Angiogenesis of Hematological Malignancies. *Bone Marrow Research*, 2016. 4)Mitchell, S., Vargas, J., & Hoffmann, A. (2016). Signaling via the NFkB system. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*. 5)Dolcet, X., Llobet, D., Pallares, J., & Matias-Guiu, X. (2005). NF-kB in development and progression of human cancer. *Virchows archiv*, 446(5), 475-482.

P151

Metastatik ve non-metastatik fare meme kanseri modelinde serebral kavernoza malformasyon proteinlerinin (CCM1, CCM2 ve CCM3) ekspresyonlarının değerlendirilmesi

Mansur Cici¹, Sayra Dilmaç¹, Nuray Erin², Gamze Tanrıöver¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Antalya

AMAÇ: Serebral kavernoza malformasyonlar (SKM), çoğunlukla santral sinir sisteminde görülen, kan beyin bariyerinin hasarına bağlı olarak kapiller düzeyde kan akımının dışarı sızması ve kavernoza yapılarına dolmasıyla oluşan vasküler bir hastalıktır. Krit1 (CCM1), CCM2 ve PDCD10 (CCM3) genlerinde tanımlanan mutasyonlar kalıtsal SKM'lerin sebebidir. Bu genlerin fonksiyonları hala tam olarak anlaşılmasına rağmen; hücre-hücre bağlantılarında, migrasyonda, hücrenin oryantasyonunda ve apoptozunda önemli rollerinin olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. SKM proteinleri hücre içerisinde üçlü özel bir yapı oluşturmakta ve adezyon molekülleri ile hücre iskeleti arasında bağlantı kurmaktadır. Bu bilgilere göre; çalışmamızda, serebral kavernoza malformasyonunda tanımlanmış ve daha önce primer tümör ve metastazlardaki etkisi araştırılmamış CCM1, CCM2 ve CCM3 proteinlerinin hem primer tümörlerde hem de akciğer ve karaciğer gibi metastatik dokulardaki ekspresyonlarını değerlendirmeyi amaçladık.

Materyal ve YÖNTEM: Çalışmamızda; 4T1 (metastatik meme tümör hücre hattı) hücrelerinin karaciğer, kalp ve beyin dokularına metastazları sonrasında elde edilen 4TLM ve 4THM hücreleri ile benign karakterli 67NR hücreleri kullanıldı. 4TLM, 4THM (100.000 hücre/fare) ve 67NR (1.000.000 hücre/fare) hücreleri 8-10 haftalık Balb/C dişi farelerin meme dokularına ortotopik olarak enjekte edildi. Enjeksiyondan 27 gün sonra fareler sakrifiye edilerek primer tümörleri, karaciğer ve akciğer dokuları çıkartıldı, parafin bloklar hazırlandı. CCM1, CCM2 ve CCM3 proteinlerinin ekspresyonları immünohistokimya tekniği ile değerlendirildi. Tüm bulgular tümör enjeksiyonu yapılmamış kontrol hayvanları ile kıyaslanarak yorumlandı.

BULGULAR: Metastatik ve non-metastatik primer tümör dokularında üç proteinin ekspresyonu da gözlemlendi. Non-metastatik 67NR tümör enjekte edilen hayvanların akciğer dokularındaki pnömositlerde herhangi bir CCM proteininin ekspresyonuna rastlanmadı. Metastatik 4TLM ve 4THM enjekte edilen farelerin akciğerlerindeki pnömositlerde CCM1 ve CCM2'nin zayıf ekspresyonları görülürken; CCM3 en yoğun 4THM grubunda gözlemlendi. Karaciğer dokularında CCM1 ve CCM2 immunoreaktiviteleri 4TLM ve 4THM metastatik tümör enjekte edilen gruplarda 67NR'ye kıyasla daha belirgindi. Ayrıca, karaciğerin metastatik alanlarında CCM proteinlerinin hiçbirinin ekspresyonu gözlenmezken, Kupffer hücreleri ve makrofajlardaki reaksiyonlar dikkat çekiciydi.

SONUÇ: Metastatik dokularda CCM ekspresyonlarının düşüşü ve özellikle metastatik alanlarda ekspresyonlarının hiç olmayışı buraya yerleşen tümör hücrelerinin kendi mikroçevrelerini yarattığını, adeziv bağlantı yapılarını değiştirdiğini ve migrasyonu kolaylaştırıp metastazı arttırmaya yönelik davrandığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: CCM1, CCM2, CCM3, meme kanseri, primer tümör, metastaz

Cerebral cavernous malformation (CCM1, CCM2 and CCM3) proteins expressions in mice breast cancer model by using metastatic and non-metastatic cell lines

Mansur Cici¹, Sayra Dilmaç¹, Nuray Erin², Gamze Tanrıöver¹

¹Department of Histology and Embryology, Akdeniz University, Antalya, Turkey

²Department of Medical Pharmacology, Akdeniz University, Medicine, Antalya, Turkey

AIM: Cerebral cavernous malformations (CCMs) mostly occur in the central nervous system, and its typical histological presentations are multiple lumen formation and vascular leakage at the brain capillary level, resulting in disruption of the blood-brain barrier. CCMs are vascular disease of proven genetic origin. Mutations in at least three genes, CCM1, CCM2, CCM3, cause familial CCMs. The precise functions of these genes are not fully understood. Studies show that the proteins are thought to have important roles on cell-cell junctions, migration, cell orientation and apoptosis. All three proteins can be found in a same complex within the cell and they maintain stabilization of cell junctions via cell membrane adhesion molecules and cytoskeleton. However; the role of CCM proteins on tumor development and metastasis has not been explained yet. Therefore, in our study

the aim was to evaluate the expressions of CCM1, CCM2, CCM3 proteins in breast cancer cells with different metastatic ability and non-metastatic 67NR cells.

MATERIALS-METHODS: In our study; 4TLM, 4THM cell lines obtained from the metastasis of 4T1 (metastatic breast tumor cells) cells to liver, heart tissues and also non-metastatic benign 67NR cells were used. 4TLM, 4THM (100.000 cell/mouse) and 67NR (1.000.000 cell/mouse) cells were injected to breast tissues of Balb/C female mice (8-10 weeks old) orthotopically. After 27 days, the primary tumors, liver and lung tissues were obtained and paraffin blocks were prepared. CCM1, CCM2 and CCM3 immunoreactions were evaluated by immunohistochemistry. All the findings were interpreted by comparing control animals that were not injected with tumor cells.

RESULTS: It was observed three CCM protein expressions in primary tumor tissues of all tumor injected animals. In lung tissues pneumocytes; CCM proteins immunolabelling were not seen in non-metastatic 67NR injected mice. Metastatic 4TLM and 4THM pneumocytes were moderately CCM1 and CCM2 expressions but also, CCM3 was higher immunoreactivity in 4THM groups. In liver tissues; CCM1 and CCM2 immunoreactivities were clearly seen in 4TLM and 4THM injected groups compare than 67NR injected groups. Interestingly, CCM proteins were not seen in metastatic tumor mass in liver tissues. However, CCM proteins were mainly observed in Kupffer cells and macrophages.

DISCUSSION: The losses of CCM expressions in metastatic tissues and metastatic tumor mass which may change to adherent junctions' stability and facilitate metastasis to distant organs. CCM proteins might have a role new perspective of carcinogenesis.

Keywords: Breast cancer, CCM1, CCM2, CCM3, metastasis, primary tumor

Kaynakça / References: 1- Cavalcanti DD, Kalani MY, Martirosyan NL, Eales J, Spetzler RF, Preul MC. Cerebral cavernous malformations: from genes to proteins to disease. *J Neurosurg*, 116(1), 122-32, 2012. 2- Erin N, Kale S, Tanrıöver G, Köksoy S, Duymuş O, Korcum AF. Differential characteristics of heart, liver, and brain metastatic subsets of murine breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat. Jun*; 139(3),677-89, 2013.

P152

Ehrlich solid tümörlerinde netrin 1 ve faktör 8 ekspresyonu üzerine paklitaksel'in etkisinin incelenmesi

Emin Kaymak¹, Saim Özdamar¹, Tolga Ertekin²

¹Erciyes Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi, Anatomi Anabilim Dalı, Kayseri

Kanser, neoplazma olarak adlandırılan ve tümörleri oluşturan anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesi olarak tanımlanmaktadır (1). Ehrlich tümörü solid ve asit formda gelişen bir spontan meme adenokarsinomudur (2). Netrin 1 endotelial ve vasküler düz kas hücrelerinin morfogenezinde, tümör büyümesinde ve inflamasyonda regülatör olarak görev yapar. Sitoiskeletin reorganizasyonunda önemlidir (3-5).

Bu çalışmanın amacı, Netrin 1 ve Faktör 8 ekspresyonu üzerine *Taxus brevifolia* bitkisinin kabuğundan elde edilen ve kemoterapide yaygın kullanılan paklitaksel'in etkisini inceleyerek Ehrlich solid tümör hücrelerindeki proliferasyon, gelişim ve apoptozis ile angiogenezi değerlendirmektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda 26 adet Balb/C fare kullanıldı. Bunların 6 tanesi stok olarak kullanıldı. Farelerin tamamına stok hayvandan alınan Ehrlich asit hücreleri subkutan olarak farelerin ense bölgesine enjekte edildi. Fareler rastgele 10 tanesi kontrol, 10 tanesi de tedavi grubu olarak ayrıldı. Tedavi grubuna 4., 9. ve 14. günlerde 10 mg/kg paklitaksel intraperitoneal olarak verildi. Hayvanlar 15. günde dekapite edilip tümör dokuları alındı.

Parafine gömülmüş olan solid tümör kesitlerine Hematoksilin-Eozin, Masson'un üçlü boyaması uygulandı. Ayrıca immünohistokimyasal olarak Netrin 1 ve Faktör 8 boyandı. Apoptozu belirlemek için TUNEL yöntemi uygulandı.

BULGULAR

Deney sonunda H-E boyama ile her iki gruptaki dokuda bol miktarda yağ hücresi, nekrotik alan ve canlı hücre gözlemlendi (Şekil 1). Ayrıca tedavi grubunda Netrin 1 ekspresyonun ve damar yoğunluğunun önemli derecede azaldığı gözlemlendi (Şekil 2-4). Ayrıca tedavi grubunda apoptotik hücre sayısının arttığı gözlemlendi (Şekil 5-6).

TARTIŞMA ve Sonuç

Bu çalışmanın sonucu, spontan meme adenokarsinomu olan Ehrlich tümörü gibi farklı tümör dokuları üzerinde yapıların çalışmaların kanser araştırmaları ve metabolizmaları üzerine yararlı olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Ehrlich solid tümör, paklitaksel, Netrin 1, faktör 8

investigating of effect of paclitaxel on netrin 1 and factor 8 in ehrlich solid tumors

Emin Kaymak¹, Saim Özdamar¹, Tolga Ertekin²

¹Department of Histology and Embryology, Erciyes University, Kayseri, Turkey

²Department of Anatomy, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Cancer is defined as uncontrolled growth of abnormal cells which form tumors are referred to as neoplasms. Ehrlich tumor is an adenocarcinoma and develops in solid and acid form. Netrin 1 plays a role in morphogenesis of endothelial cells and vascular smooth muscle cells. It acts as a regulator of tumor growth and inflammation.

The aim of this study, effect of Paclitaxel obtained from the bark of *Taxus brevifolia* and widely used chemotherapy, is to evaluate on netrin 1 and factor 8 expression, proliferation, angiogenesis, development and apoptosis in Ehrlich solid tumor cell.

In this study, 26 adult Balb/C mice were used. Six of them were used as stock. Ehrlich ascites cells taken from animals in stock were injected subcutaneously from the neck area to all animals. The mice were randomly assigned to two groups of ten rats per group. Paclitaxel treatment group 10 mg/kg were administered to mice intraperitoneally (i.p.), 4,9 and 14th days. 15th day the animals were sacrificed and tumor tissues were taken. Paraffin-embedded solid tumor sections were stained Hematoxylin & Eosin and Masson's Trichrome. Also solid tumor sections were stained immunohistochemically for Netrin1 and Factor 8. Tunel method was applied to determine

apoptosis.

At the end of the experiment, in the tissue of both groups were observed plenty of fat cells, necrotic areas and living cells by staining hematoxylin eosin. At the end of the experiments, in the treatment groups significantly reduced the Netrin 1 expression and microvessel density compared to the control group. Also the number of apoptotic cells increased in the treatment group. We suggest that decreasing expression of Netrin 1 would be reduced vessel density and increased apoptosis.

The result of this study, different tumor tissues such as Ehrlich tumor that spontaneous mammary adenocarcinoma shows may be useful on cancer metabolism.

Keywords: Ehrlich Solid Tumor, Paclitaxel, Netrin 1, Factor 8

Kaynakça / References: 1. Ogden J. Health Psychology: A Text Book. Buckingham, UK: Open University Press 1998. 2. Ehrlich P, Apolant H. Beobachtungen uber maligne mausentumoren. Berlin Klin Wochenschr 1905; 42: 871– 874. 3. Bouvr´ee K, Larriv´ee B, Lv X, et al. Netrin-1 inhibits sprouting angiogenesis in developing avian embryos. Developmental Biology 2008; 318: 172–183. 4. Arakawa H. Netrin-1 and its receptors in tumorigenesis. Nature Reviews Cancer 2004; 4: 978–987. 5. Fitamant J, Guenebeaud C, Coissieux M, et al. Netrin-1 expression confers a selective advantage for tumor cell survival in metastatic breast cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2008; 105: 4850–4855.

P153

Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde Cl-amidin'in antikanserojenik etkinliği

Pınar Naile Gürgör¹, Miriş Dikmen², Selin Engür²

¹Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ordu

²Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

GİRİŞ-AMAÇ: Peptidil arginin deaminazlar (PADs), arjininin sitruline dönüşümünü sağlayan enzimlerdir. Embriyogenez ve hücre sinyal iletim faaliyetlerinde rol oynarlar. Ancak fazla ya da disregüle PAD seviyelerinin pek çok hastalıkta arttığı ve hastalıklarla ilişkili olabildiği belirlenmiştir. PAD inhibitör madde olarak kullanılan Cl-amidin'in romatoid artrit, ülseratif kolit gibi hayvan deney modellerinde PAD aktivitesini baskıladığı ve gelişen klinik tabloların şiddetlerini azalttığı gösterilmiştir. Yine çeşitli kanser hücre hatları üzerine de sitotoksik etkiye bağlı olarak antiproliferatif etkinlikleri belirtilmiştir. Çalışmada akciğer kanserinin en sık karşılaşılan tipi ile ilgili olarak A549 insan akciğer adenokarsinoma hücre dizisi üzerine Cl-amidin'in antikanserojenik etkinliği araştırılmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Cl-amidin, A549 hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkileri 24 ve 48. saatte WST-1 (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene disulfonate) yöntemi ile belirlenmiştir. Apoptotik etkiler ise, Annexin V-PI, kaspaz-3 aktivasyonu ve mitokondrial membran depolarizasyon (JC-1) yöntemleri ile flow sitometri cihazında analiz edilmiştir. Elde edilen veriler tek yönlü ANOVA ile post-hoc olarak Tukey testi uygulanarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Anlamlılık değerleri; $p > 0.05$ fark yok, $p < 0.05$ fark var, $p < 0.01$ önemli derecede fark var, $p < 0.001$ çok önemli derecede fark var olarak değerlendirilmiştir.

SONUÇLAR: Zamana ve konsantrasyona bağımlı olarak Cl-amidin'in, WST-1 yöntemi ile A549 üzerinde önemli derecede antiproliferatif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Annexin V-PI ve JC-1 yöntemleri ile analiz edilen apoptotik etkileri özellikle 48. saatte etkili bulunmuştur.

Özellikle Cl-amidin'in, mitokondriyal depolarizasyonu artırarak hücreleri apoptoza götürdüğü belirlenmiştir. Ayrıca Cl-amidin'in sağlıklı hücreler üzerinde, bu kanserin mevcut tedavi ajanlarından biri olan cisplatine göre daha az sitotoksik etkinliğinin olduğu, IC50 değerlerine göre belirlenmiştir.

TARTIŞMA: Bu araştırma Cl-amidin'in, A549 hücreleri üzerinde önemli antiproliferatif ve apoptotik etkisinin bulunması bunun yanı sıra sağlıklı hücelere mevcut tedaviden daha az zarar vermesi sebebiyle küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin kemoterapisinde önemli bir antikanserojenik potansiyele sahip olabileceğini göstermektedir. Cl-amidin'in tekli ya da kombine ajanlarla çalışılarak yeni antikanser ilaçların keşfine katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

Teşekkür: Bu araştırma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından AR-1409 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Peptidil arginin deaminaz, Cl-amidin, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, A549 hücre hattı

Anticarcinogenic activity of Cl-amidine on non-small cell lung cancer

Pınar Naile Gürgör¹, Miriş Dikmen², Selin Engür²

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Ordu University, Ordu

²Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Ordu University, Eskişehir

Introduction and OBJECTIVE: Peptidylarginine deiminases (PADs) are enzymes that convert the arginine to citrulline. They play a role in embryogenesis and cell signaling activity. But excessive or dysregulated PAD levels were determined to be associated with disorders and to increase in many diseases. Chloramide (Cl-amidine) used as PAD inhibitory agent has been shown to suppress PAD activity in the experimental animal models as rheumatoid arthritis, ulcerative colitis and to reduce the severity of clinical symptoms. Antiproliferative activities on various cancer cell lines has shown due to the cytotoxic effect. In this research, anticarcinogenic activity of Cl-amidine on A549 human lung adenocarcinoma cell line that to be associated with the most common type has been investigated.

MATERIALS-METHODS: The antiproliferative effects of Cl-amidine on the U-87 MG cells were determined by WST-1 (4-[3-(4-iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene

disulfonate) method at the twenty-fourth and forty-eighth hours. The apoptotic effects were analyzed by the Annexin V-PI, caspase-3 activation and mitochondrial membrane polarization (JC-1) methods in the flow cytometry device. The data were statistically analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc test. Significance values (p values) were evaluated as $p > 0.05$ not significant, $p < 0.05$ significant, $p < 0.01$ very significant, $p < 0.001$ extremely significant.

RESULTS: It has been determined that CI-amidine has significant antiproliferative effects on A549 cell line by the WST-1 method depending on the time and concentration. The apoptotic effects which were analyzed by the Annexin V-PI and JC-1 methods have been found effective particularly at the forty-eighth hour. It has been determined that CI-amidine drives the cells to apoptosis by increasing especially the mitochondrial depolarization. Furthermore, CI-amidine was less cytotoxic than cisplatin, the one of therapeutic agents of NSCLC, according to the IC50 value on healthy cells.

DISCUSSION: This research has shown that CI-amidine may have a significant anticarcinogenic potential in the NSCLC chemotherapy because of its significant antiproliferative and apoptotic effects on A549 cells and also its less damage to the healthy cells than the current treatments. We believe that the antineoplastic effects of this agent should be investigated also for more different cancer cell types. We think that the working of CI-amidine with single or combined agents will contribute to the discovery of new anticancer drugs.

Acknowledgments: This research was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit of Ordu University (Project No: AR-1409).

Keywords: Peptidyl arginine deiminase, CI-amidine, non-small cell lung cancer, A549 cell line

Kaynakça / References: 1. Jones JE, Causey CP, Knuckley B, Slack-Noyes JL, Thompson PR. Protein arginine deiminase 4 (PAD4): Current understanding and future therapeutic potential. *Curr Opin Drug Discov Devel.* 2009; 12(5):616-27. 2. Chang X, Han J, Pang L, Zhao Y, Yang Y, Shen Z. Increased PADI4 expression in blood and tissues of patients with malignant tumors. *BMC Cancer.* 2009; 9:40. 3. Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *Bioessays.* 2003; 25(11):1106-18. 4. Chang X, Han J. Expression of peptidylarginine deiminase type 4 (PAD4) in various tumors. *Mol Carcinog.* 2006; 45(3):183-96. 5. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998; 101:273–281. 6. Moscarello MA, Mastronardi FG, Wood DD. The role of citrullinated proteins suggests a novel mechanism in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neurochem Res* 2007; 32:251–256. 7. Ishigami A, Ohsawa T, Hiratsuka M, Taguchi H, Kobayashi S, Saito Y, Murayama S, Asaga H, Toda T, Kimura N, Maruyama N. Abnormal accumulation of citrullinated proteins catalyzed by peptidylarginine deiminase in hippocampal extracts from patients with Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 2005; 80:120–128. 8. Chen CC, Isomoto H, Narumi Y, Sato K, Oishi Y, Kobayashi T, Yanagihara K, Mizuta Y, Kohno S, Tsukamoto K. Haplotypes of PADI4 susceptible to rheumatoid arthritis are also associated with ulcerative colitis in the Japanese population. *Clin Immunol* 2008; 126:165–171.

P154

Kolon Karsinoma Kök Hücrelerinde Thymus Capitatus un Etkisi

Remziye Kendirci¹, Feyzan Özdal Kurt², Duygu Yiğit Hanoğlu³, Azmi Hanoğlu³, Dudu Özkum Yavuz³, Hafize Seda Vatansever⁴

¹Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Manisa

²Celal Bayar Üniversitesi, Fen ve Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Manisa

³Yakın Doğu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Lefkoşe, Kuzey Kıbrıs

⁴Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Manisa, Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi, Lefkoşe, Kuzey Kıbrıs

Kök hücre tarif edilen kendi kendini yenileyebilmesi ve farklı hücelere farklılaşma özelliği, barsakta tüm barsak epitel hücrelerine farklılaşma kapasitesi ile gösterir. Barsak kök hücre havuzu etraftaki bağ dokusunda gelen sinyaller ile oluşturulan bir mikroçevre ile dinamik bir popülasyonu oluşturur. Epitelial hasar sonucunda sinyal yolları ile intestinal hasarın oluşması, sinyal yollarının regülasyonlarının bozulması ve kanserin başlaması gibi durumlar oluşabilir. Kolorektal kanser tümörlerinde hücre hiyerarşinin en üst kısmında kendini sürekli yenileyen kanser kök hücrelerinin olması normal dokudakinden tamamen farklılık sağlar, özellikle de kolon kanseri kök hücreleri, radyoterapi ve kemoterapi gibi tedavi yöntemlerine dirençlidir.

İnsan primer kolon karsinoma hücre dizisi (Colo320) %10 FCS, %1 L-glutamine ve %1 penisilin-streptomycine içeren RPMI-1640 da kültüre edildi. Kanser kök hücreleri MiniMACS ünitesi ile yüzey belirteci (CD133) kullanılarak ayrıştırıldı. CD133+ Colo320 ve işaretlenmemiş Colo320 olmak üzere iki hücre grubu ayrı ayrı kültüre edildi. Thymus capitatus örnekleri Kuzey Kıbrıs batısından (Yedidalga) çiçeklenme döneminde Haziran 2015 de toplanmıştır ve uçucu yağ hidrodistilasyon işlemi sonucunda elde edilmiştir. Çalışmada insan primer kolon kanseri hücre dizisinden elde edilen kolon kanseri kök hücrelerinin farklı dozlarda Thymus capitatus dan elde edilen uçucu yağın apoptotik etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

İnsan primer kolon karsinoma hücre dizisi (Colo320) %10 FCS, %1 L-glutamine ve %1 penisilin-streptomycine içeren RPMI-1640 da kültüre edildi. Kanser kök hücreleri MiniMACS ünitesi ile yüzey belirteci (CD133) kullanılarak ayrıştırıldı. CD133+ Colo320 ve işaretlenmemiş Colo320 olmak üzere iki hücre grubu ayrı ayrı kültüre edildi. Thymus capitatus örnekleri Kuzey Kıbrıs batısından (Yedidalga) çiçeklenme döneminde Haziran 2015 de toplanmıştır ve uçucu yağ hidrodistilasyon işlemi sonucunda elde edilmiştir. %0.5, %1 and %2 oranındaki uçucu yağ hücelere ilave edildi ve 48 saat inkübasyona tutuldu. Hücreler %4 paraformaldehit ile fiksasyondan sonra apoptotik hücre TUNEL, kaspaz-3 ve CD133 dağılımları indirekt immunoperoksidaz yöntemleri ile incelendi.

MiniMACS ayırımı sonucunda hücrelerin CD133 ile pozitif olarak boyandılar. Thymus capitatus a ait uçucu yağın uygulanması sonucunda %1 lik konstantrasyonun CD133+ hücrelerde TUNEL pozitif hücre sayısının ve kaspaz-3 immunoreaktivitesinin diğer dozlara ve CD133 ile işaretlenmemiş hücelere nazaran daha fazla olduğu gözlemlendi.

Thymus capitatus uçucu yağı kanser kök hücrelerinde apoptozu tetiklemiştir, bu nedenle, Kuzey Kıbrısdan elde edilen Thymus capitatus yeni bir doğal kemoterapik ajan olabilir.

Anahtar Kelimeler: Kök hücre, Thymus capitatus, uçucu yağ, apoptoz, kolon karsinomu

The Effect of Thymus Capitatus on Colon Carcinoma Stem Cells

Remziye Kendirci¹, Feyzan Özdal Kurt², Duygu Yiğit Hanoğlu³, Azmi Hanoğlu³, Dudu Özkum Yavuz³, Hafize Seda Vatansever⁴

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Celal Bayar University, Manisa, Turkey

²Celal Bayar University, Faculty of Science, Department of Biology, Manisa, Turkey

³Near East University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botany, Nicosia, North Cyprus

⁴Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Manisa, Turkey, Near East University, Experimental Health Science Research Center, Nicosia, North Cyprus

Stem cells, are defined functionally by their potential for self-renewal and multipotency, in the gut,

this effectively means the capacity to differentiate into all of the intestinal epithelial cell types. The intestinal stem cell pool is a dynamic population of cells whose fate is heavily influenced by the microenvironmental signals received from surrounding supporting tissue. The epithelial response to disruption of these signals is a critical feature of the intestine's ability to respond to injury, yet signalling pathway dysregulation is also a key feature in the initiation of cancer. Colorectal cancer remains a paradigm for the cancer stem cell model, which proposes that tumours are maintained by a small population of tumorigenic, self-renewing cancer stem cells that are at the apex of a cellular hierarchy, not dissimilar to that seen in normal tissue, especially, colon cancer stem cells (CSC) is resistant to treatment such as radiotherapy or chemotherapy.

In the study, we aim to analyse the apoptotic effects of different dosages of *Thymus capitatus* essential oil on colon carcinoma stem cells.

Human primary colon carcinoma cell line (Colo320) were cultured in RPMI-1640 containing 10% FCS, 1% L-glutamine and 1% penicillin-streptomycin. Cancer stem cells were separated using MiniMacs unit on the basis of surface marker (CD133). CD133+ Colo320 and unlabelled Colo320 cells were cultured. *Thymus capitatus* which were gathered from western parts (Yedigöller) of North Cyprus, were collected during flowering in June 2015 and essential oil was obtained after hydrodistillation. Dosage (0.5 %, 1% and 2%) of the essential oil was added and cells were incubated for 48 hours. After fixation of cells with 4% paraformaldehyde, apoptotic cells with TUNEL, distribution of caspase-3 and CD133 with indirect immunoperoxidase techniques were evaluated. After MiniMacs separation cells were positively stained with CD133. The number of TUNEL positive and caspase positive cells were higher in CD133+ cells which were treated with 1% of *Thymus capitatus* essential oil when compared with unlabelled cells and other dosages.

Essential oil of *Thymus capitatus* triggered the cancer stem cells apoptosis, therefore, *Thymus capitatus* from North Cyprus should be recognized as a possible new source of natural source of new chemotherapeutics.

Keywords: Stem cell, *Thymus capitatus*, essential oil, apoptosis, colon carcinoma

P155

Geldanamisin ve Flavopiridol'un Prostat Kanserinde Sinerjitik Sitotoksiste ve Apoptotik Etkilerinin İncelenmesi

Fahriye Düzağaç¹, Eda Açıkgöz⁴, Gürkan Yiğittürk², Ümmü Güven¹, Kenan Demir², Kubilay Doğan Kılıç², Hadi Rouhrazi³, Gülperi Öktem², Hüseyin Aktuğ², Altuğ Yavaşoğlu², Ayşegül Uysal²

¹Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre ABD

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji ABD

³Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya ABD

⁴Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji ABD

Prostat kanseri ABD'de erkeklerde en sık karşılaşılan kanser türü olup ölümlerin % 10'undan sorumludur (1-3). Isı şoku proteini 90 (Hsp90) özellikle ökaryotik hücrelerde bol bulunan ve hücre yaşamını devam ettirmek için gerekli olan ATP bağımlı moleküler bir şaperondur. Kanser tedavi yaklaşımlarından biri de şaperonların etkisiz hale getirilmesidir. Bu amaçla Hsp90'ın ATPaz bölgesini hedefleyen Geldanamisin ve türevi antibiyotikler klinik kullanımda yer almaktadır.

Flavopiridol, Hindistan'a özgü bir bitkiden (*Dysoxylum nincetiferum*) elde edilen yarı-sentetik bir flavonoiddir. Flavopiridol'un, hücre döngüsünün genellikle G1/S nadir olarak G2/M ara fazında; CDK2, CDK4 ve CDK6 gibi siklin bağımlı kinazları inhibe ederek ve hücre döngüsünün ilerleyişini engelleyerek hücre büyümesini durdurduğu gösterilmiştir (4-6).

Flavopiridol ve Geldanamisin'in prelinik ve klinik olarak diğer ilaçlarla kombine uygulamaları bulunmakla birlikte özellikle prostat kanserindeki etkisi ve olası ilaç kombinasyonu uygulamaları bilinmemektedir

Çalışmamızda çeşitli kanser hücrelerinde sitotoksik etkisi olduğu gösterilen Geldanamisin ve Flavopiridol'un prostat kanseri hücrelerindeki sinerjitik sitotoksik etkisinin gösterilmesi ve hücre döngüsü üzerinde oluşturduğu değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç ile DU145 prostat kanseri hücre hattının kültür ortamına farklı dozlarda Geldanamisin ve Flavopiridol eklenmiştir. IC50 dozu saptanmış her iki ilaç kombine edilerek hücre kültürü ortamına eklenmiştir. Takiben hücrelerin 24, 48, 72 saatlik inkübasyonlardaki sayı-canlılık, hücre döngüsü analizleri yapılmıştır. Elde edilen veriler ile Geldanamisin ve Flavopiridol'un prostat kanserindeki sinerjitik sitotoksitesisi ve bu etkinin mekanizması, özellikle hücre döngüsü yönü ile detaylı olarak incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kanser, Sitotoksiste, Apoptozis, Hücre döngüsü

Combination of Flavopiridol and Geldanamycin Induces Synergistic Cytotoxicity and Apoptosis in Prostate Cancer

Fahriye Düzağaç¹, Eda Açıkgöz⁴, Gürkan Yiğittürk², Ümmü Güven¹, Kenan Demir², Kubilay Doğan Kılıç², Hadi Rouhrazi³, Gülperi Öktem², Hüseyin Aktuğ², Altuğ Yavaşoğlu², Ayşegül Uysal²

¹Department of Stem Cell, Ege University

²Department of Histology and Embryology, Ege University

³Department of Medical Biochemistry, Ege University

⁴Department of Histology and Embryology, Van Yuzuncu Yil University

Prostate cancer is the most common cancer and the second leading cause of death in men in the United States (1). Flavopiridol is a synthetic flavonoid based on an extract from an Indian plant for the potential treatment of cancer. It works by inhibiting cyclin-dependent kinases, arresting cell division and causing apoptosis in cancer cells (1, 2). Flavopiridol was investigated for use/treatment in several cancers; esophageal cancer, leukemia (lymphoid), lung cancer, liver cancer, and lymphoma (3).

Geldanamycin (GA) is a characteristic item delivered by *Streptomyces hygroscopicus*, an ansamycin-derivative benzoquinone. GA binds into the Hsp90's ATP binding site with high affinity (4). Hsp90 plays role on the regulation of the cell cycle, cell growth, cell survival, apoptosis, angiogenesis and oncogenesis. Hsp90 client proteins include mutated p53, Raf-1, Akt, ErbB2 and

hypoxia-inducible factor 1a (HIF-1a) (5). GA treatment causes inactivation, destabilization, and degradation of Hsp90 client proteins(6).

To study the possible synergistic/additive effects of Flavopiridol and Geldanamycin combination, DU-145 cells were exposed to different concentrations of Flavopiridol or Geldanamycin alone, and in combination of both for 24, 48 and 72 and the half maximal inhibitory concentration (IC50) value of the drug was determined.

Keywords: Cancer, Cytotoxicity, Apoptosis, Cell cycle

Kaynakça / References: 1 - Rosai J editor. Rosai and Ackerman's surgical pathology. 9th ed. Newyork: Mosby; 2004: 1361-412. 2 - Tanagho EA, McAninch JW. Smith's general urology. 4thed. San Francisco: A. Simon & Schuster Company, 1995: 410-27. 3 - Drago J.R., Goldman L. B., Gershwin M.E. Evaluation of nonhormonal cytotoxic chemotherapy in the nb rat prostate adenocarcinoma. Cancer 1980; 46: 273-84. 4- Ochel, Hans-Joachim, Kai Eichhorn, and Günther Gademann. "Geldanamycin: the prototype of a class of antitumor drugs targeting the heat shock protein 90 family of molecular chaperones." Cell stress & chaperones 6.2 (2001): 105-112. 5. Benchekroun, M. Nabil, Charles E. Myers, and Birandra K. Sinha. "Free radical formation by ansamycin benzoquinone in human breast tumor cells: implications for cytotoxicity and resistance." Free Radical Biology and Medicine 17.3 (1994): 191-200. 6. Uehara, Y., et al. "Phenotypic change from transformed to normal induced by benzoquinonoid ansamycins accompanies inactivation of p60src in rat kidney cells infected with Rous sarcoma virus." Molecular and cellular biology 6.6 (1986): 2198-2206.

P156

Glioblastoma YKG1 hücre hattı üzerine İrinotekan'ın sitotoksik etkilerinin Boraks tarafından potansiyalizasyonunun incelenmesi

Yasemin Yüksel¹, Sefa Çelik², Esra Aslan³, Murat Tosun³, Mükremin Uysal⁴, Muradiye Acar⁵

¹Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tüp Bebek Ünitesi, Ankara

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

³Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Onkoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

⁵Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Ankara

GİRİŞ-AMAÇ: Glioblastoma multiforme (GBM) bütün beyin tümörlerinin içinde en sık rastlanan kötü huylu primer beyin tümörüdür. Tedavi edilmesi zor, yüksek morbidite ve mortaliteye sahip kanserlerden birisidir. GBM'de halen geçerli standart tedavi; cerrahi rezeksiyonu takiben kemoterapi ve konvansiyonel radyoterapidir. Halen tam küratif bir tedavi metodu bulunamamıştır (1). İrinotekan (CPT-11) topoizomerez-I enziminin inhibitörü, antineoplastik bir ajandır (2). Kan beyin bariyerini geçebilme özelliğinden dolayı beyin tümörlerinde kullanılmaktadır. Özellikle multi-ilaca dirençli beyin tümörlerinde diğer ilaçlarla kombine olarak kullanılmaktadır (3).

Bor ise son zamanlarda antikanser özelliği ile araştırmalara konu olan doğal bir mineraldir. Borca zengin besinleri tüketen kişilerde prostat, rahim, akciğer, meme ve servikal kanserlerinin daha az oranda görüldüğü saptanmıştır (4,5,6). Borun hücre siklusu üzerine etkili olan siklin proteinlerinin ekspresyonunu azalttığı ve apoptozu indüklediği gösterilmiştir (7).

Bu çalışmanın amacı glioblastom tedavisinde günümüzde kullanılmakta olan irinotekan ve son zamanlarda birçok araştırmaya konu olan ve antikanser özelliği araştırılan boraksın insan glioblastom hücre hattı üzerine olan sitotoksik ve apoptotik etkilerinin incelenmesidir.

MATERYAL-METOD: Çalışmada YKG1 insan glioblastom hücre hattı kullanılarak, hücreler çoğaltıldıktan sonra farklı dozlarda irinotekan (25 / 50 / 100 mM), boraks (0,5 / 1 / 3 mg/ml) ve irinotekanla boraksın farklı doz kombinasyonları uygulandıktan sonra 24. ve 48. saatte kültür ortamından alınan hücre örneklerinde MTT ile hücre viabilitesi ve Tunel metodu ile apoptotik hücreler incelenmiştir.

BULGULAR: Hem irinotekan hem de boraks tek başına uygulandığında glioblastom hücreleri üzerinde hücre proliferasyonunda azalmaya ve apoptotik hücre sayısında artışa neden olmuşlardır. Bu etkiler irinotekanın uygulandığı gruplarda 24. saatte doza bağımlı olarak ciddi bir değişiklik göstermezken, 48. saatte doza bağımlı olarak giderek artış göstermiştir. Boraksın tek başına uygulandığı gruplarda sitotoksik etkisi irinotekana göre daha fazla olmakla birlikte, hem 24 hem de 48'inci saatte dozun artırılmasıyla sitotoksitede artış izlenmiştir. İrinotekan ve boraksın farklı doz kombinasyonlarının uygulandığı gruplarda irinotekanla birlikte boraks kullanımının birbirlerinin sitotoksik etkilerini bir ölçüde potansiyalize ettiği gözlemlenmiştir. Bu etki düşük doz kombinasyonlarında daha az iken, özellikle yüksek dozlarda belirgin şekilde artmıştır. Bu artış ile paralel olarak apoptotik hücre sayısında da artış izlenmiştir. İrinotekan ve boraksın kombine kullanımı sonucu 24 ve 48'inci saatlerdeki etkinlikleri değerlendirildiğinde 48'inci saatte tespit edilen ölü hücre değerlerinin 24'üncü saatte elde edilen oranlara göre belirgin derecede fazla olması bu etken maddelerin kullanımında tedavi süresinde etkin olduğunu göstermektedir.

SONUÇ: Boraks ve irinotekanın tek başına ve farklı doz kombinasyon uygulamaları YKG1 insan glioblastom hücre hattı üzerine hücre çoğalmasını inhibe edici ve apoptozu harekete geçirici etkilere neden olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar özellikle kombinasyon ve yüksek doz şeklindeki kullanımlarında ön plana çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: YKG1, glioblastom hücre hattı, irinotekan, boraks, MTT, Tunel

Investigation of potentiation effect of Borax on cytotoxic effects of Irinotecan on YKG1 glioblastoma cell line

Yasemin Yüksel¹, Sefa Çelik², Esra Arslan³, Murat Tosun³, Mükremin Uysal⁴, Muradiye Acar⁵

¹In vitro Fertilization Unit, Zekai Tahir Burak Women Health Education and Investigation Hospital,

Ankara

²Department of Biochemistry, Afyon Kocatepe University Medical School, Afyonkarahisar

³Department of Histology and Embryology, Afyon Kocatepe University Medical School, Afyonkarahisar

⁴Department of Oncology, Afyon Kocatepe University Medical School, Afyonkarahisar

⁵Department of Genetic, Turgut Özal University, Ankara

BACKGROUND and AIM: GBM is the most common and deadly malignant primary brain tumor in adults and represents an important cause of mortality and morbidity. The standard treatments for patients with GBM are surgical resection, chemotherapy and conventional radiotherapy (1). Unfortunately, there are no well established methods to inhibit cell growth in malign gliomas. Irinotecan is an antineoplastic agent, potent inhibitor of DNA topoisomerase-I (2). It is used for brain tumors because of crossing the blood-brain barrier and especially used in multi-drug resistant brain tumors in combination with other drugs (3). Boron is a natural mineral and being investigated due to anticancer properties. Prostate, ovarian, lung, breast and cervical cancers were observed less in people consume rich foods from the boron (4,5,6). It has shown that boron reduces the expression of cell cycle proteins and induces apoptosis (7). In this study, we investigated that the synergistic antiproliferative and apoptotic effects of borax with chemotherapy drug irinotecan (single and combined dosages) on YKG1 glioblastoma cells in vitro.

MATERIAL-METHODS: YKG1 glioblastoma cell line was treated with different concentrations of borax (0,5 / 1 / 3 mg/ml) and irinotecan (25 / 50 / 100 mM) and also the combination of these dosages. After treatments, at 24th and 48th hours cytotoxic interactions were analyzed using the MTT method and the mechanism of the cytotoxicity was determined to be apoptosis by the TUNEL assay.

RESULTS: Irinotecan and borax as a single agent were found to lead to a decrease in cell proliferation and an increase in apoptotic cell number on YKG1 glioblastoma cell line. Irinotecan and borax combined dosages further inhibited the proliferation and induced apoptosis in YKG1 cells. The antiproliferative and apoptotic effects of irinotecan were remarkably potentiated by the combination of borax. Antiproliferative and apoptotic effects were observed more pronounced at higher doses and these effects were at 48th hours in all groups compared to 24th hour.

CONCLUSION: As a result, when the effects of borax and irinotecan as a single agent or combined were investigated on YKG1 glioblastoma cells the inhibitor effect on cell proliferation and the incentive effect on cell apoptosis were observed especially in combined and higher doses. Cytotoxicity of irinotecan was significantly augmented by combination with borax which inhibits cell growth and induces apoptosis time dose dependently. Further prospective studies may provide more evidence to determine the additional role of borax with combined irinotecan in the treatment of glioblastoma.

Keywords: YKG1, glioblastoma cell line, irinotecan, borax, MTT, Tunel

Kaynakça / References: 1. Kleihues P, Louis DN, Wiestler OD, Burger PC, Scheithauer BW. WHO classification of tumours of the central nervous system (4th Ed.). Louis, D.N., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Cavenee, W.K. International Agency for Research on Cancer (IARC) Lyon 2007; 10-11. 2. Friedman HS, Petros WP, Friedman AH, et al. Irinotecan therapy in adults with recurrent or progressive malignant glioma. *J Clin Oncol.* 1999; 17: 1516–1525. 3. James J. Vredenburgh, Annick Desjardins, David A. Reardon, and Henry S. Experience with irinotecan for the treatment of malignant glioma. Friedman Preston Robert Tisch Brain Tumor Center at Duke, Duke University Medical Center, Durham, NC, USA. 4. Benderdour M, Bui-Van T, Dicko A, Bellewille F. In vivo and in vitro effects of boron and boronated compounds. *Journal of Trace Elements in medicine and Biology.* Volume 2. Issue 1 March 1998 pages 2-7. 5. M. R. Naghii, P. Darvishi, Y. Ebrahimpour, G. Ghanizadeh, M. Mofid, M. Hedayati, A. R. Asgari. Effect of Combination Therapy of Fatty Acids, Calcium, Vitamin D and Boron with Regular Physical Activity on Cardiovascular Risk Factors in Rat. *J Oleo Science.* 2012 6. Usuda K, Kono K, Dote T, Watanabe M, Shimizu H, Tanimoto Y and Yamadori E. An Overview of Boron, Lithium, and Strontium in Human Health and Profiles of These Elements in Urine of Japanese. *Environmental Health and Preventive Medicine* 12, 231–237, November 2007 7. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients. Washington (DC): National Academies Press (US); 2001.

P157

MFE-319 Endometriyum Kanseri Hücre Hattında Sisplatin, Paklitaksel ve Metformin'in Apoptoz Üzerine Etkileri

Elgin Türköz Uluer, Işıl Aydemir, Pınar Kılıçaslan Sönmez, Mehmet İbrahim Tuğlu, Sevinç Inan Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Manisa, Türkiye

GİRİŞ: Endometriyum kanseri (ECA), gelişmiş ülkelerde en sık görülen jinekolojik kanserdir. ECA, patolojik ve klinik bulgularına göre iki grupta sınıflandırılmaktadır. Tip1 ECA, östrojen bağımlıdır, hastaların % 80-90'ını oluşturur. Tip2 ECA, östrojenden bağımsızdır, hastaların % 10-20'sini oluşturur ve atrofik endometriyum zemininde gelişmektedir. Apoptoz, programlı hücre ölümü olup, ekstresek (ölüm reseptörleri) ve intrinsek (mitokondriyon) yollarla gerçekleşebilir. Çalışmada, Tip2 ECA MFE-319 hücrelerinde, diabet tedavisinde kullanılan Metformin ve kemoterapötik ilaçlar Sisplatin ile Paklitaksel'in apoptoz üzerine etkilerinin indirek immunohistokimyasal olarak ekstresek yolak belirteci anti-FasL, intrinsek yolak belirteci anti-SitokromC ile ortak yolak belirteci anti-Kaspaz3 primer antikolarıyla ve TUNEL yöntemiyle değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD: MFE-319 hücreleri, DMEM F-12 vasatında, %5 CO₂ içeren 37°C nemli inkübatörde çoğaltılmıştır. Hücreler 24 kuyucuklu kültür kaplarına alınarak, Sisplatin, Metformin, Paklitaksel, Sisplatin-Metformin(S+M), Sisplatin-Paklitaksel(S+P) ve Paklitaksel-Metformin(P+M) IC₅₀ dozlarının 24. saatteki etkileri değerlendirilmiştir. Paraformaldehitte tespit edilen hücreler anti-FasL, anti-SitokromC ve anti-Kaspaz3 primer antikolarıyla inkübe edilmiştir. Aynı zamanda hücreler TUNEL yöntemi için TdT ile inkübe edilmiştir. İmmunohistokimya sonuçları H-Skor yapılarak ANOVA istatistik testiyle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR: MFE-319 hücre hattında FasL immunoreaktivitesi orta, sitokromC ve kaspaz3 immunoreaktiviteleri hafif şiddette izlenmiştir. FasL immunoreaktivitesi; S+P uygulanan grupta şiddetli, Paklitaksel, S+M ve P+M uygulanan grupta orta/şiddetli olarak saptanırken, Metformin uygulanan grupta orta, Sisplatin uygulanan grupta ise hafif/orta şiddetli olarak izlenmiştir. SitokromC immünoreaktivitesi, Sisplatin ve S+P uygulanan gruplarda orta/ şiddetli, Paklitaksel, P+M ve S+M uygulanan grupta orta, Metformin uygulanan grupta ise hafif/orta şiddette gözlenmiştir. Kaspaz3 immunoreaktivitesi, Sisplatin, Paklitaksel, S+P, S+M uygulanan gruplarda şiddetli, P+M uygulanan grupta orta ve Metformin uygulanan grupta hafif şiddette olarak saptanmıştır. TUNEL pozitif hücre sayılarının Sisplatin uygulanan gruplarda fazla olduğu gözlenmiştir (p<0.05).

SONUÇ: İndirekt immunohistokimya sonuçları değerlendirildiğinde S+P uygulamalarının hem ekstresek hem de intrinsek apoptotik yollar üzerinden efektör kaspaz olan kaspaz3' ü aktive ettiği ve TUNEL sonuçları ile korele olarak MFE-319 endometriyum kanser hücrelerini apoptoza yönlendirdiği saptanmıştır. Bununla beraber yapılan çalışmalarda antidiyabetik ilaç olan Metformin'in endometriyum kanseri üzerine tek başına ve/veya kemoterapötik ilaçlar ile kombine kullanımının tartışmalı etkileri bulunmuştur. Bu çalışmada Metformin'in tek başına apoptoz üzerine etkili olmadığı ancak Sisplatin ile kombine edildiğinde daha etkili olduğu ve rutin tedavi içinde yer alması için diğer araştırmalar ile desteklenmesi gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: MFE-319, Sisplatin, Paklitaksel, Metformin, Apoptoz

Effects of Cisplatin, Paclitaxel and Metformin on Apoptosis in MFE-319 Endometrium Cancer Cell Line

Elgin Türköz Uluer, Işıl Aydemir, Pınar Kılıçaslan Sönmez, Mehmet İbrahim Tuğlu, Sevinç Inan Department of Histology Embryology, Faculty of Medicine, Celal Bayar University, Manisa, Turkey

OBJECTIVE: Endometrial carcinoma (ECA) is most common gynecological cancer in developed countries. ECAs are classified into two types based on pathologic and clinic features. Type-1 ECAs, are estrogen-dependent, constitutes 80-90% of patients. Type-2 ECAs are estrogen-independent, constitutes 10-20% of patients and occurring mostly on atrophic endometrium. Apoptosis is a process of programmed cell death which can be occur via extrinsic (death receptors) or intrinsic (mitochondria) pathway. In this study we aimed to investigate effects of Metformin which is used in diabetes treatment and chemotherapeutic drugs Cisplatin and Paclitaxel on apoptosis via indirect

immunohistochemistry by using extrinsic pathway marker anti-FasL, intrinsic pathway marker anti-CytochromeC and common pathway marker anti-Caspase3 primary antibodies and TUNEL methods. MATERIALS-METHODS: MFE-319 cells were cultured in DMEMF-12 in humidified atmosphere at 37°C in 5% CO₂. After growing cells on 24 well-plate, IC₅₀ dose of Cisplatin, Metformin, Paclitaxel, Cisplatin-Metformin(C+M), Cisplatin-Paclitaxel(C+P) and Paclitaxel-Metformin(P+M) was applied to cells and effect of 24th hour was evaluated. After fixation with paraformaldehyde cells were stained with anti-FasL anti-CytochromeC and anti-Caspase3 primary antibodies for immunohistochemistry and with TdT for TUNEL. The results of immunohistochemistry were evaluated by H-SCORE in comparison with One-Way ANOVA statistical test.

RESULTS: Immunoreactivity of FasL was observed as moderate while CytochromeC and Caspase3 immunoreactivities were mild in MFE-319 cell line. The immunoreactivity of FasL was observed as strong in C+P group, moderate/strong in Paclitaxel, C+M and P+M groups, moderate in metformin group and mild/moderate in Cisplatin group. The immunoreactivity of CytochromeC was detected as moderate/strong in Cisplatin and C+P groups, moderate in Paclitaxel, C+M and P+M groups and mild/moderate in Metformin group. The immunoreactivity of Caspase3 was seen as strong in Cisplatin, Paclitaxel, C+P and C+M groups, moderate in P+M group and mild in Metformin group. While TUNEL positive cells were much in Cisplatin treated groups when compare to other groups ($p < 0.05$).

CONCLUSION: According to immunohistochemical evaluation; treatment of C+P in MFE-319 endometrium cancer cells lead to apoptosis through effector Caspase3 which is activated by extrinsic and intrinsic apoptotic pathways and correlated with TUNEL results. However in recent studies, usage of antidiabetic drug Metformin alone and/or combination with chemotherapeutic drugs showed controversial effects. In this study it was shown that alone administration of Metformin was not effective on apoptosis while combination with Cisplatin is more effective. Therefore it is thought that metformin usage on cancer treatment must be supported by other researchs to take part in routine treatments.

Keywords: MFE-319, Cisplatin, Paclitaxel, Metformin, Apoptosis

P158

İvesi Irkı Erkek Kuzularda Farklı Besleme Programları ve Ghrelin Enjeksiyonunun Plazma Ghrelin Konsantrasyonu ve Abomasumda Ghrelin Pozitif Hücre Dağılımı Üzerine Etkileri

Nesrin Özfiliz¹, Şerife Tütüncü², Meltem Çetin³, Duygu Udum³

¹Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 16 059 - Görükle, Bursa, TÜRKİYE.

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 55 139 Kurupelit, Samsun, TÜRKİYE.

³Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 16 059 - Görükle, Bursa, TÜRKİYE.

Ghrelin, rat ve insan midesinden izole edilmiş 28 amino asitli bir polipeptiddir. Bu çalışma kuzularda farklı besleme programları ve ghrelin enjeksiyonunun; dolaşımdaki ghrelin konsantrasyonu ve abomasumdaki ghrelin pozitif hücrelerin dağılımını tespit etmek amacıyla yapıldı.

Bu amaçla 2 ay yaşlı İvesi ırkı 16 erkek kuzu 4 gruba ayrıldı; I. Grup: Ad libitum, II. Grup: Ad libitum besleme +1 µg/kg Ghrelin enjeksiyonu, III. Grup: günde bir kez besleme, IV. Grup: günde 2 kez besleme yapıldı. Kuzular 43 kg ağırlığa ulaştığında (yaklaşık 3 ay yaşında) beslemeden 30 dakika önce ve 60 dakika sonra plazma ghrelin konsantrasyonları ölçüldü. Aynı gruptan kesim sonrası abomasumun cardia, fundus ve pilorus bölümlerinden alınan örneklerle avidin Biotin tekniği uygulanarak Ghrelin pozitif hücreler tespit edildi. Ghrelin pozitif hücreler öncelikle bez epitellerinde ve pilorusda bazı epitel hücrelerinde görüldü. Ghrelin pozitif hücrelerde reaksiyon yoğunluğu ve sayısal hücre yoğunluğu bakımından abomasum bölümleri ve beslenme grupları arasında görülen farklılığın istatistikî bakımından önemli olmadığı görüldü. Ayrıca plazma ghrelin konsantrasyonları beslenmeden önce ve sonra oldukça stabil değerlerdeydi. Ad libitum grupta görülen hafif farklılığın istatistikî bakımından önemli olmadığı tespit edildi.

Bu sonuçlar ghrelin pozitif reaksiyon veren hücreler ile kuzulara uygulanan besleme programı ya da ghrelin enjeksiyonu arasında doğrudan bir ilişki olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Abomasum, Besleme Programı, Ghrelin, immunohistokimya,

Effects of Different Feeding Programs and Ghrelin Injection on Plasma Ghrelin Concentrations and Distribution of the Ghrelin Positive Cells in the Abomasum of Awassi Male Lambs

Nesrin Özfiliz¹, Şerife Tütüncü², Meltem Çetin³, Duygu Udum³

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Uludağ, 16 059 - Görükle, Bursa, TURKEY.

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ondokuz Mayıs, 55 139 Kurupelit, Samsun, TURKEY.

³Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, University of Uludağ, 16 059 - Görükle, Bursa, TURKEY.

Ghrelin is a novel 28-amino acid peptide isolated from the rat and human stomach. This study was conducted to determine the influence of the feeding program and of ghrelin injection in lambs on the density of the ghrelin immunopositive cells in the abomasum and on the circulating ghrelin concentrations.

For that, 16 Awassi male lambs, 2 month old, were allotted in 4 equal groups (group I: fed ad libitum; group II: fed ad libitum and intravenously injected with ghrelin (1 µg/kg), group III: fed once a day, group IV: fed twice a day). When lambs weighing 43 kg (around 3 month old), plasma ghrelin concentrations were measured 30 minutes before and 60 minutes after feeding by radio-immuno-assay, and after slaughtering, ghrelin positive cells were detected by immunohistochemistry (labeled avidin-biotin technique) in the cardia, fundus and pylorus regions of abomasum. Ghrelin immunoreactive cells, mainly glandular cells and some epithelial cells in the pylorus area, were scattered throughout the mucosal layer in the whole organ. The staining intensity and the density of positive cells have not significantly differed according to the stomacal zone or to the rhythm of food distribution. Furthermore, plasma ghrelin concentrations remained stable before and after feeding and although they were weakly lowered in lambs fed ad libitum, no significant difference in this parameter was evidenced between groups.

These results showed that glandular cells from the abomasum expressed ghrelin and that the pattern of the peptide secretion was not closely related to the feeding program or to the ghrelin injection in lambs.

Keywords: Abomasum, Feeding Program, Ghrelin, Immunohistochemistry,

Kaynakça / References: 1. DORNONVILLE C., BJÖRKQVİSTA M., SANDVİK A.K., Bakke I., Zhao C.M., Chen D., Håkanson R.: A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul. Pept.*, 2001, 19, 141-150. 2. HAYASHIDA T., MURAKAMI K., MOGI K., NISHIHARA M., NAKAZATO M., MONDAL M.S., HORII Y., KOJIMA M., KANGAWA K., MURAKAMI N.: Ghrelin in domestic animals: distribution in stomach and its possible role. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 2001, 21, 17-24. 3. HUANG Z.G., XIONG L., LIU Z.S., QIAO Y., DAI R., XIE Z., LIU S.R., SHI G.Q., LIU G.Q.: The tissue distribution and developmental changes of ghrelin mRNA expression in sheep. *Acta Genet. Sin.*, 2006, 33, 808-813. 4. TANAKA M., WATANABE M.: Distribution of Ghrelin-immunoreactive cells in human gastric mucosa: comparison with that of parietal cells. *J. Gastroenterol.*, 2005, 40, 345-349. 5. WADA R., SAKATA I., HIROYUKI K., KAZUAKI N., HAYASHI Y., KANGAWA K., SAKAI T.: Existence of ghrelin-immunopositive and expressing cells in the proventriculus of the hatching and adult chicken. *Regul. Pept.*, 2003, 11, 123-128.

P159

Compact organ electrophoresis system (CORES): kolay, hızlı, ucuz organ elektroforezi*

Esat Adıgüzel¹, Ayşegül Güngör Aydın², Erdiñ Şahin Çonkur³

¹Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi AD, Türkiye

²Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sinirbilim Anabilim Dalı, Denizli Türkiye

³Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Makina Mühendisliği Bölümü, Denizli Türkiye

AMAÇ: Organ elektroforezi beyinde şeffaflaştırma uygulaması ile yaygın kullanılmaya başlanmış bir laboratuvar yöntemidir. Bu konuda henüz standart uygulamalar sağlayacak alt yapı oluşmamıştır. Özellikle elektroforezin ortaya çıkardığı sıcaklığın, elektrotlara verilen voltajın, oluşan direncin, sıvı sirkülasyon hızının kontrol edilmesi araştırmacılar için zorluk yaratmaktadır. Compact organ electrophoresis system (CORES), araştırma ekibimiz tarafından geliştirilen bir organ elektroforez sistemi olup, araştırmacılara kolay, hızlı, ucuz çalışma imkânı sağlamaktadır.

GEREÇ-YÖNTEM: Bu teknik çalışma, Pamukkale Üniversitesi laboratuvarlarında TÜBİTAK desteği ile araştırma-geliştirme projesi olarak yapıldı. Tasarımı çalışma ekibi tarafından gerçekleştirilen sistem, elektronik kontrol ünitesi, sıvı tankı, tank sıcaklık kontrol ünitesi, elektroforez kabı bölümlerini içerecek şekilde bütün olarak oluşturuldu. Kontrol ünitesi yazılımı, sistemden sensörler aracılığı ile alınan sıcaklık ve devridaim hızı bilgilerini kullanarak sistemi kararlı tutacak geri besleme prensibine göre üretildi. Bu sayede sistemin devridaim hızı, sıcaklık değerleri ve elektroforez kabına verilecek akımın yüksekliği dokunmatik ekran yoluyla izlenip kontrolü yapılabilmektedir. Özel olarak tasarlanıp 3D yazıcı ile üretilen elektroforez kabının iki yüzündeki şeffaf alanlar aracılığı ile işlem yapılan doku izlenebilmekte, dokunun konulacağı kafes kap içine takılıp çıkartılabilmektedir. Bu sayede dokunun yerleştirilmesi ve geri alınması sırasında zarar görmesi engellenmiştir. Elektroforez için tasarlanan elektrotlar platin tel kullanılarak üretildiği için korozyon ve partikül toplanması minimum düzeye indirilmiştir. Sıcaklık kontrol ünitesi, yaygın kullanılan sistemlerden farklı olarak sıvı tankı tabanından hem ısıtma hem de soğutma işlemini yapabilen, kompresör gerektirmeyen hassas kontrollü bir tasarımıdır. CORES imalatında kullanılan malzemeler sistemin maliyetini en az tutacak şekilde piyasa araştırması yapılarak sağlanmıştır.

BULGULAR-SONUÇ: Doku ve organ elektroforezi için gerekli olan düzeneği bir bütün içinde sunan CORES ile yapılan siçan beyin elektroforezi denemeleri sonucunda hızlı şeffaflaşma sağlandı. Sistemin araştırmacıların kullanıma sunulması için patent başvuruları ve deneme sürümlerinin yapılması çalışmaları devam etmektedir.

*Bu çalışma TÜBİTAK tarafında desteklenmektedir (proje no: 1005-114S407)

Anahtar Kelimeler: elektroforez, şeffaflaştırma, beyin, sinir sistemi

Compact organ electrophoresis system (CORES): easy, fast, cheap organ electrophoresis*

Esat Adıgüzel¹, Ayşegül Güngör Aydın², Erdiñ Şahin Çonkur³

¹Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Pamukkale University, Denizli, Turkey

²Department of Neuroscience, Institute of Health Sciences, Pamukkale University, Denizli, Turkey

³Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Pamukkale University, Denizli, Turkey

Objective

Organ electrophoresis is a laboratory method becoming common with its use for transparency processes in brain tissue. Infrastructure for standard procedures has not been formed yet. Especially control of heat produced by electrophoresis, voltage given to the electrodes, resistance and speed of liquid circulation create difficulty for researchers. CorES is a electrophoresis system developed by our research team and it provides easy, fast, cheap working opportunities for researcher.

Material & Method

This technique work supported by TUBITAK as a research and development project was performed in Pamukkale University laboratory. The system design performed by the research team was formed as a whole include electronic control unit, liquid tank, temperature control unit of the tank and electrophoresis chamber. The control unit software was produced according to feedback

principle to keep the system stable using information of temperature and circulation rate received from system through the sensors. In this way, circulation rate, temperature values and current given to the electrophoresis chamber can be monitored and controlled via the touchscreen. Processing operations can be monitored through the transparent areas on both sides of the electrophoresis chamber that specially designed and produced by 3D printer and cage, putting the tissue in it, can be attachable and detachable in the electrophoresis chamber. In this way, the tissue is prevented being damaged during placing and withdrawal of it. Corrosion and particle collection is reduced to a minimum because of the envisaged electrodes for electrophoresis is produced using platinum wire. Temperature control unit is a sensitive, controlled design and does not require compressors, unlike the commonly used systems it is capable of both heating and cooling process from liquid tank base. Materials used in the manufacture of CORES were provided making a market research to hold the system cost minimum.

Results & Conclusion

As a result of rat brain tissue electrophoresis experiments made with CORES, offering a whole apparatus necessary for the tissue and organ electrophoresis, transparency was observed quickly. Patent applications and trial version studies for the introduction of the system to researchers are in progress.

Key Words: electrophoresis, elektroforez, doku, organ, şeffaflaştırma
clearing, brain, nervous system

*This study is supported by TUBITAK (Project number: 1005-114S407)

Keywords: electrophoresis, clearing, brain, nervous system

Kaynakça / References: Chung K., Wallace J., Kim S.Y., Kalyanasundaram S., Andalman A.S, Davidson TJ, Mirzabekov JJ, Zalocusky KA, Mattis J, Denisin AK, Pak S, Bernstein H, Ramakrishnan C, Grosenick L, Gradinaru V, Deisseroth K. Structural and molecular interrogation of intact biological systems, *Nature*, 16; 497(7449) 332-7, (2013). Chung K., Deisseroth K., CLARITY for mapping the nervous system, *Nature methods (Nat. Methods)*, Jun; 10(6):508-13, (2013). Tomer R., Ye L., Hsueh B., Deisseroth K. Advanced CLARITY Methods for Rapid and High-Resolution Imaging of Intact Tissues "Nature Protocol" 2014, 9(7): 1682-1697.

P160

Hücre dışı matriksin iki boyutlu ve üç boyutlu primer nöron kültürlerinin oluşturulmasındaki etkisinin Taramalı Elektron Mikroskop ile incelenmesi

Serçin Karahüseyinoğlu¹, Gizem Nur Şahin², Emine Şekerdağ², Yasemin Güngör Özdemir³

¹Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²Koç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul

³Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

GİRİŞ VE AMAÇ

Kültür ortamlarının çok karmaşık bir yapıya sahip olan sinir dokusunu yansıtmıyor olması sinir bilimi çalışmalarında kısıtlayıcı aşamalardan biridir. Bu nedenle fizyolojik koşullara daha yakın kültürlerin yaratılması hedeflenmektedir.

Bu çalışmanın amacı hücre dışı matriks komponentlerinden zengin jel bazlı bir malzeme kullanılarak oluşturulan üç-boyutlu fare embriyonik primer kortikal nöron kültürlerinin, bir yüzey yükü artırıcı olan Poli-D-lizin üzerinde kurulan iki boyutlu nöron kültürleri ile SEM altında karşılaştırılması ve morfolojik açıdan daha etkin olan kültür sisteminin ortaya konulmasıdır (1,2).

YÖNTEM ve GEREÇLER

Balb C cinsi dişi gebe farelerden (n=12) E16'da diseksiyon sonrası elde edilen primer embriyonik kortikal nöron hücre süspansiyonundan (180x106/örnek) elde edilen hücreler ticari bir hücre dışı matriks jeli olan Matrijel'le veya Poli-D-lizin ile kaplanmış yuvarlak cam lameller üzerinde 14 gün süreyle yetiştirilmiştir (3). Kültürün 3,7,11 ve 14. günlerinde hücreler in-vitro görüntüledikten sonra %4 PFA ile rutin histolojik ve immünofluoresan incelemeler için tespit edilmiştir. Hücreler arasında in-vitro oluşmuş yapılanmanın genel özelliklerinin anlaşılabilmesi için hücre iskeleti belirteçleri (tubulin ve aktin) ile IF boyamalar yapılmış ve nöronal uzantıların birbiri ile olan bağlantısı, sinaptik formasyonlar, nöronal ağlar ve sinaps alanları incelenmiştir. Olası miyelin kılıf oluşumları için örnekler nötral yağ boyası olan oil red O ile de boyanmış ve görüntülenmiştir. SEM görüntüleme amacıyla eşzamanlı olarak örnekler %2PFA/%2GA ile tespit edilmiş, tamponlarda yıkanmış, alkollerde dehidrate edilmiş, CPD ile kurutulmuş ve 5nm Au ile kaplanmıştır. SEM altında, kullanılan substratların yüzeyleri, bu yüzeyler üzerinde geliştirilmiş nöronların aksonal ve dendritik oluşumları ve nöronal ağ içine katılmış hücre uzantılarında fiber kalınlığı, yüksek çözünürlükte kantitatif olarak incelenmiştir. SEM görüntüleri Zeiss EVO LS 15 altında, yüksek vakum şartlarında sekonder elektron detektörü ile alınmış, elektron akselasyon yükü 4keV, çalışma aralığı 8-12 mm olarak ayarlanmıştır.

Gruplar arasındaki semi-kantitatif ve kantitatif farklar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

İstatistik analizlerde STATA versiyon 11 (Texas, USA) programı kullanılmıştır.

BULGULAR:

SEM altında, jel bazlı hücre dışı matriks kullanıldığında çok daha iyi bir nöronal ağ oluşumu gözlenmekle birlikte nöron somalarının biraraya geldiği, uzantılarını birlikte oluşturma eğiliminde olduğu ve daha kalın ve destek hücreleri ile çevrelenmiş uzantıların nöronal bir ağ yapılanmasına katıldığı görülmüştür (Şekil 1,2). Sadece poly-D-lizin kullanılan gruplarda ise nöronların tek kaldığı, uzantıların daha zayıf olduğu gözlenmekle birlikte daha düzenli ancak daha ince bir miyelin kılıf oluşumu dikkat çekmiştir (Şekil 3).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Jel-bazlı kombine hücre dışı matriks komponentleri içeren malzemeler primer nöron kültürlerinde nöronların in-vivo özelliklerine yakın morfolojide yapı gösterebileceği 3B kültür ortamlarının oluşturulması için kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: primer nöron kültürü, hücre dışı matriks, üç-boyutlu

Scanning electron microscopic investigation of the effect of extracellular matrix on construction of 2D and 3D primary neuronal cultures

Serçin Karahüseyinoğlu¹, Gizem Nur Şahin², Emine Şekerdağ², Yasemin Güngör Özdemir³

¹Koç University School Of Medicine, Department of Histology & Embryology, İstanbul

²Koç University Graduate School of Health Sciences, İstanbul

³Koç University School Of Medicine, Department of Neurology, Istanbul

AIM

One of the limiting steps in neuroscience is the inability of culture conditions to reflect the complicated structure of nervous tissue. This has driven the scientists to develop cultures which are more compatible with physiological conditions.

The aim of this study is scanning electron microscopic investigation and comparison of the morphology and efficacy of 3D mouse embryonic primary cortical neuronal cultures constructed by use of a gel based material rich in extracellular components, with 2D cultures prepared by use of poly-D-lysine, a charge enhancer(1,2).

MATERIALS AND METHODS

Primary embryonic cortical neuronal cells (180x106/sample) obtained from dissection of Balb C female pregnant mouse (n=12) at E16 were grown coverslips covered with Matrigel (a commercial extracellular matrix) or poly-D-lysine for 14 days (3). The cells were visualized in-vitro and fixed with 4%PFA on days 3,7,11,14 for routine histological and immune fluorescent investigations. Cells were stained with cytoskeletal fluorescent labeled markers as tubulin and actin in order to reveal the general architecture gained in vitro and observed for connections and possible synaptic formations between cells, neuronal network and synapse areas. Probable myelin sheath formations were searched and documented by oil red O, a neutral lipid stain. For SEM imaging samples were simultaneously fixed with 2%PFA/2%GA, followed by multiple wash with buffer solutions, dehydrated by alcohols, dried with CPD, covered by 5 nm Au. The surface of substrates used, axonal and dendritic elaborations on the substrates and fiber thickness in cell extensions were quantitatively recorded with high resolution under SEM. SEM images were taken by Zeiss EVO LS 15 equipped with secondary electron detector at high vacuum conditions. Electrons acceleration voltage was set to 4keV and working distance was set about 8-12 mm. Semi-quantitative and quantitative differences between groups were analyzed by statistical analysis (STATA v11).

RESULTS

By SEM, it was demonstrated that gel-based extracellular matrix can cause a better neuronal network, though neuronal somae tend to aggregate to compose cell extensions together resulting with thicker elaborations maintained by supportive cells (Figures 1,2). In the groups where only poly-D-lysine used although cell extensions were weaker, a more regular but thinner myelin sheath formation was observed (Figure 3).

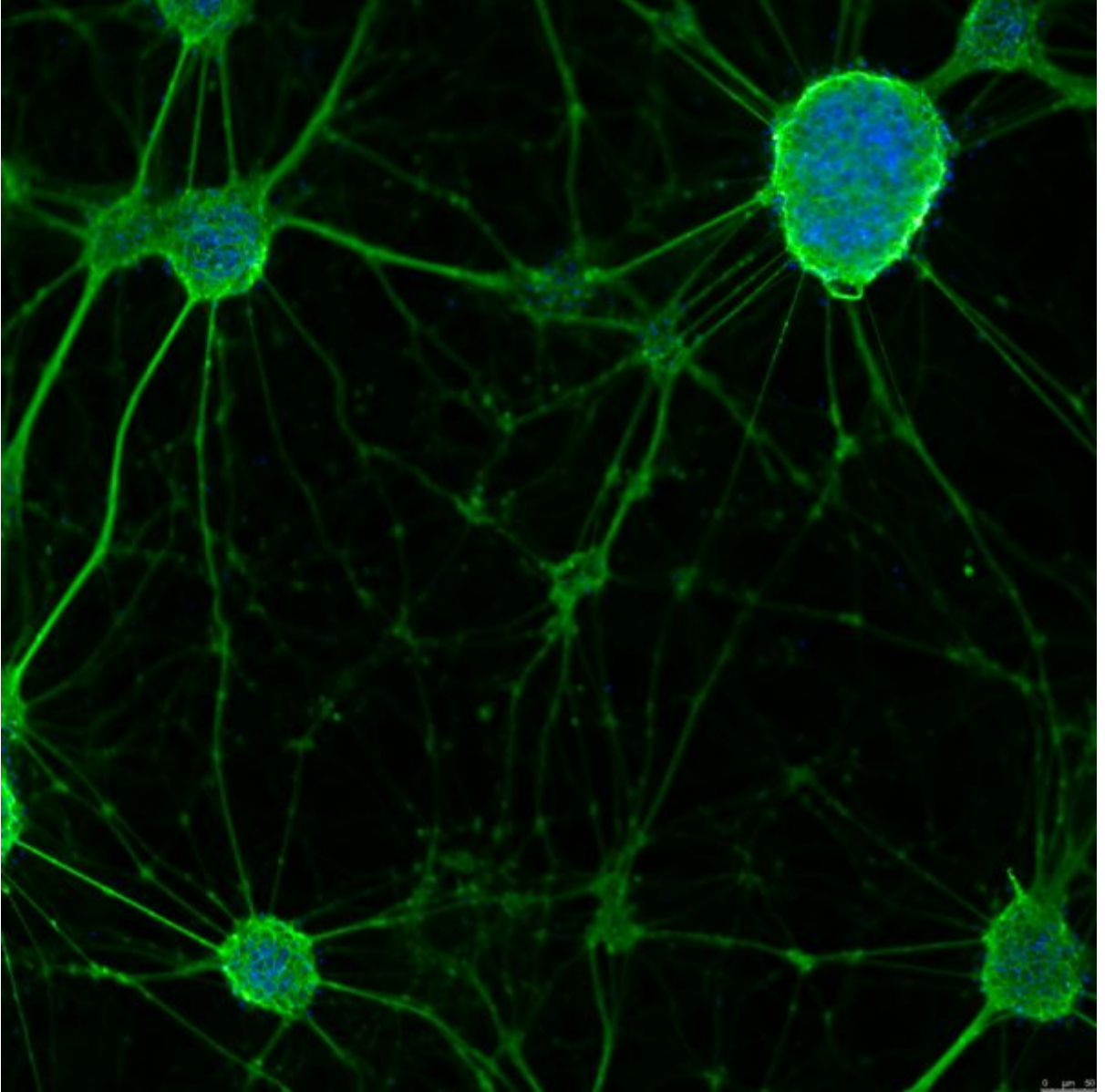
CONCLUSION AND DISCUSSION

Gel-based combined extracellular matrix materials can help to construct 3D neuronal cultures, which resemble morphologically in vivo states.

Keywords: primary neuronal culture, extracellular matrix, three-dimensional

Şekil 1

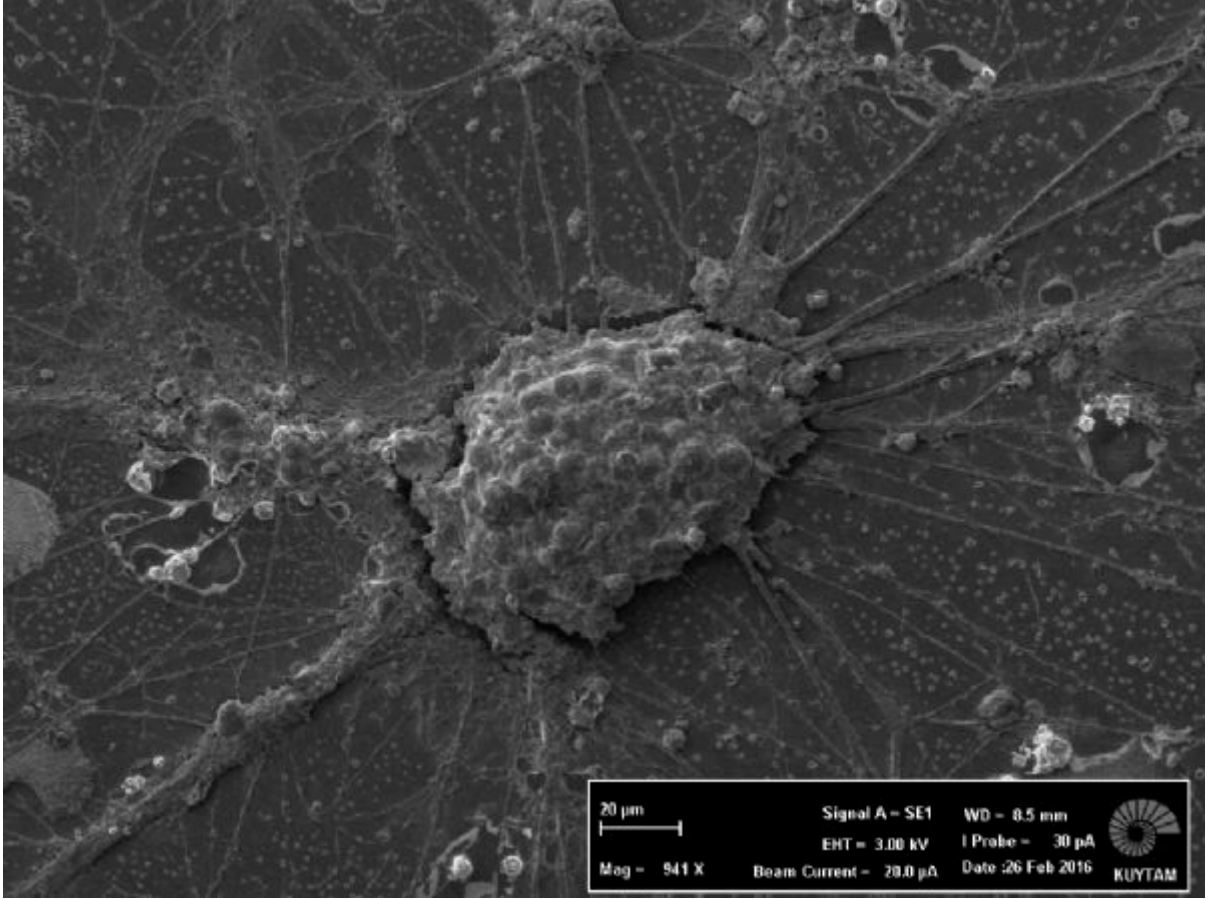
Figure 1.



Jel-bazlı hücre dışı matris üzerinde yetiştirilmiş primer kortikal nöronlarda hücre iskeleti. Nöron somalarında biraraya gelme, hücre kümeleri oluşturma ve uzantılarını bu kümelerden geliştirme eğilimi gözleniyor. Hücreler arasında yaygın bir ağ mevcut. IF boyama, yeşil: tubulin, mavi: çekirdek.

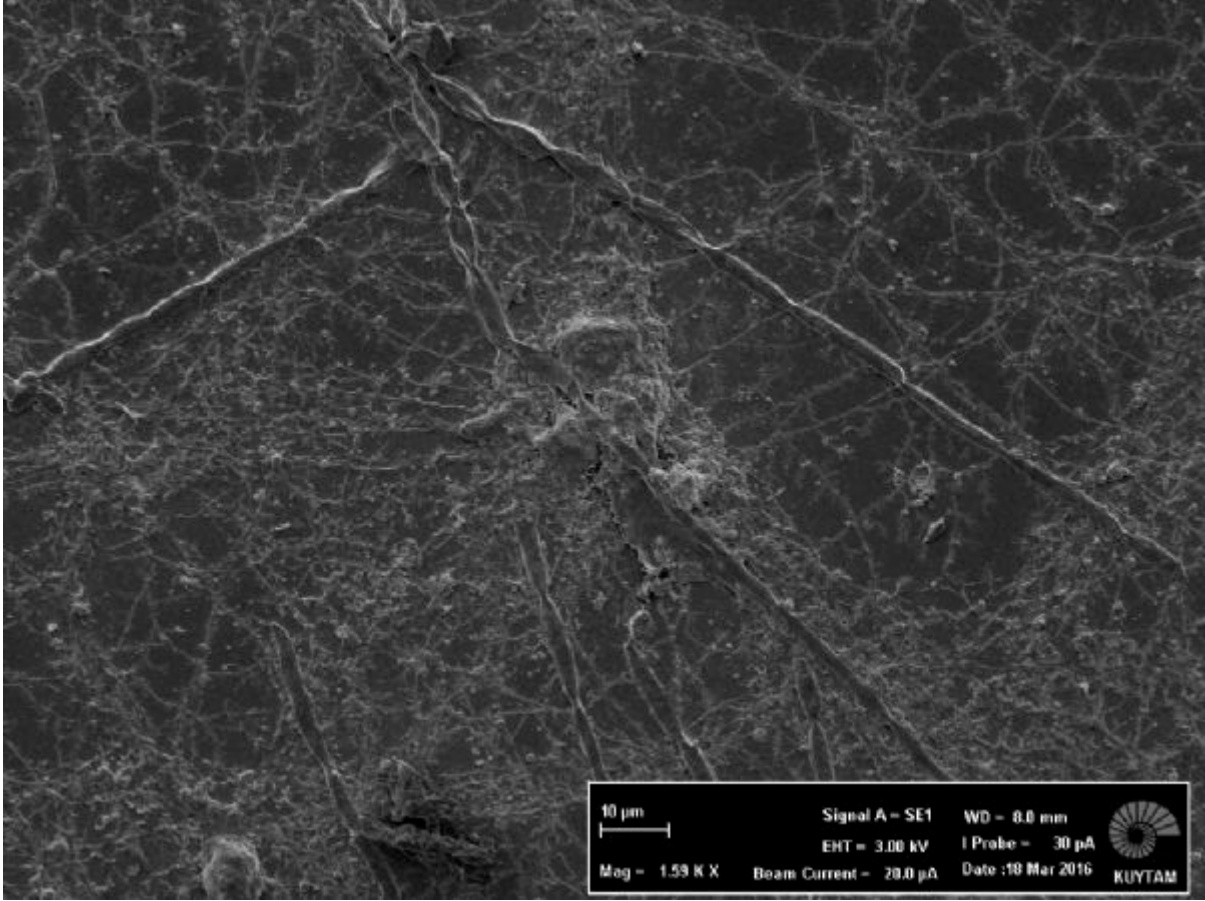
Cytoskeletal arrangement of primary neuronal cortical cells on gel-based extracellular matrix. Neuron bodies tend to aggregate and elaborate extensions from the cellular aggregates. An extensive network can be noticed. IF staining, green: tubulin, blue: nucleus.

Şekil 2
Figure 2



Jel-bazlı hücre dışı matriks üzerinde yetiştirilmiş primer kortikal nöronların SEM görüntüsü. Nöron somaları biraraya gelmiş, ve uzantılar hücre kümelerinden gelişme eğilimi gösteriyor.
SEM image of primary neuronal cortical cells on gel-based extracellular matrix. Neuron bodies are aggregated and extensions arise from the cellular aggregates.

Şekil 3
Figure 3



Poli-D-lizin üzerinde yetiştirilmiş primer kortikal nöronların SEM görüntüsü. Nöronal uzantılar jelde yetiştirilenlere göre daha ince ancak myelin kılıfı ve Ranvier düğümü benzeri yapılar daha düzenli olarak izleniyor

SEM image of primary neuronal cortical cells grown on poly-D-lysine. Neuronal extensions are thinner compared to the ones raised on gel, however myelin sheath and Ranvier's node like structures are more orderly arranged.

Kaynakça / References: 1. Gaoying Sun, Wenwen Liu, Zhaomin Fan, Daogong Zhang, Yuechen Han, Lei Xu, Jieyu Qi, Shasha Zhang, Bradley T. Gao, Xiaohui Bai, Jianfeng Li, Renjie Chai and Haibo Wang. The Three-Dimensional Culture System with Matrigel and Neurotrophic Factors Preserves the Structure and Function of Spiral Ganglion Neuron in Vitro. Hindawi Publishing Corporation, Neural Plasticity, Volume 2016, Article ID 4280407 2. J Neurosurg Pediatrics 11:575–583, 2013 Biocompatibility of pristine graphene for neuronal interface. Laboratory investigation, Deshdeepak Sahni, Andrew Jea, Javier A. Mata, Daniela C. Marcano, Ahilan Sivaganesan, Jacob M. Berlin, Claudio E. Tatsui, Zhengzong Sun, Thomas G. Luerksen, Shiyun Meng, Thomas A. Kent and James M. Tour 3. Lutz G. W. Hilgenberg, Martin A. Smith Preparation of Dissociated Mouse Cortical Neuron Cultures. Journal of Visualized Experiments Department of Anatomy and Neurobiology, University of California, Irvine DOI: 10.3791/562

P161

{Pinus brutia} Ekstresi İçeren Krem Formülasyonun Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi: Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Çalışma

Yiğit Uyanıklı¹, Murat Eysel², Özlem Yeşil Çelikaş³, Türker Çavuşoğlu¹, Gürkan Yiğittürk⁴, Yasemin Adalı⁴, Kubilay Doğan Kılıç⁴, Emel Öykü Çetin⁵

¹Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı & Ege Üniversitesi, Kordon Kanı, Hücre- Doku Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir

²Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, İzmir

³Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

⁴Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

⁵Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyofarmasotik ve Farmakokinetik Anabilim Dalı, İzmir

AMAÇ: Yara iyileşme süreci kompleks ve hala tam olarak anlaşılammış bir süreçtir. Çalışmamızda sıçanlardaki kesik yarası modeli üzerinden kabuk ekstraktının, in vivo yara iyileştirme kapasitesinin belirlenmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

METOD: 18 Wistar-albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar 3 gruba (n=6) ayrıldı. Daha sonra plasebo ve test formülasyonları 9. güne kadar gün "0" dan günde bir kez hayvanlara uygulandı. Sıçanların dorsal tarafı, bir kaudal merkezli 2X2 cm lik flep kaldırıldı.

BULGULAR: Deri yara örneklerinin parafin kesitlerine iNOS (indüklenebilir nitrik oksit sentetaz) ve desmin antikorları yanı sıra hematoksilin-eozin boyama da uygulandı. Tedavi grubunda, istatistiksel olarak anlamlı hem makroskopik hem de histopatolojik bir iyileşme gözlemlenmiştir. P.brutia gruplarında (saç folikülleri, sebace bezler, epidermis) plasebo grubuna göre iNOS ekspresyon seviyelerinde azalma olmuştur. P.brutia'nın derideki oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir. Kontrol gruplarına çoğunlukla benzer olarak P. brutia gruplarında desmin ekspresyon seviyeleri ve musculus erector pili kasının büyüklüğünde artış olmuştur.

SONUÇ: Sonuç olarak, P. brutia ekstraktı ile tedavi edilmiş hayvan gruplarında anlamlı yara iyileşme aktivitesi gözlemlenmiştir. P.brutia ekstraktının yara iyileşme aktivitesi histokimyasal ve immünohistokimyasal parametrelerle doğrulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: {Pinus Brutia}, Yara iyileşmesi, İmmünohistokimya, sıçan

Evaluation of The Effect of {Pinus brutia} Containing Cream on Wound Healing: A Histochemical and Immunohistochemical Study

Yiğit Uyanıklı¹, Murat Eysel², Özlem Yeşil Çelikaş³, Türker Çavuşoğlu¹, Gürkan Yiğittürk⁴, Yasemin Adalı⁴, Kubilay Doğan Kılıç⁴, Emel Öykü Çetin⁵

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Ege University & Cord Blood, Cell And Tissue Research And Application Centre, Ege University, Izmir, Turkey Izmir, Turkey

²Department of Emergency Medicine, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey

³Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Ege University, Izmir, Turkey

⁴Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey

⁵Department of Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, Faculty of Pharmacy, Ege University, Izmir, Turkey

BACKGROUND: The wound healing process is complex and still poorly understood. Our study was designed to identify and compare the in vivo wound healing capacity of a bark extract from Pinus brutia in an incision wound model in rats.

METHODS: Eighteen Wistar-Albino rats were included in the experiment. The rats were divided into three groups (n = 6). Subsequently placebo and test formulations were applied to animals once a day from day "0" until the 9th day. The dorsal side of rats, a caudally based 2X2 cm flap was drawn and was pulled up by sharp dissection.

RESULTS: Haematoxylin and eosin staining as well as antibodies iNOS (Inducible nitric oxide synthase) and desmin were applied to paraffin sections of skin wound specimens. In treatment group, a statistically significant recovery was observed both macroscopically and histopathologically. iNOS expression levels decreased at P. Brutia groups (hair follicles, sebaceous glands, epidermis) than placebo group. P. Brutia was shown to reduce oxidative damage in the

skin. Desmin expression levels and size of musculus erector pilia increased at P. Brutia groups mostly similar to the control group.

CONCLUSION: Ultimately, significant wound healing activity was observed in P. brutia extract treated animal groups. Wound healing effect of P. brutia extract has been approved as histochemical and immunohistochemical parameters.

Keywords: {Pinus Brutia}, wound Healing, immunohistochemistry, rat

Resim 1
Figure 1

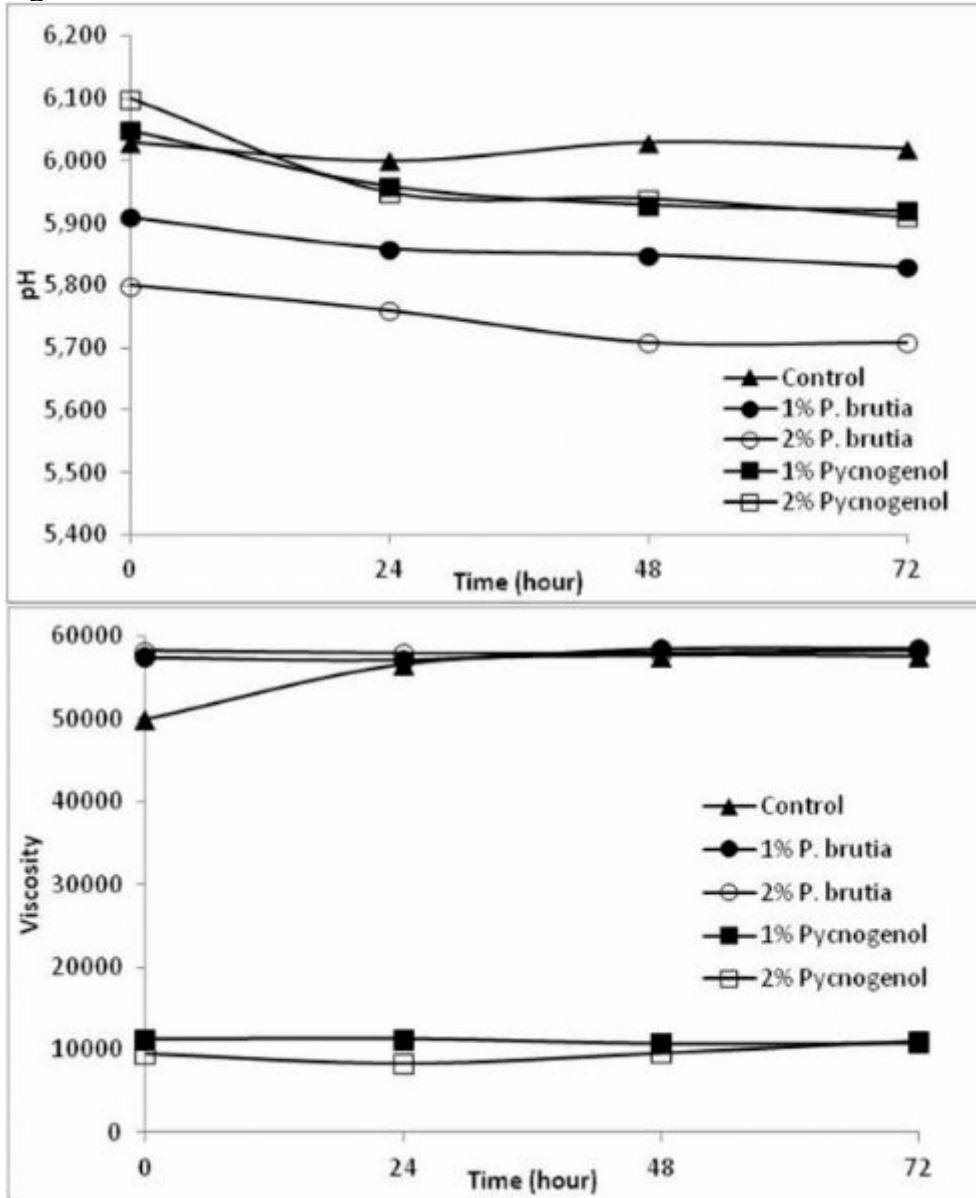


Fig 1. The pH values (\pm SEM) of topical formulations during freeze thaw cycle test. Fig2 The viscosities of topical formulations during freeze thaw cycle test.

Resim 2
Figure 2

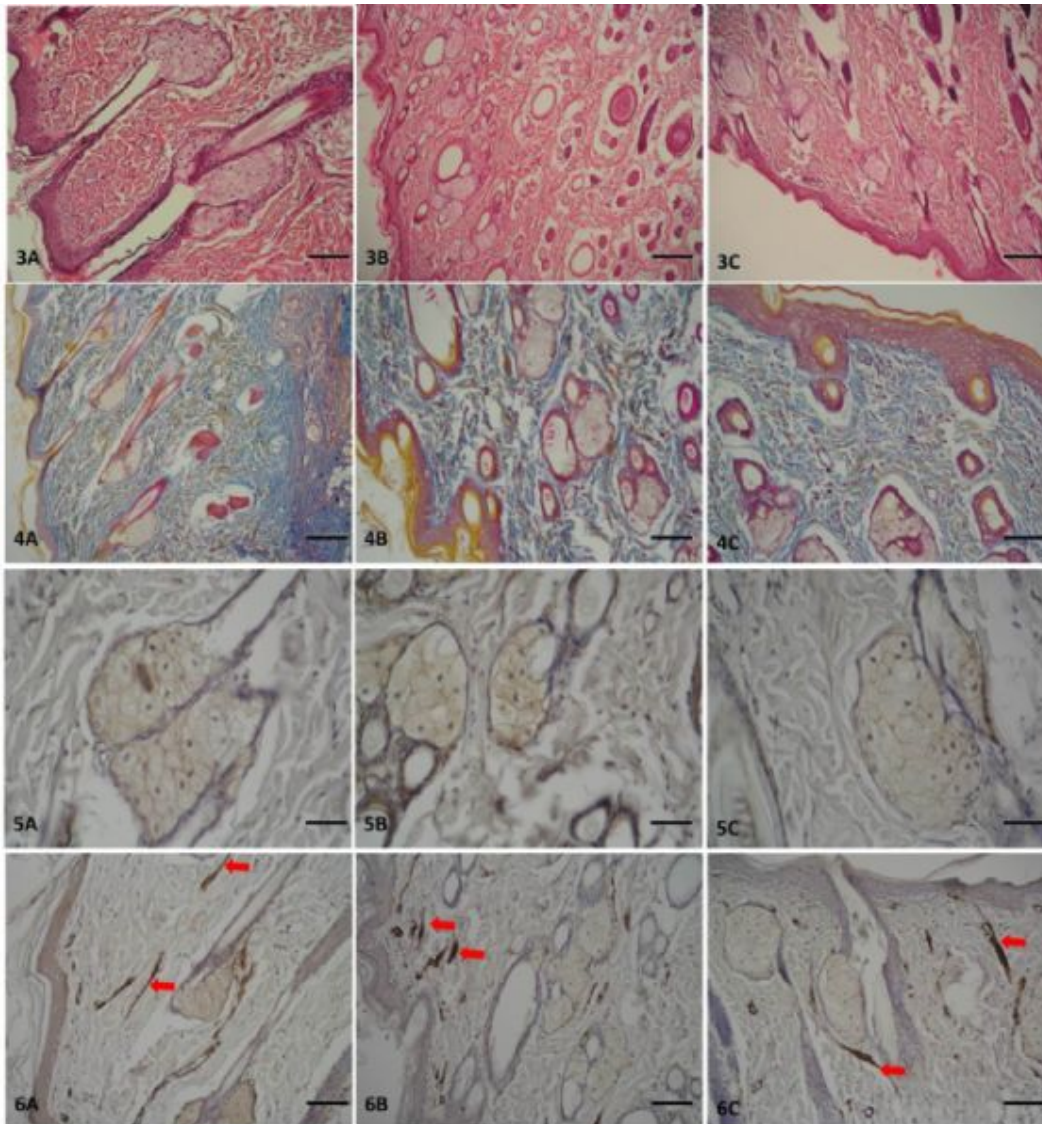


Figure 3: Light microscopic images of dorsal skin flap (A) Placebo group (B) Pycnogenol® group (C) *P. brutia* group. H&E staining, Original magnification X20, Scale bar = 250 μ m (Scale Bar X10= 500 μ m, X20= 250 μ m, X40=125 μ m). Figure 4: Mallory Azan staining of the sections of dorsal skin flap. (A) Placebo group (B) Pycnogenol® group (C) *P. brutia* group. Original magnification X20, Scale bar = 250 μ m. Figure 5: Anti-iNOS staining of the sections of dorsal skin flap. (A) Placebo group (B) Pycnogenol® group (C) *P. brutia* group. Original magnification X20, Scale bar = 250 μ m. Figure 6: Anti-desmin staining of the sections of dorsal skin flap. (A) Placebo group (B) Pycnogenol® group (C) *P. brutia* group. Red arrow indicates the *M. erector pillia*. Original magnification X20, Scale bar = 250 μ m.

Kaynakça / References: 1. Iba Y, Shibata A, Kato M, Masukawa T. Possible involvement of mast cells in collagen remodeling in the late phase of cutaneous wound healing in mice, *International Immunopharmacology* 4; 1873–1880, 2004. 2. Cetin E. O., Yesil-Celiktas O, Cavusoglu T, Demirel-Sezer E, Akdemir O, Uyanikgil Y. Incision wound healing activity of pine bark extract containing topical formulations: An investigative study with histopathological and biochemical analyses in albino rats. *Pharmazie* 68: 75–80, 2013. 3. Zhao R, Guan DW, Lu B. Immunohistochemical study on expression of iNOS and eNOS during skin incised wound healing in mice, 4. Yesil-Celiktas O., Ganzera M., Akgun I., Sevimli C., Korkmaz K. S., Bedir E., Determination of polyphenolic constituents and biological activities of bark extracts from different *Pinus* species, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 1339-1345, 2009. 5. Yesil-Celiktas O, Ganzera M, Akgun I, Sevimli C, Korkmaz KS, Bedir E (2009a) Determination of polyphenolic constituents and biological activities of bark extracts from different *Pinus* species *J Sci Food Agric* 89: 1339–1345.

P162

Aselüler Doku İskelelerinin Geliştirilmesi ve Histolojik Değerlendirilmesi

Naciye Dilara Zeybek¹, Şükrü Öztürk², Reza Shahbazi³, Kezban Ulubayram⁴

¹Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

²Biyomühendislik Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

³Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

⁴Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Günümüzde, miyokardiyal enfarktüs (MI) gibi sağlık sorunları nedeniyle meydana gelen akut kardiyak kayıplarında sıklıkla tercih edilen tedavi yöntemleri arasında kalp transplantasyonu veya mekanik cihazlarla tedavi ön plana çıkmaktadır [1]. MI kaynaklı sorunların aşılmasına yönelik birçok araştırma grubu sentetik ya da doğal malzemeler geliştirmektedir. Son zamanlarda ise kalp dokusunda meydana gelen kaybın iyileştirilmesi için aselüler doku iskeleleri önem kazanmaya başlamıştır [2]. Bu çalışmamızda perikard dokularından aselüler doku işleme teknolojisi ile doku iskeleleri elde edilmiş, morfolojisi ve kalp yaması olarak kullanılabilirliği histolojik olarak incelenmiştir.

Bu amaçla sığır kalbinden alınan perikardiyumlar yıkanıp temizlendikten sonra art arda 3 defa dondur-çözdür işlemine maruz bırakıldı. Ardından perikartlar proteaz inhibitörü içeren hipotonik tampon içerisinde inkübe edildi (24 ve 48 saat, 4°C). İnkübasyonu takiben farklı deterjanlar (Triton X-100 ve Sodyum Dodesil Sülfat; SDS) kullanılarak işleme devam edildi. Örnekler yıkandıktan sonra DNaz ve RNaz ile 37°C de 1 saat muamele edilerek antijenik faktörlerden arındırılması sağlandı. Son aşamada örnekler tekrar deterjan çözeltilerine konularak 24 saat boyunca karıştırıldı ve ardından 48 saat PBS'de karıştırılarak yıkama işlemi gerçekleştirildi. Histolojik değerlendirme işlemi için kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin, Masson'un Trikromu ve Verhoeff van Gieson boyama işlemleri yapıldı.

Yapılan histolojik değerlendirmeler tüm gruplarda perikartların hücrelerinden arındırıldığı gözlenmiştir. Buna ek olarak %1 Triton-X100 uygulanan örneklerde kollajen fibrillerin tek tek ve dalgalı fibriller şeklinde ayrıldığını göstermiştir. SDS uygulamasında ise kollajen fibrillerin daha kalın demetler halinde birbirlerinden ayrıldığı tespit edilmiştir. Her iki deterjanın beraber kullanıldığı grupta (SDS + Triton X-100) kollajen fibriller daha ayrı ve ince fibriller olarak izlenmiştir. Ayrıca SDS uygulanan örneklerde elastik fibrillerin daha yoğun ve karmaşık bir düzenlemede, yer yer bir arada olduğu gözlenmiştir. SDS + Triton X-100 uygulanan grupta elastik fibriller SDS uygulanan gruba göre birbirlerinden daha ayrı, ince fibriller olarak izlenmiştir. Kollajen ve elastik fibrillerin düzenlenimi açısından değerlendirildiğinde Triton X-100 uygulanan grupta doğal yapıya daha uygun görünümde olduğu sonucuna varılmış ve çalışmanın devamı için Triton X-100 uygulaması tercih edilmiştir.

Sonuç olarak dondur-çözdür işleminden sonra Triton X-100 uygulamasının aselüler yapıların oluşturulması ve doğal dokuya yakın bir yapının elde edilmesinde daha başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Deselülerizasyon, Perikardiyum, SDS, Triton X-100

Development of Acellular Scaffolds and Histological Evaluation

Naciye Dilara Zeybek¹, Şükrü Öztürk², Reza Shahbazi³, Kezban Ulubayram⁴

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turkey

²Division of Bioengineering, Graduate School of Science and Engineering, Hacettepe University, Ankara, Turkey

³Division of Nanotechnology and Nanomedicine, Graduate School of Science and Engineering, Hacettepe University, Ankara, Turkey

⁴Department of Basic Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, Ankara, Turkey

Currently, for a patient suffering from acute loss of cardiac function, like myocardial infarction the most efficient methods of therapy are heart transplantation or mechanical ventricular assist devices

[1]. To face this deficiency, many research groups have been focused on synthetic or natural materials to construct the cardiac tissues. In this regard, recently, acellular scaffolds have taken much attention in order to improve the infarcted myocardial performance [2]. Bearing this in mind, in this study, we tried to elucidate the histological structure of the acellular pericardial scaffolds after treatment with various detergents.

During the decellularization steps, the pericardium was undergone the three cycles of freeze-thaw. Then it was rinsed and incubated with protease inhibitor contained hypotonic tris buffer at 4°C for different time periods (24h, 48h) and the effect of different detergents (Triton X-100, Sodium dodecyl sulfate; SDS) on acellularization was examined. Samples were exposed to DNase and RNase solutions to eliminate the antigenic factors. In the final step, samples were put through another cycle of decellularization with the same detergent. For histological evaluations, samples were put through histological evaluation by Hematoxylin and Eosin, Masson's Trichrome and Verhoeff-van Gieson.

By inspecting the stainings, it was found that collagen fibrils were separated in a wavy and single form for Triton X-100 exposed samples. On the other hand with SDS, collagen fibers were separated in a thicker form. In the samples with the combination of detergents (SDS+Triton X-100), collagen fibers were more separated and were in a thinner form. With SDS treatment, elastic fibers were shown to be denser and were in a more complex form. For the combination of detergents, elastic fibers again were more separated and were in a thinner form. As a result, Triton X-100 treated samples had a better collagen and elastic fiber structure.

In conclusion, it was found that Triton X-100 treatment along with three freeze-thaw cycles had better results in terms of decellularization and preserving the natural structure of pericardium.

Keywords: Decellularization, Pericardium, SDS, Triton X-100

Kaynakça / References: [1] Jawad, H. et al. (2007), J Tissue Eng Regen Med, 1, 327. [2] Eitan Y. et al. (2010), Tissue Engineering Part C, 16(4): 671-683.

P163

Beyin dokusuna uygulanan polimerizasyon ve şeffaflaştırma tekniğinde ortam şartlarının şeffaflaşma üzerine etkisi*

Ayşeğül GÜNGÖR AYDIN¹, Esat Adıgüzel²

¹Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sinirbilim AD

²Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi AD

Histolojik araştırmalarda dokunun polimerize edilip şeffaflaştırılarak incelenmesi yeni bir tekniktir. Bu teknik ile elde edilen kesitler derinlemesine görüntüleme olanağı sunan konfokal ve multifoton mikroskoplar ile incelenmekte ancak henüz görüntüler üzerinde kantitatif analizler yapılamamaktadır. Tekniğin avantajı doku içindeki hücre mimarisinin üç boyutlu ortaya konmasında öne çıkmaktadır. Bu çalışmada akrilamid-bisakrilamid ve paraformaldehid karışımı ile perfüze edilerek polimerize edilen sıçan beyninde organ elektroforezi yoluyla şeffaflaşma sağlanmıştır. Polimerizasyonu etkileyen şartlar ortam sıcaklığı ve atmosfer gazlarının uzaklaştırılmasında kullanılan teknikler değiştirilerek optimal şartlar saptanmıştır. Organ elektrozinde laboratuvarımızda geliştirilen CORES organ elektroforez sisteminden yararlanılarak elektrik akımı, deterjan yoğunluğu ve ortam sıcaklığının doku şeffaflaşması üzerine olan etkisi ortaya konulmuştur. Şeffaflaşma hızı ve kalitesi fotoğraflanarak karşılaştırılmıştır. Elde edilen bilgilerin polimerizasyon ve şeffaflaştırma tekniğini kullanacak araştırmacılara deney düzeneklerini hazırlarken yardımcı olacağı görüşündeyiz. *Bu çalışma TÜBİTAK tarafında desteklenmektedir (proje no: 1005-114S407)

Anahtar Kelimeler: Şeffaflaştırma, polimerizasyon, elektroforez

The impact of environmental conditions on transparency in the polymerization and transparency techniques applied to the brain tissue*

Ayşeğül GÜNGÖR AYDIN¹, Esat Adıgüzel²

¹Pamukkale University Graduate School Of Health Sciences Department of Neuroscience

²Pamukkale University Faculty of Medicine Department of Anatomy

Examine the tissue by transformed nanoporous hydrogel-hybridized and optically transparent form is a new technique in histological research. Sections obtained from this technique are examined with confocal and multiphoton microscope which enables in-depth imaging however, quantitative analysis on the sections are not made. Advantages of this technique become prominent in exhibiting cell architecture in three-dimension in tissues. In this study, transparency is provided with organ electrophoresis in rat brain which is polymerized by perfusin acrylamide-bisacrylamide and paraformaldehyde mixture. Optimal conditions are determined by changing techniques that are used in environment temperature and removal of atmosphere gases which are polymerisation affecting conditions. Affects of electrical current, detergent concentration and environment temperature on tissue transparency is demonstrated by utilizing CorES an organ electrophoresis system which is developed in our laboratory. Transparency rate and quality is compared with photographs. The information obtained is believed to help researchers, who use the polymerization and transparency techniques, to prepare experimental setup.

*This study is supported by TUBITAK (Project number: 1005-114S407)

Keywords: Transparency, polymerization, electrophoresis

Kaynakça / References: Chung K., Wallace J., Kim S.Y., Kalyanasundaram S., Andalman A.S, Davidson TJ, Mirzabekov JJ, Zalocusky KA, Mattis J, Denisin AK, Pak S, Bernstein H, Ramakrishnan C, Grosenick L, Gradinaru V, Deisseroth K. Structural and molecular interrogation of intact biological systems, *Nature*, 16; 497(7449) 332-7, (2013). Chung K., Deisseroth K., CLARITY for mapping the nervous system, *Nature methods (Nat. Methods)*, Jun; 10(6):508-13, (2013). Tomer R., Ye L., Hsueh B., Deisseroth K. Advanced CLARITY Methods for Rapid and High-Resolution Imaging of Intact Tissues "Nature Protocol" 2014, 9(7): 1682-1697.

P164

Hyaluronik Asit Uygulamasının Perisilikon Kapsül Yapısına Etkisi

Sedat Tatar¹, Ainura Sarybaeva¹, Kemal Fındıkçioğlu¹, Cemile Merve Seymen², Çiğdem Elmas², Osman Latifoğlu¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

AMAÇ: Bu çalışmanın amacı yara iyileşmesi ve fibrozis üzerine çeşitli etkileri bilinen hyaluronik asit'in silikon implantlar sonrası görülen yabancı cisim reaksiyonu olan perisilikon kapsül formasyonuna etkilerini araştırmaktır.

METOD: Çalışmada 20 adet Wistar albino türü sıçan her bir grupta 5 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Eşit hacimde silikon bloklar sıçanların dorsumuna subkutan olarak yerleştirildi. Grup 1A ve Grup 2A'ya sadece silikon blok, Grup 1B ve 2B'ye silikon blok etrafına 0,2 cc çapraz bağlı hyaluronik asit enjekte edildi. Grup 1A ve Grup 1B 1. ayda, Grup 2A ve Grup 2B ise 2. ayda sakrifiye edildi. Kapsül formasyonu Masson' un üçlü boyaması ile histokimyasal olarak, HSP-47 ve TGF-β1 primer antikoru ile immünohistokimyasal yolla boyandı.

BULGULAR: Kapsül kalınlığının ve kollajen miktarının Grup 1A'dan Grup 2B'ye doğru istatistiksel anlamlı olarak artmış olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Hyaluronik asit uygulanan Grup 1B' de kapsül kalınlığının istatistiksel anlamlı olarak Grup 1A'ya göre daha fazla olduğu görüldü ($p<0.05$). 2 aylık gruplarda hyaluronik asit eklenen Grup 2B' de kapsül kalınlığının en fazla olduğu görüldü ve fibrozis korele olarak TGF-β1 değerinin yine bu grupta en yüksek olduğu görüldü. HSP-47 değerinin kollajenin artmasına paralel olarak Grup 2B'ye doğru arttığı ancak yoğunluğunun, kapsül kalınlığı da arttığı için Grup 2B'ye doğru azalmış olduğu gözlemlendi.

SONUÇ: Sonuç olarak ısı şok proteini olan HSP-47' nin özellikle stresin başlangıç döneminde (1 aylık uygulama yapılan gruplarda) daha yoğun olduğu, hyaluronik asidin lokal kullanımı sonucunda kapsül kontraktürü gelişiminin engellenemediği ancak kapsül kalınlığının artmasına yol açtığı kanısına varıldı. Bu veriler TGF-β1 tutulumu ile yapılan değerlendirmeler ile de desteklendi. Çapraz bağlı hyaluronik asitlerin doku augmentasyonu ve estetik açıdan olumlu sonuçları olmasına karşın fibrozisi artırıcı etkilerinin çalışmada görülmesi, implantlar etrafındaki kapsül formasyonu ve kontraktürünü azaltma amaçlı egzozen hyaluronik asit uygulamaları sırasında dikkatli olunması gerektiği öngörüldü.

Anahtar Kelimeler: Hyaluronik asit, Silikon implant, Hsp-47, Tgf-beta 1.

The Effect of Hyaluronic Acid Application On The Perisilicon Capsul Structure

Sedat Tatar¹, Ainura Sarybaeva¹, Kemal Fındıkçioğlu¹, Cemile Merve Seymen², Çiğdem Elmas², Osman Latifoğlu¹

¹Gazi University Faculty of Medicine, Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Ankara, Turkey

²Gazi University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

AIM: The purpose of this study, to investigate the effect of hyaluronic acid which is well known agent that effect wound healing and fibrosis in many different ways on perisilicone capsular formation that is a foreign body reaction that occurs in patients who receive silicone implants.

METHODS: 20 Wistar Albino rats were divided into 4 equal groups. Equal sized silicon blocks inserted the subcutaneous area of rat dorsum. Group 1A and 2A had only silicone block, group 1B and Group 2B was injected by 0,2 cc hyaluronic acid around silicone blocks. Group 1A and 1B were sacrificed at fourth week, group 2A and 2B were sacrificed at eighth week. The capsule thickness, collagen pattern, inflamatuar cells and fibrosis were determinated by Masson's Trichrome, HSP-47 and TGF-β1 stainings.

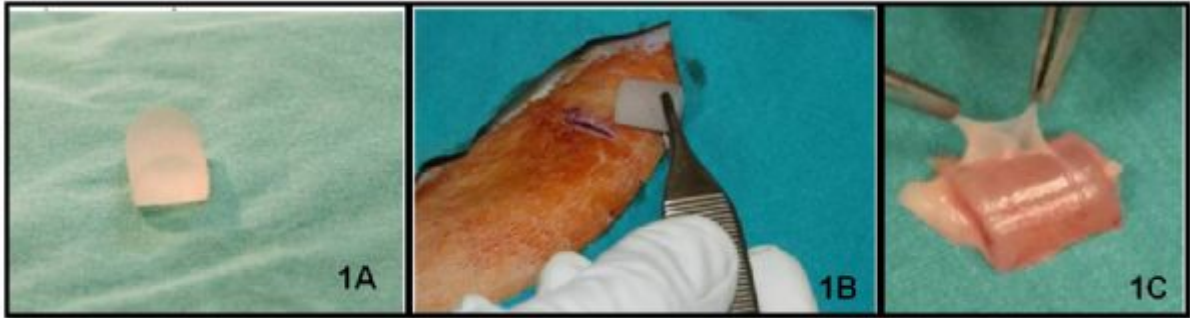
RESULTS: The capsule was composed of distinct layers, was similar in consistency in both groups, but of variable thickness, which differed significantly between each groups ($p<0.05$). Capsular thickness of Group 1B, which had hyaluronic acid was significantly had a thicker capsule. Group 2B had the thickest capsule and had the highest level of TGF-β1 which is a sign of fibrosis. HSP 47 levels were increased depending on amount of collagen towards Group 2B, but density of HSP 47

decreased towards Group 2B because of increased capsular thickness.

CONCLUSION: It was concluded that; the heat shock protein HSP-47 was found dense especially during the initial period of stress (1 month application groups), local hyaluronic acid administration was not prevent capsular contracture development but caused an increase of the thickness in the capsule. These data was also supported by TGF- β 1 stainings. Crosslinked hyaluronic acid based fillers are useful material for soft tissue augmentation and correct wrinkles for aesthetical practice, but we have to be careful about these fillers if we want to use for decrease fibrosis and capsular thickness around silicone implants because of we saw negative effect on fibrosis and capsular formation.

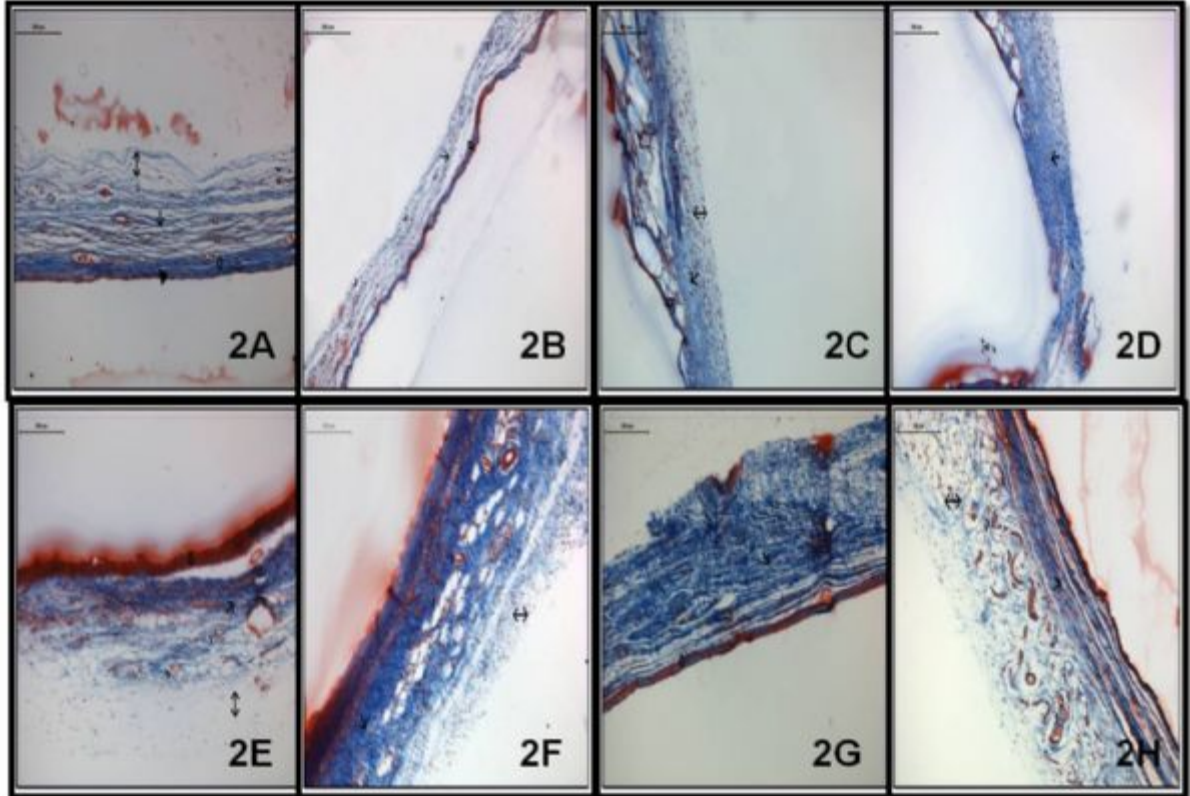
Keywords: Hyaluronic acid, Silicone implants, Hsp-47, Tgf-beta 1.

Resim 1
Figure 1



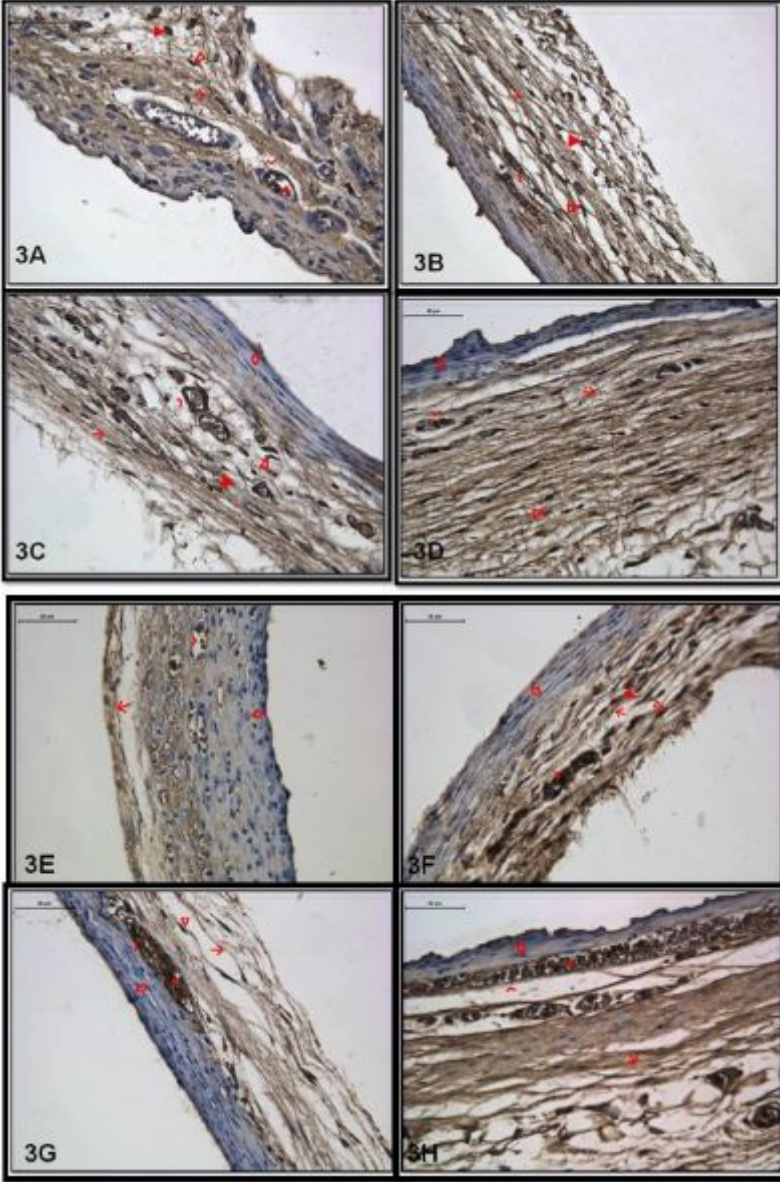
Deney düzeneği
Experimental design

Resim 2
Figure 2



Tüm gruplar için Masson Trikrom boyaması
Masson's Trichrome stain of all experimental groups

Resim 3
Figure 3



Tüm gruplar için Hsp-47 ve Tgf-Beta 1 boyamaları
Hsp-47 and Tgf-beta 1 stainings of all experimental groups

P165

Aksolotl {*Ambystoma maxicanum*} Kuyruk Dokusunda Nestin, NF200 ve Akt1 Ekspresyonu

Nilüfer Aytürk¹, İlknur Keskin¹, Turan Demircan²

¹İstanbul Medipol Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Aksolotlar, onları öldürmeyen her türlü hasardan iyileşebilir ve yenilenebilirler. Bu doğrultuda amacımız, rejeneratif tıp alanında bir model olarak aldığımız aksolotlların, kök hücre özelliği gösteren yapılarını ve nöronal hücrelerini histolojik olarak tanımlamak ve yapısal özelliklerini göstermektir.

Aksolotl *Ambystoma maxicanum*, semender ailesinden Urodela (oura kuyruk+ delos belirgin) yani kuyruklu amfibiler sınıfındadır (1). Fonksiyonel rejenerasyon bu canlıların kalbinde, kuyruklarında, çenelerinde, omuriliklerinde, solungaçlarında, beyinlerinde ve tüm kol ve bacaklarında skar dokusu oluşturmaksızın gözlenmiştir (2, 3).

Aksolotllardan alınan kuyruk dokuları sıvı nitrojende dondurulup, O.C.T. (Optimum Cutting Temperature) içine gömülerek, kriyostat ile 14 µm kalınlığında kesitler alındı. Proteomiks analizleri çalışılmadan önce, dondurularak alınan kuyruk kesitlerine, arka kök gangliyon nöron kültürü sonuçları ile uyumlu olarak seçilen anti-nestin, anti-NF200 ve anti-Akt1 immunofloresans boyamaları yapıldı.

Yetişkin aksolotlların rejenerasyon kapasitesi en yüksek olan kuyruk yapılarında immunohistokimyasal olarak tanımlanan bölgeler epidermis tabakası, çizgili kas tabakası, omurilik, notokord ve aksonal uzantılarının da dağınık olarak gözleendiği gevşek bağ doku alanlarıdır. Omurilik nöronlarında ve arka kök ganglion nöronlarında ekspresyonu gözlenen anti-Akt1 erişkin nörogenезisi boyunca yeni oluşan nöronların doğru pozisyonunu bulma integrasyonunda, dentritik gelişim ve sinaps oluşumunun kontrolünü yapan AKT-mTOR signal yolağının anahtar düzenleyicisidir. Mitoz ve progenitor hücre bölünmesi sırasında ara filaman proteinlerinin dağılımında, nöral progenitör hücrelerin proliferasyonu ve yenilenmesinde rol oynayan Anti-Nestin, epidermis ve nöronal hücrelerde eksprese olmuştur. Matur (erişkin) aksonlarda önemli fonksiyona sahip olan NF200 proteini, nöronlarda da bulunan 10 nm kalınlığındaki ara filamentlerin oluşturduğu nörofilamentlerde eksprese olur. Hücre iskeletindeki aksonla radyal gelişimi desteklemede etkili olan anti-NF200 omurilik ak maddesinde ve periferel sinir uzantılarında eksprese olmuştur.

Vücudun özellikle merkezi sinir sistemi hastalıklarında hasarlanan doku ve organlarının onarılarak normal işlevlerine döndürülmesini hedefleyen rejeneratif tıp araştırmalarına yeni bir yön ve farklı bakış açıları getirme potansiyel açısından aksolotl modelinin uygun olacağı görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aksolotl, Akson, Rejenerasyon, immüno-floresans

The Expression of Nestin, NF200 and Akt1 in Axolotl's {*Ambystoma maxicanum*} Tail Tissue

Nilüfer Aytürk¹, İlknur Keskin¹, Turan Demircan²

¹İstanbul Medipol University, Department of Histology and Embryology, Istanbul, Turkey

²İstanbul Medipol University, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey

Axolotls can recover and be regenerated from any damage which aren't fatal. Our purpose in this study is to demonstrate the structural and histological properties of cells like stem cells and neuronal cells of Axolotl, a promising model of regenerative medicine.

Axolotl (*Ambystoma maxicanum*) is in the semender family called Urodela (oura tail + delos distinctive) which is also known as tailed amphibian sub-class (1). Functional regeneration of heart, tail, jaw, spinal cord, gills, brains and extrimites is observed without scar tissue formation (2,3).

The tail tissue sample taken from axolotl was frozen in liquid nitrogen, and then embedded in O.C.T. (Optimum Cutting Temperature). The tissue was sectioned in 14 µm thickness with cryostat. Before working on the proteomics analysis, immunofluorescence staining of anti-nestin, anti-NF200 and anti-Akt1 was performed on tail sections considering the antibody labeling results of the dorsal root ganglion neuron culture. The maximum regeneration feature of the mature axolotls can be seen in tail. Epidermis layer, striated muscular layer, spinal cord, notochord and diffused axonal

projections in loose connective tissue were well-defined with immunohistochemistry methods. The anti-Akt1 expression in the spinal cord and dorsal root ganglion neurons which is responsible for the integration of the correct position newly-formed neurons, dendritic development and synapse formation is a key regulator of the AKT-mTOR pathway during mature neurogenesis. Anti-Nestin which is responsible for the proliferation and regeneration of neural progenitor cells as well as the distribution of intermediate filament proteins during mitosis and division of progenitor cells were expressed in epidermis and neuronal cells. NF200 protein that is expressed in neurofilaments formed by intermediate filaments has an important function in mature axons. This protein is effective in supporting axonal radial growth. In our study anti-NF200 expression was shown in white matter of spinal cord and peripheral nervous extension.

We believe that the axolotl models would be appropriate to bring different perspectives to regenerative medicine researches aimed to be restored normal function of the damaged organs especially in the central nervous system diseases.

Keywords: Axolotl, Axon, Regeneration, Immunofluorescence

Kaynakça / References: 1. Shaffer HB (1989) Natural history, ecology, and evolution of the Mexican "Aksolotls". *Aksolotl Newslett* 18:5–11 2. Johanna E. F and James R. M. (2015). Housing and Maintenance of *Ambystoma mexicanum*, the Mexican Aksolotl. *Methods in Molecular Biology*, vol. 1290, DOI 10.1007/978-1-4939-2495-3. 3. Monaghan JR et al (2014) Experimentally induced metamorphosis in aksolotls reduces regenerative rate and fidelity. *Regeneration* 1:2–14.

P166

Anne Sütü Kaynaklı Mikrokimerizm

Mehmet Şerif Aydın¹, Gürkan Öztürk², Esra Nur Ekmekçioğlu⁴, Emre Vatandaşlar⁴, Tangül Müdok³, Ender Erdoğan⁵

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Medipol Üniversitesi, Uluslararası Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Medipol Üniversitesi, Uluslararası Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, İstanbul

⁵Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Konya

Bu çalışmada emzirme sırasında anne sütü aracılığıyla anneden yavruya geçiş yaparak yavruya merkezi sinir sistemine yerleşen kimerik hücrelerin tespiti, fenotipik ve başkalaşım özelliklerinin tanımlanması ve fizyolojik süreçlerle ilişkilerinin aydınlatılması amaçlanmaktadır.

Mikrokimerizm, bir canlının az miktarda hücrelerinin genetik olarak başka bir canlıda immün yanıt oluşturmadan bulunması durumudur. Mikrokimerizmin en yaygın kaynağı gebeliktir. Gebelik sırasında fetal hücreler kan dolaşımı ve plasenta yolu ile annenin dolaşımına geçerek fetal hücre mikrokimerizmine neden olurlar. Gebelikte annenin hücrelerinin yavruya geçmesine ise maternal hücre mikrokimerizmi adı verilir. Emzirme sırasında anneden yavruya süt yoluyla hücre geçişi de bir maternal hücre mikrokimerizmi çeşididir.

Çalışmamızın temel deneysel yaklaşımı tüm hücrelerinde yeşil floresan protein (GFP) üreten transgenik hayvanların kullanılmasına dayanmaktadır. Bu bağlamda GFP+ anneden normal yavruya emzirme yolu ile geçen hücrelerin akıbetleri araştırılmıştır. Analizler GFP+ kimerik hücrelerin mikroskopik yöntemlerle yavruların dokuları içinde gösterilmesi esasına dayanmaktadır. Daha ileri tanımlama ve kantifikasyon için immünohistokimyasal boyama, akım sitometresi ve PCR teknikleri kullanılmıştır.

Emzirme sonrasında anneden yavruya GFP+ hücrelerin geçtiği akım sitometresi ve konfokal mikroskop ile tespit edilmiştir. Kimerik hücreler yavruya kan, kemik iliği ve beyin dokusunda görülmüştür. Beyin dokusunda bulunan kimerik hücrelerin glial hücrelere farklılaşabildiği immünohistokimyasal boyamalar yapılarak belirlenmiştir.

Anne sütü yoluyla yavruya geçen hücrelerin yavrunun dokularına geçebilmesi, anne sütünün tahminlerin ötesinde bir biyolojik öneme sahip olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız süt yoluyla geçiş yapan kimerik hücrelerin fizyolojik süreçlerle olan ilişkilerinin anlaşılması bu hücrelerin hücresel terapi amaçlı manüpülasyonuna kapı açabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Anne sütü, merkezi sinir sistemi, mikrokimerizm

Breastmilk Induced Microchimerism

Mehmet Şerif Aydın¹, Gürkan Öztürk², Esra Nur Ekmekçioğlu⁴, Emre Vatandaşlar⁴, Tangül Müdok³, Ender Erdoğan⁵

¹Bezmialem Vakıf University, School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Istanbul, Turkey

²Istanbul Medipol University, International School of Medicine, Department of Physiology, Istanbul, Turkey

³Istanbul Medipol University, International School of Medicine, Department of Histology and Embryology, Istanbul, Turkey

⁴Istanbul Medipol University, Graduate School of Health Sciences, Department of Neuroscience, Istanbul, Turkey

⁵Selçuk University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Konya, Turkey

In this study, we aimed to identify the cells which are passing between mother to central nervous system of offspring during the breastfeeding. Also we aimed to determine phenotypic and differentiation features of these cells and to clarify relationship with physiological processes of these cells.

Microchimerism is defined by the minor group of cells without immune response that had found in someone also appears in another person who is genetically different. Pregnancy is the most

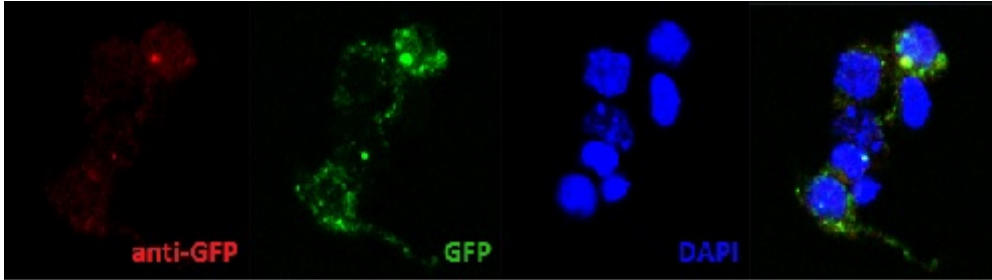
common cause of microchimerism. Fetal cells cause fetal cell microchimerism by entering the maternal circulation through the placenta during the pregnancy. Passage of maternal cells to offspring during the pregnancy is called maternal microchimerism. Passage of maternal cells to offspring during the breastfeeding through breast milk is type of the maternal microchimerism. The basic experimental approach of this project based on the usage of transgenic animals which are capable of producing green fluorescent protein in their own cells. In this context, the fate of the cells, which are passing by breastfeeding from GFP+ mother to wild type offspring was investigated. Analysis basically base on showing of the GFP+ chimeric cells in the tissues of the offspring with the microscopy techniques. Immunohistochemistry, flow cytometry and PCR techniques was used for the further identification and quantification.

Passage of GFP+ maternal cells to offspring after breastfeeding was determined by flow cytometry and confocal microscopy. Chimeric cells were observed in the blood, bone marrow and brain tissues of the offspring. We determined by immunohistochemistry that chimeric cells observed in the brain can differentiate into glial cells.

Beyond the guesses, we could have the opinion that breastmilk has biological importance as the cells that are passed on the offspring by breastmilk passing on the tissues of the offspring. As well as with this project we'll get knowledge about the relationship with physiological processes of chimeric cells will lead the way to manipulation of these cells for cellular therapy.

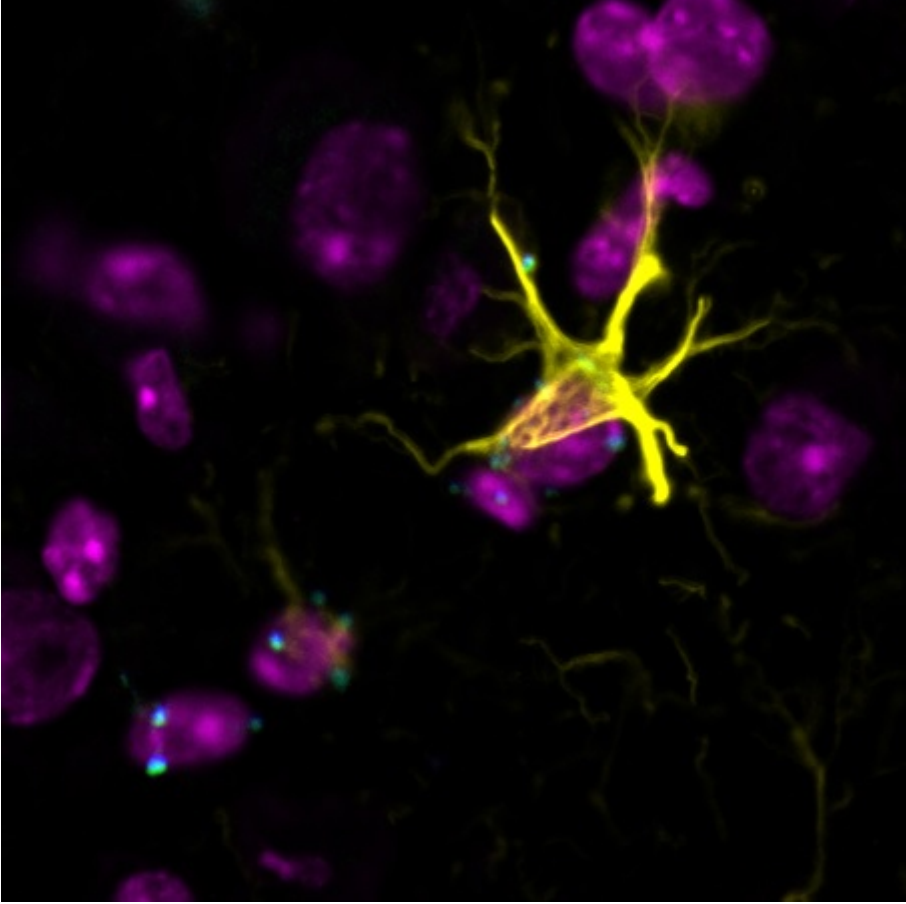
Keywords: Breastmilk, central nervous system, microchimerism

Resim 1
Picture 1



*Akım sitometrisi ile yavru beyninden ayrıştırılan kimerik hücrelerin konfokal mikroskopik görüntüsü.
Confocal microscopic image of sorted chimeric cells from brain of offspring by flow cytometry.*

Resim 2
Picture 2



*Yavru beyinde bulunan kimerik hücrelerin konfokal mikroskopik görüntüsü. GFP (yeşil), anti-GFP (mavi), GFAP (sarı), TO-PRO3 (mor).
Confocal microscopic image of the cells observed in the brain of offspring. GFP (green), anti-GFP (blue), GFAP (yellow), TO-PRO3 (purple).*

P167

Tümesent İnfiltrasyonunun Adipositlerdeki Perilipin Ekspresyonu Üzerine Etkisi

İlknur Keskin¹, Mustafa Sütçü³, Hilal Eren², Mustafa Keskin³

¹İstanbul Medipol Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Medipol Üniversitesi, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul, Türkiye

³İstanbul Medipol Üniversitesi, Plastik ve Estetik Cerrahi ABD, İstanbul, Türkiye

Literatür özeti: Lidokain ve adrenalinin yağ hücreleri üzerindeki etki mekanizmaları iyi bilinmemektedir. Fakat her iki ilacın da hücre canlılığı üzerine bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

AMAÇ: Bu çalışmanın amacı, insandan yağ greftleri alınması sırasında kullanılan tümesent solüsyonunun yağ hücreleri üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır. Tümesent solüsyonunun etkilerinin anlaşılması amacıyla insan yağ dokularındaki perilipin(PLIN) ekspresyonunu inceledik.

MATERYAL-METOD: İnsan yağ dokusu örnekleri, yaşları 38 ile 56 arasında değişen (ortalama 43.7) ve vücut yağ endeksi ortalama 23.8 kg/m² (21,9-25,3 kg/m²) sahip 7 sağlıklı dişi bireyden elde edilmiştir. Tümesent solüsyon uygulaması öncesi ve sonrası abdominoplasti hastalarından yağ dokusu aspire edilmiştir. Bu iki farklı gruptan alınan dokulardaki perilipin ekspresyonu immünokimyasal metodlarla incelenmiştir.

SONUÇLAR: Tümesent solüsyon uygulaması yapılan yağ greft bölgelerinden alınan yağ hücrelerindeki Fosfoperilipin(PPLIN) ekspresyonu ciddi bir artış göstermektedir (p<0.01).

TARTIŞMA: Otolog yağ transferinin başarısı canlı yağ hücrelerinin miktarına dayanmaktadır. Bu nedenle donör analjezi veya hemostaz bölgesine uygulanacak tümesent solüsyonu mümkün olduğunca az lidokain ve adrenalin içermelidir.

Anahtar Kelimeler: Tümesent solüsyon, Yağ dokusu, Perilipin ekspresyonu, İmmünohistokimya

Effect of Tumescent Infiltration on the Perilipin Expression of Adipocytes

İlknur Keskin¹, Mustafa Sütçü³, Hilal Eren², Mustafa Keskin³

¹Department of Histology and Embryology, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

²Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

³Department of Plastic and Aesthetic Surgery, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

BACKGROUND: The mechanism of lidocaine and adrenaline on fat cell viability has not been clearly evaluated. Both lidocaine and adrenaline have been considered to have a direct effect on the viability of fat cells.

AIM: The Aim of the study is to investigate the effect of tumescent solution used during the fat graft harvest on the expression of living human fat tissue. In the current study we investigated the effect tumescent solution on the perilipin expression of the human fat tissue.

Material & METHOD: Human fat tissue samples were obtained from 7 healthy female donors aged 38-56 years (mean 43,7) and with an average body mass index of 23,8 kg/m² (21,9-25,3). Fat was aspirated from abdominoplasty patients either before tumescent infiltration or after tumescent infiltration. Samples from these two groups were investigated with immunohistochemistry methods for perilipin expression.

RESULTS: Tumescent solution infiltration of the donor site for fat grafts significantly increases the Phosphoperilipin (PPLIN) expression of fat cells (p<0.01).

CONCLUSION: The success of autologous fat transfer is determined by the number of viable fat

cells. In conclusion, the tumescent solution used for donor site analgesia or hemostasis should contain the lowest concentration of lidocaine and adrenaline possible.

Keywords: Tumescent solution, Fat tissue, Perilipin expression, Immunohistochemistry

Perilipin Ekspresyon İstatistikleri

Gruplar	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata Ortalaması
PPLIN Tümesent Solüsyonu uygulanan	7	30,6257	7,88589	2,98059
Tümesent Solüsyonu uygulanmayan	7	10,0757	9,88913	3,73774

Statistics of Perilipin Expression

Groups	N	Mean	Standard Deviation	Standard Error Mean
PPLIN with tumescent solution	7	30,6257	7,88589	2,98059
without tumescent solution	7	10,0757	9,88913	3,73774

Kaynakça / References: 1. Moore JH, Kolaczynski JW, Morales LM, Considine RV, Pietrzowski Z, Noto PF, Caro JF. Viability of fat obtained by syringe suction lipectomy: effects of local anesthesia with lidocaine. *Aesthetic Plastic Surgery*, 1995, Volume 19, Number 4, Page 335. 2. Keck M, Zeyda M, Gollinger K, Burjak S, Kamolz LP, Frey M, Stulnig TM. Local Anesthetics Have a Major Impact on Viability of Preadipocytes and Their Differentiation into Adipocytes. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2010, Volume 126, Issue 5, pp 1500-1505.

P168

Nigella sativa tohum yağının, deneysel diyabet modelinde ovarium hacmi, oksidan sistemler, XIAP ve NF-κB ekspresyonuna etkisi

Hatice Nur Şeflek¹, Serpil Kalkan¹, Gökhan Cüce¹, İbrahim Kılınc², Mehmet Enes Sözen¹

¹Necmettin Erbakan, Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, Konya

²Necmettin Erbakan, Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Biyokimya ABD, Konya

Bu çalışmanın amacı; diyabetik sıçanlarda çörek otu tohum yağının ovarium hacmine, ovariumlarda Nuclear factor-kappa B (NF-κB) ve X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) ekspresyonuna, serum malondialdehit (MDA), super oksit dismutaz (SOD), total anti oksidan (TAS) ve total oksidan (TOS) düzeylerine etkilerinin araştırılmasıdır.

Yirmi bir sıçan; kontrol, diyabetik ve diyabetik+Çörek otu tohum yağı tedavisi alan olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Tedavi grubuna 30 gün boyunca haftada 6 gün intraperitoneal olarak çörek otu tohum yağı 0.2 mg/kg/gün olarak uygulanmıştır. Ovaryum kesitleri NF-κB ve XIAP ekspresyonunu değerlendirmek için immünohistokimya ile incelendi.

Buna ek olarak, sağ ve sol ovarium hacimleri stereolojik teknikler kullanılarak hesaplandı. Son olarak, serum MDA, SOD, TAS ve TOS düzeyleri ölçüldü. Bizim sonuçlarımızda, çörek otu yağı hiperglisemiyi azalttı, fakat kontrol grubu düzeylerine indiremedi.

Nigella sativa tohum yağı, ayrıca kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, serum TOS ve MDA düzeylerini düşürerek ve SOD ve TAS düzeylerini ise yükselterek antioksidan özellikler sergiledi. Toplam ovarium hacimleri, XIAP ve NF-κB ekspresyonunda, gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Toplu olarak, bu sonuçlar, çörek otu tohum yağının, diyabetik hastalarda kan glukoz seviyesini ve oksidan aktiviteyi azaltmak için bir tedavi şekli olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Stereoloji, ovarium, Nigella sativa tohum yağı, diyabet, apoptozis, oksidan-antioksidan

Effects of Nigella sativa oil on ovarian volume, oxidant systems, and XIAP and NF-κB expression in an experimental model of diabetes

Hatice Nur Şeflek¹, Serpil Kalkan¹, Gökhan Cüce¹, İbrahim Kılınc², Mehmet Enes Sözen¹

¹University of Necmettin Erbakan, Faculty of Meram Medicine, Department of Histology and Embryology, Konya, Turkey

²University of Necmettin Erbakan, Faculty of Meram Medicine, Department of Biochemistry, Konya, Turkey

The aim of this study was to investigate the effects of Nigella sativa seed oil on ovary volume, Nuclear factor-kappa B (NF-κB) and X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) expression in ovaries, serum malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), total antioxidant status (TAS), and total oxidant status (TOS) levels in diabetic rats.

Twenty-one adult female rats were divided into the following three groups: controls, diabetics, and diabetics + Nigella sativa seed oil treatment. The treatment group received 0.2 mg/kg/day Nigella sativa oil 6 days each week for 30 days. Ovarian sections were analyzed using immunohistochemistry to assess NF-κB and XIAP expression.

In addition, the right and left ovarian volumes were calculated using stereological techniques.

Finally, serum MDA, SOD, TAS, and TOS levels were determined. Our results revealed that Nigella sativa seed oil reduced hyperglycemia, but not to control levels.

Nigella sativa seed oil also exhibited antioxidant properties, as demonstrated by the reduced serum TOS and MDA levels and the increase in SOD and TAS levels compared to the control. There were no significant differences in total ovarian volume or XIAP and NF-κB expression among the groups. Collectively, these results suggest that Nigella sativa oil may be a form of treatment to reduce blood glucose levels and oxidant activity in diabetic patients.

Keywords: Stereology, ovary, Nigella sativa seed oil, diabetes, apoptosis, oxidant-antioxidant

P169

Östrojen ve Aşırı Egzersiz Erkek Sıçan Adrenal Bezleri Üzerine Olan Etkileri

İsmail Can¹, Selina Aksak Karamişe¹, Gülname Fındık Güvendi², Serpil Can³, Ramazan Kocaaslan⁴, Mustafa Gül⁵, Bünyami Ünal⁶

¹Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, KARS

²Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, KARS

³Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, KARS

⁴Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, KARS

⁵Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

⁶Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

GİRİŞ: Egzersiz, insanların fiziksel ve mental sağlığını geliştirme potansiyeline sahiptir ve genel olarak sağlığın ve fiziksel devamlılığın sağlanabileceği herhangi bir aktivite anlamına gelmektedir. Bu çalışma ile, östrojen hormonunun aşırı egzersize maruz bırakılmış sıçanların adrenal bezleri üzerine olan olumlu ve/veya olumsuz etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD: 32 adet, 12 haftalık, 240-250 gr ağırlığında Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar 12 saat aydınlık/karanlık siklusuna uygun koşullarda beslenmiştir. Hayvanlar; 18 tanesi deney grubu ve 18 tanesi kontrol grubu olmak üzere rastgele 2 gruba bölünmüşlerdir. Egzersiz yaptırılan sıçanların, deneyler tamamlandıktan sonra adrenal bezleri çıkarılmıştır. Adrenal bez kesitlerine Hematoksilin&Eozin ve TUNEL boyama metotları uygulanmıştır.

SONUÇLAR: 2 numaralı gruba ait (Egzersiz uygulanmamış+östrojen uygulanmış) zona glomerulosa'da yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kapsül'de dejeneratif fibroblast hücrelere rastlanmıştır. 3 numaralı gruba ait (egzersiz uygulanmış+plasebo uygulanmış) tüm bölgelerde belirgin dejeneratif alanlar tespit edilmiştir. 4 numaralı gruba ait (egzersizden 1 saat sonra öldürülmüş+östrojen uygulanmış) zona reticularis'de belirgin nekrotik alanlar tespit edilmiştir. 5 numaralı gruba ait (egzersizden 48 saat sonra öldürülmüş+plasebo uygulanmış) zona fasciculata'da ciddi dejenerasyonlara rastlanmıştır. 6 numaralı gruba ait (egzersizden 48 saat sonra öldürülmüş+östrojen uygulanmış) zona reticularis'de sinüzoidal özellikler kaybolmuştur.

TARTIŞMA: Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, egzersizin, akut dönemde zona glomerulose'yi ciddi derecede etkilediğini söylemek mümkündür. Ancak; bu yıkıcı etkinin zamana bağlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Tüm bu bilgiler hesaba katıldığında, aşırı egzersiz uygulamaları, akut dönemde adrenal bezlerdeki tüm bölgeleri olumsuz yönde etkilemektedir, ancak; bilinmeyen mekanizmalar sayesinde bu olumsuz etki zamana bağlı olarak ortadan kalkmaya başlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Egzersiz, Adrenal bezler, Östrojen, TUNEL, Sıçan

Effects of Estrogen and Excentric Exercise on Adrenal Glands of Male Rats

İsmail Can¹, Selina Aksak Karamişe¹, Gülname Fındık Güvendi², Serpil Can³, Ramazan Kocaaslan⁴, Mustafa Gül⁵, Bünyami Ünal⁶

¹Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, KARS

²Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, KARS

³Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, KARS

⁴Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Urology, KARS

⁵Ataturk University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, ERZURUM

⁶Ataturk University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, ERZURUM

INTRODUCTION: Exercise has a potential to improve people's physical and mental health and described as any bodily activities that enhance, or maintain physical fitness and overall health and wellness. Our aim was to investigate the positive or negative effects of estrogen on exercise-trained male rats' adrenal glands.

MATERIALS-METHODS: Thirty-six male 12 weeks-old Sprague-Dawley rats, between 240-250 gr, were housed in in an environmentally controlled room with reversed light/dark cycles. Animals

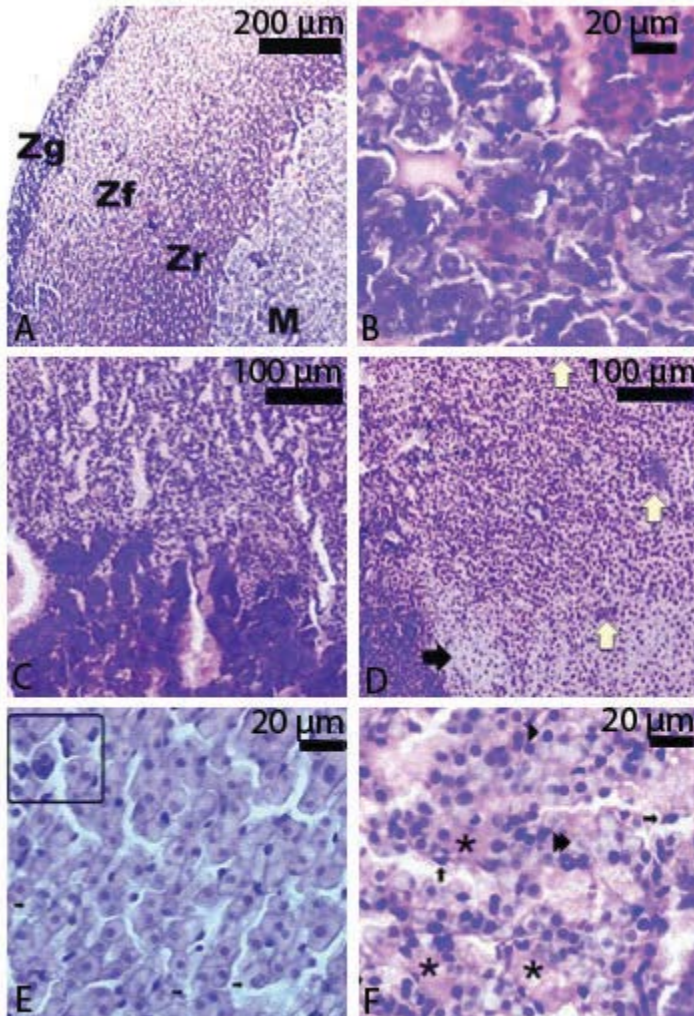
were randomly divided into 2 groups as follows; 18 rats in experimental groups; 18 rats in control groups. After rats subjected to exercise, the adrenal glands were taken. Hematoxylen&Eosin staining and TUNEL assay were performed to detect the adrenal glands damage.

RESULTS: Dense inflammatuary cell infiltration in zona glomerulosa and presence of degenerative fibroblast cells at capsule were remarkable in Group 2 (non-exercise+estrogen). Degenerative areas were remarkable in all zones of Group 3 (exercise+plasebo). Necrotic areas were determined in zona reticularis in Group 4 (exercise 1h+estrogen). Zona fasciculata had severe degenerative appearance in Group 5 (exercise 48h+plasebo). Sinusoidal features were lost in zona reticularis in Group 6 (exercise 48h+estrogen).

DISCUSSION: It is possible to say that exercise may strongly effects the zona glomerulase in acute term. However, this destructive effect is getting decreased in a time dependent manner. Taking everything into account, eccentric exercise may negatively affect all zones in adrenal glands in acute term, however it was seen that mentioned negative affect were disappeared after a time by an unknown mechanism.

Keywords: Exercise, Adrenal glands, Estrogen, TUNNEL, rat

Resim 1
Figure 1

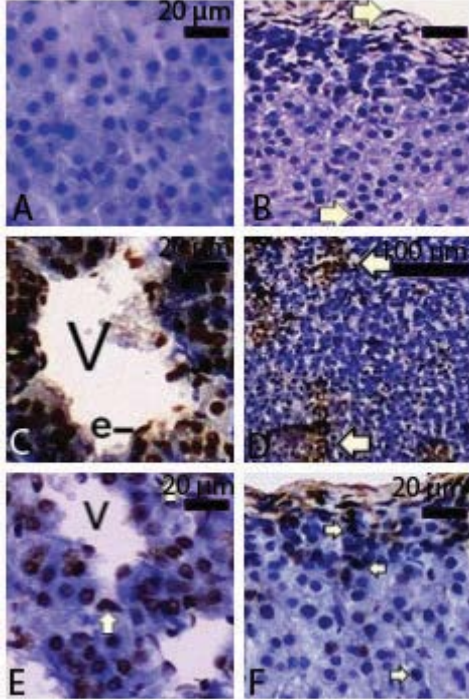


Tüm gruplara ait histopatolojik analizler (Hematoksilen&Eozin boyalı) A: Grup 1 (Kontrol), B: Grup 2 (Östrojen uygulanmış + egzersiz uygulanmamış), C: Grup 3 (plasebo uygulanmış + egzersizden 1 saat sonra öldürülmüş), D: Grup 4 (östrojen uygulanmış +egzersizden 1 saat sonra öldürülmüş), E: Grup 5 (plasebo uygulanmış + egzersizden 48 saat sonra öldürülmüş), F: Grup 6 (östrojen uygulanmış +egzersizden 48 saat sonra öldürülmüş)

Histopathological analysis of all experimental groups (H&E stained) A: Group 1 (Control), B: Group

2 (estrogen+non-exercise), C: Group 3 (placebo+exercise killed after 1 h), D: Group 4 (estrogen+exercise killed after 1 h), E: Group 5 (placebo+exercise killed after 48 h), F: Group 6 (estrogen+exercise killed after 48 h)

Resim 2
Figure 2



Tüm gruplara ait immunohistokimyasal analizler (TUNEL boyalı) A: Grup 1 (Kontrol), B: Grup 2 (Östrojen uygulanmış + egzersiz uygulanmamış), C: Grup 3 (plasebo uygulanmış + egzersizden 1 saat sonra öldürülmüş), D: Grup 4 (östrojen uygulanmış +egzersizden 1 saat sonra öldürülmüş), E: Grup 5 (plasebo uygulanmış + egzersizden 48 saat sonra öldürülmüş), F: Grup 6 (östrojen uygulanmış +egzersizden 48 saat sonra öldürülmüş)

Immunohistochemical analyses of all experimental groups (TUNNEL stained) A: Group 1 (Control), B: Group 2 (estrogen+non-exercise), C: Group 3 (placebo+exercise killed after 1 h), D: Group 4 (estrogen+exercise killed after 1 h), E: Group 5 (placebo+exercise killed after 48 h), F: Group 6 (estrogen+exercise killed after 48 h)

P170

Streptozotosin kaynaklı karaciğer hasarı ve hepatik stellat hücreler trans-ayrımında kurkumin rolü

Hesham N. Mustafa

Anatomi, Tıp Fakültesi, Kral Abdulaziz Üniversitesi, Cidde, Suudi Arabistan Bölümü.

Diyabetik hastalar sıklıkla non-alkolik steatohepatit muzdarip. Kurkumin rolü ve streptozotosin (STZ) hepatik stellat hücreler tepkisini vurgulamak amaçlanmıştır mevcut çalışma karaciğer hasarı kaynaklı. Altmış erkek sıçan üç gruba ayrıldı; Normal kontrol ve diyabetik kontrol (intraperitoneal, 50 mg / kg), tek-doz enjekte edilmiştir. Ve diyabetin gün için 60 gün oral olarak, bir doz 80 mg / kg vücut ağırlığı kurkumin ile muamele edilmiştir. Kurkumin etkin bir oksidatif stres aracılı karaciğer hasarı zıt ve biyokimyasal parametreleri iyileştirir. Kurkumin tatbikat ile, α -SMA belirgin olarak azalmış, ve insülin güçlü bir pozitif imünoreaktivite gösterdi. Bu sonuçlar iyimser onun antiradical / antioksidan aktiviteleri ve potansiyel β -hücre yenileyici özelliklere atfedilen kurkumin potansiyel kullanımını göstermiştir. Ayrıca, özelliği bir süre için insülin üreten hücrelere gelmiş hepatik yıldız şeklinde hücrenin transdiferansiyonun teşvik etmek. Ayrıca, Hepatic stellate hücre aktivasyon ve kurkumin romanına diyabetik hastalarda hepatik fonksiyon bozukluğu azaltılmasında tedavi edici etkileri dikkate pencere açar miyofibroblast benzeri hücrelere geçişi inhibe ederek anti-fibrotik aracı olarak.

Anahtar Kelimeler: Curcumin, hepatik stellat hücreler, Streptozotosinle, Lipid peroksidasyonu, transdiferansiyasyon.

The role of curcumin in streptozotocin-induced hepatic damage and the trans-differentiation of hepatic stellate cells

Hesham N. Mustafa

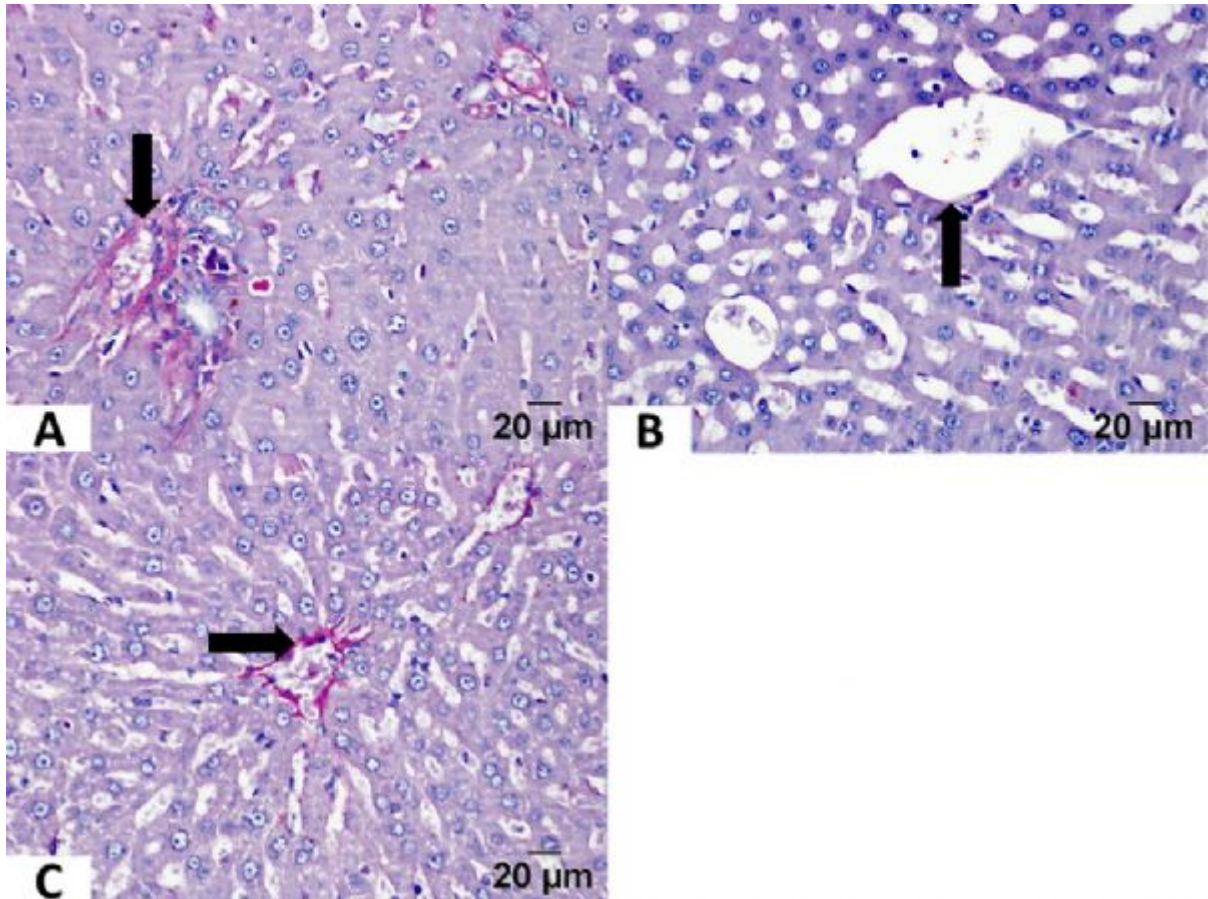
Department of Anatomy, Faculty of Medicine, King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia.

Diabetic patients frequently suffer from non-alcoholic steatohepatitis. The current study aimed to highlight the role of curcumin and the response of hepatic stellate cells in streptozotocin (STZ) induced hepatic damage. Sixty male rats were divided into three groups; normal control and diabetic control was injected a single-dose (50mg/kg, intraperitoneally) (Mustafa, El Awdan, Hegazy, & Abdel Jaleel, 2015). And diabetic treated with curcumin at a dose 80 mg/kg body weight daily for 60 days orally (Zhang, Fu, Gao, & Liu, 2013). Curcumin effectively counteracts oxidative stress mediated hepatic damage and improves the biochemical parameters. With curcumin administration, α -SMA was significantly reduced, and insulin showed strong positive immunoreactivity. These results optimistically demonstrated the potential use of curcumin, which is attributed to its antiradical/antioxidant activities and the potential β -cell regenerative properties. Also, the capability to encourage the transdifferentiation of hepatic stellate cell into insulin-producing cells for a period of time. Also, as an anti-fibrotic mediator by inhibiting hepatic stellate cell activation and the transition to myofibroblast-like cells that opens the window to consider the curcumin novel therapeutic effects in reducing hepatic dysfunction in diabetic patients.

Keywords: Curcumin, hepatic stellate cells, Streptozotocin, Lipid peroxidation, transdifferentiation.

PAS reaksiyonu

PAS reaction



Şekil 1. A. Normal kontrol PAS pozitif reaksiyon (karaciğer glikojen dağılımı) (ok) gösterdi. Şekil B. Diyabetik kontrol birkaç PAS pozitif reaksiyon (ok) gösterdi. Şekil C. Curcumin tedavisi hafif PAS pozitif reaksiyon (ok) (PAS, Ölçek çubuğu 20 µm) gösterdi.
 Fig 1. A. Normal control showed PAS-positive reaction (distribution of liver glycogen) (arrow). Fig B. Diabetic control showed few PAS-positive reaction (arrow). Fig C. Curcumin treatment showed mild PAS-positive reaction (arrow) (PAS, Scale bar 20µm).

Table 1. Biochemical parameters of the different groups

Parameters	Normal control	STZ-diabetic control	STZ-diabetes + curcumin
Plasma Glucose (mg/dl)	87.14±4.28	280.12±57.24 P* < 0.001	160.12±63.27 P* < 0.001 P** < 0.001
Plasma insulin (mIU/L)	5.17±0.73	0.54±0.11 P* < 0.001	4.06±0.45 P* < 0.001 P** < 0.001
ALT (U/l)	65.4±1.2	119.6±2.3 P* < 0.001	76.8±4.6 P* < 0.001 P** < 0.001
AST (U/l)	139.13±3.82	321.35±2.8 P* < 0.001	204.68±1.96 P* < 0.001 P** < 0.001
ALP (U/l)	68.1±2.3	85.2±4.6 P* < 0.001	79.5±8.1 P* < 0.001 P** < 0.01
Albumin (g/dl)	4.14±0.6	1.3±0.87 P* < 0.001	3.81±0.4 P* > 0.05 P** < 0.001

Total protein (g/dL)	5.94±0.89	2.03±0.78 P* < 0.001	4.62±0.13 P* < 0.001 P** < 0.001
Total bilirubin (mg/dL)	0.24±0.20	0.78±0.07 P* < 0.001	0.36±0.06 P* < 0.05 P** < 0.001

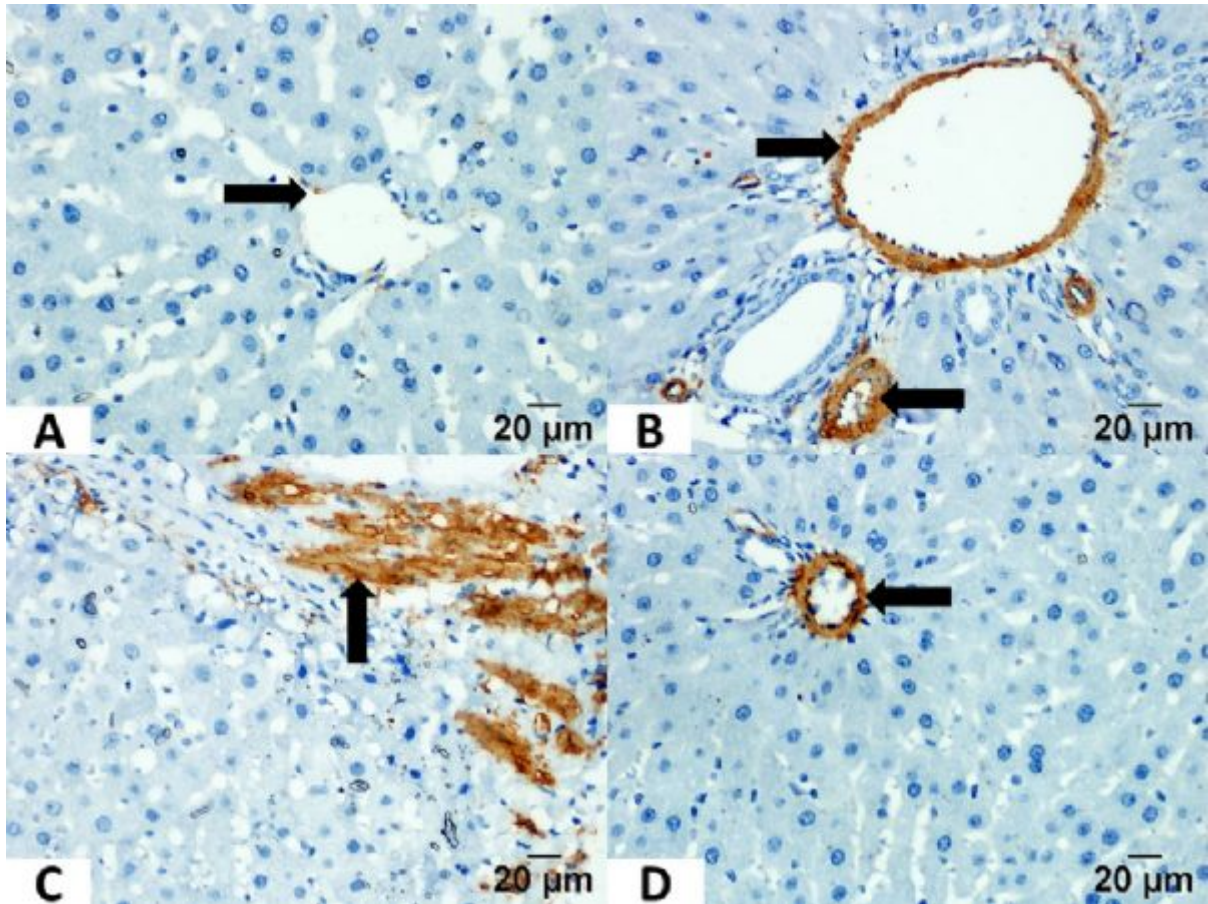
Values are means ± SD (n=20 each group). ANOVA, followed by Tukey's post-hoc test. P*: compared to normal control. P**: compared to diabetic control. ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase. ALP, alkaline phosphatase. mg/dl, milligrams per deciliter. mIU/L, milli-international units per liter. U/l, units per litre. g/dl, grams per deciliter. The mean is given in columns and error bars represent the standard deviation (SD).

Table 1. Biochemical parameters of the different groups

Parameters	Normal control	STZ-diabetic control	STZ-diabetes + curcumin
Plasma Glucose (mg/dl)	87.14±4.28	280.12±57.24 P* < 0.001	160.12±63.27 P* < 0.001 P** < 0.001
Plasma insulin (mIU/L)	5.17±0.73	0.54±0.11 P* < 0.001	4.06±0.45 P* < 0.001 P** < 0.001
ALT (U/l)	65.4±1.2	119.6±2.3 P* < 0.001	76.8±4.6 P* < 0.001 P** < 0.001
AST (U/l)	139.13±3.82	321.35±2.8 P* < 0.001	204.68±1.96 P* < 0.001 P** < 0.001
ALP (U/l)	68.1±2.3	85.2±4.6 P* < 0.001	79.5±8.1 P* < 0.001 P** < 0.01
Albumin (g/dl)	4.14±0.6	1.3±0.87 P* < 0.001	3.81±0.4 P* > 0.05 P** < 0.001
Total protein (g/dL)	5.94±0.89	2.03±0.78 P* < 0.001	4.62±0.13 P* < 0.001 P** < 0.001
Total bilirubin (mg/dL)	0.24±0.20	0.78±0.07 P* < 0.001	0.36±0.06 P* < 0.05 P** < 0.001

Values are means ± SD (n=20 each group). ANOVA, followed by Tukey's post-hoc test. P*: compared to normal control. P**: compared to diabetic control. ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase. ALP, alkaline phosphatase. mg/dl, milligrams per deciliter. mIU/L, milli-international units per liter. U/l, units per litre. g/dl, grams per deciliter. The mean is given in columns and error bars represent the standard deviation (SD).

a-SMA İmmunohistokimya a-SMA Immunohistochemistry



Şekil 2. A. Normal kontrol minimum immün (ok) gösterdi. Şekil B. Diyabetik kontrol portal kan damarlarının medyada (HKH'lerin aktif) ve periportal alanda (ok) dağınık pozitif immün gösterdi. Şekil C. perisinüzoidal alanlarda pozitif immunohistokimyasal hücreler (ok) ile önceki grubudur. Şekil D. Curcumin tedavisi hafif immün (ok) (α -SMA, Ölçek çubuğu 20 μ m) gösterdi.

Fig 2. A. Normal control showed minimal immunostaining (arrow). Fig B. Diabetic control showed positive immunostaining (activated HSCs) in the media of the portal blood vessels and scattered in the periportal area (arrow). Fig C. The previous group with positive immunostained cells in the perisinusoidal spaces (arrow). Fig D. Curcumin treatment showed mild immunostaining (arrow) (α -SMA, Scale bar 20 μ m).

Table 2. Histopathological findings of the liver

	Normal control	STZ-diabetic control	STZ-diabetes + curcumin
Hydropic swelling	0	+2	+1
Parenchymatous degeneration	0	+2	+1
Microvesicular vacuole	0	+0.5	+1
Macrovesicular vacuole	0	+0.5	+1
Focal necrosis	0	+2	+0.5
Inflammatory infiltrations	0	+1	+1
Fibrosis	0	+1	+0.5
Sinusoids hyperemia	0	+2	+1
PAS	+3	+1	+2

n=20, No (0), mild (+1), moderate (+2), severe (+3).

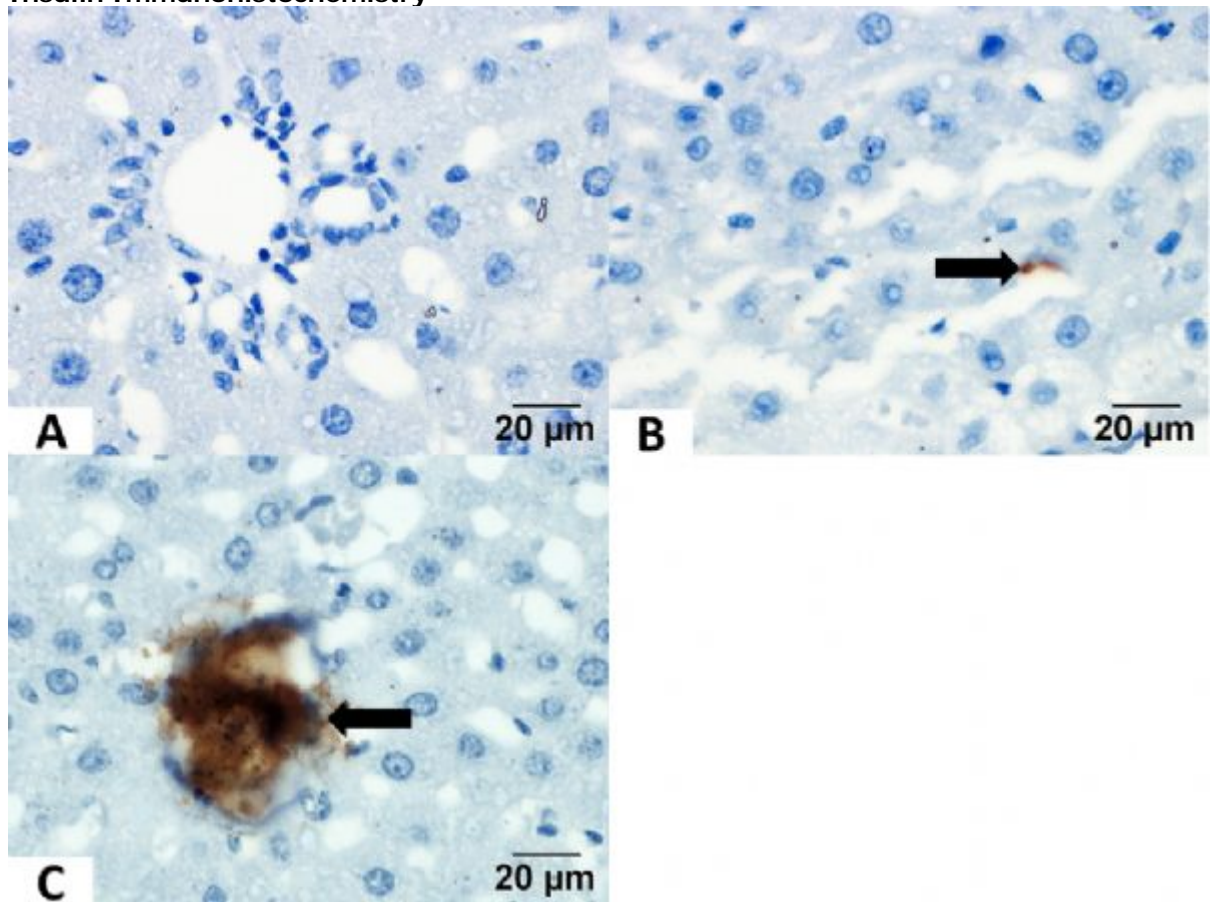
Table 2. Histopathological findings of the liver

	Normal control	STZ-diabetic control	STZ-diabetes + curcumin
--	----------------	----------------------	-------------------------

Hydropic swelling	0	+2	+1
Parenchymatous degeneration	0	+2	+1
Microvesicular vacuole	0	+0.5	+1
Macrovesicular vacuole	0	+0.5	+1
Focal necrosis	0	+2	+0.5
Inflammatory infiltrations	0	+1	+1
Fibrosis	0	+1	+0.5
Sinusoids hyperemia	0	+2	+1
PAS	+3	+1	+2

n=20, No (0), mild (+1), moderate (+2), severe (+3).

insülin İmmünohistokimya Insulin Immunohistochemistry



Şekil 3. A. Normal kontrol negatif bağışıklık tepki gösterdi. Şekil B. Diyabetik kontrol minimal bağışıklık tepki gösterdi. Şekil C. Curcumin tedavisi güçlü pozitif immunreaktifi- (İnsülin üreten hücreler) (oklar) (İnsülin bağışıklık reaksiyonu, Ölçek çubuğu 20 µm) gösterdi.

Fig 3. A. Normal control showed a negative immune reaction. Fig B. Diabetic control showed a minimal immune reaction. Fig C. Curcumin treatment showed strong positive immunoreactivity (Insulin-producing cells) (arrows) (Insulin immune reaction, Scale bar 20µm).

Table 3. Mean ± SD of the area percentage of α-smooth muscle actin positive cells, and the number of insulin-positive cells.

Parameters	Normal control	STZ-diabetic control	STZ-diabetes + curcumin
Area % of α-SMA	0.43±0.28	10.20±0.62 P* <0.001	1.06±0.87 P* <0.01

			P** < 0.001
Number of insulin positive cells	0.00	0.28 ± 0.01	5.10 ± 3.5
		P* > 0.05	P* < 0.001
			P** < 0.001

Values are means ± SD (n=20 each group). ANOVA, followed by Tukey's post-hoc test. P*: compared to normal control. P**: compared to diabetic control.

Table 3. Mean ± SD of the area percentage of α-smooth muscle actin positive cells, and the number of insulin-positive cells.

Parameters	Normal control	STZ-diabetic control	STZ-diabetes + curcumin
Area % of α-SMA	0.43 ± 0.28	10.20 ± 0.62 P* < 0.001	1.06 ± 0.87 P* < 0.01 P** < 0.001
Number of insulin positive cells	0.00	0.28 ± 0.01 P* > 0.05	5.10 ± 3.5 P* < 0.001 P** < 0.001

Values are means ± SD (n=20 each group). ANOVA, followed by Tukey's post-hoc test. P*: compared to normal control. P**: compared to diabetic control.

Kaynakça / References: Mustafa, H. N., El Awdan, S. A., Hegazy, G. A., & Abdel Jaleel, G. A. (2015). Prophylactic role of coenzyme Q10 and Cynara scolymus L on doxorubicin-induced toxicity in rats: Biochemical and immunohistochemical study. *Indian J Pharmacol*, 47(6), 649-656. doi:10.4103/0253-7613.169588 Zhang, D. W., Fu, M., Gao, S. H., & Liu, J. L. (2013). Curcumin and diabetes: a systematic review. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 636053. doi:10.1155/2013/636053

P171

Siklofosfomid ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında Oleuropeinin İyileştirici Etkisi

Esra Erdoğan, Yasin Ilgaz, Emin Öztaş

Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Siklofosfomid (CP) nitrojen mustard tipi bir alkilleyici ajandır. Çeşitli kanser ve inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (1). Siklofosfomid hepatotoksiteyi de içeren geniş spektrumlu yan etkilere neden olabilir (2). Oleuropein zeytinin major bioaktif bileşenidir ve antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, anti-diabetik, kanser gelişimini önleyici biyolojik etkileri olduğu gösterilmiştir (3-5). Sıçanlarda CP ile oluşturulan karaciğer hasarında Oleuropeinin koruyucu etkisini araştırdık

YÖNTEM: Yirmi sekiz dişi sıçan dört deney grubuna ayrıldı. Kontrol, Ole, CP, CP+Ole. Kontrol grubuna tek doz serum fizyolojik intraperitoneal (i.p) 0.5 ml uygulandı. Ole grubuna oleuropein i.p 100 mg/kg 3 gün uygulandı. CP grubuna tek doz siklofosfomid i.p 100 mg/kg uygulandı. CP+Ole grubuna tek doz siklofosfomid i.p 100 mg/kg ve sonraki 2 gün oleuropein i.p 100 mg/kg uygulandı (toplam 3 doz oleuropein). Tüm sıçanlar ilk uygulamadan 72 saat sonra sakrifiye edildi. Histolojik değerlendirme için karaciğer dokuları alındı. Formalin ile fikse edilen karaciğer dokuları rutin takipten geçirilerek parafine gömüldü. Doku kesitleri hematoksilin-eozin ile boyandı. Histolojik hasar 0-3 arası (0 = yok, 1 = hafif, 2 = orta, 3 = şiddetli) derecelendirildi.

BULGULAR: Kontrol ve Ole gruplarında normal karaciğer histolojisi gözlemlendi. CP+Ole ve CP tedavi gruplarında sinüzoidal dilatasyon, inflamasyon ve hepatosit mitozisi gözlemlendi. Bununla beraber CP+Ole grubunda CP grubuna göre histolojik hasar daha azdı. Oleuropein, CP ile oluşturulan karaciğer hasarını önleyici etki gösterdi.

SONUÇ: Bizim sonuçlarımız CP ile oluşturulan karaciğer hasarında oleuropeinin koruyucu rolünü desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Siklofosfomid, Hepatotoksisite, Oleuropein

Oleuropein Ameliorates Cyclophosphamide Induced Hepatic Injury in Rats

Esra Erdoğan, Yasin Ilgaz, Emin Öztaş

Department of Medical Histology and Embryology, Gulhane Military Medical Academy, Ankara, Turkey.

PURPOSE: Cyclophosphamide (CP) is a alkylating agent of the nitrogen mustard type. It is used to treat various types of malignancy and inflammatory diseases (1). CP possesses a wide spectrum of adverse effects including hepatotoxicity (2). Oleuropein is the major bioactive compound of *Olea europaea* which demonstrated biological activities such as; antioxidant, anti-inflammatory, anti-microbial, antidiabetic, anti-cancer activities (3-5). We investigated the possible protective effect of Oleuropein on CP induced hepatotoxicity in rats.

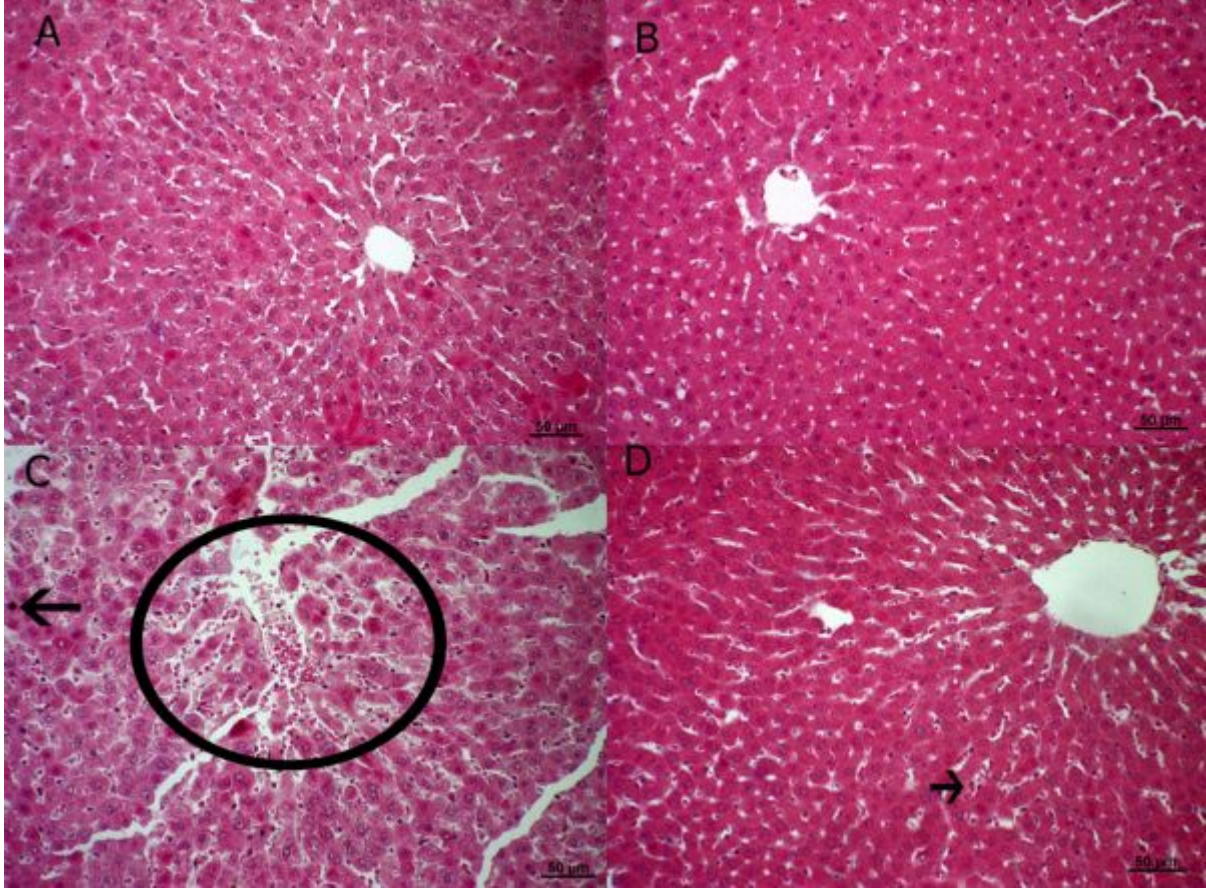
METHODS: Twenty- eight female rats were divided into four experimental groups; Control, Ole, CP, CP+Ole. Control received saline single dose intraperitoneally (i.p) 0.5 ml. Ole group received oleuropein i.p 100 mg/kg for 3 days. CP group received only cyclophosphamide single dose i.p 100 mg/kg. CP+Ole group received single dose i.p 100mg/kg CP and oleuropein i.p (100 mg/kg/day) was administered for 2 days followed by CP (total of 3 doses of oleuropein). All rats were sacrificed 72 hour after the first application. Hepatic tissue was taken for histological assessment. Fixed in formalin, the liver tissues were processed routinely for embedding in paraffin. Tissue sections were stained with hematoxylin-eosin. Histological damage was graded from 0 to 3 (0 = none, 1 = mild, 2 = moderate, 3 = severe)

RESULTS: Control-saline and Ole groups normal liver histological structure observed. Liver sections in CP+Ole and CP treated groups showed sinusoidal dilatation, inflammation and mitosis hepatocyte. However CP+Ole group showed lower histological injury compared to CP group. Oleuropein effect protected against CP-induced histological injury in the liver tissues.

CONCLUSION: Our results support a protective role for Oleuropein in CP-induced hepatic damage

Keywords: Cyclophosphamide, Hepatotoksisite, Oleuropein

Çalışma gruplarının Hematoksilen Eozin boyaması
Hematoxylen Eosin staining of the study groups



Şekil: (A-B) Kontrol ve Ole gruplarına ait normal karaciğer histolojik görüntüsü. (C) CP grubu hepatosit mitozisi (kalın ok), sinüzoidal dilatasyon ve santral ven etrafındaki bozulmuş radial düzenleme (daire). (D) CP+Ole grubu sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon (ince ok). (H&E, Scale bar 20 µm).

Figure. Normal histological structure of liver in Control and Ole groups (A-B). Hepatocytes mitosis (thick arrow), sinusoidal dilatation and disruption in radial arrangement around central vein (circle) in CP group (C). Sinusoidal dilatation and congestion (thin arrow) in CP+Ole group (D) (H&E, Scale bar 20 µm).

Kaynakça / References: 1. Hossam M. M., Arafa Uroprotective Effects of Curcumin in Cyclophosphamide-Induced Haemorrhagic Cystitis Paradigm Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2009.104, 393–399 2. Cuce G, Çetinkaya S, Koc T, Esen HH, Limandal C, Balcı T, Kalkan S, Akoz M., Chemoprotective effect of vitamin E in cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats. Chem Biol Interact. 2015;232: 7-11 3. Andreadou, I., et al., Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. J Mol Cell Cardiol, 2007. 42(3): p. 549-58. 4. Omar, S.H., Oleuropein in olive and its pharmacological effects. Sci Pharm, 2010. 78(2): p. 133-54. 5. Barbaro, B., et al., Effects of the olive-derived polyphenol oleuropein on human health. Int J Mol Sci, 2014. 15(10): p. 18508-24.

P172

Alfa Lipoik Asitin İskemi-Reperfüzyon Sonucu Oluşan Böbrek Hasarını Önlemedeki Olası Etkilerinin Araştırılması

Burcu Gültekin¹, Seçkin Tuncer², Seda Çetinkaya³, Aydan Özgörgülü¹, Nizamettin Dalkılıç²

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi, Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Konya

³Karatay Üniversitesi, Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

GİRİŞ:

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalmasına iskemi, yeniden kanlanmasına da reperfüzyon adı verilmektedir. İskemi-reperfüzyon işlemi hastada kardiyolojik, solunumsal, renal ve üremeyele ilgili fonksiyon bozukluklarına neden olur. Bu çalışmada iskemi-reperfüzyon sonucu böbreklerde meydana gelen hasarın antioksidan tedavisi ile önlenip önlenemeyeceği immunohistokimyasal olarak araştırılmıştır.

METOD:

Deneyler için, ağırlıkları 200-250g arasında olan yetişkin (2,5-3 aylık) erkek Sprague Dawley sıçanlar her grupta 10'ar hayvan olmak üzere 4 grup olacak şekilde düzenlendi. Anestezi altında ve sıcaklık kontrollü koşullarda abdominal aorta infrarenal bölgeden vasküler klip ile kapatılarak 30 dakika iskemi bunu takiben, klip kaldırılarak 2 saat reperfüzyon gerçekleştirildi. İskemi-reperfüzyon gerçekleştirilen IR grubundan farklı olarak, SHAM grubunda yalnızca vasküler klip yerleştirme işlemi gerçekleştirilmedi. IR+ALA grubundaki hayvanlara ise operasyondan 3 gün öncesinden başlanarak her gün alfa lipoik asit enjeksiyonu yapıldı (100 mg/kg, i.p.), ardından operasyon gününde ise IR grubunda yapılan işlemlerin aynısı gerçekleştirildi. ALA grubundaki hayvanlara ise 3 gün boyunca her gün alfa lipoik asit enjeksiyonu (100 mg/kg, i.p.) yapıldı. Son enjeksiyondan sonraki gün hayvanlar sakrifiye edilerek dokuları toplandı. Rutin histolojik takipten sonra yaklaşık 5µ kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler histolojik değerlendirmeler için hematoksilin-eozin ile boyandı. İmmün değerlendirme için böbrek doku kesitlerine streptavidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile fare monoklonal Bcl-2 (1:100 sulandırma) (C-2, Santa Cruz: 7382) antikoru ve Bax (1:100 sulandırma) (B-9, Santa Cruz: 7480) antikoru kullanıldı.

BULGULAR:

Histopatolojik Değerlendirme:

SHAM grubunda, böbrek korteks-medulla geçişindeki tübül hücrelerinin görünümünün normal olduğu, böbrek tübüllerinde nekrotik hücrelerin bulunmadığı, tübül hücreleri arasında kanlanmanın olmadığı, dolayısıyla patolojik olarak değerlendirilebilecek herhangi bir durumun bulunmadığı görüldü. IR grubunda ise IR hasarına bağlı olarak tübül hücrelerinde şişme ve buna bağlı olarak tübüller içerisinde sıvı birikimi ve hücre döküntülerinin oluşturduğu hücrelere bağlı tübüller deformasyon tespit edildi. Bununla birlikte, yoğun olarak tübüller arasında kanlanma olduğu görüldü. Tübüller hasara ilaveten böbrek cisimciklerinin bir kısmında glomerüler atrofiye bağlı olarak Bowman boşluğunda genişlemeler tespit edildi.

ALA grubunda SHAM grubuna göre farklılık görülmezken, IR+ALA grubunda ise tübüller deformasyonun devam ettiği ancak tübüller arasındaki kanlanmanın azaldığı ve Bowman boşluğundaki genişlemelerin azaldığı tespit edildi.

İmmün Boyanmanın Değerlendirilmesi:

SHAM ve ALA grubuna ait böbrek tübüllerinde IR ve IR+ALA grubuna kıyasla Bcl2 immün reaksiyonunun artmış olduğu tespit edildi. Bax immün reaksiyonunun ise IR ve IR+ALA grubunda SHAM ve ALA grubuna kıyasla artmış olduğu gözlemlendi.

TARTIŞMA:

Yapılan histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemelere dayanarak, abdominal iskemi-reperfüzyonun böbreklerde anlamlı hasara neden olduğu, ancak alfa lipoik asitin koruyucu uygulamasının bu hasarı anlamlı şekilde azalttığı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Alfa Lipoik Asit, Apoptozis, Böbrek, İskemi-reperfüzyon

Investigation of Possible Protective Effects of Alpha Lipoic Acid on Ischemia-Reperfusion Induced Kidney Injury

Burcu Gültekin¹, Seçkin Tuncer², Seda Çetinkaya³, Aydan Özgörgülü¹, Nizamettin Dalkılıç²

¹Department of Histology Embryology, Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey

²Department of Biophysics, Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey

³Department of Histology Embryology, Karatay University, Konya, Turkey

AIM: Ischemia is the oxygen deprivation in tissue depending on reduced or completely impeded arterial or venous blood flow into the tissue. Providing blood supply to the tissues again is called reperfusion. Ischemia-reperfusion causes cardiac, respiratory, renal, and reproductive dysfunction in patients. In this study, we investigated the possible positive effects of alpha lipoic acid (ALA) on renal damage caused by infrarenal ischemia reperfusion (I/R) in rats by immunohistochemical methods.

METHODS: In this study, male Sprague Dawley rats weighing 200- 250 g. (2,5-3 month) were used. The rats were randomly divided into four groups each having 10 animals. Under light anesthesia in IR group blood delivery is occluded from the infrarenal area of the abdominal aorta by using a vascular clamp, after 30 minutes the clamp was removed and blood delivery was allowed for 2 hours. In SHAM group, only clamp was not placed. I/R + ALA group alpha lipoic acid was injected for 3 days before the operation, then on the operation day the same procedure with IR group was performed. Animals in ALA group were received alpha lipoic acid every day for 3 days. The day after the last injection the animals were sacrificed and the tissues were collected. After routine histological follow-up techniques, tissues were cut into 5 µm thick sections. These sections were stained with hematoxylin-eosin for histological assessment. Mouse monoclonal Bcl-2 antibody and Bax antibody is used for immune evaluation of kidney tissue sections with streptavidin-biotin-peroxidase method.

RESULTS: Histopathological evaluation revealed that the renal tissues of the SHAM group had normal structure with no pathological changes. In the IR group, tubular lumen dilation, vacuolization, degeneration, and mononuclear cell infiltration were higher than those of the SHAM group. In addition, renal tubular damage in some of the bodies in the Bowman space, expansion were detected depending on the glomerular atrophy. However no differences were observed between the SHAM and ALA group, in IR group tubular degeneration is continued but decrease in mononuclear cell infiltration and expansion of Bowman's capsule cavity is determined.

Immunostaining evaluation showed that, the Bcl-2 expression was increased in renal tubules of SHAM and ALA group compared with IR and IR+ALA group. The Bax expression were found to be increased in SHAM and ALA as compared with IR and IR+ALA group.

CONCLUSION: Histopathological and immunohistochemical findings revealed that abdominal IR caused significant damage, but ALA has protective effects against IR related renal tissue injury.

Keywords: Alpha Lipoic Acid, Apoptosis, Kidney, Ischemia-reperfusion

P173

Sıçanlarda akrilamit ile oluşturulan tetis hasarı üzerine L-sisteinin etkisi

Sedat Kaçar, Varol Sahinturk, Betul Can, Ahmet Musmul
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri

Akrilamitin birçok organ üzerinde toksik etkisi olduğu bilinmektedir. Akrilamit birçok yiyecekte bulunmakta olduğundan, toksisitesini ve metabolizmasını anlamak önem arzeder. bundan dolayı, birçok toksisite deneyi yapılmıştır. Biz bu çalışmada L-sisteinin akrilamit kaynaklı testis toksisitesine koruyucu etkisini belirlemeyi amaçladık. Çalışmamızda 28 hayvan kullandık ve kontrol (0.09% serum fizyolojik), L-sistein (150mg/kg), Akrilamit (40 mg/kg) ve akrilamit + L-sistein olmak üzere 4 gruba ayırdık. 10 günlük deney sonrasında, hayvanların total serum testosteron düzeyleri ölçtük, vücut ve testis ağırlıklarını belirledik, morfometrik ve mikroskopik analizler yaptık. Sonuçta akrilamit vücut ve testis ağırlıklarını azalttı, seminifer tübül çapını küçülttü ve testiste çok çekirdekli dev hücrelere neden oldu ama total serum testosteron oranını önemli ölçüde değiştirmede. Akrilamitle beraber verilen L-sistein çok çekirdekli dev hücre sayısını azaltarak histolojik görüntüyü iyileştirdi. Bu sonuçlara göre, verilen doz ve sürede, L-sistein testisi akrilamit kaynaklı testis toksisitesini karşı kısmen koruyabilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akrilamit, L-sistein, Testis, Testosteron, Histoloji, Çok çekirdekli dev hücre.

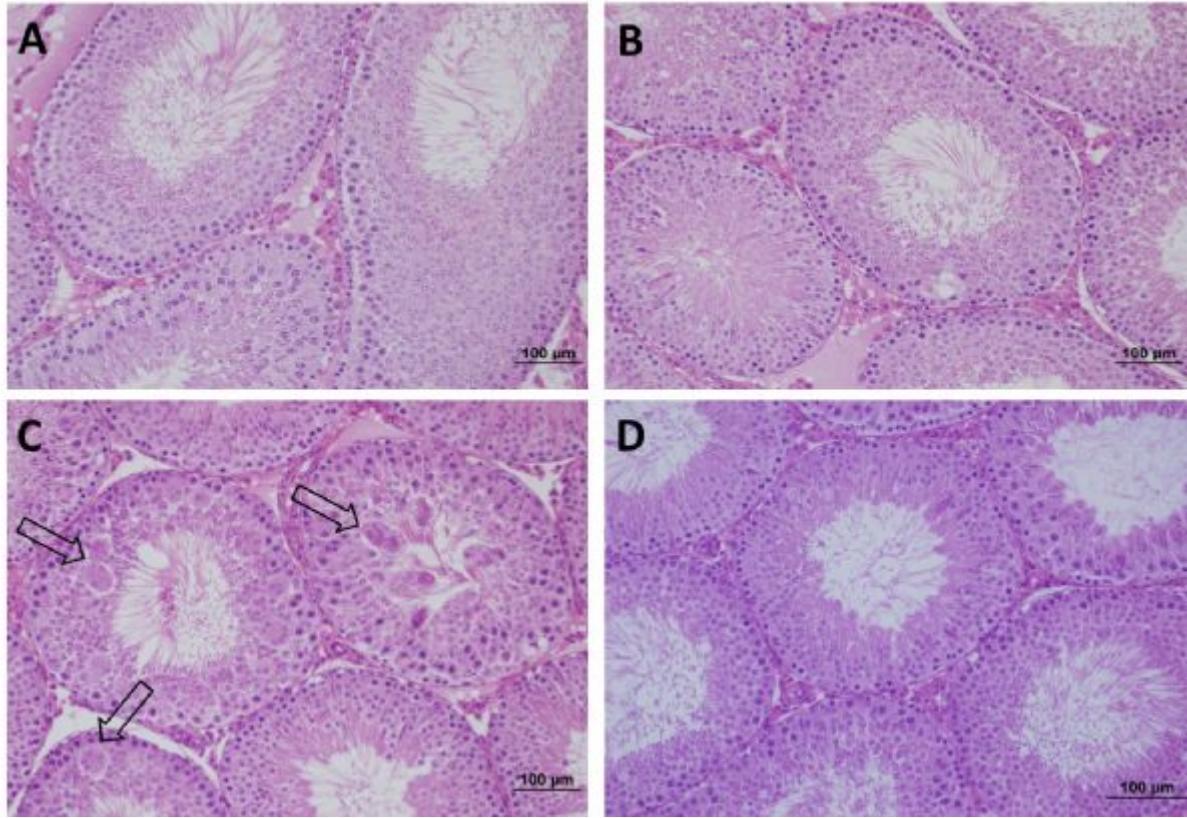
Effects of L-cysteine on acrylamide induced testicular toxicity in rats

Sedat Kaçar, Varol Sahinturk, Betul Can, Ahmet Musmul
Eskisehir Osmangazi university, Basic Medical Science

It has been known that acrylamide has toxic effects on various organs. This crucial chemical is found in many foods, so it is important to understand its toxicity and metabolism. Therefore, many different toxicity experiments have been done. We aimed in this study to determine potential protective effect of L-cysteine on akrilamit induced testicular toxicity. We used twenty-eight rats in four groups as control (0.09% saline), L-cyc (150 mg/kg), akrilamit (40 mg/kg) and akrilamit + L-cysteine. After ten-day injection period, we determined serum testosterone levels, body and testis weights, and we did morphometric and light microscopic analyzes. In conclusion, akrilamit decreased body and testis weights, reduced seminiferous tubule diameter, leading to formation of multinucleated giant cells (MNGCs) in testis but did not change significantly serum testosterone levels. L-cyc administrated with akrilamit only improved histologic appearance decreasing MNGCs. In conclusion, L-cyc partially protects testis against akrilamit induced toxic effects at the dose and duration in this study.

Keywords: Acrylamide, L-cysteine, Testis, Testosterone, Histology, Multinucleated giant cells.

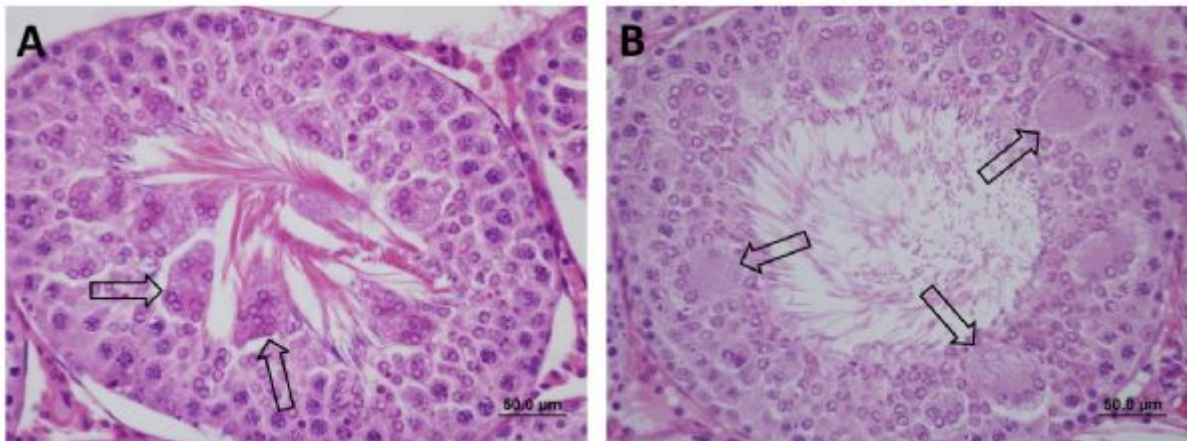
Figür 1
Figure 1



Grupları temsil eden testis kesitleri. Normal histolojik görüntü A: kontrol ve B: L-sistein. çok çekirdekli dev hücreleri içeren seminifer tübüller (oklar) C: Akrilamit ve normal histolojik görüntü D: akrilamit + L-sistein. Resimde çok çekirdekli dev hücre sayısı akrilamit grubunda akrilamit +L-sistein grubuna göre daha fazla olma dikkati çekmektedir. Kesitler H-E ile boyanmıştır. Bar 100 µm'yi gösterir.

Representative testicular sections of the groups. Normal histologic appearance A: in control and B: in L-cys groups. Seminiferous tubules containing MNGCs (arrows) C: in AA and normal histologic appearance D: in AA + L-cys groups. Note that the numbers of MNGCs and seminiferous tubules containing MNGCs are greater in AA alone treated group than AA + L-cys group. Sections were stained with hematoxylin-eosin. Bars represent 100 µm.

Figür 2
Figure 2



Akrilamit grubu sıçanların testis kesitlerine ait migrograflar. Dev hücreler A: Lümene dökülmekte olan dev hücreler (oklar), B: Spermatogenetik hücreler arasında bulunan dev hücreler (oklar).

Kesitler H-E ile boyanmıştır. Barlar 50 µm'yi temsil eder.

Photomicrographs taken from testicular sections of AA alone treated rats. MNGCs are A: exfoliated into the lumen (arrows) and B: found among spermatogenic cells (arrows). Sections were stained with hematoxylin-eosin. Bars represent 50 µm

Figür 3
Figure 3



Deneyin son 5 günü içerisinde çekilen akrilamit grubuna ait sıçanlar. Arka bacak çarpıklığı ve vücut pozisyonu dikkat çekmektedir.
AA alone treated rats in the last five days of the experiment. Note the hind leg splay and body position.

Grupların vücut, testis ve relatif testis ağırlıkları

Gruplar (n=7)	İlk vücut ağırlıkları (g)	Son vücut ağırlıkları(g)	Toplam testis ağırlıkları (g)	Relatif testis ağırlıkları (%)
Kontrol	285,1 ± 31,0	292,6 ± 38,2	3,22 ± 0,18	1,11 ± 0,12
L-sistein	271,4 ± 21,8	279,7 ± 24,2e	3,25 ± 0,14	1,17 ± 0,12
Akrilamit	279,1 ± 8,5	220,3 ± 19,5bdg	2,82 ± 0,26ac	1,29 ± 0,16
Akrilamit + L-sistein	280,0 ± 9,6	231,1 ± 36,8bcf	2,87 ± 0,15bd	1,27 ± 0,20

Kontrolle kıyaslandığında a: $p < 0.05$, b: $p < 0.01$; L-sisteinle kıyaslandığında c: $p < 0.05$, d: $p < 0.01$; ilk ve son vücut ağırlıkları kıyaslandığında e: $p < 0.05$, f: $p < 0.01$, and g: $p < 0.001$ anlamlı fark vardır. Değerler ortalama ± standard deviasyon olarak ifade edilmiştir.

Body, testis and relative testis weights of groups

Groups (n=7)	Initial body weight (g)	Last body weight (g)	Total testis weight (g)	Relative testis weight (%)
Control	285,1 ± 31,0	292,6 ± 38,2	3,22 ± 0,18	1,11 ± 0,12
L-cysteine	271,4 ± 21,8	279,7 ± 24,2e	3,25 ± 0,14	1,17 ± 0,12
Acrylamide	279,1 ± 8,5	220,3 ± 19,5bdg	2,82 ± 0,26ac	1,29 ± 0,16
Acrylamide+L-cysteine	280,0 ± 9,6	231,1 ± 36,8bcf	2,87 ± 0,15bd	1,27 ± 0,20

a $p < 0.05$, b $p < 0.01$ when compared to control; c $p < 0.05$, d $p < 0.01$ when compared to L-cys alone e $p < 0.05$, f $p < 0.01$, and g $p < 0.001$ when compared last body weight with initial one. Values are expressed as mean ± standard deviation.

Serum total testosteron düzeyleri (ng/ml).

Gruplar (n=7)	Serum total testosteron Medyan (Q25-Q75)
Kontrol	6.42 (5.18-25.98)
L-sistein	8.54 (4.67-12.77)
Akrilamit	3.62 (1.24-5.13)

L-sistein + Akrilamit 0.75 (0.60-6.94)

Gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi.

Serum total testosterone levels (ng/ml)

Groups (n=7)	Serum total testosterone Median (Q25-Q75)
Control	6.42 (5.18-25.98)
L-cysteine	8.54 (4.67-12.77)
Acrylamide	3.62 (1.24-5.13)
L-cysteine+Acrylamide	0.75 (0.60-6.94)

No significant difference has been detected among groups

Seminifer tübül çapları (µm) ve dev hücre içeren seminifer tübül yüzdeleri

Gruplar (n=7)	Seminifer tübül çapı Medyan (Q25-Q75)	Dev hücre içeren seminifer tübül yüzdesi Medyan (Q25-Q75)
Kontrol	296,8 (281,5-312,6)	Dev hücre yok
L-sistein	290,4 (276,1-307,7)	Dev hücre yok
Akrilamit	285,8 (269,7-303,8) ab	25,0 (0,0-40,0) c
Akrilamit + L-sistein	287,2 (271,5-306,4) a	0,0 (0,0-0,0)

Kontrolle kıyaslandığında a: $p<0.001$; L-sisteinle kıyaslandığında b: $p<0.05$; akrilamit + L-sisteinle kıyaslandığında c $p<0.001$. anlamlı fark vardır. Değerler medyan (Q25-Q75) olarak verilmiştir.

Average seminiferous tubule diameters (µm) and percentages of seminiferous tubules containing MNGCs according to groups.

Groups (n=7)	Seminiferous tubule diameter Median (Q25-Q75)	Percentages of seminiferous tubules containing MNGCs Median (Q25-Q75)
Control	296,8 (281,5-312,6)	No MNGC detected.
L-cysteine	290,4 (276,1-307,7)	No MNGC detected.
Acrylamide	285,8 (269,7-303,8) ab	25,0 (0,0-40,0) c
L-cysteine + Acrylamide	287,2 (271,5-306,4) a	0,0 (0,0-0,0)

a $p<0.001$ when compared to control; b $p<0.05$ when compared to L-cysteine alone; c $p<0.001$ when compared to Acrylamide + L-cysteine. Values are expressed as median (Q25-Q75).

Kaynakça / References: [1] Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Tornqvist M. Acrylamide: a cooking carcinogen? Chem Res Toxicol 2000; 13: 517-22. [2] Yang HJ, Lee SH, Jin Y, Choi JH, Han DU, Chae C, et al. Toxicological effects of acrylamide on rat testicular gene expression profile. Reprod Toxicol. 2005b; 19: 527-34. [3] Mustafa HN. Effect of acrylamide on testis of albino rats. Ultrastructure and DNA cytometry study. Saudi Med J. 2012; 33: 722-31. [4] Alturfan EI, Beceren A, Şehirli AO, Demiralp ZE. Protective effect of N-acetyl-L-cysteine against acrylamide-induced oxidative stress in rats. Turk J Vet Anim Sci. 2012b; 36: 438-45. Yang HJ, Lee SH, Jin Y, Choi JH, Han CH, Lee MH. Genotoxicity and toxicological effects of acrylamide on reproductive system in male rats. J Vet Sci. 2005a; 6: 103-9. [4] Wang H, Huang P, Lie T, Li J, Hutz RJ, Li K, et al. Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. Reprod Toxicol. 2010; 29: 225-30. [5] Rajeh N, Al Saggaf S, Ayuob N, ElAssouli S. Characterization of Acrylamide Mediated Testicular Toxicity in Rat: Light and Electron Microscopic Study. Kuwait Med J. 2011; 43: 196-205. [6] Camacho L, Latendresse JR, Muskhelishvili L, Patton R, Bowyer JF, Thomas M, et al. Effects of acrylamide exposure on serum hormones, gene expression, cell proliferation, and histopathology in male reproductive tissues of Fischer 344 rats. Toxicol Lett. 2012; 211: 135-43. [7] Tyl RW, Marr MC, Myers CB, Ross WP, Friedman MA. Relationship between acrylamide reproductive and neurotoxicity

in male rats. *Reprod Toxicol.* 2000;14: 147-57. [8]Creasy DM, Chapin RM. Systems Toxicologic Pathology: Male Reproductive System. In: Haschek W, Rousseaux C, Wallig M, editors. *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. Third ed. IL: Academic Press; 2013. p. 2493-598. [9] Ma Y, Shi J, Zheng M, Liu J, Tian S, He X, et al. Toxicological effects of acrylamide on the reproductive system of weaning male rats. *Toxicol Ind Health.* 2011;27:617-27. [10]Rotter V, Schwartz D, Almon E, Goldfinger N, Kapon A, Meshorer A, et al. Mice with reduced levels of p53 protein exhibit the testicular giant-cell degenerative syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:9075-9. [11] Tyl RW, Friedman MA. Effects of acrylamide on rodent reproductive performance. *Reprod Toxicol.* 2003;17:1-13.

P174

Yüksek Şiddetli-Aralıklı Kronik Koşu Egzersizi Uygulanan Sıçanlarda Motor Korteks Ve Omurilik Ön Boynuz Motor Nöronlarındaki Ultrastrüktürel Ve Moleküler Değişiklikler

Zelal Keleş¹, Güleser Göktaş², Deniz Erbaş¹, Haydar Ali Demirel³, Saadet Özen Akarca Dizakar⁴, Çiğdem Elmas⁴

¹Gazi Üniversitesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Başkent Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi, Egzersiz ve Spor Fizyolojisi Anabilim Dalı, Ankara

⁴Gazi Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Uzun süreli şiddetli egzersiz veya yoğun fiziksel aktivitenin motor nöron düzeyinde ne tip ultrastrüktürel ve moleküler yanıtlara yol açtığı ile ilgili yeterli bilimsel veri mevcut değildir. Fiziksel aktivite ve motor nöron harabiyeti ilişkisine ilişkin pozitif sonuçlar gösteren birtakım epidemiyolojik çalışmalarla, diğer olası etkenlerin etkilerini ekarte ederek egzersizin saf etkisine yönelik yorum yapmak mümkün değildir. Epidemiyolojik çalışmalarla entegre temel bilim çalışmaları bu ilişki ile ilgili güçlü kanıtlar verebilir. Bu çalışma yüksek şiddetli-aralıklı kronik koşu egzersizi uygulanan sıçanlarda motor kortekste motor nöronlarla servikal ve lomber omurilikteki ön boynuz motor nöronlarında ultrastrüktürel morfolojik ve moleküler birtakım değişiklikleri incelemek amacıyla yapıldı. 30 adet Wistar albino erkek sıçan 3 gruba ayrıldı; A: sedanter kontrol grubu, B: Haftada 5 gün 13- 15 hafta ılımlı şiddette-devamlı egzersiz (İŞDE) uygulanan grup, C: Haftada 5 gün 13-15 hafta yüksek şiddetli aralıklı egzersiz (YŞAE) uygulanan grup. 13-15 haftalık koşu egzersizini takiben tüm denekler sakrifiye edildi, beyin ve spinal kord alındı. Motor nöronlarda ve glial hücrelerde immünohistokimyasal yöntemle erken apoptotik belirteçler sitokrom c ve Bcl- 2 mitokondriyal disfonksiyonu araştırmak amacıyla değerlendirildi. Elektron mikroskopik inceleme ile ultrastrüktürel morfolojik değerlendirmeler yapıldı. Diğer gruplardan farklı olarak YŞAE grubunda her 3 anatomik seviyede de antiapoptotik Bcl-2 immünreaktivitesinde azalma ile proapoptotik sitokrom c immünreaktivitesinde artış eğilimleri saptandı, ancak bu değişimler belirgin değildi. Elektron mikroskopik incelemede YŞAE uygulanan grupta tek tük apoptotik hücre değişiklikleri saptandı. Sonuç olarak, yüksek şiddetli-aralıklı kronik koşu egzersizi sıçan motor nöronlarında patolojik apoptotik bir sürece veya dejenerasyona yol açmamış olsa da sitokrom c ve Bcl-2 immünreaktivitesindeki belirgin olmayan değişiklikler kaspazları aktive edememiş mitokondriyal disfonksiyon eğilimi olarak değerlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Kronik yüksek şiddetli-aralıklı egzersiz, motor korteks, sitokrom c, Bcl-2

The Ultrastructural And Molecular Changes In Motor Cortex And Spinal Cord Ventral Horn Motor Neurons Of Rats Exposed To Chronic High Intensity-Intermittent Running Exercise

Zelal Keleş¹, Güleser Göktaş², Deniz Erbaş¹, Haydar Ali Demirel³, Saadet Özen Akarca Dizakar⁴, Çiğdem Elmas⁴

¹Department of Physiology, Gazi University, Ankara, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Başkent University, Ankara, Turkey

³Department of Exercise and Sport Physiology, Hacettepe University, Ankara, Turkey

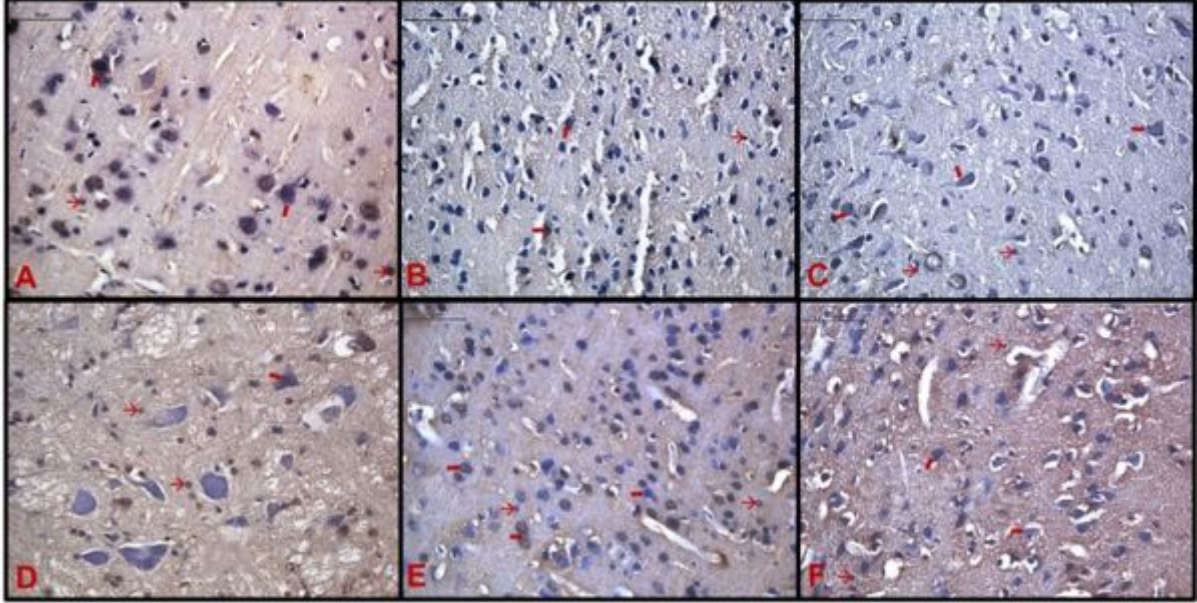
⁴Department of Histology and Embryology, Gazi University, Ankara, Turkey

Scientific data on the type of ultrastructural and molecular responses at motor neuron level brought about by long term high intensity exercise or intensive physical activity is scarce. The aim of this study was to evaluate the ultrastructural morphological and molecular changes in the motor neurons at the motor cortex and in ventral horn motor neurons at the cervical and lumbar spinal cord in rats following chronic high intensity-intermittent running exercise. 30 Wistar albino male rats were distributed into three groups: A: a sedentary control group, B: a group which received moderate intensity-continuous exercise (MICE) 5 days/ week for 13-15 weeks and C: a group which received high intensity-intermittent exercise (HIIE) 5 days/ week for 13-15 weeks. At the end of the observational and experimental period of 13-15 weeks, all the animals were sacrificed, brain and spinal cord were removed. Early apoptotic markers cytochrome c and Bcl-2 were evaluated by immunohistochemical method for investigating mitochondrial dysfunction in motor neurons and glial cells. Ultrastructural morphologic evaluations were carried out by electrone

microscope. Unlike other groups a tendency of reduction in antiapoptotic Bcl-2 immunoreactivity and a tendency of rise of proapoptotic cytochrome c immunoreactivity were observed at all three anatomic levels in the HIIE group, but these changes were not pronounced. Sporadic apoptotic cell changes were observed by electron microscopic evaluation in the HIIE group. Although chronic high intensity-intermittent running exercise did not lead to a pathologic apoptotic process or to degeneration in rat motor neurons the non-significant changes in cytochrome c and Bcl-2 immunoreactivities can be considered as a mitochondrial dysfunction trend failing to activate caspases.

Keywords: Chronic high intense-intermittant exercise, motor cortex, cytochrome c, Bcl-2

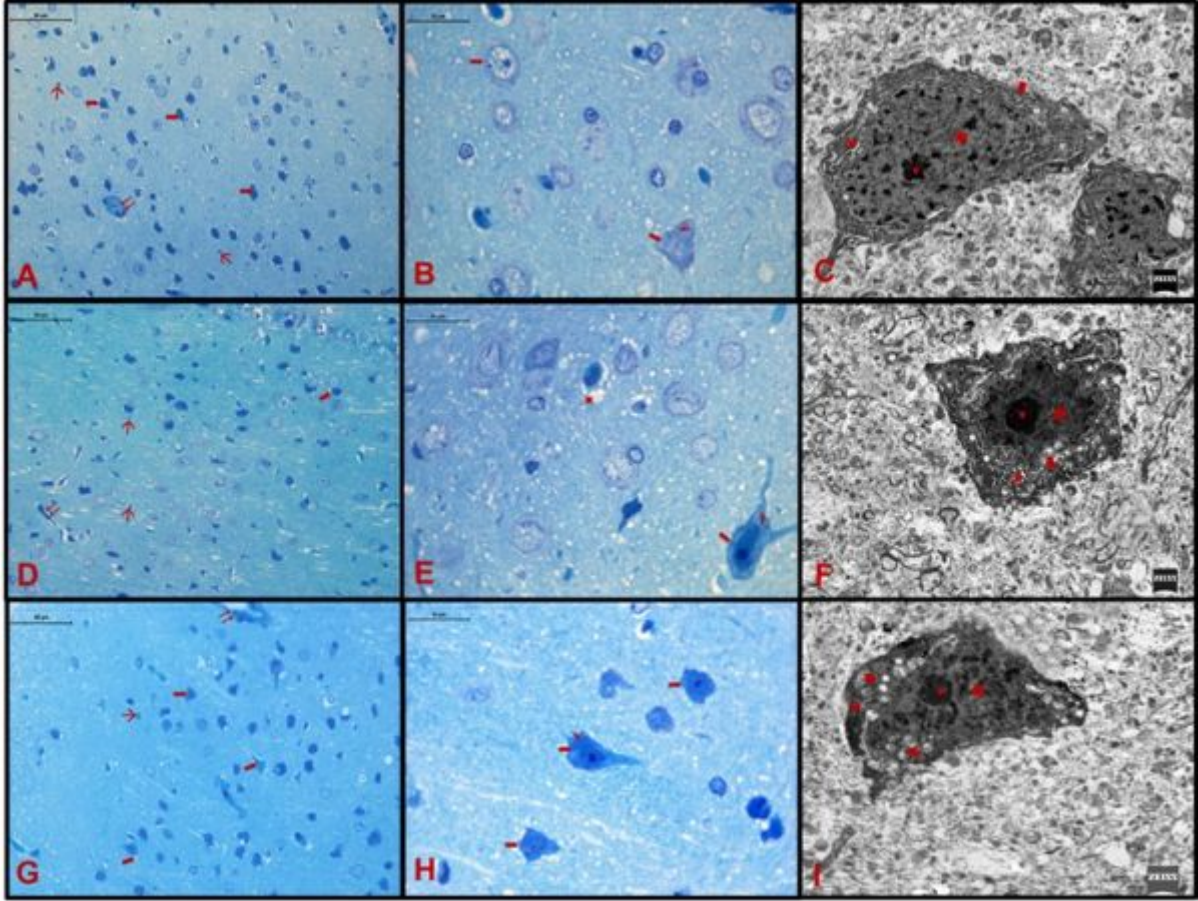
Resim 1
Figure 1



Beyine ait örneklerde kontrol grubu (A), orta (B) ve yüksek egzersiz (C) grubuna ait kesitlerde bcl-2 ve kontrol grubu (D), orta (E) ve yüksek egzersiz (F) grubuna ait kesitlerde ise sit-c immünohistokimyasal boyamalarında nöron (n) ve gliya hücreleri (o) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen A,B,C,D,E,F 400X).

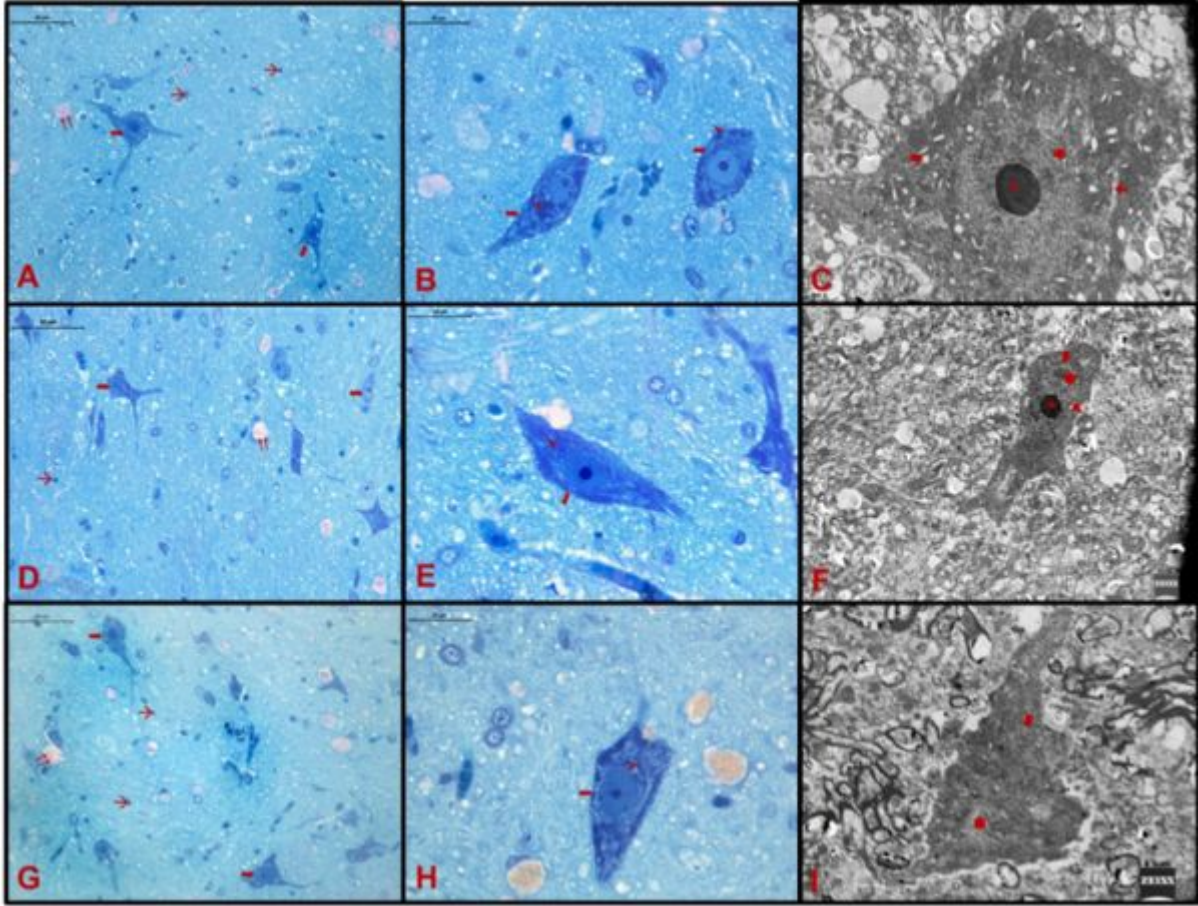
Bcl-2 immunostaining in motor cortex of the control (A), moderate intensity-continuous exercise (B), high intensity –intermittent exercise (C) groups and cytochrome c immunostaining of the control (D), moderate intensity-continuous exercise (E), high intensity –intermittent exercise (F) Neurons (n) and glial cells (o). (immunoperoxidase-Hematoxylin magnification 400x)

Resim 2
Figure 2



Beyine ait örneklerde kontrol grubu (A,B,C), orta (D,E,F) ve yüksek egzersiz (G,H,I) grubuna ait yarı ince ve ince kesitlerde nöron (n), gliya hücresi (g), damar (I), Nissl cisimciği (-), damarda ödem (e), çekirdek (N), çekirdekçik (n), granüllü endoplazmik retikulum (r) ve mitokondriyon (x) izleniyor (Toluidin mavisi A,D,G 400X, B,E,H 1000X, Uranil asetat-Kurşun sitrat C,F,I). Motor cortex, of control group (A,B,C), moderate intensity-continuous exercise group (D,E,F) and high intensity –intermittent exercise group (G,H,I); neuron (n), glial cells (g), vessel (I), Nissl body(-), edema(e), nucleus (N), nucleolus (n), granular endoplasmic reticulum(r) and mitochondrion (x). Toluidine blue-stained semi-thin cross sections and Uranyl acetate and lead citrate stained thin section (C, F, I).

Resim 3
Figure 3



Medulla spinalise ait örneklerde servikal bölgede kontrol grubu (A,B,C), orta (D,E,F) ve yüksek egzersiz (G,H,I) grubuna ait yarı ince ve ince kesitlerde nöron (n), gliya hücresi (g), damar (d), Nissl cisimciği (→), çekirdek (n), çekirdekçik (•), granüllü endoplazmik retikulum (r) ve mitokondriyon (x) izleniyor (Toluidin mavisi A,D,GX400, B,E,HX1000, Uranil asetat-Kurşun sitrat C,F,I).

Spinal cord cervical region of control group (A,B,C), moderate intensity-continuous exercise group (D,E,F) and high intensity –intermittent exercise group (G,H,I); neuron (n), glial cells (g), vessel (d), Nissl body(→), nucleus (n), nucleolus (•), granular endoplasmic reticulum(r) and mitochondrion (x). Toluidine blue-stained semi-thin cross sections (A,D,G magnification 400x, B,E,H magnification 100x and Uranyl acetate and lead citrate stained thin section (C, F, I).

Kaynakça / References: 1.Menzies, F. M., Ince, P. G., and Shaw, P.J. (2002). Mitochondrial involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurochemistry International*, 40(6), 543–551. 2.Santa-Cruz, D., Uri Nimrod, R.J., and Tapia, R. (2012). Role of Mitochondrial Dysfunction in Motor Neuron Degeneration in ALS. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, Ed. InTech, First edition. Available from http://www.intechopen.com/books/amyotrophic_lateral_sclerosis/role-of-mitochondrial-dysfunction-in-motorneuron-degeneration-in-als. 3.Kaal, E.C., Vlug, A.S., Versleijen, M.W., Kuilman, M., Joosten, E.A., and Bär, P.R. (2000). Chronic mitochondrial inhibition induces selective motoneuron death in vitro: a new model for amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of neurochemistry*, 74(3), 1158-1165. 4. Bowling, A.C., and Beal, M.F. (1995). Bioenergetic and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Life sciences*,56(14), 1151-1171. 5. Cassarino, D.S., and Bennett, J.P. Jr. (1999). An evaluation of the role of mitochondria in neurodegenerative diseases: mitochondrial mutations and oxidative pathology, protective nuclear responses, and cell death in neurodegeneration. *Brain research. Brain research reviews*, 29(1), 1-25. 6. Poulsen, H.E., Loft, S., and Vistisen, K. (1996). Extreme exercise and oxidative DNA modification. *Journal of sports sciences*, 14(4), 343-346. 7.Green, D.R., and Reed, J.C.(1998). Mitochondria and apoptosis. *Science*, 281(5381),1309-1312. Santos, J.H., Meyer, J.N., and Van Houten, B. (2006). Mitochondrial localization of telomerase as a determinant for hydrogen peroxide-induced mitochondrial DNA damage and apoptosis. *Human molecular genetics*, 15, 1757–1768. 8. Prakasa Babu, P., Yoshida, Y., Su, M., Segura, M., Kawamura, S., and Yasui, N. (2000). Immunohistochemical expression of Bcl-2, Bax and cytochrome- c following focal cerebral ischemia and effect of hypothermia in rat. *Neuroscience letters*,291(3), 196-200. 9.McKee, A. C., Daneshvar,

D. H., Alvarez, V. E., and Stein, T. D. (2014). The neuropathology of sport. *Acta Neuropathologica*, 127, 29–51. 10.Fletcher, G.F., Ades, P.A., Kligfield, P., Arena, R., Balady, G.J., Bittner, V.A., Coke, L.A., Fleg, J.L., Forman, D.E., Gerber, T.C., Gulati, M., Madan, K., Rhodes, J., Thompson, P.D., and Williams, M.A. (2013). Exercise standards for testing and training: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 128(8), 873-934.

P175

Miyokardiyum ve Akciğer Alveollerinde İskemi-Reperfüzyon Hasarına Karşı Ticagrelorun Koruyucu Etkisi

Selenay Furat Rençber¹, Kübra Kavram¹, Melda Yardımoğlu Yılmaz¹, Yusufhan Yazır¹, Orhan Findik², Atiye Tekeli Kunt²

¹Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

²Derince Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Kocaeli

Abdominal aortik cerrahide, kardiyovasküler cerrahların uyguladığı temel yöntemlerden biri olan iskemi-reperfüzyon (IR) sonrasında en fazla hasar gören organların başında kalp ve akciğer gelmektedir. Ticagrelor, kardiyovasküler vakalarda ve inmede yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Bu çalışma IR işlemi nedeniyle kalp kasında ve akciğer alveollerinde meydana gelen hasarı önlemede ticagrelorun koruyucu etkisini analiz etmek ve etkin dozunu belirlemek için planlanmıştır. 35 adet Spraque-Dawley sıçan 5 gruba ayrılmıştır: Sham grubuna (1. Grup) yalnızca laparotomi uygulanmıştır. Diğer gruplarda IR hasarı, aortun travmatik vasküler klemplenmesiyle infrarenal olarak 2 saat sıkıştırılarak indüklenmiş ve 4 saat reperfüzyon uygulanmıştır. İskemi periyodundan 10 dakika önce 2.gruba 0,1ml/kg salin; 3.gruba 7,5mg/kg; 4.gruba 15 mg/kg; 5.gruba ise 25 mg/kg ticagrelor gastrik gavaj yöntemiyle verilmiştir. İşlemlerin sonunda sıçanlar sakrifiye edilmiştir. Doku kesitleri H&E ile boyanmış; hücre ölümü TUNEL metoduyla belirlenmiştir. Apoptotik indeks tek-yönlü varyans analizi ve post hoc Kruskal-Wallis testi kullanılarak analiz edilmiştir. Kalp kasi histolojik olarak incelendiğinde; 1. grup normal morfoloji, 2. grup kardiyomiyositlerde fragmentasyon, tüsü görünümde bozulma, sarkoplazmada heterojenite, irregüler düzenlenme ve interfibriller mesafede artış göstermiştir. Bu histolojik hasarlar, 3. ve 4.grupta daha az olmakla birlikte, en az 5. grupta gözlemlenmiştir. Miyokardiyumda TUNEL(+) hücre sayısı incelendiğinde, 1. ve 2. grup (p=0.014), 1. ve 3. grup (p=0.004) ile 2. ve 5. grup (p=0.001) arasında anlamlı farklılık görülmüştür. Apoptotik indeks 2. grupta, 1. ve 5. gruba göre; 3. grupta ise 1. gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Akciğer dokusu incelendiğinde; 1. grupta normal histolojik görünüm gözlemlenirken, 2. ve 3. grupta pulmoner interstisyel doku ve alveollerde atelektazi, alveolar duvarda kalınlaşma ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu nedeniyle histolojik yapıda bozulma saptanmıştır. Bu değişimlerin 4.grupta biraz daha azalmış olduğu, 5. grupta ise 2. ve 4. gruptan daha az olduğu gözlemlenmiştir. Alveolar epitelde TUNEL (+) hücre sayısı incelendiğinde, 1. ve 2. grup (p=0.000), 1. ve 3. Grup (p=0.023) ile 2. ve 5. Grup (p=0.001) arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur. 2. grupta apoptotik indeks, 1. ve 5. gruba göre anlamlı olarak yüksek gözlemlenmiştir. 5. grubun normal miyokardiyuma yakın görünümü, bir remodeling aktivitesi oluşturabileceğini düşündürmektedir. Miyokardiyumda 5. grup ile 2. grup arasında anlamlı farklılık görülmesi, buna karşın 1. grup ile farklılık göstermemesi, bu dozda tedavinin apoptoza karşı koruyucu olabileceğini düşündürmüştür. Yine bu dozda alveolar yapının IR hasarına karşı normale yakın bir morfoloji ortaya çıkardığı ve alveolar epitelde apoptoza anlamlı olarak zayıflattığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: ticagrelor, iskemi-reperfüzyon, apoptoz

The Protective Effect Of Ticagrelor On Lung Alveoli and Myocardium Against Ischemia-Reperfusion Injury

Selenay Furat Rençber¹, Kübra Kavram¹, Melda Yardımoğlu Yılmaz¹, Yusufhan Yazır¹, Orhan Findik², Atiye Tekeli Kunt²

¹Department of Histology and Embryology, Kocaeli University Faculty of Medicine, Kocaeli

²Department of Cardiovascular Surgery, Derince Training and Research Hospital, Kocaeli

In abdominal aortic surgery, ischemia and reperfusion (IR) may lead to dreadful complications and even death due to systemic inflammatory response and multiorgan failure. Remote organ damage after IR mainly occurs in lung and heart. Ticagrelor is a widely used drug for the prevention of cardiovascular events and stroke. This study was planned to analyse the effect of ticagrelor pretreatment on the prevention of lung and heart injury induced by abdominal aorta IR and also to determine the effective dose.

Thirty-five male Spraque-Dawley rats were randomized into five groups. In Group 1 (sham), only

laparotomy was performed. In the other groups, IR was induced by clamping the aorta with atraumatic vascular clamp infrarenally for 2 hours, followed by 4 hours of reperfusion. 10 minutes before the ischemia, 0.1 ml saline (Group 2), and the doses of 7.5 (Group 3), 15 (Group 4) and 25 mg/kg (Group 5) ticagrelor were given by gastric gavage. At the end of the procedures, the animals were sacrificed. Hearts and lungs were removed for histological (H&E staining and TUNEL method for detection of apoptosis) analysis. The apoptotic index (Apl) were analyzed using one-way ANOVA and post hoc Kruskal-Wallis test.

In myocardium sections, Group 1 showed normal cardiac architecture and arrangement. There was disruption in cardiomyocytes with fragmented and feathery appearance, heterogeneity in sarcoplasm, irregular arrangement, increasing of interfibrillar distance of cardiomyocytes in Group 2. These changes were less in Group 3 and 4, but at least Group 5. Compared with the sham and treatment groups, the Apl in Group 2 was significantly higher than Group 1 ($p=0.014$) and 5 ($p=0.001$). The Apl in Group 3 was significantly higher than group 1 ($p<0.004$), but no significant difference was observed between other groups. In lung sections, the histological structure of pulmonary interstitial tissue and alveolus was intact and clearly visible in Group 1. Atelectasis, thickening of alveolar interwall, infiltration of inflammatory cells were observed in Group 2. These alterations were less in Group 3 and 4, but at least Group 5. Compared with the sham and treatment groups, the Apl in group 2 was significantly higher than Group 1 ($p=0.000$) and 5 ($p=0.001$). The Apl in group 3 was significantly higher than group 1 ($p=0.023$).

25 mg/kg of ticagrelor treatment exhibited significant cardiac remodeling activity and lung alveolar epithelial structure against IR induced injury and findings herein suggest that 25 mg/kg Ticagrelor is the optimum dose for reducing cell death in both organs.

Keywords: ticagrelor, ischemia-reperfusion, apoptosis

P176

Sıçanlarda Sisplatinin Neden Olduğu Böbrek Hasarına Kurkuminin Etkisi

Hülya Birinci, Mehmet Yüncü, Büşra Şen, Mehmet Türker, Çiğdem Karaca
Gaziantep Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Gaziantep

GİRİŞ: Antineoplastik bir ajan olan sisplatinin önemli yan etkilerinden biri de nefrotoksisitedir (1). Sisplatin glomerül ve tübüllerde bozulmalara ve fonksiyon kaybına sebep olur. Böbrekte glomerüler filtrasyonun düşmesine, serum kreatininin yükselmesine, serum potasyum ve magnezyum seviyelerinin düşmesine ve iskemik-nekrotik hasara yol açmaktadır (2,3). Kurkuminin, antioksidan, antifibrogenik, antikanserojenik ve antiinflamatuvar özellikleri vardır (4).

AMAÇ: Biz bu çalışmada, sıçanlarda, sisplatinin böbreklerde yaptığı hasara karşı kurkuminin koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ-YÖNTEM: Wistar albino cinsi 26 erişkin sıçan 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 6 gün boyunca 2 ml/kg DMSO i.p. olarak verildi. Sisplatin grubuna 3. gün 20 mg/kg sisplatin i.p. olarak tek doz uygulandı. Kurkumin grubuna 6 gün boyunca günde 200 mg/kg kurkumin i.p. olarak verildi. Sisplatin +kurkumin grubuna 6 gün boyunca günde 200 mg/kg kurkumin ve 3. gün tek doz 20 mg/kg sisplatin i.p. olarak verildi. Sıçanlar 7. gün sakrifiye edildi. Alınan böbrek dokularında ışık ve elektron mikroskopik değerlendirmelerin yanı sıra biyokimyasal analizler yapıldı. İstatistiksel analizlerle sonuçlar değerlendirildi.

TARTIŞMA VE SONUÇ: Yalnızca kurkumin verdiğimiz grupta herhangi bir hasar yoktu ve kontrol grubundakilere benzerdi. Sisplatin verilen grupta ise renal kortekste konjesyon, intratübüler kastlar ve tübüler nekroz izlendi. Ancak kurkumin+sisplatin grubunda bu hasarların azaldığı ve dokudaki genel hücre organizasyonunun normale yakın olduğu gözlemlendi. Yaptığımız çalışmayla biz sisplatin maruz bırakılmış böbrek korteksindeki glomerüllerin ve tübüler hücrelerin harabiyete uğradığını ve kurkuminin bu toksik etkilere karşı koruyucu olabileceğini gözlemledik. Moleküler analizlerle desteklenirse, kurkuminin bir ilaç olarak tasarlanması, belki de kemoterapinin daha etkin kullanımının yolunu açabilir.

Anahtar Kelimeler: böbrek, elektron mikroskobu, kurkumin, nefrotoksite, sisplatin

The Effect of Curcumin Against Cisplatin-Caused Kidney Damage in Rats

Hülya Birinci, Mehmet Yüncü, Büşra Şen, Mehmet Türker, Çiğdem Karaca
Department of Histology and Embryology, Gaziantep University, Gaziantep

INTRODUCTION: Nephrotoxicity is one of the important side effect of cisplatin which is an antineoplastic agent (1). Cisplatin causes degenerations in glomerulus and tubules and loss of function. It involves decreased glomerular filtration rate, high serum creatinin, lower serum potassium and magnesium levels and ischemic-necrotic damage on kidney (2,3). Curcumin is a compound that has primarily antioxidant, antifibrogenic, anticarcinogenic and antiinflammatory properties (4).

OBJECTIVE: In this study, we aimed to investigate the recuperative effect of curcumin against cisplatin-caused kidney damage in rats.

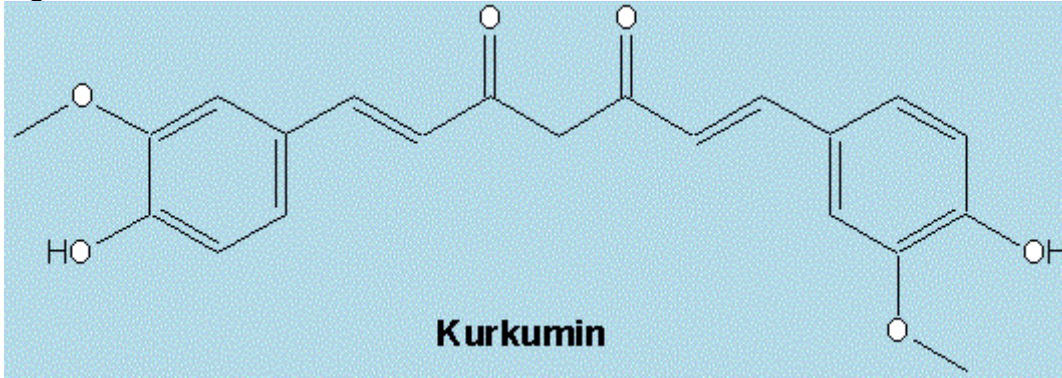
MATERIAL-METHOD: Wistar albino 26 Adult rats were divided into four groups. Control group received DMSO for six days. A single dose of 20 mg/kg cisplatin is intraperitoneally injected to cisplatin group on the third day of experiment. The curcumin+cisplatin group received intraperitoneal 200 mg/kg curcumin for six days and 20 mg/kg cisplatin on the third day. The curcumin group received 200 mg/kg curcumin for six days. The rats were sacrificed at the seventh day. The kidney tissues were taken and necessary procedures were applied for light and electron microscopic evaluations and biochemical assays. The results were evaluated with statistical analyses.

RESULT and DISCUSSION: There was no damage in the curcumin group and the results of this group was similar to the normal group. In the cisplatin group, we had showed congestion, intracellular casts and tubular necrosis in renal cortex. However, in the cisplatin+curcumin group, degenerative alterations decreased and general cell organisation of renal tissue was close to the normal group. In this research, we observed that glomeruli and tubular cells in the cortex exposed to cisplatin damaged and curcumin could be protective against this toxic effects. If it is supported

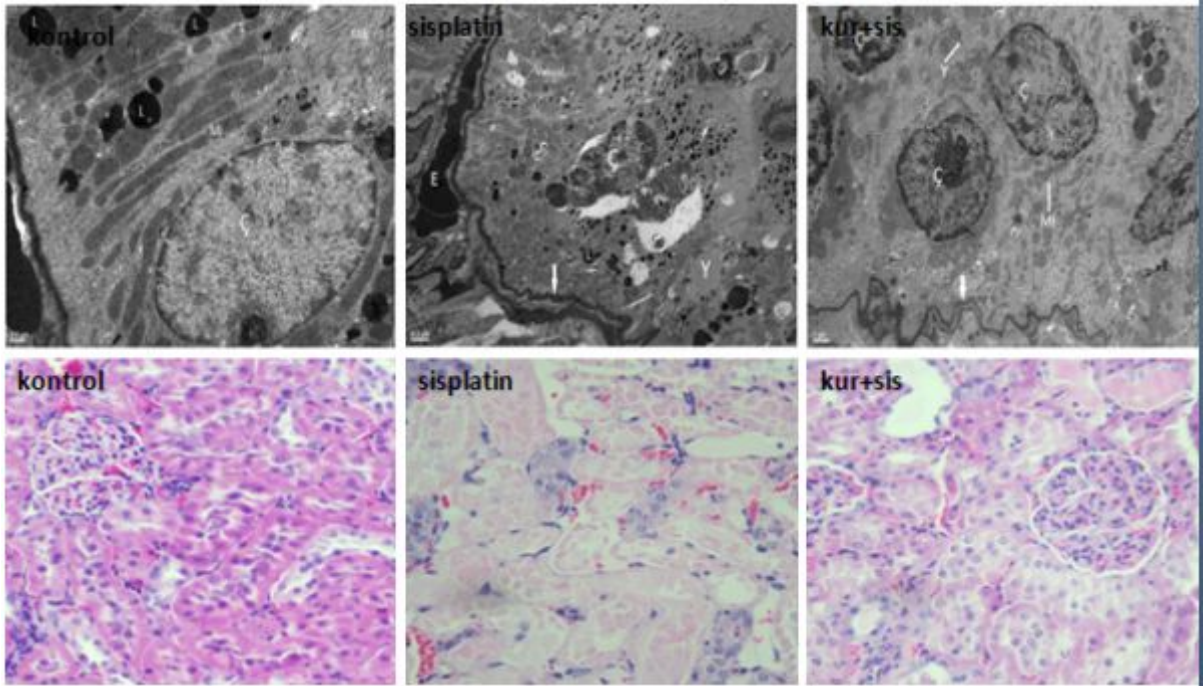
with molecular analyses, design of curcumin as a drug can pave the way for the more effective use of chemotherapy.

Keywords: cisplatin, curcumin, electron microscope, kidney, nephrotoxicity

Figür 1. Kurkuminin kimyasal yapısı
Figure 1. Chemical structure of curcumin



Resim 1. Histopatolojik bulgular
Picture 1. Histopathological results



Kontrol, sisplatin ve kurkumin+sisplatin gruplarının elektron mikroskopik görüntüleri (üstte) Ç: çekirdek L: Lizozom Y: Yağ E: Eritrosit M: Mitokondri OK: Bazal membran Kontrol, sisplatin ve kurkumin+sisplatin gruplarının ışık mikroskopik görüntüleri H&Ex40 (altta)
Electron microscopic images of control, cisplatin and curcumin+cisplatin groups (above) Ç: nukleus L: Lysosome Y: Fat E: red blood cell M: mitochondria Arrow: basal membrane Light microscopic images of control, cisplatin and curcumin+cisplatin groups H&Ex40 (below)

Tablo.2 Biyokimyasal Bulgular

	SOD (p değeri)	MDA (p değeri)
Kontrolx Sisplatin	0*	0*
Kontrolx Kur+Sis	0,062	0,001*

Kontrolx Kurkumin	0,377	0,206
Sisplatinx Kurkumin	0,001*	0*
Sisplatinx Kur+Sis	0,012*	0*
Kurkuminx Kur+Sis	0,627	0,055

*Sisplatin ve kontrol grubu arasında ve sisplatin ve kurkumin+sisplatin grubu arasında anlamlı fark gözlenmiştir. Bu da kurkuminin SOD ve MDA seviyelerinde anlamlı etkileri olduğunu göstermiştir. * p değeri 0,05'ten küçük değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (SOD: Süper oksit dismutaz MDA: Malondialdehit).*

Table 2. Biochemical results

	SOD p value	MDA p value
Controlx Cisplatin	0*	0*
Controlx Cur+Sis	0,062	0,001*
Controlx Curcumin	0,377	0,206
Cisplatinx Curcumin	0,001*	0*
Cisplatinx Cur+Sis	0,012*	0*
Cur+Sisx Curcumin	0,627	0,055

Significant difference were observed between cisplatin and control groups and between cisplatin and cis+cur groups. It has shown that curcumin had significant effects on the levels of SOD and MDA.

Tablo.1 Gruplardaki Histopatolojik Değişimler

	Kontrol	Kurkumin	Sisplatin	Kur+Sis	P değeri
Tübüler nekroz	0,1±0,3	0,12±0,32	3,64±0,56	0,46±0,5	P<0,05
Korteks konjesyonu	0	0,08±0,27	3,08±0,8	0,6±0,7	P<0,05
İnatratübüler kast	0,16±0,37	0,18±0,39	3,66±0,48	2,24±1,3	P<0,05
Glomerüler dejenerasyon	0,1±0,3	0,02±0,14	1,54±0,86	0,66±0,82	P<0,05
Fibröz	0,24±0,43	0,26±0,44	0,18±0,38	0,32±0,47	P>0,05*

Gruplar sisplatin grubuyla karşılaştırılmıştır. p değeri 0,05'ten küçük değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (0: yok, 1: az, 2: orta, 3: fazla, 4: çok fazla).

Table 1. Histopathological changes in groups

	Control	curcumin	Cisplatin	Cur+Cis	P value
Tubular necrosis	0,1±0,3	0,12±0,32	3,64±0,56	0,46±0,5	P<0,05
congestion of cortex	0	0,08±0,27	3,08±0,8	0,6±0,7	P<0,05
Intratubular cast	0,16±0,37	0,18±0,39	3,66±0,48	2,24±1,3	P<0,05
glomerular degeneration	0,1±0,3	0,02±0,14	1,54±0,86	0,66±0,82	P<0,05
Fibrosis	0,24±0,43	0,26±0,44	0,18±0,38	0,32±0,47	P>0,05*

Groups compared to cisplatin group. Determined P-values of <0.05 were regarded as significant (0: no observed changes; 1: mild changes; 2: moderate changes; 3: severe changes 4: more severe changes)

Kaynakça / References: 1. Pabla, N., Dong, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney international*. 2008; 73(9), p. 994-1007. 2. dos Santos, N. A. G., Rodrigues, M. A. C., Martins, N. M., dos Santos, A. C. Cisplatin-induced nephrotoxicity and targets of nephroprotection: an update. *Archives of toxicology*, 2012; 86(8), 1233-1250. 3. Peres, L. A. B., Cunha Júnior, A. D. D. Acute nephrotoxicity of cisplatin: molecular mechanisms. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, 2013; 35(4), 332-340. 4. Trujillo, J., Chirino, Y. I., Molina-Jijón, E., Andérica-Romero, A. C., Tapia, E., Pedraza-Chaverrí, J. Renoprotective effect of the antioxidant curcumin:

Recent findings. *Redox biology*, 2013; 1(1), 448-456.

P177

Genç Ve Yaşlı Sprague-Dawley Sıçanlarda Parsiyel Hepatektomi Sonrası Melatoninin Karaciğer Rejenerasyonuna Etkisi

Olgu Enis Tok¹, Mehmet Şerif Aydın¹, Mukaddes Eşrefoğlu¹, Mustafa Iraz², Sıdıka Ayhan³, Abdurrahim Koçyiğit³

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

³Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, İstanbul

Karaciğer kendini yenileyebilen nadir organlardan biridir. Hasarı takiben S fazına giren hepatosit gençlerde %90-100 iken; yaşlılarda %30 oranındadır. Deney hayvanlarında karaciğer rejenerasyonu ile ilgili çalışmalar genellikle parsiyel hepatektomi (PH) kullanılarak yapılmaktadır. Bu çalışmanın amacı genç ve yaşlı sıçanlarda PH sonrasında hepatik yenilenme kapasitesini ve bu süreçte melatoninin etkilerini incelemektir.

Çalışmamızda genç ve yaşlı (pinealektomi yolu ile) Sprague-Dawley sıçanlarda PH' den 7 gün sonra karaciğerin morfolojik özellikleri (ağırlık ve boyut), proliferatif (PCNA) ve apoptotik (TUNEL) hücre sayısı, kök/progenitör hücrelerin (CK19+ bilier farklılaşma için, OV6+; hepatik progenitör hücre için), hepatoblastların (AFP+) hücre dağılımları ve sayıları konfokal mikroskopisi ile, doku TNF- α , TGF- β , IL-6, EGF, VEGF, HGF seviyeleri Western blot analizi ile, plazma antioksidan ve oksidan seviyeleri, kanda mononükleer lökositlerden DNA hasarı, AST, ALT ve ALP seviyeleri araştırılmıştır. PH geçirmiş genç (4 haftalık) ve pinealektomi geçirmiş yaşlı iki gruba ise 20 mg/kg/gün melatonin intraperitoneal olarak 7 gün süre ile uygulanacaktır.

Sıçanların tümünde karaciğerler kendiliğinden tamamen yenilenmiştir. Lobüler düzenleme genellikle belliydi. Bazen hepatositler hücre grupları olarak düzenlenmiştir. Karaciğer ağırlıkları, safra kanalı ve DNA hasarlı hücre sayısı ve AST, ALT, ALP, TAS, TOS seviyeleri ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. PCNA pozitif hücre sayısı genç grup ile karşılaştırıldığında genç PH ve genç PH-Melatonin gruplarında artmıştır. PCNA pozitif hücre sayısı bütün genç gruplara karşı bütün yaşlı gruplarda azalmıştır. TUNEL pozitif hücre sayısı genç ve yaşlı grup ile karşılaştırıldığında genç ve yaşlı PH grubunda artarken genç ve yaşlı PH-Melatonin gruplarında düşmüştür. OV-6 pozitif hücrelerin sayısı ve yoğunluğu genç grup ile karşılaştırıldığında genç PH grubunda artmıştır ve genç PH ile karşılaştırıldığında genç PH-Melatonin, genç ile karşılaştırıldığında yaşlı ve genç PH ile karşılaştırıldığında yaşlı PH grubunda azalmıştır. Buna ilaveten yaşlı grup ile karşılaştırıldığında yaşlı PH ve yaşlı PH-Melatonin gruplarında artmıştır. TNF- α , TGF- β , IL-6, EGF, VEGF ve HGF miktarları bütün genç gruplarına karşı bütün yaşlı gruplarında artmıştır. Bu faktörler genç ve yaşlı gruplar ile karşılaştırıldığında genç ve yaşlı PH ve PH-Melatonin gruplarında düşmüştür.

Sonuç olarak, özellikle yaşlı sıçanlarda melatoninin hepatik yenilenmede etkili olduğunu belirledik. Bu çalışma TÜBİTAK fonu tarafından desteklenmiştir (Proje numarası: 213S106).

Anahtar Kelimeler: Karaciğer yenilenmesi, melatonin, parsiyel hepatektomi, pinealektomi, yaşlı sıçan

The Effects Of Melatonin On Hepatic Regeneration After Partial Hepatectomy In Young And Aged Sprague-Dawley Rats

Olgu Enis Tok¹, Mehmet Şerif Aydın¹, Mukaddes Eşrefoğlu¹, Mustafa Iraz², Sıdıka Ayhan³, Abdurrahim Koçyiğit³

¹Department of Histology and Embryology, Medical Faculty, Bezmialem Vakif University, Istanbul, Turkey

²Department of Pharmacology, Medical Faculty, Medeniyet University, Istanbul, Turkey

³Department of Biochemistry, Medical Faculty, Bezmialem Vakif University, Istanbul, Turkey

The liver is a rare organ that actually can regenerate itself. Following an injury, ratio of hepatocytes entering S phase is 90-100% in young whereas 30% in old persons. Researches related to liver regeneration are generally designed by performing partial hepatectomy (PH). The aim of this study was to investigate hepatic regeneration capacity following PH in young and aged rats and the effects of melatonin on this process.

In our study, morphological characteristic of liver (weight and size), proliferative (PCNA) and

apoptotic (TUNEL) cell numbers, distribution and number of stem/progenitor cells (CK19+ for biliary differentiation, OV6+ for hepatic progenitor cells), hepatoblasts (AFP+) by confocal microscopy, tissue levels of TNF- α , TGF- β , IL-6, EGF, VEGF, HGF by Western blot analysis, levels of plasma oxidants and antioxidants, DNA damage levels in mononuclear leukocytes, serum levels of ALT, AST and ALP were investigated 7 days after PH in young and old (by pinealectomy) Sprague-Dawley rats. 20 mg/kg/day melatonin was administered intraperitoneally throughout 7 days to groups that PH applied young (4 weeks old) and PH and pinealectomy applied old rats.

In all of the rats livers completely regenerated themselves. Lobular arrangement was generally obvious. Sometimes hepatocytes were arranged as cell groups. No statistical difference was detected concerning liver weights, number of bile ducts and DNA-damaged cells and levels of AST, ALT, ALP, TAS, TOS among groups. PCNA positive cell numbers were increased in young PH and young PH-Melatonin groups compared to young group. PCNA positive cell numbers were decreased in all aged groups versus all young groups. While TUNEL positive cell numbers were increased in young PH and aged PH group compared to young and aged group, they were decreased in young and aged PH-Melatonin group. Number and intensity of OV-6 positive cells were increased in young PH group compared to young group and were decreased in young PH-Melatonin vs young PH, aged vs young and aged PH vs young PH groups. In addition, they were increased in aged PH and aged PH-Melatonin group compared to aged group. Amounts of TNF- α , TGF- β , IL-6, EGF, VEGF and HGF were increased in all aged groups versus all young groups. These factors were decreased in young and aged PH and PH-Melatonin groups compared to young and aged groups.

As a conclusion we suggest that melatonin is effective in hepatic regeneration; especially in aged rats.

This study was supported by the fund of TUBITAK (Project number: 213S106).

Keywords: Liver regeneration, melatonin, partial hepatectomy, pinealectomy, aged rat

Kaynakça / References: 1. Rabes H., Kinetics of hepatocellular proliferation after partial resection of the liver, *Prog. Liver Dis*, 5, 83–99, (1976). 2. Fausto N., Liver regeneration, *J Hepatol*, 32, 19–31, (2000). 3. Overturf K., al-Dhalimy M., Ou CN., ve ark., Serial transplantation reveals the stem-cell-like regenerative potential of adult mouse hepatocytes, *Am J Pathol*, 151, 1273–80, (1997). 4. Ono Y., Kawachi S., Hayashida T., Wakui M., Tanabe M., Itano O., Obara H., Shinoda M., Hibi T., Oshima G., Tani N., Mihara K., Kitagawa Y., The influence of donor age on liver regeneration and hepatic progenitor cell populations, *Surgery*, 150(2), 154-61, (2011). 5. Kuszak J., Rodin M., A new technique of pinealectomy for adult rats, *Experientia*, 33, 283–4, (1977).

P178

Kıkırdak hasarlarında geometrik şeklin iyileşmeye etkisinin histolojik olarak incelenmesi

Savaş Serel¹, Şule Kızıllı², Hilal Göktürk³, Cem Çerkez¹, Servet Elçin Alpat¹, Polat Yiğit¹, Belgin Can²
¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Kıkırdak dokusu, fazla miktarda yoğun ve tekrarlayıcı stresi tolere edebilen fakat en küçük hasarlarda bile belirgin şekilde iyileşme yetersizliği gösteren bir dokudur. Bu hasara yanıtızlık kıkırdağın avasküler olmasına, kondrositlerin hareketsizliğine ve olgun kondrositlerin sınırlı çoğalma yeteneğine bağlıdır. Plastik cerrahi uzmanları, kontrollü olarak ya da doğrudan kıkırdak doku hasarı oluşturmaktadır. Bu çalışmada çeşitli geometrik şekillerdeki hasarların, kıkırdak dokusunun iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 12 adet Yeni Zelanda ırkı tavşan dört gruba ayrıldı. Kare, dikdörtgen, yuvarlak ve fuziform şekilli kıkırdak hasarları her iki kulaklarına da 1 cm² alanda perikondriumlarına zarar vermeden uygulandı. Sol kulaktan alınan kıkırdak örnekleri rutin tespit, takip ve boyama işlemlerinden geçirilerek gruplararası yapılacak puanlandırmalarda temel alınmak üzere hazırlandı. Sağ kulaktan alınan kıkırdak, kontrol grubu olarak kullanılmaları amacıyla, aynı cerrahi işlem sırasında yerine geri konularak kapatıldı. Cerrahi işlemlerden 4 ay sonra sakrifiye edilen tavşanların sağ kulaklarında yerine iade edilen kıkırdak şekilleri ve sol kulaklarında hasarlı bölgeden alınan örnekler histolojik olarak değerlendirildi. Gruplar arasında kıkırdak doku üretimi ve kondrosit organizasyonu, kondrositlerde vakuolizasyon, kıkırdak dokunun büyüme oranı, kollajen sentezi, proteoglikan içeriği, lökosit invazyonu/inflamasyon varlığı, damarlanma ve bölgesel kanama odakları varlığı ile periferik ve perikondriyal proliferasyon kriterleri değerlendirilip 0 ile 4 puan arasında puanlandırılarak elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Kondrosit üretimi açısından değerlendirildiğinde her dört kesim şeklinde de sağ kulağa uygulanan prosedürün kondrosit üretimini arttırdığı gözlemlendi ancak istatistiksel fark anlamlı bulunmadı. Sol gruptaki büyüme oranının diğer iki gruba göre anlamlı olduğu görüldü ve grup içerisindeki geometrik şekil farklılıkları kendi içerisinde karşılaştırıldığında en anlamlı değişim oranının yuvarlak şekilli grupta olduğu saptandı (p=0.05). İlk gün alınan ve 4. ayda alınan kıkırdak örnekleri arasında iyileşme oranı bakımından defekt şeklinden bağımsız olarak anlamlı fark saptandı (p=0.01). Değerlendirilen diğer parametreler açısından puanlandırma farkları olsa da istatistiksel olarak bu farklar anlamlı bulunmadı.

Tüm bu veriler değerlendirildiğinde, defekt şeklinden bağımsız olarak kıkırdağın hasar bölgelerinde tamamen çıkarılması yerine sağ kulağa uygulanan prosedür benzeri greft uygulanmasının; kondrosit üretimi, kollajen sentezi, proteoglikan miktarı ve periferik proliferasyon gibi kıkırdak sentez ve büyümesinde etkili parametrelerde olumlu etkisi olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Kıkırdak hasar şekli, kıkırdak iyileşmesi, kondrosit üretimi

Investigating the effect of geometric shape on healing of cartilage defects by using histological techniques

Savaş Serel¹, Şule Kızıllı², Hilal Göktürk³, Cem Çerkez¹, Servet Elçin Alpat¹, Polat Yiğit¹, Belgin Can²

¹Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Ankara University, Ankara, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Ankara University, Ankara, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Yıldırım Beyazıt University, Ankara, Turkey

Cartilage tissue can tolerate excessive and repeating stress but if it has been damaged even at small areas it has a significant failure at recovery. This failure depends on being avascular, immobile chondrocytes and inefficiency at the proliferation of mature chondrocytes. Cartilage is unique for its predominantly anaerobic metabolism with missing blood vessels; thereby, slow turnover and low viability after defect healing. Cartilage reconstruction-related procedures are very common in plastic surgery. Since it is possible to control the shape of the defect in surgery, we aimed to investigate the effect of defect shape on cartilage healing in animal models.

Twelve New Zealand rabbits were separated into four groups in this study. Square, rectangle,

spheric and fusiform-shaped cartilage defects were applied to both ears with 1 cm² geometric templates by completely elevating cartilage tissue without damaging opposite perichondrium. Tissues taken from left ear were prepared by routine histological techniques to be a base for the scoring. Removed cartilage was sutured back to the right ear to be used as control. Samples taken at the first and fourth months after defect formation were histologically compared. Chondrocyte production, chondrocyte organization, vacuolization at chondrocytes, growth rate, collagen synthesis, proteoglycan amount, leukocyte invasion, inflammation, vascularisation and focal bleeding were scored between 0 to 4, and statistically analyzed by repeated measures analysis of variance.

The results indicated higher but not statistically different scores in the right ears for cartilage synthesis-related parameters like chondrocyte production. Dermal growth rate in spheric-shaped defect in the left ear was found to be statistically significant ($p=0.05$). There was a statistically significant difference between initial and final cartilage healing independent of the defect shape ($p=0.01$). Other histological comparisons indicated no significant effect of geometric shape in cartilage healing.

Evaluation of these results showed that using grafts with a similar procedure applied on right ears will be better for chondrocyte proliferation, collagen synthesis, peripheral proliferation and healing instead of lack of total cartilage tissue independent of their shape. But insignificant statistical results make us think to ameliorate the experimental setup.

Keywords: Shape of cartilage defects, healing cartilage, chondrocyte proliferation

P179

DeneySEL Fasial Sinir Yaralanmasından Sonra Anastomoz ve Agmatin Tedavisinin Sinir Rejenerasyonuna Etkileri

Leman Sencar¹, Özgür Sürmelioğlu², Süleyman Özdemir², Tuğçe Sapmaz¹, Dilek Şaker¹, Sait Polat¹

¹Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Adana

²Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Adana

Klinikte sık görülen fasial sinir yaralanmaları yüz felçlerinin en önemli nedenidir. Bu yaralanmalar baş ve boyun travmaları, timpanoplasti, parotis cerrahisi gibi travmalar nedeniyle ortaya çıkabilmekte, fonksiyon kayıpları ve estetik problemlerle sonuçlanmaktadır. Bir aminoguanidin molekülü olan agmatinin sinir yaralanmalarının tedavisinde etkili olabileceği birkaç çalışmada vurgulanmıştır. Bununla birlikte agmatinin fasial sinir rejenerasyonu üzerine etkileri hala aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada sıçanlarda fasial sinir yaralanmasından sonra agmatinin sinir rejenerasyonu üzerine etkilerinin ışık ve elektron mikroskopik düzeyde araştırılması amaçlanmıştır. 30 adet Wistar cinsi sıçan; sağlam grup, sham grubu, fasial sinir yaralanması yapılan deney kontrol grubu, yaralanma sonrası anastomoz yapılan grup ve anastomoz+agmatin tedavisi uygulanan grup olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Tüm gruplardan alınan doku örneklerinde karşılaştırmalı olarak miyelinli akson sayımları, akson çapı ölçümleri ve ultrastrüktürel değerlendirmeler yapılmıştır. Elektron mikroskopik incelemelerde, deney kontrol grubunda miyelinli sinir liflerinde aksoplazmadaki organellerde ve miyelin kılıf lamellar yapısında dejeneratif değişiklikler izlendi. Anastomoz grubunda birçok miyelinli aksonda dejenerasyon izlenmekle birlikte, dejeneratif alanların deney kontrole göre azalmış olduğu görüldü. Agmatin uygulanan grupta, fokal miyelin kılıf harabiyeti, organellerde hafif yapısal değişiklikler izlenmekle birlikte deney kontrol ve anastomoz grubuna göre akson yapılarının çoğunlukla korunmuş olduğu dikkati çekti. Ayrıca agmatin grubunda akson çaplarının ve sayılarının deney kontrol ve anastomoz gruplarına oranla anlamlı olarak arttığı görüldü.

Fasial sinir kesisinden sonra uygulanan agmatin sülfat tedavisinin akson çaplarında ve sayılarında artışa neden olarak rejenerasyonu uyardığı düşünüldü. Bu sebeple agmatinin fasial sinir yaralanmalarından sonra akson rejenerasyonu üzerine etkili bir ajan olabileceği, bununla birlikte bu etkilerinin ileri moleküler çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: agmatin, fasial sinir, rejenerasyon, ultrastrüktür

Effects of anastomosis and agmatine therapy on nerve regeneration following experimental facial nerve injury

Leman Sencar¹, Özgür Sürmelioğlu², Süleyman Özdemir², Tuğçe Sapmaz¹, Dilek Şaker¹, Sait Polat¹

¹Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Adana

²Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Otorhinolaryngology, Adana

Facial nerve injury is the most significant cause of facial paralysis. It can occur because of head and neck traumas, tympanoplasty, tympanomastoidectomy, parotid surgery and result in functional loss and aesthetic issues. Agmatine has been found to be effective in treatment of nerve injuries in some reports. But effects of agmatine on facial nerve is still unclear. The aim of this study was to evaluate the effects of agmatine on nerve regeneration after facial nerve injury at light and electron microscopic level.

Thirty Wistar rats were divided into five group composed of intact group, sham group, control group that was exposed facial nerve injury, anastomosis subjected group and anastomosis+agmatine therapy group following injury. Tissue samples were obtained, number and diameter of axons were measured and ultrastructural analysis were performed.

Degenerative changes were observed in myelin sheaths and organelles in axoplasm in electron microscopic examinations of control group. Although there were degenerative changes in many myelinated nerve fibers, it was seen that degenerative areas reduced when compared with control. In agmatine group focal myeline sheath destruction, mild structural changes were observed. However when compared the control and anastomosis group it drew attention that axonal structures were mostly preserved. Also number and diameter of axons significantly increased in agmatine group.

It was thought that agmatine induced regeneration via enhancing axon numbers and diameters. It was considered that agmatine can be an effective agent on axonal regeneration following facial nerve injury however these effects of agmatine should be supported with further studies.

Keywords: agmatine, facial nerve, regeneration, ultrastructure

Kaynakça / References: 1.Faria SD, Testa JR, Borin A, Toledo RN. Standardization of techniques used in facial nerve section and facial movement evaluation in rats. *Braz J Otorhinolaryngol* 2006; 72:341–347. 2. Kadakia S, Helman S, Saman M, Cooch N. Concepts in Neural Coaptation: Using the Facial Nerve as a Paradigm in Understanding Principles Surrounding Nerve Injury and Repair. *Journal of Craniofacial Surgery*: June 2015, Volume 26, Issue 4 - p 1304–130. 3. Fairbanks CA, Schreiber KL, Brewer KL, Yu C-G, Stone LS, Kitto KF, Nguyen HO, et al. Agmatine reverses pain induced by inflammation, neuropathy, and spinal cord injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10584–10589. 4. Stefano ME, Toni F, D’Orazi V, Ortensi A, Tata AM. Therapeutic approaches enhancing peripheral nerve regeneration. *Advances in Bioscience and Biotechnology* Vol.4 No.6A, 2013.

P180

Titanyum Dioksit Nanopartiküllerin YAC-1 Lenfoma Hücre Soyu Üzerine Etkileri

Tuğba Kotil, Aslı Erdoğan, Hasan Serdar Mutlu, Sibel Doğan, Seyhun Solakoğlu
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Yaygın kullanım alanları olan nanopartiküller (NP) kanser terapisinde tek başlarına ya da çeşitli antikanser ilaçları ile birlikte kullanılmaktadır. Antitümorale etki mekanizmaları, reaktif oksijen türevlerinin üretimi, apoptoz ya da nekroz yolu ile olabilir. Farklı metal oksit NP'lerinin normal hücrelerde herhangi bir etki göstermezken kanser hücrelerinde sitotoksititeyi uyardığını göstermiştir (1). Çalışmamızın amacı oldukça geniş kullanım alanı olan titanyum dioksit nanopartiküllerinin (TiO₂-NP) YAC-1 lenfoma hücre soyu üzerindeki olası sitotoksik etkilerini araştırmaktır.

YAC-1 lenfoma hücreleri 75cm²'lik kültür flasklarında DMEM medyumunu ile süspansiyon halde kültüre edilerek 37°C etüvde %5CO₂ ortamında inkübe edildi. Hücreler 24'lük wellplatelere mililitrede 100.000 hücre olacak şekilde eklendi. TiO₂-NP iki farklı konsantrasyonda (0.1mg/ml ve 0.5mg/ml) deney grubuna ait kuyucuklara eklendi. 24 ve 48 saat sonrası hücreler toplanarak canlılık, TUNEL immunoassay, elektron mikroskop çalışması için hazırlandı. Canlılık çalışması için hücreler santrifüj edilerek sayım yapıldı. Toplanan hücreler pozitif şarjlı lam üzerine yayma preparat olarak hazırlandı. %70 etanol ile 10 dakika tespit edildi ve havada kurutuldu. DNA hasarına bağlı apoptozu göstermek amacı ile TUNEL boyası yapıldı. Elektron mikroskopik çalışma için hücreler santrifüj edildi, pellet halindeki hücreler %2.5'lik gluteraldehit ile 1 saat tespit edildi. Rutin elektron mikroskopi takibi ile epon rezine gömüldü. Alınan ince kesitler Jem Jeol 1011 geçirimsiz elektron mikroskobu ile incelendi. İstatistiksel analiz SPSS programıyla Tukey – Kramer çoklu karşılaştırma testi ile yapıldı.

24. saatte kontrol ve 0,1 mg/ml grubu arasında proliferasyon indeksinde fark bulunmazken ($p>0,05$) kontrol ve 0,5mg/ml grubu arasında anlamlı fark ($p<0,05$) görüldü. 48. saatte, kontrol grubu ile 0.1 ve 0.5 mg/ml'lik gruplar arasında proliferasyon indeksindeki düşüş çok yüksek seviyede anlamlı ($p<0,001$) görüldü. Her iki deney grubu arasında hem 24. saatte hem de 48. saatte istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p>0,05$) görülmedi (Grafik 1). TUNEL analizinde reaksiyona dair boyanma görülmedi. Ayrıca nanopartiküllerin hücre içerisindeki birikimleri ince yapısal seviyede incelendi.

TiO₂-NP'leri hücreye özgün toksite gösterir. 3T3 fibroblast hücrelerinde sitotoksik etki göstermezken JHU ve LLC karsinom hücrelerinde 10mg/ml konsantrasyonda %50 ve %75 oranında ölüme sebep olduğu bildirilmiştir (2). İnsan monoblastoid hücrelerinde TiO₂-NP'lerinin yüksek konsantrasyonlarda 24. ve düşük konsantrasyonlarda 48. saatte nekrozu tetiklediği bildirilmiştir (3). Çalışmamızda kullanılan düşük konsantrasyonlarının özellikle 48. saatte hücre canlılığı üzerinde etkisi birçok çalışma ile uyumludur. TiO₂-NP'lerinin fibrosarkom hücreleri üzerinde Bax/Bak aracılı apoptotik yolağa bağlı olmayarak hücre ölümünü tetiklediğini bildirmiştir (4). TiO₂-NP'leri günlük hayatımızda yaygın olarak kullanılmakta ve çevremizi ve bizi dolaylı ve doğrudan etkilemektedir. Lenfoma hücreleri üzerinde çalışmamızda hücre düzeyinde toksik etki gösteren düşük dozların hücre döngüsü üzerindeki etkilerini hangi mekanizma ile gerçekleştirdiği yeni çalışmalarla aydınlatılması gereken bir soru olarak kabul edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Titanyum dioksit, nanopartikül, YAC-1 lenfoma hücresi, toksite, elektron mikroskopi

Effects of Titanium Dioxide on YAC-1 Lymphoma Cell Line

Tuğba Kotil, Aslı Erdoğan, Hasan Serdar Mutlu, Sibel Doğan, Seyhun Solakoğlu
Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology

Nanoparticles can be used in cancer therapy alone or in combination with different anticancer drugs. Antitumoral mechanism may occur through the generation of reactive oxygen species, apoptosis and necrosis. Different metal oxide nanoparticles induce cytotoxicity in cancer cells but not in normal cells (1). In our study we investigated the cytotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂-NPs) on YAC-1 lymphoma cell line.

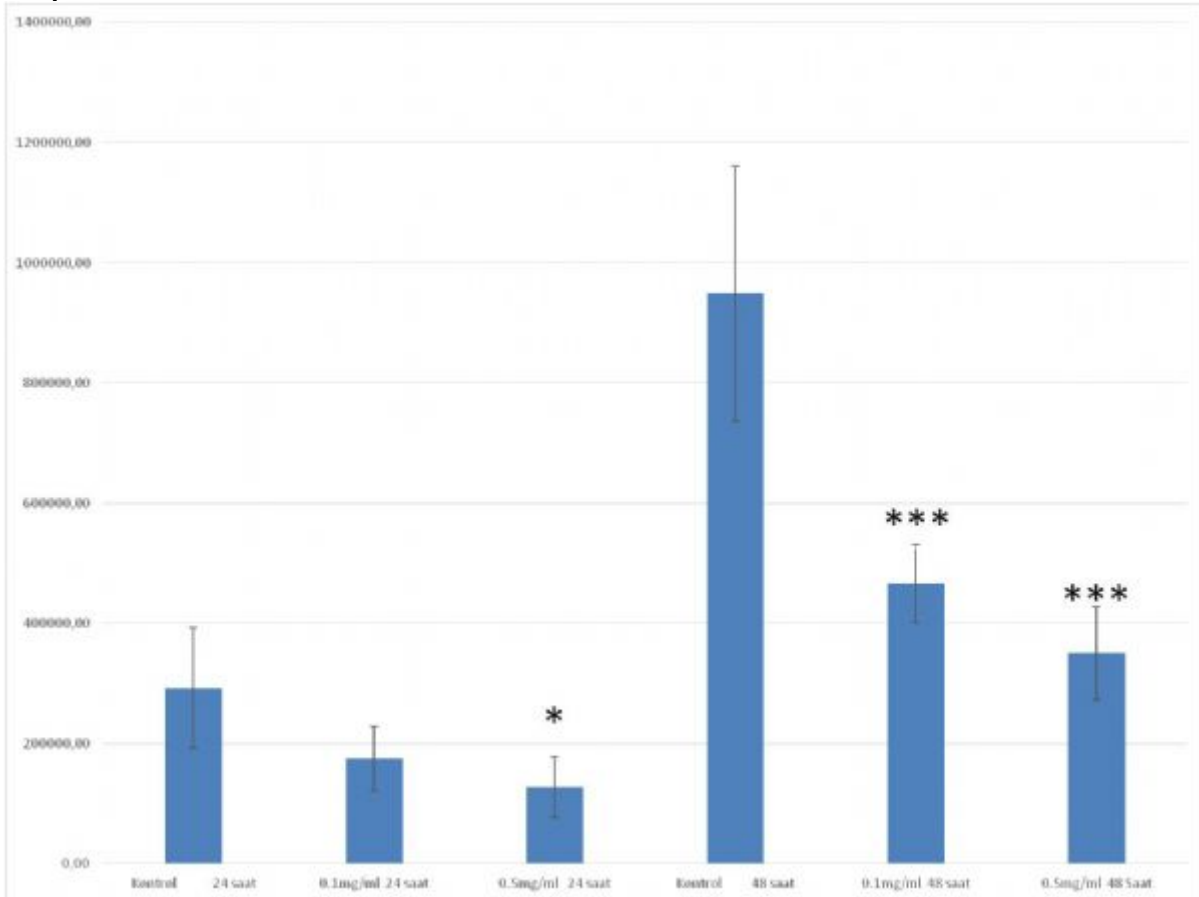
YAC-1 lymphoma cells were cultured at 37°C under 5% CO₂ in DMEM medium. Cells (100.000

cell/ml) were seeded in 24 well plates. 0.1mg/ml and 0.5mg/ml concentrations of TiO₂-NPs were added into medium of experimental groups. Cells were evaluated by vitality test, TUNEL immunoassay and electron microscopy after 24 and 48 hours. Cells were centrifuged and counted with haemocytometer for vitality. Cell smears fixed with 70% ethanol, dried on air. TUNEL assay was performed for determination of DNA damage. Cells were fixed with 2,5% glutaraldehyde, embedded in epon resin. Thin sections were evaluated via Jeol Jem 1011 transmission electron microscopy. Tukey-Kramer multiple comparison test with SPSS was applied for statistical analysis. At 24th hour, there was no significant difference ($p>0,05$) in proliferation indexes between control and 0,1 mg/ml groups while significant difference ($p<0,05$) was seen between control and 0,5mg/ml groups. At 48th hour, decrease of proliferation index between 0,1 mg/ml and 0,5mg/ml groups was statistically highly significant ($p<0,001$). The difference was nor statistically significant between two experimental groups both at 24th and 48th hours ($p>0,05$) (Graphic1). As a result of TUNEL analysis no staining was detected. Intracellular accumulation of nanoparticles was investigated ultrastructurally with TEM.

TiO₂-NPs show cell specific toxicity. They did not show cytotoxicity on 3T3 cells but caused cell death on JHU and LLC carcinoma cells at 10mg/ml concentration in the ratio of 50% and 75% (2). It was reported that TiO₂-NPs trigger necrosis in human monoblastoid cells at high concentrations at 24th hour and at low concentrations at 48th hour (3). In our study the effects of low concentrations of TiO₂-NPs on cell viability especially at 48th hour is consistent with other studies. It was stated that TiO₂-NPs trigger cell death on fibrosarcoma cells independent of Bax/Bak mediated apoptosis pathway (4). TiO₂-NPs are used widely in daily life and they effect directly or indirectly humans and environment. In our study on lymphoma cells, low doses of TiO₂-NPs showed toxic effects at cellular level. Further studies are needed to identify the mechanisms are involved in this process.

Keywords: Titanium dioxide, nanoparticles, YAC-1 lymphoma cell, toxicity, electron microscopy

Grafik 1
Graphic 1



*: $p<0.05$, 24 saat kontrol ve 24 saat 0.5mg/ml arasında anlamlı fark; ***: $p<0.001$, 48 saat kontrol ve 48 saat deney grupları (0.1mg/ml, 0.5mg/ml) arasında yüksek seviyede anlamlı fark
*: $p<0.05$, significant difference between 24 hour control group versus 24 hour 0.5mg/ml group;

***: $p < 0.001$, high significant difference between 48 hour control vesus 48 hour experimental groups (0.1mg/ml, 0.5mg/ml)

Kaynakça / References: 1- Vinardell, M. P., Mitjans, M. (2015). Antitumor activities of metal oxide nanoparticles. *Nanomaterials*, 5: 1004-1021. 2- Thevenot, P., Cho, J., Wavhal, D., Timmons, R. B., Tang, L. (2008). Surface chemistry influence cancer killing effect of TiO₂ nanoparticles. *Nanomedicine*, 4(3): 226-236. 3- Vamanu, C. I., Cimpan, M. R., Hol, P. J., Sornes, S., Lie, S. A., Gjerdet, N. R. (2008) Induction of cell death by TiO₂ nanoparticles: Studies on a human monoblastoid cell line. *Toxicology in Vitro*, 22: 1689-1896. 4- Zhu, Y., Eaton, J. W., Li, C. (2012). Titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles preferentially induce cell death in transformed cell in a Bak/Bax- independent fashion. *PLoS ONE*, 7(11): 1-11.

P181

Ratlarda Doksorubisin Karditoksisitesinde Taurinin Koruyucu Etkisi

Veysel Barış¹, Esra Gedikli², Nilgün Yersal³, Davut Singer¹, Sevda Müftüoğlu³, Ersin Fadıllıoğlu², Ayşen Erdem²

¹Ankara Üniversitesi, Kardiyoloji, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi, Fizyoloji, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji, Ankara

GİRİŞ-AMAÇ: Doksorubisin [DOX], kardiyomiyopatiye neden olan antineoplastik bir ajandır. Doksorubisinin kardiyotoksik etkisi kullanımını sınırlar. Taurin [TAU], kalpte yüksek konsantrasyonda bulunan bir aminoasittir ve antioksidan etkilere sahiptir. Çalışmanın amacı doksorubisin ile oluşturulan akut kardiyotoksisitede taurinin koruyucu etkisini değerlendirmektir. **GEREÇ-YÖNTEM:** Çalışmada Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı. Kontrol grubunda [n=7] 1serum fizyolojik 14 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulandı. TAU grubunda [n=8] taurin 150mg/kg/gün olacak şekilde 14 gün boyunca, DOX grubunda 12, 13, 14. günlerde doksorubisin toplam doz 25mg/kg olacak şekilde uygulandı. DOX +TAU grubunda ise doksorubisin 12, 13 ve 14. günlerde toplam doz 25mg/kg olacak şekilde ve taurin 14 gün boyunca 150mg/kg/gün olacak şekilde uygulandı. Sol ventriküler fonksiyonlar M-mod, pulse doppler ve doku doppler kullanılarak değerlendirildi. Ayrıca kalp dokularında histopatolojik değerlendirmeler yapıldı. **SONUÇLAR:** Doksorubisin sol ventriküler fonksiyonlarda bozulmaya [p<0.05] ve miyofibril kaybına, vakuloar dejenerasyona, fibroblast aktivasyonuna, infiltratif hücre artışına ve kardiyomiyosit çaplarında azalmaya [p<0.05] neden oldu. Taurin sol ventriküler sistolik fonksiyonunu önemli bir şekilde düzeltti ve kardiyomiyositlerde görülen dejeneratif değişiklikleri azalttı. **TARTIŞMA:** Sonuçlar doksorubisinin önemli derecede sol ventrikül fonksiyonlarında bozulmaya ve kardiyomiyositlerde dejeneratif değişikliklere neden olduğunu gösterdi. Taurin bu değişikliklerde önemli düzelmeler sağladı. Bu çalışma ile taurinin doksorubisin karditoksisitesinde koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceği gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, kardiyotoksik, taurin, ekokardiyografi, histopatoloji

Cardioprotective effect of taurine against doxorubicin cardiotoxicity in rats

Veysel Barış¹, Esra Gedikli², Nilgün Yersal³, Davut Singer¹, Sevda Müftüoğlu³, Ersin Fadıllıoğlu², Ayşen Erdem²

¹Ankara University, Department of Cardiology, Ankara, Turkey

²Hacettepe University, Department of Physiology, Ankara, Turkey

³Hacettepe University, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

INTRODUCTION: Doxorubicin [DOX] is an antineoplastic agent which can cause cardiomyopathy. This adverse cardiotoxic effect limits its use. Taurine [TAU] is an aminoacid which is found in high concentrations in heart muscle. It shows antioxidant activity. We aimed to evaluate protective effects of taurine against acute doxorubicin cardiotoxicity.

MATERIALS AND METHOD: Sprague dawley rats were used. Control group has received saline solution for 14 days intraperitoneally. Taurine group has received 150mg /kg taurine per day for 14 days intraperitoneally. Doxorubicin group is given 25 mg/kg doxorubicin on day 12,13 and 14. Doxorubicin and taurine group has received doxorubicin and taurine at the same dose. On the 15th day, rats underwent M mode pulse doppler and tissue doppler echocardiography to evaluate left ventricular functions after anesthesia. Then heart tissues were excised to evaluate histopathological findings.

RESULTS: Left ventricular functions were deteriorated in doxorubicin group [p<0.05]. Cardiomyocytes that exposed to doxorubicin showed myofibrille loss, vacuolar degeneration, fibroblast activation, infiltrative cell proliferation and decreased diameter [p<0.05]. Taurine significantly improved left ventricular systolic functions and reduced degenerative changes, infiltrative cell proliferation and fibroblast activation.

CONCLUSION: Our results showed that doxorubicin causeb significant deterioration in cardiomyocyte morphology and left ventricular functions. Taurine treatment improved left ventricular functions and partially protected histopathologic changes. The present study provided

evidence that taurine has cardioprotective effects against doxorubicin cardiotoxicity.

Keywords: Doxorubicin, cardiotoxic, taurine, echocardiography, histopathology

Kaynakça / References: [1] Kanu Chatterjee, Jianqing Zhang, Norman Honbo, Joel S. Karliner, Doxorubicin Cardiomyopathy, *Cardiology*, 115: 155–162, 2010 [2] Jaroslaw Dudka, Renata Gieroba, Agnieszka Korga, Franciszek Burdan, Włodzimierz Matysiak, Barbara Jodłowska-Jedrych, Sławomir Mandziuk, Elżbieta Korobowicz, Marek Murias, Different Effects of Resveratrol on Dose-Related Doxorubicin-Induced Heart and Liver Toxicity, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 606183, 10 pages, 2012

P182

Kabazitaksel doza bağımlı olarak karaciğer toksisitesine neden oluyor

Taner Ziya Özkeçeci¹, Afra Karavelioğlu², Yasemin Yüksel³, Esra Aslan⁴, Özgür Türk⁵, Ahmet Bal¹, Kamil Tünay⁶, Yusuf Gülsari⁷, Mustafa Özsoy¹

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Cerrahi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

³Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, IVF Laboratuvarı, Ankara

⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

⁵Genel Cerrahi, Sivrihisar Devlet Hastanesi, Eskişehir

⁶Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

⁷Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

GİRİŞ-AMAÇ: Karaciğer kemoterapiyi takiben en çok etkilenen organlardan birisidir. Kemoterapötik ilaçlar hepatotoksisite gibi ciddi yan etkilere neden olabilmektedir ve bu tarz komplikasyonlar uygulanan kemoterapötik ajanın dozuna bağlı olarak değişebilmektedir (1). Kabazitaksel, yeni jenerasyon taksan grubuna ait yarı sentetik bir ilaçtır. Kabazitaksel %80-90 gibi yüksek bir oranda karaciğerde metabolize edilir (2). Kan beyin bariyerini geçebilme özelliğiyle birlikte (3) prostat, meme, akciğer, kolon, servikal ve endometrial kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır (4,5,6,7,8). Kabazitaksel hakkında literatürde çok az çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, kabazitakselin farklı dozlarının verildiği ratlarda karaciğerde meydana gelen histopatolojik ve apoptotik değişiklikleri incelemektir.

MATERYAL-METOD: Çalışmada 30 adet Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar rastgele 4 gruba ayrıldı. Grup 1 (n= 6): Kontrol grubu, intraperitoneal salin enjekte edildi. Grup 2 (n= 8): Kabazitaksel (Jevtana, Sanofi-Aventis, ABD) intraperitoneal 0.5 mg/kg/hafta uygulandı. Grup 3 (n= 8): 1 mg/kg/hafta kabazitaksel intraperitoneal uygulandı. Grup 4 (n= 8): 1,5 mg/kg/hafta kabazitaksel intraperitoneal uygulandı. Kabazitaksel uygulamaları 4 hafta boyunca devam etti. Çalışmanın sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edilerek karaciğer dokuları histopatolojik inceleme amacıyla çıkarıldı.

BULGULAR: Karaciğerin hematoksilin-eosin boyama sonrası histopatolojik değerlendirmesinde, hepatosit yapılarında bozulma izlendi. En ciddi değişiklik Grup 4'te izlenirken, hepatosit yapısında bozulma Grup 3'te Grup 2'den daha belirgindi. Dolayısıyla kabazitaksel, infiltratif hücre göçünde artışa neden oldu. Grup 1'den Grup 4'e doğru gidildikçe, Kupffer hücre sayısında artma ve sinüzoidal alanda infiltrasyon gözlemlendi. Özellikle Grup 2 ile karşılaştırıldığında Grup 3 ve 4'te, bu bulgularda belirgin artış ve multinükleer dev hücre oluşumu izlendi. Uygulanan kabazitaksel dozu artırıldıkça sinüzoidal bölgede konjesyonda artış tespit edildi. Bax, Bcl-2 ve kaspaz-3'ün immünohistokimyasal incelemelerinde, kabazitakselin Bax ve kaspaz-3 ekspresyonlarında artışa ve Bcl-2 ekspresyonunda azalmaya neden olduğu görüldü. Bax ve kaspaz-3 ekspresyonlarında en fazla artışın, en yüksek dozda kabazitaksel uygulanan Grup 4'te olduğu görüldü. Bax ekspresyonu Grup 1 ve Grup 2 arasında anlamlı bir farklılık göstermezken, Grup 3 ve Grup 4 arasında anlamlı farklılık izlendi. Kaspaz-3 ekspresyonları Grup 1'den Grup 4'e doğru gidildikçe artış göstermekle birlikte; tüm gruplar arasında anlamlı farklılıklar gösterdi. Antiapoptotik Bcl-2 proteini Grup 1'den Grup 4'e doğru gidildikçe anlamlı olarak azaldı.

SONUÇ: Kabazitaksel, doz bağımlı olarak hepatosit yapısında belirgin şekilde hasara neden oldu. Bununla birlikte, uygulanan kabazitakselin dozu artırıldıkça inflamatuvar hücre göçünde ve sinüzoidal alanda konjesyonda belirgin artma izlendi. Ayrıca uygulanan kabazitaksel dozu artırıldıkça proapoptotik protein Bax ekspresyonunu, apoptozun irreversibl basamağı olan kaspaz-3'ü artırarak, antiapoptotik Bcl-2 ekspresyonunu azaltarak karaciğer hücrelerinde apoptozu tetiklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Kabazitaksel, hepatotoksisite, karaciğer, rat

Cabazitaxel Causes a Dose-dependent Liver Toxicity in Rats

Taner Ziya Özkeçeci¹, Afra Karavelioğlu², Yasemin Yüksel³, Esra Aslan⁴, Özgür Türk⁵, Ahmet Bal¹,

Kamil Tünay⁶, Yusuf Gülsari⁷, Mustafa Özsoy¹

¹Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Surgery, Afyonkarahisar

³Zekai Tahir Burak Women Health Training and Research Hospital, IVF Laboratory, Ankara

⁴Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Afyonkarahisar

⁵General Surgery, Sivrihisar State Hospital, Eskişehir

⁶Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Department of Emergency Medicine, Afyonkarahisar

⁷Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Afyonkarahisar,

BACKGROUND and AIM: Liver is one of the most affected organs following chemotherapy. Chemotherapeutic drugs can cause to serious side effects such as hepatotoxicity associated with the dose of administered chemotherapeutic (1). Cabazitaxel is a next generation semi-synthetic drug, a member of taxane group. Cabazitaxel is largely metabolized in liver tissue with the range from 80% to 90% (2). Cabazitaxel can pass through the blood brain barrier (3) and is used in the treatments of advanced prostate, breast, lung, cervical, endometrial and colorectal cancers (4,5,6,7,8). The aim of this study was to investigate the histopathological and apoptotic changes on liver tissue caused by cabazitaxel at different doses.

MATERIALS-METHODS: A total of 30 adult male Wistar-Albino rats were randomly divided into four groups as follows: Controls (Group 1, n= 6) received only intraperitoneally saline injection. Cabazitaxel (Jevtana, Sanofi-Aventis, USA) was intraperitoneally administered to Group 2 (n= 8), Group 3 (n= 8) and Group 4 (n= 8) at 0.5 mg/kg/week, 1 mg/kg/week, 1.5 mg/kg/week doses for four weeks, respectively. At the end of the study, animals were sacrificed and liver tissue samples were removed for histopathological findings and immunohistochemical evaluation of Bax, Bcl-2 and caspase-3 proteins.

RESULTS: In histopathological evaluation, deterioration of hepatocytes was more prominent in group 3 compared to group 2 and the most excessive changes were detected in group 4. Considerable increase in kupffer cells and sinusoidal infiltration were determined from group 1 to group 4 respectively. Especially, in group 3 and group 4 the number of the kupffer cells and sinusoidal infiltration were greatly higher than group 1 and group 2 and multinuclear giant cell formation was observed especially in group 3 and 4. Likewise, increase in sinusoidal congestion was observed from group 1 to group 4. There were evident increases in Bax and caspase-3 expressions and also decrease in Bcl-2 expression depending on the increase of the dose of cabazitaxel administration. There was no statistically significant difference between Group 1 and 2 and also Group 3 and 4 by means Bax expression levels, but statistically significant difference was detected between Group 1 and 2 compared to groups 3 and 4 with regard to Bcl-2 and caspase-3 expressions.

CONCLUSION: Cabazitaxel caused deterioration in the structure of the hepatocytes, inflammatory cell migration and sinusoidal congestion depending on the application dose of cabazitaxel in liver tissue and in addition, triggered apoptosis especially at higher doses.

Keywords: Cabazitaxel, hepatotoxicity, liver, rat

Kaynakça / References: 1. Bahirwani R, Reddy KR. Drug-induced liver injury due to cancer chemotherapeutic agents. *Semin Liver Dis.* 2014;34(2):162-71. 2. Joerger M. Metabolism of the taxanes including nab-paclitaxel. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2015;11(5):691-702. 3. Pal SK, Twardowski P, Sartor O. Critical appraisal of cabazitaxel in the management of advanced prostate cancer. *Clin Interv Aging.* 2010;5:395-402. 4. Nightingale G, Ryu J. Cabazitaxel (jevtana): a novel agent for metastatic castration-resistant prostate cancer. *P t.* 2012;37(8):440-8. 5. Pal SK, Twardowski P, Sartor O. Critical appraisal of cabazitaxel in the management of advanced prostate cancer. *Clin Interv Aging.* 2010;5:395-402. 6. Dieras V, Lortholary A, Laurence V, et al. Cabazitaxel in patients with advanced solid tumours: results of a Phase I and pharmacokinetic study. *Eur J Cancer.* 2013;49(1):25-34. 7. Mita AC, Denis LJ, Rowinsky EK, et al. Phase I and pharmacokinetic study of XRP6258 (RPR 116258A), a novel taxane, administered as a 1-hour infusion every 3 weeks in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2009;15(2):723-30. 8. Pivot X, Koralewski P, Hidalgo JL, et al. A multicenter phase II study of XRP6258 administered as a 1-h i.v. infusion every 3 weeks in taxane-resistant metastatic breast cancer patients. *Ann Oncol.* 2008;19(9):1547-52.

P183

Streptozotocin ile İndüklenmiş Diyabetik Farelerde Sunitinib ile Notch Yolağı'nın Baskılanması Karaciğer Hasarını Engeller

Eda Açıkgöz¹, Hüseyin Aktuğ², Gürkan Yiğittürk², Kenan Demir², Ümmü Güven³, Fahriye Düzağaç³, Hadi Rouhrazı⁴, Fatih Oltulu², Altuğ Yavaşoğlu², Gülperi Öktem²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van

²Ege Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

³Ege Üniversitesi, Kök Hücre Anabilim Dalı, İzmir

⁴Ege Üniversitesi, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir

GİRİŞ: Sunitinib vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) oral bir inhibitörüdür ve çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılır (1,2). Sunitinib'in diyabet üzerindeki etkisi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (3,4). Notch sinyali karaciğer dokusu gelişimi ve homeostazının dışında karaciğerde gözlenen patolojilere bağlı olarak gelişen fonksiyon bozukluklarında da önemli rol oynar (5). Çalışmamızın amacı fare modelinde Streptozotocin (STZ) tarafından indüklenmiş diyabetik karaciğer üzerinde Sunitinib' in etkisini incelemektir.

MATERYAL-METOD: Deneyde 28 erkek CD-1 fare kullanılmış ve 21 tanesinde deneysel diabetes mellitus (DM) modeli oluşturulmuştur. Fareler kontrol grubu (C), sunitinib ile tedavi edilen kontrol grubu (C + S), diyabet grubu (DM), sunitinib ile tedavi edilen diyabet grubu (DM +S) olmak üzere (n=7) 4 gruba ayrılmıştır. Histokimyasal ve immünohistokimyasal analizler yapılarak, karaciğerdeki diyabetten kaynaklanan histopatolojik değişiklikler gözlemlenmiştir.

SONUÇLAR: DM grubunda artmış oranda eozinofilik granüller gözlemlenen karaciğer daha çok hipertrofiye uğramış görünmektedir. Bazı hepatositlerde de boşluk oluşturacak şekilde içi boş vokuoller görülmüştür. Sunitinib tedavisi sonrası Notch1, Jagged1, DLL-1 ve VEGF immünreaktivitesi de artmış olarak gözlenmiştir. DM grubundaki hepatosit hücrelerinde Notch1, Jagged1, DLL-1 ve VEGF immünreaktivitesi diğer sunitinib ile tedavi edilen C, DM+S ve C+S gruplarına oranla artmış olarak gözlenmiştir.

TARTIŞMA: Bu sonuçlar diyabet ile indüklenen Notch yolağı inhibisyonu ile ortaya çıkan karaciğer hasarına karşı Sunitinib'in efektif bir koruma sağladığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Diabet, Karaciğer, Sunitinib, Notch, VEGF

Repression of the Notch pathway Prevents Liver Damage By Sunitinib in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice

Eda Açıkgöz¹, Hüseyin Aktuğ², Gürkan Yiğittürk², Kenan Demir², Ümmü Güven³, Fahriye Düzağaç³, Hadi Rouhrazı⁴, Fatih Oltulu², Altuğ Yavaşoğlu², Gülperi Öktem²

¹Department of Histology and Embryology, Yuzuncu Yil University, Van, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Ege University, Izmir, Turkey

³Department of Stem Cell, Ege University, Izmir, Turkey

⁴Department of Basic Oncology, Ege University, Izmir, Turkey

INTRODUCTION: Sunitinib is an oral inhibitor of vascular endothelial growth factor (VEGF) that is used to treat a variety of cancer (1,2). There are limited data exist regarding the effect of sunitinib on diabetes (3,4). In the liver, Notch signaling plays an important role in liver tissue development and homeostasis and its dysfunction is associated with liver pathologies (5). The aim of the present study is to investigate the effects of sunitinib on Streptozotocin (STZ)-induced diabetic liver in mice models.

MATERIALS-METHODS: An experimental diabetes mellitus (DM) model was created in 21 male CD-1 mice. 28 male CD-1 mice divided in four groups (n=7) were used; control (C), controls treated with sunitinib (C + S), diabetic (DM), and diabetic treated with sunitinib (DM + S). The histopathological changes of the liver caused by diabetes was examined by histochemical and immunohistochemical analyses.

RESULTS: In DM group liver, the hepatocytes are more hypertrophied, with an increased amount of eosinophilic granules. Some hepatocytes contained empty vacuole-like spaces. Immunoreactivity of Notch1, Jagged1, DLL-1 and VEGF were evaluated after sunitinib treatment. Notch1, Jagged1, DLL-1 and VEGF immunoreactivity in the hepatocyte cell were significantly decreased in DM group when

compared with the C, DM + S and C + S group treated with sunitinib.

DISCUSSION: These results suggest that sunitinib effectively protects the liver from diabetes-induced damage through Notch pathway inhibition.

Keywords: Diabetes, Liver, Sunitinib, Notch, VEGF

Kaynakça / References: 1. Abrams TJ, Lee JB, Murray LJ, et al (2003). SU11248 inhibits KIT and platelet-derived growth factor receptor beta in preclinical models of human small cell lung cancer. *Mol Cancer Ther*, 2, 471–8. 2. Mendel DB, Laird AD, Xin X, et al (2003). In vivo antitumor activity of SU11248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor receptors: determination of a pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship. *Clin Cancer Res*, 9, 327–37. 3. Agostino NM, Chinchilli VM, Lynch CJ, et al (2011). Effect of the tyrosine kinase inhibitors (sunitinib, sorafenib, dasatinib, and imatinib) on blood glucose levels in diabetic and nondiabetic patients in general clinical practice. *J Oncol Pharm Pract*, 17, 197–202. 4. Templeton A, Brandle M, Cerny T, et al (2008). Remission of diabetes while on sunitinib treatment for renal cell carcinoma. *Ann Oncol*, 19, 824–825. 5. Bi P & Kuang S. (2015). Notch signaling as a novel regulator of metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 26, 248-55.

P184

Modifiye edilmiş ve melatonin eklenmiş Wisconsin Üniversitesi solüsyonunun (mod uw+m) böbrek koruma süresine etkisi ve etkinliği

Abdurrahman Coskun¹, Cumhuriyet Yegen², Serap Arbak³, Ömer Günel², Wafi Attaallah², İsmail Seckin⁴, Banu Cetiner¹, Zeynep Yıldırım¹, Yigit Erdemgil¹, Merve Acikel Elmas³, Sibel Demirci⁴, Özge Can⁵, Mustafa Serteser¹, Aysel Ozpınar¹, Gulcin Basdemir⁶, Ahmet Belce⁷, İbrahim Ünsal¹

¹Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, İstanbul, Türkiye

²Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrah ABD, İstanbul, Türkiye

³Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, İstanbul, Türkiye

⁴İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, İstanbul, Türkiye

⁵Acıbadem Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Tıp Mühendisliği ABD, İstanbul, Türkiye

⁶Memorial Hastanesi, Patoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

⁷Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İstanbul, Türkiye

Organ transplantasyon solüsyonları, organ fonksiyonlarının uzun süre korunması için kullanılmaktadır. Uzun süre organ prezervasyonu sağlayabilmek için; donörlerin organları University of Wisconsin (UW), Histidin-Triptofan-Ketoglutarat (HTK), Celsior gibi özel prezervasyon solüsyonlarında bekletilmekte olup, bunlar arasında en çok tercih edilen solüsyon UW olmasına rağmen, prezervasyon süresi böbrek dokusunda dahi, 36 saatin üzerine çıkamamaktadır. Bu çalışmanın amacı, prezervasyon süresini arttırmak ve daha etkili bir organ koruması sağlamaktır. Daha iyi bir koruma sağlamak için, çalışmamızda UW solüsyonunun içeriği değiştirilmiş (Modifiye UW) ve ayrıca bu solüsyona melatonin eklenmiştir (Modifiye UW+Melatonin). Çalışmada, organ transplantasyon solüsyonları içerisinde konularak değişik sürelerde saklanan sıçan böbreklerinde zamana bağlı morfolojik değişiklikler UW (grup I), Modifiye UW (Mod UW) (grup II) ve Modifiye UW+Melatonin (Mod UW+M) (grup III) grupları arasında karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Sıçanlardan, tamamen perfüze olmuş böbrekler çıkartılmış ve UW, Mod UW ve Mod UW+M solüsyonlarında + 4° C'de 2, 10, 24 ve 72 saat bekletilmiştir. Tüm zaman aralıklarında böbreklerden alınan doku numüneleri parafin bloklama için histopatolojik doku takip sürecinde hazırlanmıştır. Her gruptan ayrıca 72. Saatte geçirimli elektron mikroskopik inceleme için böbrek doku örnekleri alınmış ve alınan bu örnekler %2.5'lük fosfat tamponlu glutaraldehit solüsyonu ile fikse edilmiştir. Işık mikroskopik düzeydeki inceleme, Tübül ve glomerüller dejenerasyona dayalı böbrek hasarı, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve vazokonjesyon bazındaki histopatolojik parametrelerle, her kriter için 0 ile 3 arasında değişen (0:hiç yok; 1:az; 2:orta ve 3: ciddi) bir skorlama sistemi kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca, laktat dehidrogenaz (LDH) aktivitesi ölçümüne yönelik olarak, + 4° C'de 2, 10, 24 ve 72. saate ait sıvı örnekleri, saklama solüsyonlarından alınarak standart kimya metodu ile ölçülmüştür (Siemens ADVIA 1800 Kimya Sistemi). Işık ve geçirimli elektron mikroskopik bulgular ve LDH değerleri ışığında, Mod UW+M solüsyonunun, diğer 2 gruba kıyasla tüm zaman aralıkları için istatistiksel olarak da oldukça iyi bir doku prezervasyonu sağladığını söyleyebiliriz. Tüm gruplarda LDH sonuçları, morfolojik bulgularla uyumludur. Mod UW+M solüsyonunun 72. saatte diğer 2 gruba kıyasla doku bütünlüğünü koruma yönünde çok etkili olduğu bu çalışmada öne çıkan en çarpıcı bulgu olmuştur. Bu bulgudan yola çıkarak modifiye edilen UW'nin dokuyu standart UW solüsyonuna göre daha iyi koruduğu ve ayrıca melatoninin de oldukça etkin bir ajan olduğunu vurgulayabiliriz.

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBITAK) tarafından, 113S847 proje numarası ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mikroskopi, Böbrek, Wisconsin Üniversitesi Solüsyonu, Laktat Dehidrogenaz

Modified University of Wisconsin solution with melatonin and its efficacy on kidney preservation time

Abdurrahman Coskun¹, Cumhuriyet Yegen², Serap Arbak³, Ömer Günel², Wafi Attaallah², İsmail Seckin⁴, Banu Cetiner¹, Zeynep Yıldırım¹, Yigit Erdemgil¹, Merve Acikel Elmas³, Sibel Demirci⁴, Özge Can⁵, Mustafa Serteser¹, Aysel Ozpınar¹, Gulcin Basdemir⁶, Ahmet Belce⁷, İbrahim Ünsal¹

¹Acıbadem University, School of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Istanbul, Turkey

²Marmara University, School of Medicine, Department of General Surgery, Istanbul, Turkey

³Acibadem University, School of Medicine, Histology and Embryology, Istanbul, Turkey,

⁴Istanbul University, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Istanbul, Turkey

⁵Acibadem University, Faculty of Engineering, Department of Medical Engineering, Istanbul, Turkey

⁶Memorial Hospital, Department of Pathology, Istanbul, Turkey

⁷Bezmialem Vakıf University, Faculty of Health Sciences

Organ transplantation solutions are used for protection of organ functions for a long time. In order to provide long lasting time period for organ preservation, donor organs are kept in special preservation solutions such as University of Wisconsin (UW), Histidine-Tryptophane-Ketoglutarate (HTK) and Celcior solutions. Although UW is the most preferred solution, preservation time even for the kidney tissue, has not exceeded over 36 hours. The aim of this study is to extend the preservation time and also provide more effective protection. In order to provide better preservation, the ingredients of the UW solution were changed (Modified UW), as well as melatonin was included (Modified UW+M) in the preservation medium. Time-related morphological changes of rat kidneys in UW (group I), Modified UW (Mod UW) (group II) and Modified UW+Melatonin (Mod UW+M) (group III) were comparatively investigated within this study. Totally perfused kidneys were removed and placed in UW, Mod UW and Mod UW +M solutions and kept during 2, 10, 24 and 72 h at 4° C. Kidney tissue samples were taken at all given time intervals and these samples were prepared for paraffin sections. Kidney tissue samples, taken at 72nd hour, were fixed in 2.5% glutaraldehyde and prepared for epoxy resin embedding. Histopathological scoring system were performed for light microscopical evaluation by using a scale ranging from 0 to 3 (0: none; 1: mild; 2: moderate; and 3: severe) for each criterion. Histopathological parameters were renal injury, based on tubular and glomerular degeneration, inflammatory cell infiltration and vasocongestion. Liquid samples, taken at 2, 10, 24 and 72 h at 4° C from the storage media, investigated for lactate dehydrogenase (LDH) activity which was measured using standard chemistry method (Siemens ADVIA 1800 chemistry System). Comparative findings at light and transmission electron microscopical levels and also LDH results revealed that preservation in Mod UW+M solution was statistically much more prominent in all time intervals, significantly at 72nd hour of preservation. In all groups, LDH levels were consistent with morphological results. We could conclude that Mod UW+M was the most effective solution among the experimental groups, especially suitable for preservation up to 72 h. In this study, the important efficacies of UW solution, a better protectant and melatonin, an effective agent to be used in such systems, were highlighted.

This study was financed by The Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK), project number 113S847

Keywords: Microscopy, Kidney, University of Wisconsin Solution, Lactate Dehydrogenase

Kaynakça / References: References 1. Goktas C, Coskun A, Bicik Z, Horuz R, Unsal I, Serteser M, Albayrak S, Sarica K. Evaluating ESWL-induced renal injury based on urinary TNF- α , IL-1 α , and IL-6 levels. *Urol Res*, 40: 569–73, 2012 2. Gunal O, Coskun A, Aslaner A, Yildirim U. Does melatonin alleviate cold preservation injury of the liver *Turk J Med Sci*, 40: 465–70, 2010 3. S Öner, F Ercan, S Arbak: time-dependent morphological alterations of cold-stored small bowel in Euro-Collins and Ringer's lactate solutions. *Acta Histochemica*, 10: 207–217, 2004

P185

Botulinum A toksininin yağ yamalarının yaşamsallığına etkisi

Ersoy Konaş¹, Haldun Kamburoğlu¹, Utku Özcan¹, Ramin Hashemihesar², Petek Korkusuz²

¹Plastik rekonstrüktif ve estetik cerrahi A.D, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, 06100 Ankara, Türkiye

²Histoloji ve Embriyoloji A.D, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, 06100 Ankara, Türkiye

Yeni tekniklerin gelişmesiyle otolog yağ transplantasyonu estetik ve rekonstrüktif cerrahide önem kazandı (1). Diğer yandan yağ enjeksiyonunun başarısı beklenmedik sonuçlar nedeniyle düşmektedir. Bunun için yeniden graftleme ve fazla düzeltme önerilmektedir. Botulinum A toksininin yağ dokusu yamalarına tutunmasındaki olumlu etkisi bildirilmiştir (2). Ancak bu düzeltici etkinin kimyasal ya da kas stabilizasyonu uyarımıyla ortaya çıkan denervasyondaki olası etkisi açık değildir. Bu çalışmada yukarıdaki soru yanıtlanmaya çalışılmaktadır. Yirmi Yeni Zelanda türü erişkin tavşan rastlantısal olarak iki gruba bölünerek kulak kaslarına sırasıyla 10 IU botulinum toksini ile kemodenervasyon ya da fasiyal sinir kesilerek cerrahi denervasyon uygulandı. Bir hafta sonra her iki gruba genel anestezi altında otolog yağ yaması uygulandı. Sekiz hafta sonra kas denervasyonunu doğrulamak için elektromiyografi (EMG) yapıldı. Yağ hacimleri bilgisayarlı tomografi (BT) ile hesaplandı. Hayvanlar feda edildikten sonra yağ yamaları çıkarılarak tartıldı. BT ile hesaplanan sol kulak hacimleri aynı hayvanın sağ kulaklarıyla karşılaştırıldı. Tüm örnekler yarı niceliksel (semikantitatif) yöntemlerle ışık mikroskobu altında yağ yamasının yaşamsallığı için değerlendirildi. Dokuzuncu haftada EMG ile tüm hayvanların sol kulaklarında denervasyon doğrulandı. Hayvanların ortalama ağırlığı 1. grupta 3674 g, 2. grupta 3106 g olarak saptandı. Deney tarafının (sol taraf) ağırlığı ve hacmi 1. grupta sırasıyla 2,39g ve 2825 mm³; kontrol tarafının (sağ taraf) ağırlığı aynı grupta sırasıyla 1,94 g ve 2249 mm³ olarak saptandı. Deney tarafının (sol taraf) 2. gruptaki ağırlık ve hacmi sırasıyla 1,43g ve 1591 mm³; kontrol tarafının (sağ taraf) aynı gruptaki ağırlığı ve hacmi sırasıyla 1,21g ve 1337 mm³ olarak saptandı. Histolojik bulgular botulinum toksininin yağ dokusunun yaşamsallığına olumlu etkileri saptandı. Farklı denervasyon modellerinde yağ yamalarının ağırlık, hacim ve histolojik doku iyileşme ölçütlerinin değişiklik gösterdiği izlendi. Sonuç olarak farklı denervasyon mekanizmalarının yağ dokusu yamalarının yaşamsallığında göz önünde bulundurulması gerektiği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Botulinum A Toksininin, Yağ Yamaları, Rejeneratif Tıp

The effect of Botilinium toxin A on the survival of fat grafts

Ersoy Konaş¹, Haldun Kamburoğlu¹, Utku Özcan¹, Ramin Hashemihesar², Petek Korkusuz²

¹Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Hacettepe University Faculty of Medicine, 06100 Ankara, Turkey

²Department of Histology & Embryology, Hacettepe University Faculty of Medicine, 06100 Ankara, Turkey

Autologous fat transplantation has gained great advance in aesthetic and reconstructive surgery with the introduction of fine techniques (1). On the other hand, unpredictable results are still the main drawback of fat injection. To overcome these issues, various techniques such as overcorrection or re-grafting have been proposed. Positive effects of Botilinium toxin A, have been reported on fat graft uptake (2). Although, possible correlation of this beneficial effect with chemical or muscle stabilization induced denervation is not known yet. In this study we tried to find out the answer of this question. Twenty male New Zealand type rabbits were randomly divided into two groups as chemo-denervation and the surgical-denervation group for auricular muscles. Chemo-denervation was done with 10/IU botilinium toxin A, surgical denervation was performed by transecting facial nerves. One week later, autologous fat grafting was performed under general anesthesia. Eight weeks later electromyography (EMG) was performed in order to confirm muscle denervation. Computer assisted tomography (CAT) scan has been performed to calculate fat volumes. All rabbits were sacrificed; fat grafts were dissected and weighed. Left ear's graft volumes obtained by CAT scan and weights obtained by fine scaling were compared with the same animals own right ear's volume. All specimens have been evaluated histologically for the graft survival by using light microscopic semiquantitative methods. According to the EMG, all rabbits' left

ears were found totally denervated in week 9. The mean weight of the animals was 3674 g in group 1 and 3106 g in group 2. The mean weight and volume of the left side (experimental side) of group 1 was 2,39g and 2825 mm³ respectively. The mean weight and volume of the right side (control side) of group 1 was 1,94g and 2249 mm³. The mean weight and volume of the left side (experimental side) of the group 2 was 1,43g and 1591 mm³ respectively. The mean weight and volume of the right side (control side) of the group 2 was 1,21g and 1337 mm³. Histological findings revealed significant beneficial effects of botulinim toxin A on fat survival for different denervation models. A difference in the weight, volume, and histologic parameters of the injected fat grafts was observed. Therefore, different denervation models should be taken in consideration for fat graft survival.

Keywords: Botilinium Toxin A, Fat Grafts, Regenerative Medicine

Kaynakça / References: 1. Lindenblatt N, van Hulle A, Verpaele AM, Tonnard PL. The Role of Microfat Grafting in Facial Contouring. *Aesthetic surgery journal / the American Society for Aesthetic Plastic surgery* 2015; 35: 763-71. 2. Baek RM, Park SO, Jeong EC, et al. The effect of botulinum toxin A on fat graft survival. *Aesthetic plastic surgery* 2012; 36: 680-6.

P186

Mirtazapin'in diyabetik karaciğer üzerine etkisi

Öykü Özcan, Ezgi Nuriye Bektur, Erhan Şahin, Cengiz Bayçu
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

Diyabet, özellikle son yıllarda gelişmiş ülkelerde artmakta olan karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluğuyla seyreden kronik bir metabolizma hastalığıdır. Vücudun birçok farklı sistemini etkileyebilir ve zamanla ciddi komplikasyonlara yol açabilir. Bunlar arasında diyabetik nöropati, nefropati, kardiyovasküler sistem, karaciğer ve periferik damar hastalıklarını içeren makrovasküler komplikasyonlar olmak üzere pek çok hastalık karşımıza çıkmaktadır. Metabolik açıdan kompleks bir organ olan karaciğer, lipidlerin metabolizması ve depolanmasında rol oynar. Karbonhidrat metabolizmasındaki etkinliği, kan glikoz homeostazisinde önemli rol oynar. Glikojenez yoluyla glikozun depolanması ve alımı arasındaki dengeyi sağlar. İnsülin karaciğerde glikojenezi uyarır, fakat glikojenolizi inhibe eder. Diyabetten kaynaklanan glikoz regülasyonundaki dengesizlik kronik doku hasarı ve organ yetmezliği ile sonuçlanır. Diyabetle yaşamak stresli olabileceği gibi depresyon semptomlarına da neden olabilir. Majör depresyon tedavisinde kullanılan noradrenerjik ve spesifik serotonerjik bir antidepresan olan Mirtazapin'in enzimatik/nonenzimatik oksidan parametrelerinin ve kimi inflamasyon belirteçlerinin (IL-6; TNF-alfa vs.) miktarının düşürerek aynı zamanda inflamasyon yanıtının düzenlenmesinde de etkili olduğu bilinmektedir. Tüm bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda diyabetik ratlarda karaciğerin nasıl etkilendiği ve bu duruma Mirtazapin'in etkisini araştırdık. Çalışmamızda 28 adet dişi Sprague Dawley sıçan kullanıldı. 55 mg/kg streptozotosin (STZ, i.p.) (0,1 mol/l sitrik asit tamponu, pH 4.5) ile oluşturulan diyabet modelinden 3 gün sonra glukometre ile kan-glukoz seviyesi ölçüldü ve 300mg/dl'den yüksek çıkanlar diyabet kabul edildi. STZ uygulamasından 4 hafta sonra 14 gün boyunca 20mg/kg Mirtazapin (p.o.) uygulandı. Deney sonunda alınan karaciğer örnekleri %10 formaldehit ile fikse edilip rutin takip işlemlerinden sonra Hematoksilin-Eozin ve PAS histokimya boyamaları, caspase-1 ve NLRP3 immünohistokimya ve western blot analizleri yapıldı.

Çalışmamızın sonucunda kontrol grubunda HE boyamada ışınsal yapı gösteren, sağlıklı hepatositler; PAS reaksiyonunda ise hepatositler içerisindeki depo glukojen bulunmaktadır. Diyabetik deneklerin karaciğerinde izlenen değişimlere baktığımızda HE boyamasında nekrotik hücreler ve infiltrasyon; PAS reaksiyonunda azalmış glukojen miktarı mevcuttur. Mirtazapin grubunda ise piknotik çekirdekler, nekrotik odaklar, çok çekirdekli hücre grupları ve bağ dokusu elemanlarında artış; PAS reaksiyonunda ise artmış glukojen miktarı gözlenmiştir. Caspase 1'in immünohistokimya ve western blot sonuçlarına baktığımızda en yüksek ekspresyon diyabet grubunda gözlenirken, en az reaksiyon kontrol grubunda görülmüştür. NLRP3'ün immünohistokimya ve western blot sonuçlarına baktığımızda ise diyabet grubunda mirtazapine göre artış belirlenmiştir. Sonuç olarak diyabetik karaciğerde hücre ölümünün NLRP3-Caspase 1 yolağından gerçekleştiği saptanmıştır. Kontrolsüz diyabetli hastalarda mirtazapin kullanımına dikkat edilmesi ve bu konuda daha detaylı çalışmaların yapılması gerekliliği ön plana çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Karaciğer, Mirtazapin, NLRP3

The effects of mirtazapine on diabetic liver

Öykü Özcan, Ezgi Nuriye Bektur, Erhan Şahin, Cengiz Bayçu
Eskişehir osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology,
Eskişehir, Turkey

Diabetes is a chronic metabolism disease caused by a disorder in carbohydrate, fat and protein metabolisms. Many related diseases among such complications like macrovascular complications including diabetic neuropathy, nephropathy, cardiovascular system, liver and peripheral vascular diseases can be seen.

Liver takes part in the metabolism of lipids and their storage. It plays an important role in blood glucose homeostasis. It ensures the balance between the storage of glucose and its intake through glycogenesis. Insulin stimulates glycogenesis in liver, yet inhibits glycogenesis. The imbalance in glucose regulation stemmed from diabetes results in chronic tissue damage and organ failure. Living with diabetes can be stressful and may cause symptoms of depression.

Mirtazapine, a noradrenergic and specific serotonergic anti-depression used in the treatment of major depression, is known to be efficient in the regulation of inflammation response by decreasing the amount of enzymatic/non-enzymatic oxidant parameters and some inflammation indicators. We conducted a research on how liver is affected in diabetic rats and the effect of Mirtazapine on this case. 28 female Sprague Dawley rats were used in our study. The blood glucose level of the diabetes model formed with 55mg/kg streptozotocin (STZ, i.p.) (0.1mol/l citric acid tampon, pH4.5) was measured after 3 days of injection, and the ones higher than 300 mg/dl were considered to be diabetes. 4 days after the STZ application, 20mg/kg Mirtazapine was applied for 14 days. The liver samples taken at the end of the experiment underwent the process of Hematoxylin-Eosin (H-E) and PAS histochemistry staining, caspase-1 and NLRP3 immunohistochemistry and western blot analysis after having been fixed with 10% formaldehyde and routine track operations.

As a result of our study, there are healthy hepatocytes having radial structure in H-E staining in the control group and hepatocytes containing stored glycogen in PAS reaction. There are necrotic cells in HE staining and infiltration, decreased glycogen amount in PAS reaction in diabetic group. An increase in pyknotic nucleuses, necrotic focuses, multinucleated cells and connective tissues in the Mirtazapine group, and an increase in glycogen in PAS reaction were observed. As regards the immunohistochemistry and western blot results of Caspase1, while the highest expression is observed in the diabetic group, the least reaction has been observed in the control group. According to the results of the immunohistochemistry and western blot of NLRP3, there is an increase compared to the mirtazapine in the diabetes group.

In conclusion, it was determined that the cell death occurs in the path of NLRP-Caspase1. That the uncontrolled diabetic patients should be careful with the intake of mirtazapine and the need for more detailed research in this subject came to the forefront.

Keywords: Diabet, Liver, Mirtazapine, NLRP3

P187

Obez Sıçanlarda Etanerseptin Vasküler Düz Kasta Enos Ekspresyonu Üzerine Etkilerinin İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması

Yusufhan Yazır¹, Kübra Kavram¹, Selenay Furat Rençber¹, Tuğçe Demirtaş², Tijen Utkan²

¹Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

Obezitenin kardiyovasküler hastalıklara yol açtığı bilinmektedir. Son çalışmalar obezitenin sadece metabolik değil aynı zamanda inflamatuvar bir hastalık olduğunu desteklemektedir. Bu doğrultuda inflamasyonun obezitenin yol açtığı kardiyovasküler hastalıklarda rolü olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, kafeterya diyetle beslenen obez sıçanlarda TNF- α inhibitörü olan etanerseptin vasküler düz kas reaktivitesi üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır.

Sütten yeni kesilen Wistar Albino erkek sıçanlar (50-70 g, doğumdan 30 gün sonra), 3 gruba ayrılmıştır (n=8/grup). Birinci grup (kontrol) standart diyetle, ikinci grup (obez) kafeterya diyetle beslenmiştir. Kafeterya diyet, diyetle indüklenen obezite modeli oluşturmak için kullanılmıştır. Bu diyet sırasıyla belirtilen oranlarda (2:1:1:1:1:1) etli börek, jambon, cips, bisküvi, çikolata ve standart sıçan yemi içermektedir. Üçüncü grup (obez+etanersept) kafeterya diyetle birlikte 12 hafta kronik etanersept tedavisi (0,8 mg/kg/hafta, subkutan) almıştır. Hayvanların vücut ağırlığı haftalık olarak ölçülmüştür. 12 hafta sonunda sıçanları torasik aortaları çıkarılıp bir bölümü immünohistokimyasal inceleme için NBF ile fiske edilirken, kalan bölümü ise izole organ banyosunda KCl (80 mM) kasılma ve submaksimal dozda fenilefrin (10⁻⁶ M) ile ön kasılmasının ardından karbakol (10⁻⁸-10⁻⁶) ve sodyum nitroprusiyat (SNP) (10⁻⁸-10⁻⁴) kümülatif gevşeme yanıtları elde edilmiştir. İmmünohistokimyasal inceleme için rutin doku takibi sonrası 4 μ m'lik kesitlerin ardından anti-eNOS ab ile inkübe edilerek sekonder ab uygulanmış ve DAB ile görüntülenerek entellan yardımıyla kapatılmıştır. İmmünreaktivite semikantitatif yöntemle (-, 1+, 2+, 3+, 4+) değerlendirilmiş ve sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

12 hafta vücut ağırlığı, obez grupta kontrolden anlamlı olarak fazlayken, etanerseptle tedavi edilen grupta obez gruba göre anlamlı olarak azdı. Gruplar arasında KCl kasılma yanıtlarında anlamlı bir fark saptanmadı. Karbakol ile elde edilen endotele bağımlı gevşeme yanıtları obez grupta kontrole göre anlamlı olarak azaldı. Etanersept tedavisi ise gevşeme yanıtlarını kontrol geri döndürdü. Endotelden bağımsız gevşetici ajan olan SNP ile elde edilen gevşeme yanıtları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. eNOS ile yapılan immün boyanma değerlendirildiğinde ise obez grupta eNOS immünoaktivitesinin anlamlı olarak düştüğü ve etanersept ile tedavi olan grupta ise eNOS immünoaktivitesinin kontrole yakın oranlarda arttığı istatistiksel olarak belirlendi.

Genç yaştan itibaren gelişen obezite, vasküler düz kasın endotele bağımlı gevşeme yanıtlarını bozmaktadır. etanersept tedavisi ise, azalan karbakol yanıtlarını kontrol değerlerine geri döndürmüştür. Yine kontrole göre anlamlı derecede azalan eNOS immün yanıtı etanersept ile kontrol grubuna yakın oranlarda yükseldiği görülmüştür. Bu doğrultuda TNF- α aracılı inflamasyonun, genç yaştan itibaren gelişen obezite ile ilişkili vasküler disfonksiyonda önemli role sahip olabileceği düşünülmektedir. Bu durumun da TNF- α inhibitörleri ile gerilemesi mümkün görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Obezite, eNOS, Etanersept, Kafeterya Diyet, TNF- α

Immunohistochemical Analyses of Etanercept's Effects on Vascular Smooth Muscle eNOS Expression in Obese Rats

Yusufhan Yazır¹, Kübra Kavram¹, Selenay Furat Rençber¹, Tuğçe Demirtaş², Tijen Utkan²

¹Department of Histology and Embryology, Kocaeli University Faculty of Medicine, Kocaeli

²Department of Pharmacology, Kocaeli University Faculty of Medicine, Kocaeli

Obesity is known to cause cardiovascular disease. Recent studies have reported that obesity is not only a metabolic disorder but also an inflammatory disease. It has been suggested that the inflammation might have a role in obesity mediated cardiovascular diseases. The aim of this study is to evaluate the effect of etanercept, a TNF- α inhibitor, on vascular smooth muscle reactivity in cafeteria diet (CD)-fed rats.

Twenty-four male weanling Wistar albino rats (50-70 g, 30 days after birth) were divided into three groups (n=8): First group (control) was fed on standard pelleted diet. The second group (obese) was fed on CD which is a high-fat diet in order to generate a diet-induced obesity model as reported previously [1]. This diet was composed by a mixture of pate, bacon, chips, cookies, chocolate and chow with proportions of 2:1:1:1:1:1, respectively. The last group (etanercept-treated) was also fed on CD and treated with etanercept (0.8 mg/kg/week, subcutaneously) during 12 weeks. The body weights of animals were measured weekly. At the end of 12 weeks, thoracic aorta of rats were removed. A portion of aorta were fix with NBF and 4 µm paraffin-sections were applied eNOS antibody for immunohistochemical analyses. Immunoreactivity was evaluated semiquantitatively (-, 1+, 2+, 3+, 4+) and results were compared statistically. Rest of the tissue were taken up to the isolated organ bath and analysed for KCl (80 mM)-induced contraction, submaximal dose of fenilefrin (10⁻⁶)-induced front contraction and then carbachol (10⁻⁸-10⁻⁶) and natrium nitroprusiyat (NNP) (10⁻⁸-10⁻⁴)-induced cumulative relaxation responses. After 12 weeks, the body weight of obese group was higher than control and etanercept-treated group. There was no significant difference between three groups in terms of KCl contraction response. In obese group, carbachol-induced endothelium-dependent relaxation responses were significantly less than the control group. Etanercept treatment returned the relaxation response close to the control group. There was no significant difference between three groups in terms of NNP-induced endothelium-independent relaxation response. Obese rats' eNOS immunoreactivity significantly decreased while the etanercept-treated rats' increased at close rate to control group. Growing obesity from a young age impairs vascular smooth muscle's endothelium-dependent relaxation responses. The results of present study indicated that chronic etanercept treatment turned back the declining eNOS immunoreactivity and relaxation response of carbachol in CD-fed rats. The data strongly suggest that TNF-α-mediated peripheral inflammation may play a key role in obesity-related vascular disfunction. It seem possible that TNF- α inhibitors can regress this situation.

Keywords: Obesity, eNOS, etanercept, cafeteria-diet, TNF-α

Kaynakça / References: [1] Garcia-Diaz, D.F., Campion, J., Milagro, F.I., Lomba, A., Marzo, F., Martinez, J.A., 2007. Chronic mild stress induces variations in locomotive behavior and metabolic rates in high fat fed rats. *J Physiol Biochem.* 63(4), 337-346.

P188

Sisplatin ile indüklenen testiküler hasara karşı kurkumin, Vit-E ve kombinasyonunun koruyucu etkilerinin araştırılması

Fikret Gevrek¹, Zafer Ismaill Karaca¹, Mehtap Okyay Karaca²

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Tokat

²Niksar Devlet Hastanesi, Tokat

Özet

AMAÇ: Sisplatin kanser tedavisinde kullanılan etkili bir antineoplastik ajan olup birçok sistem ve organlar için toksik olduğundan kullanımı kısıtlanmaktadır [1,2]. Sisplatin kullanımının kısıtlanmasına neden olan toksik etkilerinin hafifletilmesi önem arz etmektedir [3,4]. Bu nedenle çalışmamızın amacı; sisplatin kaynaklı testiküler hasara karşı antioksidan içerikli kurkumin ve vitamin-E'nin etkilerini araştırmaktır.

MATERYAL-METOD: Çalışmada toplamda 35 adet 350-400 g ağırlıkta yetişkin Wistar albino erkek sıçanlar her grupta yedişerli olacak şekilde rastgele; kontrol (tek doz salin, 15ml/kg ip), sisplatin (tek doz, 15mg/kg, ip), kurkumin (beş gün, 200mg/kg/gün, ip), Vit-E (vitamin e) (te doz, 50mg/kg, ip) ve kurkumin + Vit-E kombinasyonu (gruplarında olduğu gibi verildi) olmak üzere beş gruba ayrıldılar. Deney sonu beşinci günde sıçanlar derin anestezi altında sakrifiye edilerek testisler epididimisler ile birlikte sıçanlardan çıkarıldı. Testis dokuları prafin ile bloklandıktan sonra rotay mikrotom ile 4-5µm kalınlıkta kesildi. Testis kesiti dokularında apoptotik (Bax, Acas-3) ve antiapoptotik (Bcl-2) protein ekspresyonları immün boyama şiddeti skorlarına göre immünohistokimyasal olarak analiz edildi. Epididimislerin semen içeriklerinden sperm yayma preparatları hazırlandı. Lama fikse edilen sperm hücreleri Diff-quick boyama protokolüne göre boyandılar. sonra spermeler baş boyun ve kuyruk kısımları ve total olarak morfolojik anomaliler açısından ışık mikroskobu ile değerlendirildiler. Elde edilen mevcut tüm sonuçlar istatistikse olarak analiz edildiler.

BULGULAR: Acas-3 ve Bax proteinleri immün boyanma şiddetleri H-skorlarının kontrole göre sisplatin grubunda belirgin şekilde arttığı (p<0.05), Bcl-2'nin ise bir miktar azaldığı tespit edildi. Tedavi gruplarının tümünde sisplatin grubuna göre Bax, Acas-3 azalmıştı. İlginç şekilde Bcl-2 de hem kontrol hem de sisplatin grubuna göre azalmıştı. Ancak Bax/Bcl-2 oranlarının ise sisplatin grubunda en yüksek olduğu, tüm tedavi gruplarında ise kontrol lehinde sisplatinden belirgin olarak farklı (p<0.05) oldukları tespit edildi. Sperm anomalilerinin de benzer şekilde sisplatin verilmesiyle arttığı, tedavi uygulaması ile de belirgin olarak azaldığı görüldü.

SONUÇ: Mevcut bulgulara göre sisplatinin daha çok Bax ve Acas-3 antiapoptotik protein yolları üzerinden testiküler hasar oluşturduğu anlaşılmaktadır. Sisplatin kaynaklı testiküler toksisiteye karşı kurkumin, Vit-E ve özellikle de bunların kombinasyonunun faydalı olabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: İmmunohistokimya, Kurkumin, Sisplatin, Sperm, Testis, Vit-E.

The investigation of protective effect of curcumin, Vit-E and combination in cisplatin-induced testicular injury

Fikret Gevrek¹, Zafer Ismaill Karaca¹, Mehtap Okyay Karaca²

¹Department of Histology and Embryology, Gaziosmanpasa University, Tokat, Turkey

²Niksar State Hopital, Tokat, Turkey

OBJECTIVE: Cisplatin is an effective antineoplastic agents used in numerous types of cancer therapy. However, the use of cisplatin is restricted due to its toxic effects for many organs and systems [1,2]. The prevention of these side effects of cisplatin treatment is highly important [3,4]. Therefore, we aimed to investigate the protective effects of curcumin, Vit-E and combination in cisplatin-induced testicular injury

MATERIAL-METHOD: Thirty five Wistar albino male adult rats, weighing 350-400g were divided randomly into five groups including seven rats in each, as control (15ml/kg ip, one dose saline), cisplatin (15mg/kg, ip, one dose), cisplatin + curcumin (200mg/kg/day, ip, 5 day), cisplatin+Vit-E (50mg/kg, ip,one dose), and cisplatin + combination. At the end of the 5th day, after animals were sacrificed, testes and epididymes tissues were removed. 5µm sections from testis tissues, embedded in paraffin blocks, were analyzed immunohistochemically to determine the expression of

the anti-apoptotic proteins (Bcl-2) and apoptotic proteins (Bax, Acas-3). The epididymes were used to prepare sperm smears and sperm cells were dyed with Diff-quick stain then evaluated morphologically under light microscope.

RESULTS: We observed that Bax and Acas-3 protein expressions in cisplatin group were increased significantly ($p < 0.05$), respect to control, but subtle reduction was shown in Bcl-2 expression. In all treated groups respect to sisplatin Bax and Acas-3 were down regulated an interestingly Bcl-2 was down compared to both control and cisplatin. Bax-Bcl-2 rates were the highest in cisplatin and in all treated groups was significantly different ($p < 0.05$) from cisplatin to be in favor of the control. Similarly sperm abnormalities were also increased in cisplatin group compared to control on the other hand in all treated group especially combination total sperm abnormalities was decreased as expected.

CONCLUSIONS: In conclusion, according to our present findings cisplatin through Acas-3 and Bax apoptotic proteins pathways can cause testicular damage. Treatment with Vit-E, curcumin and these substances combination appear to reduce cisplatin-induced testicular toxicity and the percentage of abnormal sperm morphology in rats. Related to these, we can say that curcumin, Vit-E and especially combination may be beneficial against cisplatin induced testicular damages.

Keywords: Immunohistochemistry, Curcumin, Cisplatin, Sperm, Testis, Vit-E.

Kaynakça / References: 1. Kaya K, Ciftci O, Cetin A, Doğan H., Başak N. Hesperidin protects testicular and spermatological damages induced by cisplatin in rats. *Andrologia* 2015; 47: 793-800
2. De Freitas MR, Figueiredo AA, Brito GA, Leitao RF, Carvalho Junior JV, Gomes Junior RM, Ribeiro Rde A. The role of apoptosis in cisplatin-induced ototoxicity in rats *Braz J Otorhinolaryngol.* 2009; 75(5): 745-52. 3. Tokgöz SA, Vuralkan E, Sonbay ND, Çalışkan M, Saka C, Beşalti Ö, Akin İ. Protective effects of vitamins E, B and C and L-carnitine in the prevention of cisplatin-induced ototoxicity in rats. *J Laryngol Otol.* 2012; 126(5): 464-9. 4. De Freitas MR, Figueiredo AA, Brito GA, Leitao RF, Carvalho Junior JV, Gomes Junior RM, Ribeiro Rde A. The role of apoptosis in cisplatin-induced ototoxicity in rats *Braz J Otorhinolaryngol.* 2009; 75(5): 745-52.

P189

Orman gülü balı nın fare testis dokusu na etkisi

Elçin Hakan Terzi¹, Esra Fidan¹, Sevilay Erimşah¹, Pınar Göç Rastgele², Meral Kekeçoğlu³, Merve Kambur³

¹Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD

²Düzce Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyosistem Mühendisliği AD

³Düzce Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji AD

GİRİŞ: Orman gülü veya komar olarakta bilinen Rhododendron; fundagiller ailesine üye olan çalı bitkisidir. Ülkemizde Batı-Doğu Karadeniz sahili boyunca dünya genelinde de Çin, Tibet, Nepal, Yeni Gine bölgelerinde yayılım göstermektedir. Toksitesinden sorumlu olan Grayanotoxin (GTX) dir. Grayanotoxin'in 25 alt tipi olup bunlarda GTX-III ün toksik izomer olduğu bildirilmiştir. Zehirlenme için 20-200 gr arasında Grayanotoxin içeren orman gülü balı tüketilmesi gerekmektedir. Zehirlenme belirtileri ilk bir kaç saat içerisinde görülmektedir. Tipik zehirlenme bulguları, bradikardi, hipotansiyon, kardiyak aritmiler, gastro intestinal irritasyon olmak üzere yenilen miktara bağlı olarak bulguların şiddeti artmaktadır. Acil servise en sık başvuru sebebi bradikardi ve hipotansiyon olup destek tedavisi ve atropin ile klinik iyileşme kısa sürede görülmektedir. Bu çalışmada Düzce bölgesinde yetişen Rhododendron bitkisinden elde edilen deli balın farklı süre ve dozlarda testis dokusuna etkisi incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD: Bu çalışmada, 8-12 hafta lık, 20-25 gr ağırlığında erkek fareler kullanılmıştır. Her grupta 6 fare olmak üzere toplam 5 temel grup oluşturulup bu gruplar kendi içinde 24 ve 48 saat olarak düzenlendi. 1) distile su 2) 25 mg/kg ormangülü balı 3) 50 mg/kg ormangülü balı 4) 75 mg/kg ormangülü balı 5) 0.01 mg/kg/i.p grayanotoksin uygulanan grup. Testis doku örnekleri 24 ve 48 saat sonra alınarak %10 luk nötral formaldehit ile tespit edildi. Rutin takip işlemlerinden sonra 4 µm kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin ve PAS boyaları ile boyandı. Histopatolojik değerlendirme Cosentino (1) skorlaması kullanılarak yapıldı.

SONUÇLAR: Histopatolojik değerlendirme sonucunda distile su verilen grupta normal histolojik yapı görüldü. Grayanotoksin uygulanıp 24 saat beklenen grupta bazı tübüllerde germinal hücrelerin döküldüğü, tübüller arasında ödem ve konjesyon ile lümende kümelenmiş spermatogenik seri hücreleri görüldü. 25 mg ormangülü balı verilip 24 saat beklenen grupta ise benzer şekilde tübüller arası ödem, hemoraji ve konjesyon görülüp germinal hücreler arasında açılmalarla beraber Spermatogenik seri hücreleri daha belirgin olarak görüldü. 50 mg uygulanan grupta ise ödem ve lümendeki dökülen spermatogenik seri hücreleri daha belirgin izlenmesine rağmen 75 mg uygulanan grupta ise lümene dökülen hücre yoğunluğu azalmış olarak görüldü. 48 saat beklenen gruplardan özellikle 50 mg uygulanan grupta germinal hücreler arasında belirgin vakuoller ile tübüller arasındaki artmış ödem ve konjesyon dikkati çekmiştir. Sonuç olarak Granotoksin tek başına uygulandığında, ormangülü balından daha hasar vericidir. Bazı bulguların ilk 24 saatte daha belirgin olması ve 48 saatte hasar şiddetinin artmaması toksinin organizmada aktif olduğu zamanın kısalığından kaynaklanıyor olabilir. Sonraki çalışmalarda yapılacak immunohistokimyasal veya ileri tekniklerle daha açıklayıcı sonuçlar elde edilecektir.

Anahtar Kelimeler: orman gülü balı, deli bal, toksite, testis

The effect of Mad Honey in Mice Testes Tissue

Elçin Hakan Terzi¹, Esra Fidan¹, Sevilay Erimşah¹, Pınar Göç Rastgele², Meral Kekeçoğlu³, Merve Kambur³

¹University of Abant İzzet Baysal, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, BOLU

²University of Düzce, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, Department of Biosystems Engineering, DUZCE

³University of Düzce, Faculty of Science, Department of Biology, DUZCE

İNTRODUCTION INTRODUCTION:

Rhododendron is a member of the family of Ericaceae shrubs. In Turkey, the emmission of Rhododendron is shown along the West&East Black Sea coast, while the emmission of Rhododendron is shown some regions of around the world such as in China, Tibet, Nepal, in New

Guinea.

Grayanotoxin (GTX) is responsible for the toxicity Among the 25 subtype of Grayanotoxin,GTX -III isomer is reported to be toxic.The honey of rohododeron which is consisting of GTX between 20 and 200 g should be consumed for intoxication.Symptoms of intoxication are seen in the first few hours. Typical symptoms of intoxication are bradycardia, hypotension, cardiac arrhythmias, and gastro-intestinal irritation.

The all of these symptoms increase depending on the amounts of renewed results.Moreover, The most common reason of application to emergency services result from bradycardia and hypotension.However,clinical improvement is observed in a short time with supportive care and atropine. The aim of this study, Andromedotoxine is obtained from Rhododendron which is on the effect of testicular tissue depending on different doses and different times where is grown regions from Düzce.

MATERIAL AND METHODSIn this study, lasting 8-12 weeks, weighing 20-25 g male mice were used. It was realized five main groups, impending 6 mice in each group and these groups was subjected to at 24 and 48 hours. 1) distilled water 2) 25 mg / kg rhododendron honey 3) 50 mg / kg rhododendron honey 4) 75 mg / kg rhododendron honey 5) 0.01 mg / kg / i.p grayanotoxin applied groups. After 24 and 48 hours, testis tissue samples were fixed with 10% neutral formaldehyde. Then, after the routine procedures were stained with hematoxylin-eosin and PAS stains with 4 µm sections It was performed using Histopathological evaluation Cosentino scoring

RESULT

Keywords: mad honey, toxicity, testes,mice

Kaynakça / References: 1.Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett AT. Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. J Androl. 1986; 7:23-31.

P190

Sıçanlarda Bupivakain ve Levobupivakain İntraartiküler Enjeksiyonunun Eklem Kıkırdağı Matriksi ve Kondrosit Apoptozu Üzerine Etkisi

Celal Akgün¹, Özlem Özbey Ünlü², Nuray Acar², Kübra Aksu², Yetkin Söyüncü³, Fatma Ertuğrul¹, İsmail Üstünel²

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Ana Bilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya

³Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Ana Bilim Dalı, Antalya

Son dönemde yapılan çalışmalar, bir çok lokal anestetik maddenin insan ve hayvan kondrositleri üzerinde toksik olduğunu göstermektedir. Kıkırdak dokunun lokal anestetiklerle kısa süreli maruziyetinde bile kondrosit ölümü ve disfonksiyonu ile karşılaşmaktadır. Bu çalışmanın amacı sıçan diz eklemine tek doz intraartiküler olarak yapılan bupivakain ve levobupivakain'in kısa ve uzun dönem etkilerini araştırmaktır.

Bu çalışmada, Rattus norvegicus cinsi 60 adet dişi sıçan kullanıldı. 30'ar deney hayvanın bulunduğu, bupivakain ve levobupivakain grupları oluşturuldu. Her grup kendi içinde 1 hafta, 1 ay ve 6 ay olmak üzere 3 ayrı altgruba bölündü. Uygun aseptik koşullarda, deneklerin sağ dizlerine 0.25 ml bupivakain veya levobupivakain eklem içine uygulanırken, sol dizlerine 0.25 ml salin solüsyonu uygulandı. 1 hafta, 1 ay ve 6 ay sonra denekler sakrifiye edilerek, diz eklemleri elde edildi. Elde edilen örnekler rutin doku takibi uygulanarak parafine gömüldü. Değerlendirmeler için parafin bloklardan kesitler alınarak; rutin histolojik boyanmalar, kollajen tip-2 ve agrekan için immünohistokimya ve TUNEL incelemeleri gerçekleştirildi. Elde edilen veriler Sigma Stat programı kullanılarak, student-t testi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel anlamlılık p <0.05 olarak kabul edildi.

Bulgularımıza göre; kondrosit sayıları açısından bupivakain altgrupları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında, 6 ay alt grubundaki kondrosit sayısının 1 hafta alt grubuna göre daha yüksek bulundu., Bu farklılık, istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,005). Levobupivacain altgrupları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında ise, kondrosit sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p>0,005). Toluidin mavisi boyanmalarına göre; her iki anestetik uygulanan grupta da zamana paralel olarak ekstraselüler matriks (ESM) içeriğinin azaldığı gözlemlendi. Kontrol grubu eklem kıkırdaklarında, 1 haftalık ve 1 aylık altgruplar arasında fark gözlenmezken, 6 aylık altgrupta yaşa bağlı ESM miktarındaki azalma gözlemlendi. TUNEL sonuçlarına göre, bupivacain 1 haftalık alt grubunda apoptotik hücre sayısı 1 aylık ve 6 aylık alt gruplara oranla daha fazlaydı (p<0,005). Levobupivacain grubunda ise 1 aylık ve 6 aylık gruplarında hem kontrol hem de deney gruplarında artış gösterdiğini gözledik. (p<0,005). Kollajen tip-2 ve agrekan immünoreaksiyonları semikantitatif olarak değerlendirildiğinde, her iki grupta da ESM'te reaksiyon azalırken, hücresel reaksiyon Levobupivacain grubunda paralel şekilde azaldı fakat bupivacain grubunda artış gösterdiği belirlendi.

Sonuç olarak, bupivakain ve levobupivacainin intraartiküler olarak enjeksiyonunun kondrotoksik olarak değerlendirilmesinin yanısıra bupivacainin etkisinin kısa sürede ortaya çıktığını ve zamana paralel şekilde hem kondrosit sayısal artışı hem de hücresel kollajen tip-2 ve agrekan ekspresyonunun artışına bağlı olarak dokunun kendini tamir etme sürecini başlatmaya çalıştığını, buna karşın levobupivacainin daha uzun sürede toksik etki gösterdiğini ve dejenerasyonun ilerleyen bir süreç izlediğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Bupivakain, Levobupivacain, İntraartiküler, Eklem Kıkırdağı

The Effects of Intraarticular Bupivacaine and Levobupivacaine Injection on Rat Articular Cartilage Matrix and Chondrocyte Apoptosis

Celal Akgün¹, Özlem Özbey Ünlü², Nuray Acar², Kübra Aksu², Yetkin Söyüncü³, Fatma Ertuğrul¹, İsmail Üstünel²

¹Department of Anesthesiology and Reanimation, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, TURKEY

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya,

TURKEY

³Department of Orthopaedics and Traumatology, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, TURKEY

Recent studies have shown that many of local anaesthetics have toxic effects on both human and animal chondrocytes. These effects cause chondrocyte death and dysfunction even in short term exposure of cartilage chondrocyte with local anesthetics. Thus, the main purpose of this study is to investigate short and long term effects of a single dose intraarticular bupivacaine and levobupivacaine applied to rat knee joint.

In this study, 60 female *Rattus norvegicus* rats were used. These rats were divided into two main groups as bupivacaine and levobupivacaine. Each group were also divided into three sub-groups as 1week, 1month and 6months. Under aseptic conditions, 0.25ml bupivacaine or levobupivacaine were injected into right knee joints of the rats and 0.25ml saline solution into left knee joints. The animals were sacrificed after 1week, 1month and 6months and knee joints were obtained. The obtained joint samples were embedded in paraffin. All tissues were investigated by routine histologic staining and immunohistochemical procedures for collagen type-2 and aggrecan and TUNEL methods. Utilizing Sigma Stat software, the data were compared with student-t test. The statistical significance was defined as $p < 0.05$.

Based on our findings, among the sub-groups of bupivacaine, 6months sub-group chondrocyte number was found to be significantly higher than 1week sub-group ($p < 0.05$). No noticeable differences were observed within the sub-group of levobupivacaine ($p > 0.05$). According to toluidine blue staining; extracellular matrix (ECM) content decreased in both groups with time. In articular cartilage control group, there was no significant differences between 1week and 1month sub-groups, but a decreasing ECM content was observed in 6months sub-group with age. Based on the results of TUNEL method, more apoptotic cells were observed in 1week sub-group of bupivacaine than 1month and 6months sub-groups ($p < 0.05$). The levobupivacaine group showed increased apoptotic cell number in both 1month and 6months sub-groups in control and experimental groups ($p < 0.05$). When the type-2 collagen and aggrecan immune reactions were semi-quantitatively evaluated, extracellular matrix reaction was found to be decreased in both groups. While cellular reaction in the levobupivacaine group showed decreasing pattern, the bupivacaine group showed an increasing tendency.

As a result, chondrotoxic evaluation of intraarticular injection of bupivacaine and levobupivacaine, as well as bupivacaine effects arise in a short time period and cause increased chondrocyte number and expression of collagen type-2 and aggrecan in course of time. This indicates that the process of tissue repair mechanism. On the other hand, levobupivacaine showed toxic effects and a progressive degeneration in a longer period.

Keywords: Bupivacaine, Levobupivacaine, Intraarticular, Articular Cartilage

P191

Metil metan sülfonatin fare böbreğinde yaptığı hasara kurkuminin etkileri

Gökhan Cüce¹, Seda Çetinkaya², Nilay İşitez³, Serhan Küççüktürk⁴, Mehmet Enes Sözen¹, Serpil Kalkan¹, İbrahim Hakkı Ciğerci³, Hasan Hüseyin Demirel⁵

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji, Konya

²KTO Karatay Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji, Konya

³Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen ve Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, Afyon

⁴Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji, Konya

⁵Afyon Kocatepe Üniversitesi, Bayat Meslek Yüksekokulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, Afyon

Metil metan sülfonat (MMS) DNA ile etkileşebilen ve ona zarar verebilen bir alkalize edici ajandır. Bu çalışmada, fare böbreklerinde MMS tarafından oluşturulan histolojik değişiklikler ve apoptozise kurkuminin etkisi araştırıldı. Yirmi dört fare dört eşit gruba bölündü; kontrol grubuna serum fizyolojik intraperitoneal (ip) olarak enjekte edildi, ikinci gruba 40 mg/kg MMS (ip) enjekte edildi, üçüncü gruba 40 mg/kg MMS (ip) enjekte edildi ve sonra 100 mg/kg kurkumin gavaj yoluyla verildi, dördüncü gruba 100 mg/kg kurkumin gavaj yoluyla verildi. MMS konjesyon ve vakuol formasyonuna sebep oldu ve apoptotik indeksi önemli ölçüde yükseltti, fakat böbrek dokusunda herhangi başka etki oluşturmadı. Kurkumin, MMS tarafından oluşturulan konjesyon ve vakuol formasyonunun azalmasına sebep oldu ve apoptotik indeksi düşürdü. MMS ile uygulanan kurkuminin MMS'nin böbrekteki zararlı etkilerini azalttığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: kurkumin, histopatoloji, böbrek, metil metan sülfonat, TUNEL

Effects of curcumin on methyl methanesulfonate damage to mouse kidney

Gökhan Cüce¹, Seda Çetinkaya², Nilay İşitez³, Serhan Küççüktürk⁴, Mehmet Enes Sözen¹, Serpil Kalkan¹, İbrahim Hakkı Ciğerci³, Hasan Hüseyin Demirel⁵

¹Necmettin Erbakan University, Meram Medical Faculty, Department of Histology and Embryology, Konya

²KTO Karatay University, Medical Faculty, Department of Histology and Embryology, Konya

³Afyon Kocatepe University, Faculty of Science and Arts, Department of Molecular Biology and Genetics, Afyon

⁴Necmettin Erbakan University, Meram Medical Faculty, Department of Medical Biology, Konya

⁵Afyon Kocatepe University, Bayat Junior Technical College, Department of Laboratory and Veterinary Health, Afyon

Methylmethane sulfonate (MMS) is an alkylating agent that may react with DNA and damage it. In this study, the effects of curcumin on histological changes and apoptosis caused by MMS were investigated. Twenty-four mice were divided into four equal groups: controls injected with saline intraperitoneally (ip), second group injected with 40 mg/kg MMS (ip), third group injected with 40 mg/kg MMS (ip) and then given 100 mg/kg curcumin by gavage, and fourth group given 100 mg/kg curcumin by gavage. MMS caused congestion and vacuole formation, and elevated the apoptotic index significantly, but had no other effect on kidney tissue. Curcumin improved the congestion and vacuole formation caused by MMS and decreased the apoptotic index. Curcumin administered with MMS appears to decrease the deleterious effects of MMS on the kidney.

Keywords: curcumin, histopathology, kidney, methylmethane sulfonate, TUNEL

P192

Çörek Otu tohumu yağının diyabetik sıçan aortunda intima-media kalınlığı ve Bax ve Kaspaz 3 ekspresyonuna etkisi

Gökhan Cüce¹, Mehmet Enes Sözen¹, Seda Çetinkaya², Halime Tuba Canbaz¹, Hatice Şeflek¹, Serpil Kalkan¹

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

²KTO Karatay Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

AMAÇ: Hiperglisemi, diyabette oluşan makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişimi ve ilerlemesi için önemli bir risk faktörüdür. Bu çalışmada diyabetik ratların aortlarının media tabakasında apoptotik markerlerin ekspresyonu ve çörek otu tohumu yağının bu markerlerin ekspresyonuna etkisi araştırıldı.

YÖNTEM: Dört aylık erişkin dişi Wistar ratlar(n=21) 3 gruba bölündü: Grup 1 kontrol; Grup 2 diyabet ve Grup 3 diyabet+çörek otu tohum yağ. Grup 3'e 30 gün boyunca haftada 6 gün intraperitoneal olarak çörek otu tohum yağ 0.2 mg/kg/gün olarak uygulanmıştır. Çalışmanın sonunda tüm hayvanların abdominal ve torasik aortları alınmış ve %10 luk formalin solüsyonunda fikse edilmiştir. 5 µm kalınlığında kesitlere Verhoeff-Van Gieson boyası, Bax ve Kaspaz 3 immünohistokimyası uygulanmıştır. Tunika intima ve media kalınlıkları Verhoeff-Van Gieson ile boyanmış kesitler kullanılarak ölçülmüştür.

SONUÇLAR: 3 grubun abdominal ve torasik aortlarının tunika intima ve tunika media kalınlıkları arasında önemli fark yoktu. Ancak, grup 1 ile grup 2 arasında ve grup 2 ile grup 3 arasında abdominal aort ve torasik aortun tunika medialarında Bax ve Kaspaz 3 ekspresyonu açısından önemli fark bulundu (p<0.05).

TARTIŞMA: Çörek otu tohum yağının diyabete karşı etkili olduğu anlaşılmıştır. Çörek otu yağ bitkisel bir materyaldir ve diyabet tedavi geliştirme stratejisinde vasküler yapılarda apoptozu önlemek için daha ileri çalışmalar için değeri bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Aort, Bax, Çörek otu tohumu yağ, diyabet, Kaspaz 3

Effects of Nigella sativa L. seed oil on intima–media thickness and Bax and Caspase 3 expression in diabetic rat aorta

Gökhan Cüce¹, Mehmet Enes Sözen¹, Seda Çetinkaya², Halime Tuba Canbaz¹, Hatice Şeflek¹, Serpil Kalkan¹

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Meram Medicine, Necmettin Erbakan University; Konya, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, University of KTO Karatay University; Konya, Turkey

OBJECTIVE: Hyperglycaemia is an important risk factor for the development and progression of the macrovascular and microvascular complications that occur in diabetes. The expression of apoptotic markers in the aortic medial layer of diabetic rats and the effects of N. sativa L. seed oil on the expression of these markers were investigated in this study.

METHODS: Four-month-old adult female Wistar rats (n=21) were divided into 3 groups: Group 1, control; Group 2, diabetes and Group 3,diabetes+N. sativa L. oil. Group 3 received 0.2 mg/kg/day N. sativa L. seed oil intraperitoneally 6 days per week for 30 days.

At the end of the experiment, abdominal and thoracic aortas of all animals were collected and fixed in 10% formalin solution. Verhoeff-van Gieson stain, immunohistochemistry of Bax and Caspase 3 were applied to 5 µm thick slices. Tunica intima–media thickness was measured using the Verhoeff–Van Gieson stained sections.

RESULTS: There were no significant differences in abdominal or thoracic aortic intima–media

thickness among the 3 groups. However, there were significant differences in Bax and Caspase 3 expression in the tunica media of the thoracic and abdominal aortas between Group 1 and Group 2 and between Group 2 and Group 3 ($p < 0.05$).

CONCLUSION: It is understood that *N. sativa* L. seed oil is effective against diabetes. *N. sativa* L. seed oil is a plant material and has value for further investigation to develop diabetes treatment strategies for preventing apoptosis in vascular structures.

Keywords: Aorta, Bax, Caspase 3, diabetes, *Nigella sativa* L. seed oil

P193

Siklofosfamidin Neden Olduğu Mesane Hasarına Karşı Curcuminin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi

Yeşim Hülya UZ¹, Ahmet Çağatay ÇİÇEK¹, Duygu UZUN-GÖREN¹, Melike SAPMAZ-METİN², Turan KARACA¹

¹Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

²Trakya Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Edirne, Türkiye

GİRİŞ: Siklofosfamid (CP), hem neoplastik hem de nonneoplastik hastalıkların tedavisinde kullanılan bir antikanser ilaçtır. En önemli yan etkisi mesane üzerine (hemorajik sistit) olup, doz kısıtlanmasına neden olmaktadır. Curcumin (CMN), Curcuma longa bitkisinin yumrusundan elde edilen ve sıklıkla baharat ya da yiyeceklere renk verme amacı ile kullanılan bir ajandır. Antiinflamatuar, antitümöral, antiproliferatif ve antioksidan özellikleri gibi çeşitli farmakolojik aktiviteler göstermektedir.

AMAÇ: Bu çalışmada, CP'nin neden olduğu mesane hasarına karşı CMN'nin koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı.

GEREÇ-YÖNTEM: Onsekiz adet yetişkin Wistar albino erkek sıçan her birinde altı adet olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Birinci (K) gruba intragastrik (i.g.) yol ile 14 gün boyunca dimetilsülfoksit (DMSO, CMN ile eşit hacimde) verildi. İkinci (CP) gruba tek doz CP (150 mg/kg, serum fizyolojik içinde çözülerek), 7. gün intraperitoneal (i.p.) olarak enjekte edildi. Üçüncü (CP+CMN) gruba 14 gün boyunca CMN (100 mg/kg, DMSO içinde çözülerek) i.g. yol ile verildi ve tek doz CP (150 mg/kg) 7. gün i.p. olarak enjekte edildi. CMN'nin son dozundan 24 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilerek alınan mesane dokuları %10'luk formol ile fikse edildi. Rutin doku takibinin ardından, mesane kesitleri histolojik inceleme için hematoksilin-eozin (H&E) ve immünohistokimyasal inceleme için ise nükleer faktör-kappa B (NF-kB) antikoru ile boyandı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak analiz edildi.

BULGULAR: Kontrol grubu mesane dokuları histolojik olarak incelendiğinde, normal yapıda olduğu gözlemlendi. Buna karşılık CP tedavisi lamina propriada; hemoraji, inflamasyon ve ödeme, üroteliumda ise hemoraji ve hiperplaziye neden oldu. Ek olarak, NF-kB immünoaktivitesi CP grubunda kontrol ile karşılaştırıldığında belirgin bir artış gösterdi. CMN tedavisi, CP'nin neden olduğu mesane mukoza hasarına karşı belirgin bir koruyucu etki gösterirken, artmış olan NF-kB immünoaktivitesini de belirgin olarak azalttı.

SONUÇ: Bu çalışma, CMN tedavisinin; CP'nin neden olduğu mesane mukoza hasarına karşı NF-kB sinyal yolunu inhibe ederek koruyucu etkisi olabileceğini ileri sürmektedir.

Anahtar Kelimeler: curcumin, mesane hasarı, nükleer faktör-kappa B, siklofosfamid, ürotelial hiperplazi

Protective Effect of Curcumin Against Cyclophosphamide-Induced Bladder Damage

Yeşim Hülya UZ¹, Ahmet Çağatay ÇİÇEK¹, Duygu UZUN-GÖREN¹, Melike SAPMAZ-METİN², Turan KARACA¹

¹Department of Histology and Embryology, Trakya University School of Medicine, Edirne, Turkey

²Vocational School of Health Services, Trakya University, Edirne, Turkey

BACKGROUND: Cyclophosphamide (CP) is a chemotherapeutic agent which is widely used in the treatment of both neoplastic and nonneoplastic diseases. Bladder damage (hemorrhagic cystitis) is a major dose-limiting side effect of CP. Curcumin (CMN) is derived from the rhizome of the Curcuma longa and widely used as a spice and coloring agent in foods. It shows a variety of pharmacological activities such as antiinflammatory, anticarcinogenic, antiproliferative, and antioxidant properties.

OBJECTIVE: In this study, we aimed to investigate the protective effect of CMN against to CP-

induced bladder damage.

MATERIALS-METHODS: Eighteen adult Wistar albino male rats were divided randomly into three groups of six rats each. The control (C) group rats were administered dimethyl sulfoxide (DMSO, with same volume of CMN) intragastrically for 14 days. The rats in the second group (CP) were administered a single dose of CP intraperitoneally (150 mg/kg) on the seventh day of the experiment. CMN (100 mg/kg/day, dissolved in DMSO) was administered to the third group (CP+CMN) intragastrically for 14 days and a single dose of CP (150 mg/kg) was injected intraperitoneally on the seventh day of the experiment. All rats were sacrificed 24 hours after the last dose of CMN and their bladders were removed and fixed in 10% formalin solution. After routine tissue processing, sections were stained with hematoxylin-eosin (H&E) for histological examination, or with anti-nuclear factor kappa B (NF-kB) antibody for immunohistochemical assay. The data were analyzed statistically.

RESULTS: In control animals, bladders showed normal histology. In contrast, CP treatment caused hemorrhage, inflammation and edema in the lamina propria, and displayed hemorrhage and hyperplasia in the urothelium. In addition, immunoreactivity of NF-kB significantly increased in CP group compared with the control group. Treatment with CMN exhibited significant protection against bladder mucosal damage and markedly reduced immunoreactivity of NF-kB, induced by CP.

CONCLUSION: The results of the present study suggest that, treatment with CMN may have a protective effect against CP-induced bladder damage through the inhibition of NF-kB signaling pathway.

Keywords: curcumin, bladder damage, nuclear factor-kappa B, cyclophosphamide, urothelial hyperplasia

P194

Metotreksat İle İndüklenen Testis Hasarında Proantosiyanidinin Koruyucu Etkisi

Gülşen Zengin¹, Ahmet Çelik², Nuray Bayat¹, Çiğdem Karaca¹, Mehmet Yüncü¹

¹Gaziantep Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri, Histoloji - Embriyoloji Anabilim Dalı

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

AMAÇ: Kemoterapik bir ajan olan Metotreksat (MTX) ile hasar oluşturulmuş sıçan testisinde Proantosiyanidinin (PRO) koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlandı.
GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmada 26 adet Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Kontrol grubunda 5, diğer gruplarda 7 adet sıçan olmak üzere 4 grup oluşturuldu.

Grup1: Kontrol (200mg/kg/OR/7gün/SF)

Grup2: PRO (200mg/kg/OR/7gün)

Grup3: MTX (20mg/kg/ip/tek doz)

Grup4: PRO (200mg/kg/OR/7gün)+MTX (20mg/kg/ip/tek doz)

Deney sonunda sıçanlar sakrifiye edildi. Alınan testis dokularına ışık ve elektron mikroskopu için rutin histolojik doku takip işlemleri uygulandı. Işık mikroskopu için parafin bloklar, elektron mikroskop için rezin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan Leica RM 2245 mikrotomunda 5 µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilin-Eozin (H-E) boyası uygulandı. Resin bloklardan da 10-20 nm kalınlığında kesitler alınıp uranil asetat ile boyama yapıldı. Işık mikroskopik kesitler, Kameram ve cellSens Analiz Sistemi ve Leica DM 750 ışık mikroskopu ile incelendi. ×10'lük büyütmede her grupta 70 seminifer tübül çapı ve aynı tübülün dört farklı bölgesinden germinal epitel kalınlığı ölçülerek histopatolojik skorlama yapıldı. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro wilk testi ile test edildi. Normal dağılıma uyan değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmasında ANOVA testi ve LSD testi kullanıldı. Testis dokusunda MDA, SOD ve GPX biyokimyasal parametreleri çalışıldı. Çalışmanın analizlerinde SPSS 22.0 programı kullanıldı.

BULGULAR: Kontrol ve PRO gruplarına ait testis dokuları normal histolojik yapıda izlendi. MTX grubunun testis dokularında ise; seminifer tübül çapında (236,66±18,44) ve aynı tübüldeki germinatif epitel kalınlığında (25,20±4,34) belirgin incelleme tesbit edildi (p=0,001). Ayrıca bu grupta germinatif epitelde dejenerasyon ve bazal membranda ayrılma, lümen hücre dökülmesi ve vakuolizasyon gibi histopatolojik bulgular gözlemlendi. MTX+PRO grubunda ise proantosiyanidinin tübül çapını (334,38±23,63) ve epitel kalınlığındaki (32,90±2,63) azalmayı anlamlı ölçüde iyileştirdiği gözlemlendi (p=0.001). MTX grubunun elektron mikroskop incelemesinde, membrana propria ve bazal laminanın kalınlaşmış düzensizleştiği, sertoli hücreleri arasında, hücreler arası mesafenin arttığı izlendi. MTX+PRO grubunun elektron mikroskopik olarak incelenmesinde, membrana propriyanın kontrol grubu ile benzer özelliklere sahip olduğu gözlemlendi. Biyokimyasal parametrelerin analiz sonuçlarında SOD, MDA ve GPX değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düzelleme tesbit edildi (p=0,000).

SONUÇ: Çalışmamızın sonunda testis dokusu üzerinde MTX ile oluşturulan hasar modelinde PRO'nun koruyucu etkileri olduğu gözlemlendi.

ANAHTAR KELİMELER: Metotreksat, Proantosiyanidin, Testis,

Anahtar Kelimeler: Metotreksat, Proantosiyanidin, Testis,

Protective Effect of Proanthocyanidin on Methotrexate Induced Testicular Damage in Rats

Gülşen Zengin¹, Ahmet Çelik², Nuray Bayat¹, Çiğdem Karaca¹, Mehmet Yüncü¹

¹Gaziantep University Basic Medical Sciences, Histology-Embryology Department

²Kahramanmaraş Sütçü İmam University Medical Biochemistry Department

AİM: We aimed to investigate whether the protective effects of Proanthocyanidin(PRO) on Methotrexate(MTX) induced testicular damage in rats.

MATERIALS-METHODS: In this study 26 Wistar Albino male rats were used. There are 5 rats in control group, including 7 rats in other groups, 4 groups were formed.

Group1: Control(200mg/kg/OR/7days/SF)

Group2: PRO(200mg/kg/OR/7days)

Group3: MTX(20mg/kg/ip/single dose)

Group4: PRO(200mg/kg/OR/7days)+MTX(20mg/kg/ip/single dose)

At the end of the experiment, rats were sacrificed. Testicular tissues from rats were taken and routine histological process was performed for light and electron microscopy. Tissues were prepared in paraffin blocks for light microscopy and resin blocks for electron microscopy. A sections were taken from paraffin blocks in 5µm thick with a Leica RM2245 microtome and stained with Hematoxylin-Eosin(HE) stain. The sections taken from resin blocks with 10-20nm thickness were stained with uranyl acetate. Light microscopic sections were observed with a Kameram and cellsens Analysis System and LeicaDM750 light microscope. The histopathological scoring was done at ×10 magnification by measuring 70 seminiferous tubule diameters in each group and the thickness of the germinal epithelium of the same tubule from 4 different sides. Conformity of the normal distribution of numerical data tested with Shaphiro Wilk test. Comparison between the groups of matched variables in normal distribution used a ANOVA and LSD tests. At testicular tissues were studied MDA, SOD and GPX biochemical parameters. SPSS 22.0 was used in the analysis of the study.

RESULTS: Testicular tissues of the Control and PRO groups were observed with normal histological structure. We have detected a significant reduction ($p=0,001$) in the seminiferous tubule diameter ($236,66\pm 18,44$) and the thickness of germinal epithelium in the same tubule ($25,20\pm 4,34$) of the testicular tissues in the MTX group. Also in this group were observed a histopathological findings like a degeneration of germinal epithelium and separation of basal membrane, luminal cell outpouring and vacuolization. At the MTX+PRO group was observed that proanthocyanidin significantly improve ($p=0,001$) the tubule diameter ($334,38\pm 23,63$) and significant decreases in thickness ($32,90\pm 2,63$) of the epithelium. At the MTX group investigations with electron microscopy was observed disordered and thickening of membrane propria and basal lamina, the increased distance between sertoli cells and disorder in the cell. The damage was observed substantially remedied in this group of electron microscopy investigations. At the electron microscopic examination of the MTX+PRO group, membrane propria was observed with similar properties of the control group. The result of the biochemical parameter analyses SOD, MDA and GPX values were observed with significant improvement ($p=0,000$).

CONCLUSİONS: At the damage model of testicular tissues induced by MTX was observed that the protective effect of the PRO.

Keywords: Methotrexate, Proanthocyanidin, Testis,

P195

Cisplatin Kaynaklı Karaciğer Hasarında CAPE'nin Antiapoptotik Rolünün Belirlenmesi

Deniz Ünal, Bünyami Ünal, Nurhan Akaras, Tuğba Bal, Özlem Özgül Abuç, Hilal Atılav
Atatürk Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Erzurum

GİRİŞ-AMAÇ: Kemoterapi, kanser hastalığının seyrinin yavaşlatılması, yaşam süresinin uzatılması ve kalitesinin daha iyi olmasının sağlanması için büyük öneme sahip bir tedavi yöntemidir. Yaygın olarak kullanılan ajanlardan biri olan cisplatin, (cis-diamminedichloroplatinum II, CDDP) tedavi ediciliğinin yanı sıra birçok yan etkiye de sahiptir. Daha önce yapılan çalışmalarda cisplatinin nörotoksik, hepatotoksik, nefrotoksik, gonadotoksik ve gastrointestinal sistem üzerine toksik etkisi olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmadaki amacımız, Honeybee propolis (Arı sütü) ekstraktında bulunan bir flavonoid olan, antoksidan, antiinflamatuvar ve immünmodulatör etkiye sahip olduğu bilinen CAPE'nin, Cisplatin kaynaklı sıçan karaciğer dokularında oluşabilecek hepatotoksisite üzerine olası koruyucu etkisinin, histopatolojik olarak gösterilmesi ve etki mekanizmasının aydınlatılmasıdır. **YÖNTEM-GEREÇ:** On sekiz 200 -300 g ağırlığında Sprague-Dawley sıçan, 6'şarlı (1) Kontrol grubu; (2) Cisplatin grubu (5mg/kg-ip) ve (3) Cisplatin + Cape (10 µmol/kg-ip) grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. CAPE etken maddesi 7 gün boyunca sıçanlara uygulandı. Deney sonunda tüm hayvanlardan karaciğer örnekleri alındı. Karaciğer dokusu histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmek üzere fiksasyon, dehidratasyon, şeffaflaştırma ve parafinizasyon işlemlerine tabi tutuldu (Leica Tp1020). Elde edilen 4µm kalınlığındaki kesitlerin bir kısmı Hematoxylin-Eosin (H-E) boyası ile bir kısmı da VENTANA BenchMark GX Sistemi (Ventana Medical Systems) cihazında Caspase-3 antikoruna ile immünohistokimyasal olarak boyandı.

BULGULAR-SONUÇ: Yapılan histopatolojik değerlendirmeler sonucunda, kontrol grubu karaciğer dokusunun genel yapısı normal olarak izlenmekte iken, Cisplatin grubunda özellikle zone-3'de yer alan sinüzoidlerde düzensizlik ve dilatasyon, hepatosit çekirdeklerinde piknotik değişiklikler ve doku genelinde konjesyon izlendi. Cisplatin + Cape grubunun mikroskobisinde ise, zone-3'te sinüzoidal dilatasyonun ve konjesyonun azaldığı; hepatositlerdeki hasarın sınırlandırıldığı gözlemlendi.

İmmünohistokimyasal olarak Caspase 3Ab ile pozitif boyanan hücreler Stereoinvestigator ile değerlendirildi ve immünopozitif hücre sayısal yoğunluğu sırasıyla Kontrol, Cisplatin ve Cisplatin + Cape grupları için 25,89,154 olarak hesaplandı (P<0,05 SPSS, versiyon:19). Sonuç olarak bu çalışma ile CAPE nin, Cisplatin kaynaklı hepatotoksisitenin önlenmesinde apoptotik yolda önemli bir rol oynayan Caspase-3'ü inhibe eden hepatoprotektif bir ajan olduğu belirlenmiş ve literatüre önemli bir katkı sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Cape, Caspase-3, Cisplatin, Karaciğer, Sıçan

Determining of the Antiapoptotic Role of CAPE on Cisplatin-Induced Liver Damage

Deniz Ünal, Bünyami Ünal, Nurhan Akaras, Tuğba Bal, Özlem Özgül Abuç, Hilal Atılav
Department of Histology and Embryology, Atatürk University, Erzurum

INTRODUCTION: Chemotherapy is great importance treatment in the retarding of progression, of cancer disease, extension of life expectancy and quality. One of the widely used agent cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum ii, CDDP) has many side effects as well as the treatment appeal therapeutic. In previous studies it has been reported that cisplatin has toxic effects on many systems such as neurotoxicity, hepatotoxicity, nephrotoxicity, spermatotoxicity and toxicity of gastrointestinal system. Our aim in this study was to show histopathologically possible protective effect of CAPE which is a flavonoid in the extract of Honey Bee-propolis (bee milk) and known as antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory and to elucidate action mechanism of CAPE on cisplatin-induced rat liver tissue in which may occur hepatotoxicity.

MATERIALS-METHODS: 200 -300 g weighing, 18 Sprague-Dawley male rats were used in the experiment. The rats were randomly divided into three groups of six numbers as follows: (1) Control group, (2) Cisplatin group (5mg/kg-ip) and (3) Cisplatin + CAPE (10 µmol/kg-ip). At the end of the experiment liver tissue samples were taken from all rats. For histopathological and immunohistochemical examination, the samples were subjected to fixation, dehydration, transparent and paraffinization procedures (Leica Tp1020). Some of the obtained sections of 4µm thickness were stained with Hematoxylin-eosin (H&E) and the others were immunohistochemically

stained with Caspase-3 antibody on VENTANA Benchmark GX system device.

Results and CONCLUSION: In the results of histopathological evaluations, the general structure of the liver tissue was normally monitored untreated control group. However in the Zone-3 of cisplatin group disturbance, sinusoidal dilation, pyknotic changes in hepatocyte nuclei and congestion were observed. In microscopy of Cisplatin + CAPE group, reduction of sinusoidal dilatation and congestion in zone-3 and damage in hepatocytes were found to be limited. Caspase-3Ab positive staining cells were assessed with Stereoinvestigator and immunopositive cell numerical density for Control, Cisplatin and Cisplatin + CAPE groups were 25, 159, 84 respectively ($P < 0.05$, SPSS, version 19). Consequently it was designated that CAPE plays an important role in the apoptotic pathway by inhibiting caspase-3 in the prevention of cisplatin-induced hepatotoxicity and so these results provided significant contribution to the literature.

Keywords: CAPE, Caspase-3, Cisplatin, Rat, Liver,

Kaynakça / References: 1. Divya MK, Lincy L, Raghavamenon AC, Babu TD. Ameliorative effect of Apodytes dimidiata on cisplatin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Pharm Biol.* 2016 Mar 3: 1-9. 2. Sun Y, Yang J, Wang LZ, Sun LR, Dong Q. Crocin attenuates cisplatin-induced liver injury in the mice. *Hum Exp Toxicol.* 2014 Aug; 33(8):855-62. 3. Taylan M, Kaya H, Demir M, Evliyaoğlu O, Selimoglu Sen H, Firat U, Keles A, Yilmaz S, Sezgi C. The Protective Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Acetylsalicylic Acid-induced Lung Injury in Rats. *J. Invest Surg.* 2016 Mar 16: 1-7. 4. Armutcu F, Akyol S, Ustunsoy S, Turan FF. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects (Review). *Exp Ther Med.* 2015 May; 9(5):1582-1588. 5. Yiş U, Topçu Y, Özbal S, Tuğyan K, Bayram E, Karakaya P, Yilmaz O, Kurul SH. Caffeic acid phenethyl ester prevents apoptotic cell death in the developing rat brain after pentylenetetrazole-induced status epilepticus. *Epilepsy Behav.* 2013 Nov; 29(2):275-80.

P196

Cisplatin Uygulanan Ratların Karaciğeri Üzerine Amifostinin Olası Koruyucu Etkisinin Değerlendirilmesi: Histopatolojik, İmmünohistokimyasal ve Stereolojik Bir Çalışma

Tuğba Bal, Deniz Ünal, Bünyami Ünal, Nurhan Akaras, Hilal Atılay, Özlem Özgül Abuç
Atatürk Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Erzurum

GİRİŞ: İlk kez 1950'li yıllarının sonlarında Amerika Ordusu tarafından geliştirilmiş olan Amifostin (etanetiyol, 2-[(3-aminopropil)]- dihidrojen fosfat(ester)), dokularda alkalin fosfataz ile tiyole dönüşerek sitoprotektif olarak etki etmektedir. Literatürde yapılan çalışmalarda; kemoterapiye bağlı olarak gelişen nötropeni, nefrotoksisite, ototoksisite, nörotoksisite, mukozit ve kserostomi'yi önlemede amifostinin koruyucu etkisinin bulunduğu rapor edilmiştir. Ancak henüz karaciğer üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Kemoterapötik ajan olan Cisplatin doza bağlı olarak hepatotoksiteye neden olmaktadır. Yaptığımız bu çalışmadaki amaç; cisplatin kaynaklı karaciğer hepatotoksitesini üzerine olası amifostinin koruyucu etkisini, stereolojik, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak araştırmaktır.

MATERYAL-METOD: Çalışmada 200 -300 g ağırlığında olan 18 adet Sprague-Dawley sıçan 3 gruba ayrıldı:

(Grup-1) Kontrol grubu (n=6): Herhangi bir uygulama yapılmadı.

(Grup-2) Cisplatin grubu (n=6): İntraperitoneal olarak tek doz 5mg/kg cisplatin uygulandı.

(Grup-3) Cisplatin + Amifostine (n=6): Tek doz Cisplatin enjeksiyonundan 24 saat önce başlayıp sonraki 7 gün boyunca 400 mg/kg/gün amifostin (i.p.) uygulandı.

Tüm deneklerden alınan karaciğer örnekleri histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmek üzere %10'luk formalin solüsyonunda fikse edildi, dereceli alkol serilerinde dehidrate edildi, ksilol ile şeffaflaştırıldı ve parafin bloklara gömüldü. Yaklaşık 5µm kalınlığında mikrotom ile alınan kesitler rutin inceleme için Hematoxylin-Eosin (H-E); immünohistokimyasal inceleme için Caspase-3 antikoru ile boyandı ve ışık mikroskopuyla değerlendirildi. Caspase-3 immünpozitifliği gösteren hepatositlerin sayısal yoğunluğu stereoinvestigator ile fractionator probu kullanılarak hesaplandı.

SONUÇLAR: Yapılan histopatolojik değerlendirmelerde Grup-1 ile karşılaştırıldığında, Grup-2 de vena centralis çevresinde yer alan sinüzoidal boşluklarda genişleme ile venalarda konjesyon ve etrafında yer alan hepatositlerde dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Grup-3'e ait doku örneklerinde ise, sinüzoidal genişlemenin ve konjesyonun yanı sıra hepatosit dejenerasyonunun azaldığı görülmüştür. Stereolojik analizler sonucunda immün-pozitif hepatosit yoğunluğu Grup-1'de 25 Grup-2'de 159, Grup-3'te 60 olarak hesaplandı. Sonuçlar p<0,05'e göre istatistiksel olarak anlamlıydı. (SPSS-One Way Anova, versiyon-19.00) Yaptığımız çalışma Cisplatin'in karaciğer dokusunda apoptozu indüklemek suretiyle hepatotoksik etki oluşturduğunu, ortaya çıkan hasarın ise amifostin tarafından önemli ölçüde azaltıldığını açıkça ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Amifostin, Caspase-3, Cisplatin, Hepatotoksisite, Sıçan

Evaluation of Possible Protective Effects of Amifostine on Cisplatin Treated Rat Liver: A Histopathological, Immunohistochemical and Stereological Study

Tuğba Bal, Deniz Ünal, Bünyami Ünal, Nurhan Akaras, Hilal Atılay, Özlem Özgül Abuç
Department of Histology and Embryology, Atatürk University, Erzurum

INTRODUCTION: In the late 1950s, Amifostine (etanetiyol, 2 - [(3-aminopropyl)] - dihydrogen phosphate (ester)) developed by American Army for the first time acts as cytoprotective by transforming into thiol with alkaline phosphatase in tissues. Studies in the literature have been reported that Amifostine has protective effects in the prevention of neutropenia, nephrotoxicity, ototoxicity, neurotoxicity, mucositis and xerostomia induced by chemotherapy. But it has not yet seen a study on the liver. Chemotherapeutic agent Cisplatin dose-dependently causes hepatotoxicity. The aim of our work was to investigate possible protective effect of amifostine on cisplatin-induced liver hepatotoxicity via stereological, histopathological and immunohistochemical analyses.

MATERIALS-METHODS: In this study, 200 -300 kg weighing, 18 Sprague-Dawley rats were divided into 3 groups:

(Group-1) Control group (n = 6): was no application.

(Group-2) cisplatin group (n = 6): A single dose Cisplatin 5 mg/kg were intraperitoneally administered.

(Group-3) Cisplatin + Amifostine group (n = 6): Before 24 hours single dose of Cisplatin injection amifostine 400 mg/kg (i.p.) was applied and continued to treat for 7 days.

Liver samples from all subjects for histopathological and immunohistochemical examination were fixed in 10% formalin solution, dehydrated in graded alcohol series, made pellucid with xylene and embedded in paraffin blocks. Sections at approximately 5µm thickness via microtome were stained with Hematoxylin-eosin (H-E) for routine examination and also stained with Caspase-3 antibody for immunohistochemical analysis and samples were assessed by light microscopy. Numerical density of Caspase-3 immunopozitive hepatocytes were calculated by using fractionator method for stereological analyses.

RESULTS: In the histopathological evaluation when compared to Group-1, the expansion in the sinusoidal spaces around central veins, congestion and degenerative changes in hepatocytes surrounding veins were observed in Group-2. It was seen that the decrease of sinusoidal dilatation and congestion as well as hepatocyte degeneration in the tissue samples of Group-3. In the results of stereological analyses, immune-positive hepatocytes density was calculated as 25 in Group-1, 159 in Group-2 and 60 in Group-3 respectively. Results was statistically significant according to $p < 0.05$ (One-Way ANOVA-SPSS, version-19:00). Our study revealed clearly that Cisplatin caused hepatotoxic effects by inducing apoptosis in the liver tissue but induced-damage were decimated by Amifostine.

Keywords: Amifostine, Caspase-3, Cisplatin, Hepatotoxicity, Rat

Kaynakça / References: 1. Tokatli F, Uzal C, Doganay L, Kocak Z, Kaya M, Ture M, Kurum T, Alkaya F, Karadag H, Kutlu K. The potential cardioprotective effects of amifostine in irradiated rats. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004 Mar 15;58(4):1228-34. 2. Uzal C, Durmus-Altun G, Caloglu M, Ergülen A, Altaner S, Yigitbasi NO. The protective effect of amifostine on radiation-induced acute pulmonary toxicity: detection by (99m)Tc-DTPA transalveolar clearances. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2004 Oct 1;60(2):564-9. 3. Wasserman TH, Brizel DM. The role of amifostine as a radioprotector. *Oncology (Williston Park).* 2001 Oct;15(10):1349-54. 4. Divya MK, Lincy L, Raghavamenon AC, Babu TD. Ameliorative effect of Apodytes dimidiata on cisplatin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Pharm Biol.* 2016 Mar 3; 1-9. 5. Sun Y, Yang J, Wang LZ, Sun LR, Dong Q. Crocin attenuates cisplatin-induced liver injury in the mice. *Hum Exp Toxicol.* 2014 Aug; 33(8):855-62.

P197

Wistar Albino Sıçanlarda Sisplatinin İndüklediği Testis Hasarına Karşı Kurkuminin Koruyucu Etkisi

Nuray Bayat, Hülya Birinci, Muhammetnur Tekayev, Mehmet Yüncü
Gaziantep Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı

AMAÇ: Kemoprofilaktik bir ajan olan Sisplatin (CİS) ile oluşturulmuş sıçan testislerindeki histopatolojik değişiklikleri ve Kurkiminin (CUR) koruyucu etkilerinin olup olmadığını araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmamızda 26 adet Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Kontrol grubunda 5, diğer üç grupta 7 adet sıçan olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Grup1: Kontrol (2cc/kg/DMSO ip/6gün)

Grup2: CUR (200mg/kg CUR ip/6gün)

Grup3: CİS (2cc/kg/DMSO ip/6gün, 3.gün 20mg/kg CİS ip/tek doz)

Grup4: CİS+CUR (200mg/kg CUR ip/6 gün, 3.gün 20mg/kg CİS ip/tek doz)

Deney sonunda sıçanlar ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi. Çıkarılan testis dokularına rutin histolojik doku takip işlemleri uygulandı ve parafine gömüldü. Leica RM 2245 mikrotomunda parafin bloklardan 5µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere Hematoksilen-Eozin (H-E), Masson's Trikróm (TRI), Periyodik Asit-Schiff (PAS) ve Caspase3 İmmün boyama yöntemleri uygulandı. Ve apoptotizis değerlendirilmesi için H skoru kullanıldı. Kesitler Kameram ve cellSens Analiz Sistemi ve Leica DM 750 ışık mikroskobu ile incelendi. Seminifer tübül çapı ve aynı tübülün dört farklı bölgesinden germinal epitel kalınlığı ×10'lik büyütmede ölçüldü. Her grupta 70 seminifer tübül incelenerek histopatolojik skorlama yapıldı. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu için Shapiro Wilk testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan değişkenlerin gruplararası karşılaştırılmasında ANOVA ve LSD testleri kullanıldı. Analizlerde SPSS 22.0 kullanıldı.

BULGULAR: Kontrol ve Kurkumin gruplarına ait testis dokuları normal histolojik yapıda izlendi. Sisplatin grubunun dokularında ise; kontrol grubuna göre seminifer tübül çapında ($p=0,001$) ve aynı tübüldeki germinatif epitel kalınlığında ($p=0,001$) belirgin incelmeye tesbit edildi. Yine bu gruptaki tübüllerin germinatif epitelinde dejenerasyon ve bazal membrandan ayrılma, lümene hücre dökülmesi gibi histopatolojik bulgular izlendi. CİS+CUR grubunda ise Kurkuminin tübül çapını ve epitel kalınlığındaki azalmayı anlamlı düzeyde iyileştirdiği tesbit edildi ($p=0,001$). TRI boyamada perivasküler fibrozis, interselüler damarlarda konjesyon, damar duvarı bağ doku artışı ve kapsül içi kanama odakları, PAS boyamada ise seminifer tübül etrafında hyalinizasyon, germinatif epitelde dökülme tespit edildi. Caspase3 immünboyama ile saptadığımız apoptozis CİS grubunda artış gösterirken ($p=0,001$), CİS+CUR grubunda anlamlı azalma gözlemlendi ($p=0,001$).

SONUÇ: Bu çalışmada testis dokusu üzerinde CİS ile oluşturduğumuz hasar modelinde CUR'nin koruyucu etkileri olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Testis, Sisplatin, Kurkumin,

Protective Effect Of Curcumin On Cisplatin Induced Testicular Damage İn Wistar Albino Rats

Nuray Bayat, Hülya Birinci, Muhammetnur Tekayev, Mehmet Yüncü
Gaziantep University Basic Medical Sciences, Histology -Embryology Department

AİM:We aimed to investigate the histopathologic changes on rat testicular damage induced by a chemoprolifactic agent called Cisplatin(CİS) and protective effects of Curcumin(CUR) on it.

MATERIALS-METHODS: In our study 26 Wistar Albino male rats were used. There are 5 rats in control group, including 7 rats in other groups, 4 groups were formed.

Group1: Control(2cc/kg/DMSO ip/6days)

Group2: CUR(200mg/kg CUR ip/6days)

Group3: CİS(2cc/kg/DMSO ip/6days, 3.day 20mg/kg CİS ip/single dose)

Group4: CİS+CUR(200mg/kg CUR ip/6days, 3.day 20mg/kg CİS ip/single dose)

At the end of the experiment, rats were sacrificed by ketamine. Testicular tissues from rats were taken, routine histological process was performed and embedded in paraffin. A sections were taken from paraffin blocks in 5µm thick with a LeicaRM2245 microtome. Sections were stained with Hematoxylin-Eosin(H-E), Masson's Trichrome(TRI), Periodic Acid-Schiff(PAS) and Caspase3 Immune

staining. H scores were used for evaluating the apoptosis. Sections were observed with Kameram and cellSens Analysis System and LeicaDM750 light microscope. Seminiferous tubule diameters in each group and the thickness of the germinal epithelium of the same tubule from four different sides were measured at $\times 10$ magnification. The histopathological scoring was done by measuring the 70 seminiferous tubules. Conformity of the normal distribution of numerical data was tested by Shapiro Wilk test. The comparison between the groups of matched variables in normal distribution was used a ANOVA and LSD tests. SPSS 22.0 was used in analysis of the study.

RESULTS: The testicular tissues of Control and CUR groups were observed with normal histological structure. We have detected a significant reduction in the seminiferous tubule diameter ($p=0,001$) and the thickness of germinal epithelium in the same tubule ($p=0,001$) of the testicular tissues in CIS group than control group. In the same group were observed a histopathological findings like a degeneration of the germinal epithelium and separation of the basal membrane and luminal cell outpouring. At the CIS+CUR group was observed that CUR significantly improve the tubule diameters and decreases in thickness of the epithelium ($p=0,001$). At the TRI staining method were perivascular fibrosis, intracellular vascular congestion, an increase in the connective tissue of the vessel wall and capsular hemorrhages. At the PAS staining method were observed an hyalinisation around of the seminiferous tubule and loss in germinal epithelium. At our Caspase3 immune staining, apoptosis in the CIS group was increased ($p=0,001$), In CIS+CUR group was observed an significantly decreases ($p=0,001$).

CONCLUSİONS: In this study was observed that the protective effects of the CUR against the damaged model induced by CIS in testicular tissues.

Keywords: Testis, Cisplatin, Curcumin

P198

{*Curcuma longa*} (Zerdeçal) Kökü Ekstraktının Cisplatin Kaynaklı Karaciğer Toksikitesi Üzerine Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

Bünyami Ünal, Deniz Ünal, Tuğba Bal, Nurhan Akaras, Hilal Atılay, Özlem Özgül Abuç
Atatürk Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Erzurum

GİRİŞ: Curcumin (1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) zerdeçal olarak da bilinen, Güney Doğu Asya'da yetişen *Curcuma longa* bitkisinin kökünden elde edilen bir bileşik olup Hindistan ve Güney Asya'da inflamasyonun, karaciğer ve safra kesesi hastalıklarının, öksürük ve birçok tümörün tedavisinde kullanılmaktadır⁵²⁻⁵⁵. Cisplatin ise çeşitli kanser türlerine karşı kullanılan kemoterapötik bir ajan olup doza bağımlı olarak pekçok organda hasara neden olmaktadır. Cisplatin'in toksik etkisi bilinse de, bu ilacın etki mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Daha önceki çalışmalarda oksidatif stresi, apoptozu ve inflamasyonu artırma yoluyla açıklanmaya çalışılmıştır. Diğer taraftan Curcumin'in oksidatif stres karşıtı, antimikrobiyal, antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmadaki amacımız deneysel olarak Cisplatin'in sebep olduğu hepatotoksite üzerine Curcumin'in olası iyileştirici etkisini incelemektir. **Metaryal ve METOD:** Yapılan çalışmada 200 -300 g ağırlığında 18 adet Sprague-Dawley cinsi sıçanlar herbirinde 6'şar hayvan olacak şekilde aşağıdaki gibi rastgele olarak 3 gruba ayrılmıştır.

KONTROL: Herhangi bir işlem yapılmayan grup

CİS: Cisplatin (5 mg/kg-ip) uygulanan grup

CİS+CUR: Cisplatin + Curcumin (10 mg/kg) uygulanan grup. Curcumin, Cisplatin uygulamasından 24 saat önce başlanarak, 7 gün boyunca gavaj yoluyla uygulanmıştır. Deney sonunda tüm hayvanlardan yaklaşık 1 cm³'lük karaciğer örnekleri alınarak, histolojik doku takip işlemi yapıldı (Leica Tp1020) ve parafin bloklara gömüldü. Her bir bloktan alınan 4 ile 5µm kalınlığındaki kesitler Hematoxylin-Eosin (H-E) ve Caspase-3 Ab ile boyandı. Bu kesitlerden yaklaşık 1000'er tane hepatosit rastgele örnekleme ve fractionator metodu kullanılarak stereolojik olarak değerlendirildi ve immünpozitif hücre sayısal yoğunluğu hesaplandı. Elde edilen sonuçların istatistiksel anlamlılığı (SPSS ver-19, one-way ANOVA) p<0.05'e göre değerlendirildi.

BULGULAR-SONUÇ: KONTROL grubuna ait karaciğer dokusunun genel yapısı, V.centralis ve çevresindeki hepatosit kordonları ile sinüzoidler ve portal alan ve bileşenleri normal olarak değerlendirildi. CİS grubuna ait örneklerde ise merkezi ven çevresindeki hepatosit çekirdeklerinde piknotik görünüm, dejenerasyon ve sinüzoidlerde düzensizlik dikkat çekiciydi. CİS+CUR grubunda ise CİS grubuna oranla özellikle sinüzoidlerdeki düzensizliğin azaldığı, sinüzoidleri oluşturan hepatositlerde piknozisin azaldığı gözlemlendi ancak bu değişiklikler çok anlamlı değildi. Diğer taraftan Caspas 3 immünreaktivitesi, CİS grubunda KONTROL grubuna göre yüksek bulundu. CİS + CUR grubunda ise CİS grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir fark belirlenmedi (p>0.05). Cisplatinin sebep olduğu olumsuz etkilerin giderilmesi için kullanılan Curcuminin karaciğer dokusu üzerinde yararlı yönü gözlemlendi fakat immünoreaktivite yönünden anlamlılık gözlenmedi. Böylece daha ileri çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Caspase-3, Cisplatin, Curcumin, Karaciğer, Sıçan

Investigation of Possible Protective Effects of {*Curcuma longa*} (turmeric) Root Extract on Cisplatin-Induced Hepatotoxicity

Bünyami Ünal, Deniz Ünal, Tuğba Bal, Nurhan Akaras, Hilal Atılay, Özlem Özgül Abuç
Departmen of Histology and Embriyology, Atatürk University, Erzurum

INTRODUCTION: Curcumin (1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) valve known as turmeric is a compound obtained from *Curcuma longa* plant grown in South East Asia and is used to treat inflammation, liver and gallbladder diseases, cough and many tumors in India and South Asia. The cisplatin is the chemotherapeutic agent used against various cancers and causes dose-dependent damage in many organs. Although it is known toxic effects of cisplatin, the drug's mechanism of action is unclear. In previous studies it has been tried to explain that Cisplatin increases oxidative stress, apoptosis and inflammation. Curcumin has been reported to have antimicrobial and anti-inflammatory effects as well as against oxidative stress. Our aim in this study was to experimentally examine the potential therapeutic effect of Curcumin on cisplatin-

induced hepatotoxicity.

MATERIALS-METHODS: In this study, 200-300 kg, 18 Sprague-Dawley rats, each has 6 animals, were randomly divided into 3 groups as follows:

CONTROL: No application

CIS: Cisplatin (5 mg/kg ip) treated group

CIS + CUR: Curcumin+Cisplatin (10 mg/kg) treated group. Curcumin was administered by gavage for 7 days by starting 24 hours prior to cisplatin applied. At the end of the experiment histological tissue processing were performed with liver samples approximately 1 cm³ from all animals and embedded in paraffin blocks. Sections of 4 to 5µm thickness taken from each block were stained with Hematoxylin-eosin (H-E) and Caspase-3 Ab. About 1000 hepatocytes from the sections were stereologically evaluated using random sampling and fractionator method and immunopositive cells numerical density was calculated. Statistical significance of the results (SPSS-19, one-wayANOVA) was evaluated according to $p < 0.05$.

Results and CONCLUSION: The overall structure of the liver tissue in the CONTROL group, hepatocyte cords around the V.centralis, sinusoids, portal area and its components were normal. In the examples of CIS group, pyknotic appearance in the nuclei of hepatocytes surrounded central vein, irregular sinusoids and degeneration was remarkable. Decreased pyknosis in hepatocytes and especially in the sinusoidal irregularities were found in the CIS+CUR group compared to the CIS group but this reduction was not significant. Caspase-3 immunoreactivity in CIS group was significantly higher than the control group. However in CIS+CUR treated group it was not determined statistically significant difference when compared to the CIS group. Beneficial aspects of Curcumin on the negative effects caused by cisplatin was observed in the liver tissue but significance was not detected in terms of immunoreactivity. Thus, it was concluded that further studies should be done.

Keywords: Caspase-3, Cisplatin, Curcumin, Liver, Rat

Kaynakça / References: 1. Sreedhar R, Arumugam S, Thandavarayan RA, Karuppagounder V, Watanabe K. Curcumin as a therapeutic agent in the chemoprevention of inflammatory bowel disease. *Drug Discov Today*. 2016 Mar 16. 2. Yu W, Zha W, Ke Z, Min Q, Li C, Sun H, Liu C. Curcumin Protects Neonatal Rat Cardiomyocytes against High Glucose-Induced Apoptosis via PI3K/Akt Signalling Pathway. *J Diabetes Res*. Epub 2016 Feb 16. 3. Machova Urdzikova L, Karova K2, Ruzicka J, Kloudova A, Shannon C, Dubisova J, Murali R, Kubinova S, Sykova E, Jhanwar-Uniyal M, Jendelova P. The Anti-Inflammatory Compound Curcumin Enhances Locomotor and Sensory Recovery after Spinal Cord Injury in Rats by Immunomodulation. *Int J Mol Sci*. 2015 Dec 31; 17(1). 4. Divya MK, Lincy L, Raghavamenon AC, Babu TD. Ameliorative effect of *Apodytes dimidiata* on cisplatin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Pharm Biol*. 2016 Mar 3; 1-9. 5. Sun Y, Yang J, Wang LZ, Sun LR, Dong Q. Crocin attenuates cisplatin-induced liver injury in the mice. *Hum Exp Toxicol*. 2014 Aug; 33(8):855-62.

P199

Wistar Albino Sıçanlarda Sisplatinin İndüklediği Akciğer Hasarına Karşı Kurkuminin Koruyucu Etkisi

Nuray Bayat, Büşra Şen, Şemsettin Martbaş, Mehmet Yüncü
Gaziantep Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı

AMAÇ: Sisplatin (CIS) tek veya diğer kemoteropatik ajanlarla kombine olarak kullanılan platin grubu bir ajandır. Kurkiminin (CUR) ise antioksidan ve anti enflamatuvar özellikleriyle nörolojik, solunum karaciğer, kalp-damar hastalıkları ve kanser terapisinde kullanılır. Bu çalışmada CIS ile indüklenmiş sıçan akciğer hasarında CUR'nun koruyucu etkisini araştırmak amaçlandı.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmamızda 26 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Kontrol grubunda 5, diğer üç grupta 7 adet sıçan olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Grup1: Kontrol (2cc/kg/DMSO ip/6gün)

Grup2: CUR (200mg/kg CUR ip/6gün)

Grup3: CIS (2cc/kg/DMSO ip/6gün, 3.gün 20mg/kg CIS ip/tek doz)

Grup4: CIS+CUR (200mg/kg CUR ip/6 gün, 3.gün 20mg/kg CIS ip/tek doz)

Deney sonunda sıçanlar ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi. Alınan akciğer dokularına rutin histolojik doku takip işlemleri uygulandı ve parafine gömüldü. Leica RM2245 mikrotomunda parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere Hematoksilin-Eozin (H-E), Masson's Trichrome (TRI), Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyama yöntemleri uygulandı. PAS boyamada ×40 büyütmede her kesitte on alanda alveolar makrofaj cellSens Analiz Sisteminde sayıldı. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu için Shaphiro Wilk testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan değişkenlerin gruplararası karşılaştırılmasında ANOVA ve LSD testleri kullanıldı. Analizlerde SPSS 22.0 paket programı kullanıldı.

BULGULAR: Kontrol grubuna ait akciğer dokularında bronş, broşiol ve alveol yapıları normal histolojide izlendi. CUR grubuna ait dokularda da kontrole yakın bulgular gözlemlendi. CIS grubunun akciğer dokularında H-E boyamada; alveolar yapıda bozulma ve septalarda kalınlaşma, alveolar ve vasküler konjesyon, hemoraji alanları izlendi. TRI boyamasında ise bronş duvar kalınlaşması, PAS boyamada alveolar makrofaj artışı (p=0,001) gözlemlendi. CIS+CUR grubunda ise alveolar makrofaj sayısı (p=0,001) olmak üzere diğer histopatolojik bulgularda da belirgin azalma tespit edildi.

SONUÇ: Çalışmanın sonunda Sisplatinle indüklenmiş akciğer hasarına karşı Kurkiminin koruyucu etkilere sahip olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Sisplatin, Kurkumin, Akciğer

Protective Effect Of Curcumin On Cisplatin Induced Lung Damage İn Wistar Albino Rats

Nuray Bayat, Büşra Şen, Şemsettin Martbaş, Mehmet Yüncü
Gaziantep University Basic Medical Sciences, Histology-Embryology Department

AİM: Cisplatin (CIS) is a single or used in combination with other chemotherapeutic agents, platinum group agent. Curcumin (CUR) with antioxidant and anti-inflammatory properties used in neurological, respiratory, liver, cardiovascular disease and cancer therapy. In this study aimed to investigate the protective effect of Curcumin in a damaged lung of rat induced by Cisplatin.

MATERIALS-METHODS: In our study 26 Wistar Albino male rats were used. There are 5 rats in control group, including 7 rats in other groups, 4 groups were formed.

Group1: Control (2cc/kg/DMSO ip/6days)

Group2: CUR (200mg/kg CUR ip/6days)

Group3: CIS (2cc/kg/DMSO ip/6days, 3.day 20mg/kg CIS ip/single dose)

Group4: CIS+CUR (200mg/kg CUR ip/6days, 3.day 20mg/kg CIS ip/single dose)

At the end of the experiment, rats were anesthetized by the ketamine and sacrificed. Lung tissues from rats were taken and routine histological process was performed and embedded in paraffin. A sections were taken from paraffin blocks in 5 µm thick with a Leica RM2245 microtome. Sections were stained with Hematoxylin-Eosin (H-E), Masson's Trichrome (TRI), Periodic Acid-Schiff (PAS) stainig. Sections were observed with Leica DM750 light microscope. In PAS stained tissue sections, at ×40 magnification alveolar macrophages in 10 areas for each section were counted by using the

cellSens Analysis System. Conformity of the normal distribution of numerical data was tested by Shapiro Wilk test. The comparison between the groups of matched variables in normal distribution was used a ANOVA test and LSD test. SPSS 22.0 software package was used in the analysis of the study.

RESULTS: Bronchi, bronchioles and alveoli structures were observed with normal histological structure in lung tissue of the Control group. Tissues of the Curcumin group also observed near with Control group. At the H-E staining of the CIS group were watched; deformity of the alveolar structure and septal thickening, alveolar and vascular congestion, hemorrhage areas. At the TRI staining method; bronchial wall thickening was observed. At the PAS staining method; increase in alveolar macrophages ($p=0,001$). At the CIS+CUR group was observed a significant decreases in alveolar macrophages ($p=0,001$) and also in histopathological findings.

CONCLUSİONS: At the end of the study was observed that protective effects of the Curcumin against the lung damage induced by Cisplatin.

Keywords: Lung, Cisplatin, Curcumin

P200

kemik defekti iyileşmesinde sistemik timokinon uygulamasının etkilerinin histomorfometrik olarak incelenmesi

Ahmet Hamdi Arslan¹, Ceyda Özçakır Tomruk¹, Elif Güzel Meydanlı², İlkay Teyyareci Özdemir³, Gonca Duygu Çapar⁴, Esmâ Kütan⁵, Ayşe Yılmaz¹, Gül Merve Yalçın⁶

¹Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı İstanbul

²İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı İstanbul

³İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı İstanbul

⁴Trakya Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı Edirne

⁵Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi İmplantoloji Ana Bilim Dalı İstanbul

⁶Okan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı İstanbul

GİRİŞ:

Kemik defektlerinin iyileştirilmesi cerrahi uygulamalarda, çevre yapıların yeniden kazanımı için oldukça önemlidir. Son yıllarda kemik iyileşmesinin çabuklaşmasına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır (1).Çeşitli büyüme faktörlerinin, [2,3] mezenkimal kök hücrelerin [4-6], lokal ya da sistemik bazı maddelerin uygulanması gibi çeşitli yaklaşımlar, kemik grefti ve dokuya biyomateryal iskele yerleştirilmesi gibi alternatifler, uygulamada bazı avantajlar sağlamaktadır. Kemik defektlerini de içeren birçok hastalığın iyileştirilmesinde, doğal ürünlerin kullanımı da son birkaç on yılda geleneksel tedavilere alternatif oluşturmuştur (7-8). Timokinon (2-metil-5-izopropil-1,4-benzokinon, TK), çörek otunun ((Nigella Sativa) biyoaktif bir bileşendir. Antihistaminik, antibakteriyel, antihipertansif, hipoglisemik, antienflamatuar ve antioksidan etkileri de içeren çeşitli farmakolojik özelliklere sahiptir. TK, yüksek oranda süperoksit temizleme kapasitesine sahiptir (9). Süperoksitler kemik rezorpsiyonu alanında, önemli rol oynayan osteoklast aktivasyonun ara molekülleridir (10).TQ, osteoklast inhibisyonu ile kemik rezorpsiyonunu azaltır (11).Bu bilgiler ışığında TK'un kemik oluşumunu hızlandırmada etkili olabileceği düşünülebilir.

AMAÇ:

Sistemik timokinon uygulamasının sıçan tibiasında cerrahi olarak oluşturulan kritik boyuttaki hasarda kemik iyileşmesine olan etkisinin değerlendirilmesidir.

Gereç YÖNTEM:

Deneyel işlemler Yeditepe Üniversitesi Hayvan Bakım ve Etik Komitesi (YÜDHEK, İstanbul, Türkiye) tarafından onaylanmıştır. Çalışmada 400 ile 450 gr ağırlığında üç aylık 21 adet sıçan (*Rattus norvegicus Albinus*, Wistar) kullanılmıştır. Çalışmaya dahil edilen sıçanların tibiasında defekt oluşturulmuş ve hayvanlar rastgele üç gruba ayrılmıştır:

1-Yalnızca cerrahi hasar oluşturulan kontrol grubu(n=7),

2-Deney grubu 1: Kemik hasarı oluşturulmadan 40 gün önce başlanarak, iyileşme süresince devam edilen sistemik timokinon uygulanmış hayvanlardan oluşturulan grup (n=7).

3-Deney Grubu 2: Sadece kemik hasarı oluşturulduktan sonra iyileşme süresince timokinon uygulanmış hayvanlardan oluşturulan grup (n=7).

Deney gruplarında her hayvana gavaj yoluyla, 10mg/kg/gün olacak şekilde timokinon uygulanmıştır. Hayvanlar cerrahi uygulamadan 28 gün sonra histopatolojik değerlendirme için sakrifiye edilmiştir. Tibia çıkarılmış ve kemik numuneleri hemen histolojik ve histomorfometrik analiz için % 10 tamponlu nötral formaline alınmıştır. De Castro çözeltisi içinde yumuşatma işleminden sonra, tüm örnekler otomatik bir cihaz ile takip edilmiş ve parafin bloklar hazırlanmıştır. Mikrotom ile 4-5 mikrometre kalınlığında kesitler alınıp hematoksilin + eosin (HE) ve Masson trichrome (MT) ile boyanmıştır. Ardından kemik defekti iyileşmesi için değerlendirilmiştir.

Sonuç ve TARTIŞMA:

Toplam hasar alanı başına düşen yeni kemik alanı oranı her iki deney grubunda (T1 ve T2) da kontrol grubuna göre önemli derecede artmıştır (p <0.005). Ancak deney grupları (T1 ve T2) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu bulgular, sıçan tibia kemik defekti modelinde, Timokinonun sistemik olarak uygulanışının yeni kemik alanı oluşumunu hızlandırmada etkili olduğunu göstermektedir. Ancak timokinonun uygulanmasındaki değişikliğin anlamlı bir fark oluşturmadığını da desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Histolojik analiz, kemik defekti, Timokinon

Histomorphometric examination of the effect of systemic administration of timokinon in the bone defect healing

Ahmet Hamdi Arslan¹, Ceyda Özçakır Tomruk¹, Elif Güzel Meydanlı², İlkay Teyyareci Özdemir³, Gonca Duygu Çapar⁴, Esmâ Kütan⁵, Ayşe Yılmaz¹, Gül Merve Yalçın⁶

¹Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Cerrahpaşa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turkey

³Department of Histology and Embryology, İstanbul Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turkey

⁴Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Trakya University, Edirne, Turkey

⁵Department of Implantology, Faculty of Dentistry, Yeditepe University, Istanbul, Turkey.

⁶Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Okan University, Istanbul, Turkey.

INTRODUCTION:

Improving bone defect is very important for reacquisition of the buildings around in surgical applications. There have been an increasing number of studies on accelerated bone healing. Several approaches, such as the local or systemic administration of growth factors [2,3] or mesenchymal stem cells [4-6], can represent advantageous alternatives to bone graft and the insertion of scaffolds of osteoinductive biomaterials. The use of natural products as an alternative to conventional treatment in treatment on various diseases including the bone defects has been on the rise in the last few decades. Thymoquinone (2-methyl-5-isopropyl-1,4-benzoquinone, TQ), is a bioactive component of black seed (*Nigella Sativa*). TQ has a variety of pharmacological properties, which include antihistamine, antibacterial, antihypertensive, hypoglycemic, anti-inflammatory, and antioxidant. Superoxides play a role as intermediate molecules in the activation of osteoclasts, which is especially important in the area of bone resorption. TQ, decreases bone resorption and inhibition of osteoclast. This information suggests that TQ may be effective in accelerating bone formation.

AIM: The aim of this study was to evaluate the effect of systemic thymoquinone (TQ) in the surgically created defects in rat tibiae.

MATERIAL-METHOD:

The experimental procedures were approved by the Yeditepe University Animal Care and Ethics Committee (YÜDHEK, Istanbul, Turkey). An animal cohort comprised of three months old rats (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), weighing between 400 to 450 gr were used. Twenty one rats were randomly allocated into 3 groups:

Control group (C): The defect was left to heal without any intervention. (n=7)

Test group 1 (T1): TQ was given to the rats 40 days before the creation of the defect and additionally during the healing period. (n=7)

Test group 2 (T2): TQ was given to the rats after the creation of the defect starting the day of the surgery and administered also during the healing period. (n=7)

In the TQ groups, TQ was administered systemically through oro-gastric way, at a rate of 10mg/kg/day.

Animals were sacrificed post surgically on the 28th day for histopathological evaluation.

The test animals were sacrificed, bone tissue specimens were removed and, placed in 10% neutral buffered formalin (pH 7.0) for histological and histomorphometric analysis.

Results and Discussion

New bone per total defect area ratio significantly increased in both of the test groups (T1 and T2) compared to control group ($p < 0.005$). However the difference between T1 and T2 was not statistically significant. No significant difference was observed between test groups.

Keywords: Bone defect, histological analysis, Thymoquinone

Kaynakça / References: 1. Anitua, Eduardo, Mikel Sánchez, Gorka Orive, and Isabel Andía. "The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields." *Biomaterials* 28, no. 31 (2007): 4551-4560. 2. M. P. Lutolf, F. E. Weber, H. G. Schmoekel et al., "Repair of bone defects using synthetic mimetics of collagenous extracellular matrices," *Nature Biotechnology*, vol. 21, no. 5, pp. 513–518, 2003. 3. J. H. Holstein, M. Orth, C. Scheuer et al., "Erythropoietin stimulates bone formation, cell proliferation, and angiogenesis in a femoral segmental defect model in mice," *Bone*, vol. 49, no. 5, pp. 1037–1045, 2011. 4. S. P. Bruder, A. A. Kurth, M. Shea, W. C. Hayes, N. Jaiswal, and S. Kadiyala, "Bone regeneration by implantation of

purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells," *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 16, no. 2, pp. 155–162, 1998. 5. R. Cancedda, M. Mastrogiacomo, G. Bianchi, A. Derubeis, A. Muraglia, and R. Quarto, "Bone marrow stromal cells and their use in regenerating bone," *Novartis Foundation Symposium*, vol. 249, pp. 133–147, 2003. 6. Y. Yang, B. Hallgrímsson, and E. E. Putnins, "Craniofacial defect regeneration using engineered bone marrow mesenchymal stromal cells," *Journal of Biomedical Materials Research A*, vol. 99, no. 1, pp. 74–85, 2011. 7. Kara, M. Isa, Kamile Erciyas, Ayse Burcu Altan, Mahmud Ozkut, Sinan Ay, and Sevinc Inan. "Thymoquinone accelerates new bone formation in the rapid maxillary expansion procedure." *Archives of oral biology* 57, no. 4 (2012): 357-363. 8. Altan, Burcu A., Isa M. Kara, Ruhi Nalcaci, Fatih Ozan, Serif M. Erdogan, Mahmut M. Ozkut, and Sevinc Inan. "Systemic propolis stimulates new bone formation at the expanded suture: a histomorphometric study." *The Angle Orthodontist* 83, no. 2 (2012): 286-291 9. Nader MA, El-Agamy DS, Suddek GM. Protective effects of propolis and thymoquinone on development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Arch Pharm Res* 2010; 33: 637-43. 10. Garrett IR, Boyce BF, Oreffo RO, Bonewald L, Poser J, Mundy GR. Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1990; 85: 632-9. 11. Evaluation of antioxidant and antibacterial potentials of *Nigella sativa* L. Suspension cultures under elicitation. *Biomed Res Int* 2015;2015:708691. doi: 10.1155/2015/708691. Epub 2015 Aug 12.

P201

Preeklampsili Gebelerin Göbek Kordonunda Anjiyogenezisin Araştırılması

Emel Uçar¹, Mehmet Yüncü¹, Nuray Bayat², Mete Gürol Uğur¹, Ayhan Eralp¹, Muhammetnur Tekayev¹

¹Gaziantep Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri, Histoloji - Embriyoloji Anabilim Dalı

²Gaziantep Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

AMAÇ: Preeklampsili gebelerin göbek kordonlarındaki histopatolojik değişiklikleri ve preeklampsili ile anjiyogenez arasındaki bağlantının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmaya;Gaziantep Üniversitesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına doğum için başvuran ve yaşları 20-40 arasında değişen 45 kadın alındı. Kontrol grubu olarak herhangi bir metabolik hastalığı bulunmayan ve gebeliği normal seyretmiş 15 kadın, deney grubu olarak ise gebeliği esnasında preeklampsisi teşhisi konulmuş 15'i şiddetli ve 15'i de hafif preeklampsili olmak üzere 30 kadından göbek kordonları alındı. Dokulara histopatolojik tetkik için rutin histolojik doku takip işlemleri uygulandı ve parafine gömüldü. 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere Hematoksilen-Eozin (H-E), Masson-Trikrom(TRI) ve immünreaktivite için VEGF ve CD34 boyama yöntemi uygulandı. Kesitler Leica DM750 mikroskobunda incelenerek arter duvar kalınlığı ve lümen çapı, ven duvar kalınlığı ve lümen çapı ölçüldü. TRI boyamada kollajen lif artışı gözlemlendi. İstatistik için SPSS'de,KolmogrowSimirnov, ANOVA ve alt gruplar için LSD çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır.

BULGULAR: Kontrol grubunda VEGF boyaması çok az izlenirken. preeklampitik gebelerde ise yoğun VEGF izlendi. Deney gruplarında VEGF'nin damar endotelini, damar duvarını, bazılarında Wharton jeli ve amniyon epitelini boyadığını saptandı. Tespit edilen boyanmalar sitoplazmik ve nükleer boyanma gözlenmedi. Göbek kordonu stromasında CD34 boyanan hücreye rastlanmadı.

Çalışmamızda preeklampitik gebelerin arter duvar kalınlığı ve ven lümen çapı kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek bulundu ($p=0.001$). Aynı şekilde, arter lümen çapı ve ven duvar kalınlığı, kontrol grubunda preeklampitik gruba göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p=0.001$). Preeklampitik gebelerin arter tunika mediasında kontrol grubuna nazaran histolojik olarak kollajen artışı, preeklampitik gebelerin ven duvarında ise kollajen azalışı saptandı.

SONUÇ: Preeklampsili hastalarının umbilikal damarlarında histopatolojik değişimler izlendi. İlâveten VEGF oranının preeklampitik gebelerde arttığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Preeklampsisi, Göbek kordonu, VEGF

Investigation Of Angiogenesis İn The Umbilical Cord Of Preeclamptic Women

Emel Uçar¹, Mehmet Yüncü¹, Nuray Bayat², Mete Gürol Uğur¹, Ayhan Eralp¹, Muhammetnur Tekayev¹

¹Gaziantep University Basic Medical Sciences, Histology-Embryology Department

²Gaziantep University Gyneacology and obstetrics Department

AIM: In this study, it is aimed to investigate the histopathological changes of the umbilical cord in pregnant women with preeclampsia and correlation between preeclampsia and angiogenesis.

MATERIALS-METHODS: 45 women between 20-40 ages who applied for labor to Gaziantep University Şahinbey Research Hospital included to the study. At the control group were 15 women without any metabolic disease and followed in a normal pregnancy. In the experimental group were taken 30 umbilical cords from women, including 15 diagnosed with severe preeclampsia during pregnancy and other 15 with a mild preeclampsia. Tissues were taken and routine histological process was performed and embedded in paraffin. Sections were taken from paraffin blocks in 5 µm thick. Sections were stained with Hematoxylin-Eosin (H-E), Masson's Trichrome (TRI), and with VEGF and CD34 antibodies for immunohistochemistry. Tissue sections were evaluated with a Leica DM750 light microscope and arterial wall thickness and lumen diameter were measured by using cellSense program. At the TRI stained sections, an increase of the collagen fibers were observed. For statistical evaluations, Kolmogrow-Smirnov, ANOVA and LSD tests were employed with SPSS software.

RESULTS: Control group stained faintly for VEGF antibody, but preeclamptic women showed intense VEGF staining. At the experimental groups it is observed that, vascular endothelial cells, vascular

walls, and in some cases Wharton gelly and amniotic epithelium were stained for VEGF. All the staninings were cytoplasmic but not nuclear. There were no CD34 staining cells in the umbilical cord. Arterial wall thickness and venous luminal diameters of preeclamptic pregnant were significantly higher than the control group ($p=0,001$). In the meanwhile, arterial luminal diameter and venous wall thickness of control groups were significantly higher than the preeclamptic group, ($p=0,001$). A significant increase of collagen content of arterial tunica media in preeclamptic group when compared to control group; and a significant decrease of collagen content of venous tunica media in preeclamptic group when compared to control group were observed compared to control group.

CONCLUSION: Histolo-pathological changes were observed in the umbilical vessels of preeclamptic women. Additionally, it is observed that, VEGF significantly increased in preeclamptic women.

Keywords: Preeclampsia, umbilical cord, VEGF

P202

Testiste Oluşturulan İskemi / Reperfüzyon Modelinde Montelukast'ın Koruyucu Etkisi

Tuğba Can Şahin¹, Dilek Burukoğlu Dönmez¹, Cengiz Bayçu¹, Hatice Mehtap Kutlu², Engin Şahin²
¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD, Eskişehir
²Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi,

GİRİŞ-AMAÇ: Montelukast, klinikte antioksidan olarak ve astım tedavisinde kullanılan bir sisteinil lökotrien antagonistidir. Son zamanlarda yapılan deneysel çalışmalarda, çeşitli organlarda iskemi/reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Testisler torsiyon çoğunlukla bebeklik ve adolesan çağlarında görülen ürolojik bir acildir. Bu çalışmada testiste oluşturulan İ/R hasarına karşı Montelukast'ın koruyucu etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.
GEREÇ-YÖNTEM: Deneyimizde 28 adet, 200-250 gr ağırlığında erişkin erkek Wistar Albino sıçan kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 7 adet olmak üzere randomize edilerek sham+serum fizyolojik (SF), Montelukast+SF, İskemi/Reperfüzyon (İ/R)+SF, İ/R+Montelukast (ML) grupları olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Cerrahi girişim öncesi, deney hayvanlarına intramüsküler yolla 70mg/kg ketamin ve 10mg/kg ksilazin uygulanarak anestezi sağlandı. Sham grubuna hiçbir cerrahi işlem uygulanmadı ve histolojik değişkenleri belirlemek için kullanıldı. Torsiyon, sol testisin spermatik kordun 720° saat yönünün tersine çevrilmesiyle oluşturuldu. Detorsiyon ise 6 saat torsiyondan sonra testisin eski pozisyonuna getirilmesiyle sağlandı. İ/R gruplarında SF veya Montelukast (10mg/kg i.p), detorsiyondan 30 dakika önce uygulandı ve 1 saat detorsiyone edildi. Deney hayvanları anestezi altında sakrifiye edildi. Deney sonunda meydana gelen değişiklikler ışık mikroskopunda ve konfokal mikroskopta değerlendirildi.
BULGULAR: İ/R+SF grubundaki incelemelerimizde çok çekirdekli dev hücre, tübüler atrofi, vakuolizasyon, damar konjesyonu, bazal membran ayrılması ve germ hücre kaybı gözlemlendi. Montelukast tedavisi histolojik hasarı belirgin derece azalttığı gözlemlendi.
SONUÇ: Sonuç olarak, bu veriler bir sisteinil lökotrien antagonisti olan Montelukast'ın, İ/R hasarını durdurmak üzere yeni bir tedavi stratejisi tasarlamak için iyi bir aday olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: İskemi, Montelukast, Reperfüzyon, Testis, Torsiyon

Protective Effect of Montelukast on Ischemia / Reperfusion Injury in Rats

Tuğba Can Şahin¹, Dilek Burukoğlu Dönmez¹, Cengiz Bayçu¹, Hatice Mehtap Kutlu², Engin Şahin²
¹Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embriology, Eskişehir

AIM: Montelukast is a leukotriene receptor antagonist (LTRA) and antioxidant used for the maintenance treatment of asthma. Testicular torsion and detorsion causes ischemia/reperfusion (I/R) injury. Torsion of the spermatic cord, is a urological emergency that can mostly occur at adolescent males. This study was designed to assess the possible protective effect of montelukast on rat testicular I/R injury.

MATERIAL-METHODS: In our study, 28 adult male Wistar Albino rats, weighing 200-250 g, were used. Experimental animals randomly divided into 4 groups containing 7 rats per each group as sham+saline(S), montelukast (S), Ischemia/Reperfusion+S, I/R+montelukast (ML+S). Rats were anesthetized intramuscularly with 70 mg/kg ketamine and 10 mg/kg xylazine before the surgical process. The sham group was used as control for histological parameters. Torsion, was created by rotating the left testis 720° in a counter clockwise direction for 6h. Detorsion was created by repositioning testis after 6-h-torsion. I/R group was applied to left testis for 6-hour torsion then 1-hour detorsion and testis were collected after dissecting the rats. In I/R+ML group, was treated with montelukast 30 minute before the detorsion with i.p (10mg/kg) injection. The animals were sacrificed under the anesthesia and testis tissues were removed. After the experiment, tissue samples were examined for histopathological changes on light and confocal microscope.

RESULTS: As a result, in I/R group, tubuler atrophy, vacuolization, basal membran separation, degenerations and loss of germ cell and were observed. Results indicated that Montelukast treatment significantly decreased these histological damage.

CONCLUSIONS: Consequently, these data suggest that an antagonist of cysteinyl leukotriene receptor, Montelukast, is good candidates for designing a novel therapeutic strategy to halt the

testicular I/R injury.

Keywords: Ischemia, Montelukast, Reperfusion, Testis, Torsion

Kaynakça / References: 1. Akgür FM, Kılıç K, Aktuğ T. Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res* 1993;21: 395. 2. Isıkdemir F., Kurcer Z, (2012), Effects of montelukast and zileuton on testicular torsion/detorsion injury in rats, *Andrologia* 2014, 46: S59-64 3. Ozkan E, Yardimci S, Dulundu E. Protective potential of montelukast against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *J Surg Res* 2010; 159: 588–94. 4. Ozturk H, Ozturk H, Gideroglu K, Terzi H, Bugdaycı G, (2010), Montelukast protects against testes ischemia/ reperfusion injury in rats. *Can Urol Assoc J* 4: 174–179

P203

Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Jejunal Mukoza Hasarında E Vitamininin Koruyucu Etkisi

Busra Burcu¹, Mehmet Kanter², Zeynep Nur Orhon³, Oguzhan Yaralı⁴, Rukiye Karabacak²

¹Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul Medeniyet Üniversitesi, İç Hastalıkları ve Endokrinoloji Kliniği, İstanbul

⁴Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıbbi Genetik Bölümü, İstanbul

AMAÇ: Metotreksat (MTX) kaynaklı enterotoksosite sonucu oluşan sıçan bağırsak mukozasında jejunal hasar ve oksidatif strese karşı E Vitamini'nin (E Vit) muhtemel koruyucu etkisini araştırmak.

METOD: Sıçanlar 8'er hayvan içeren 3 gruba ayrıldı: Kontrol, MTX ve MTX+Vit E. Kontrol grubuna 3 gün boyunca ayçiçek yağına ek olarak serum fizyolojik verilmiştir. İkinci gruba MTX enjeksiyonunun (20 mg/kg intraperitoneal) arkasından intragastrik tüp ile ayçiçeği yağı verildi. Üçüncü gruba, MTX enjeksiyonundan önce 3. günde başlamak üzere E Vit ayçiçeği yağı içinde çözülerek (600 mg/kg oral) verilmiştir. MTX enjeksiyonundan dört gün sonra, sıçanlar anestezi edilerek sakrifiye edilmiştir. Doku örnekleri histolojik ve biyokimyasal analizler için jejunumlarından elde edilmiştir.

BULGULAR: E Vit tedavisi MTX uygulanan gruba kıyasla, artan doku malondialdehit seviyesini önemli ölçüde azaltırken azalan glutatyon peroksidaz ve superoksid dismutaz aktivitelerini artırmıştır. MTX uygulaması mukozal erezyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, nekroz, hemoraj ve damar konjesyonu gibi şiddetli histopatolojik hasara sebep olmuştur. E Vit tedavisi MTX tarafından nitrik oksit sentaz seviyelerini inhibe ederek ve NF- κ B p65 yolağı üzerinden sebep olduğu bağırsak hasarının şiddetini önemli ölçüde azaltmıştır.

SONUÇ: E Vit'in yapılandırıcı ve antioksidan etkilerinden dolayı E Vit ön tedavisi, MTX-uygulanan sıçanların bağırsak dokuları üzerinde koruyucu olarak etki edebilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidanlar, Jejunal Mukoza, Jejunum, Metotreksat, Oksidatif Stres, E Vitamini.

Protective Effects of Vitamin E on Methotrexate-Induced Jejunal Mucosal Damage in Rats

Busra Burcu¹, Mehmet Kanter², Zeynep Nur Orhon³, Oguzhan Yaralı⁴, Rukiye Karabacak²

¹Department of General Surgery, Istanbul Medeniyet University, Goztepe Training and Research Hospital, Istanbul, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Istanbul Medeniyet University, Istanbul, Turkey

³Department of Internal Medicine and Endocrinology, Istanbul Medeniyet University, Goztepe Education and Research Hospital, Istanbul, Turkey

⁴Department of Medical Genetics, Istanbul Medeniyet University, Goztepe Training and Research Hospital, Istanbul, Turkey

OBJECTIVE: To investigate the possible protective effects of Vitamin E (Vit E) on oxidative stress and jejunal damage in the rat testinal mucosa after methotrexate(MTX)-induced enterotoxicity.

METHODS: Rats were divided into 3 groups: control, MTX, and MTX+Vit E; each group contained 8 animals. The control group was given physiological serum in addition to sunflower oil for 3 days. The second group was given sunflower oil with intragastric tube daily, followed by MTX injection (20 mg/kg intraperitoneally). To the third group, starting 3 days before injection, Vit E was given as dissolved in sunflower oil (600 mg/kg orally) in addition to MTX injection. Four days after MTX injection the anesthetized rats were sacrificed, and the tissue samples obtained from their jejunums were investigated for histological and biochemical analysis.

RESULTS: Vit E treatment significantly decreased the elevated tissue malondialdehyde levels and increased the reduced glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in comparison to MTX-treated group. MTX treatment caused severe histopathological injury including mucosal erosions, inflammatory cell infiltration, necrosis, hemorrhage, and villous congestion. Vit E treatment significantly attenuated the severity of intestinal injury caused by MTX via inhibiting induced nitric oxide synthase levels and NF- κ B p65 activation.

CONCLUSION: Because of its reconstructing and antioxidant effects, Vit E pretreatment may have protective effects in the intestinal tissue of MTX-treated rats.

Keywords: Antioxidants, Jejunal Mucosa, Jejunum, Methotrexate, Oxidative Stress, Vitamin E.

P204

Diyabetik böbrekte oksidatif hasara karşı Alfa Lipoik Asidin koruyucu etkisi

Işıl Baysal¹, Mehmet Gül¹, Elif Özerol², Kevser Tanbek³, Leyla Bahar⁴

¹İnönü Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalı, Malatya

²İnönü Üniversitesi, Tıbbi biyokimya Anabilim dalı, Malatya

³İnönü Üniversitesi, Fizyoloji Anabilim dalı, Malatya

⁴Mersin Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Yüksek Okulu, Malatya

Diyabet, hiperglisemi ile seyreden kronik bir hastalıktır. Kontrol edilemeyen hiperglisemi uzun dönemde çeşitli organ ve sistemlerinde hasarlar, fonksiyon bozuklukları ve yetersizlikler oluşturur. Streptozotosin (STZ), pankreas beta hücrelerini seçici bir biçimde, dönüşümsüz olarak tahrip eden ve deneysel olarak diyabet oluşturmakta kullanılan bir ajandır. Diyabet böbrekte oksidatif hasar oluşturarak böbrek tübül ve glomerüllerinde hasar oluşturur. Alfa lipoik asit (ALA) suda ve yağda çözünebilir güçlü ve etkili bir antioksidandır. Etkisini serbest radikal yakalama, metallere şelat oluşturma, diğer antioksidanların yeniden kullanılabilirliğini arttırma ve oksidatif hasarı onarma mekanizmalarıyla gerçekleştirir.

Çalışmamızda diyabetik böbrekte oksidatif stres ve histopatolojik değişiklikler üzerine ALA'nın koruyucu etkisi araştırıldı.

MATERYAL-METOD:

Çalışmamızda 40 adet Wistar albino erkek sıçan (250-300 g.) kullanıldı (n=10).

Kontrol; uygulama yapılmadı. STZ; 50 mg/kg i.p. uygulandı. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra kan glikoz seviyeleri 200 mg/dl ve üzerinde olan sıçanlar STZ ve STZ+ALA gruplarına alındı. ALA; 100 mg/kg/gün gastrik gavaj ile 6 hafta süresince ALA verildi. STZ+ ALA; Kan glikoz seviyeleri 200 mg/dl ve üzerinde olan sıçanlara 100 mg/kg/gün gastrik gavaj ile 6 hafta süresince ALA verildi.

Deney sonunda biyokimyasal ve histolojik incelemeler için örnekler alındı. Biyokimya örneklerinde oksidan ve antioksidan parametreleri(tas-tos-osi-sod-gsh-cat-gsh px-pc) çalışıldı. Histolojik incelemeler için örnekler %10 formaldehitte tespit edildi ve parafin bloklara gömüldü. Histopatolojik inceleme için 6 µm'lik kesitler alınarak H&E ve PAS ile boyama yapıldı. Boyanan preparatlar Nikon Optiphot-2 ışık mikroskobu, DS-Fi2 kamera ve DS-L3 görüntü analiz sisteminde incelendi. Grupların histolojiksel hasar skorları, glomerul çapı belirlendi ve fotoğraflar alındı.

BULGULAR:

Kontrol ve ALA grubundaki böbrek kesitleri normal histolojik yapıda değerlendirildi. STZ grubunda böbrek parankimi içinde minimal ve orta düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu, tübül epitel hasarı, vasküler konjesyon ve saptandı. Bazı glomerullerin kollabe bazılarının ise dilate olduğu görüldü. STZ+ALA grubunda histolojik hasar skorunun kontrol ve ALA gruplarından yüksek, STZ grubundan düşük olduğu görüldü. Glomerül çap ortalamaları kontrol (116,2 µm), ALA (113,9 µm) ve STZ+ALA (111,8 µm) gruplarında birbirine yakındı. Ancak, STZ grubunda (121,3 µm) diğer gruplardan önemli bir şekilde yüksek bulundu. Diyabet grubunda artmış olan oksidatif stres parametreleri ALA uygulaması ile düşürüldü. Streptozotosin ile oluşturulan deneysel diyabette böbrekte oluşan oksidatif stres ve doku hasarına karşı ALA koruyucu etki göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: alfalipoik asit, böbrek, diyabet, Streptozotosin

The protective effect of alpha lipoic acid (ALA) against oxidative damage in diabetic cerebellum

Işıl Baysal¹, Mehmet Gül¹, Elif Özerol², Kevser Tanbek³, Leyla Bahar⁴

¹Department of histology and embryology, Malatya, Turkey

²Department of medical biochemistry, Inonu univercity, Malatya, Turkey

³department of physiology, Inonu univercity, Malatya, Turkey

⁴Vocational School of Health Services, Mersin univercity, Mersin, Turkey

Diabetes is a metabolic diseases common and chronic and has high morbidity and mortality because of inducing acud and chronic complications in many organs and systems. Streptozotocin (STZ) is a commonly used agent for making experimental Type-II diabetes. Alpha Lipoic acid (ALA) is a agent that targets the neurodegenerative process of diabetes with antioxidant and

antiinflammatory properties. Besides the protective properties, improves the effects of other antioxidants. In our study; to explore the protective effect of ALA against STZ-induced diabetic cerebellum containing Purkinje cells.

MATERIAL METHOD

40 male Wistar albino rats (250-300g) were used in this study divided into 4 groups.

Control (n=10); applied nothing. STZ (n=10); 50mg/kg i.p. applied. After the 72 hours of STZ injection, the rats with blood glucose levels of 200 mg/dl and above were grouped as STZ and STZ + ALA. ALA (n=10); 100mg/kg/day was applied by gastric gavage for 6 weeks. STZ + ALA group; 100mg/kg/day was given by gastric gavage for 6 weeks. At the end of experiment tissues were obtained from rat cerebellum oxidant and antioxidant parameters in cerebellum tissue (tast-o-sod-cat-GSH-PX-PC). After the experimental application the cerebellum tissues were taken for histological analysis. Tissue samples were fixed in 10% formaldehyde and processed with routine histological procedures. Histopathological examination was done after cerebellum sections of 5-6 µm thickness were taken and stained with H&E and Cresyl violet. Stained sections were analyzed with Nikon Optic hot-2 light microscope, DS-Fi2 camera and the DS-L3 image analysis system.

RESULTS:

Control and ALA groups; in the sections stained H&E and Cresyl violet, three-layer structure of cerebellar cortex (S. molekulare, S. gangliosum and S. granulosum) were normal histological appearance. Nissl cytoplasmic granules, euchromatic showed well-defined nucleus and prominent nucleolus 1-3 were present in Purkinje cells. STZ group; Purkinje cell nuclei that found stratum gangliosum layer show heterochromasi increase and pyknotic nuclei. Increased in heterochromatic and pyknotic nuclei of Purkinje cells were observed irregularities in the cytoplasmic eosinophilia and cell borders. Purkinje cell degeneration have been found in part of part. Also revealed edematous areas in gangliosum layer. STZ+ALA group, damage of parameters that shown STZ group was markedly decreased. Biochemical result was supported by histological findings. In STZ group; an increase in oxidative stress parameters according to the ALA and control group and decreased in antioxidant parameters. STZ+ALA group decreased oxidative stress parameters in and increasing in antioxidant parameters were observed ALA is an effective antioxidant against diabetic cerebellum caused by oxidative stress in Purkinje cells.

Keywords: AlphaLipoicAcid, diabetes, kidney, Streptozotocin

P205

Serebellumda Diyabetik Oksidatif Hasara Karşı Alfa Lipoik Asitin Koruyucu Etkileri

Cemile Ceren Gül¹, Mehmet Gül¹, Kevser Tanbek², Elif Özerol³, Nuray Bayat⁴

¹İnönü Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya

²İnönü Üniversitesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Malatya

³İnönü Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Malatya

⁴Gaziantep Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

Diyabet, birçok organ ve sistemde oluşturduğu akut ve kronik komplikasyonları nedeniyle morbiditesi ve mortalitesi yüksek, yaygın ve kronik bir metabolik hastalıktır. Streptozotosin (STZ); deneysel Tip-I diyabet oluşturmak için yaygın olarak kullanılan bir ajandır. Alfa lipoik asit (ALA); antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri ile diyabetin nörodejeneratif sürecini hedefleyen bir ajandır. Antioksidan özelliği yanında diğer antioksidanların kullanımlarını ve etkilerini artırır. Çalışmamızda STZ ile oluşturulan deneysel diyabetin serebellar Purkinje hücrelerinde oluşturduğu hasar üzerine ALA'nın koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD:

Çalışmamızda toplam 40 adet Wistar albino erkek sıçan (250-300 g) dört gruba ayrıldı (n=10). Kontrol grubuna uygulama yapılmadı. STZ grubuna 50 mg/kg i.p. STZ uygulandı. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra kan glikoz seviyeleri 200 mg/dl ve üzerinde olan sıçanlar STZ ve STZ+ALA gruplarına alındı. ALA grubuna 100 mg/kg/gün gastrik gavaj ile 6 hafta süresince ALA verildi. STZ+ALA grubuna kan glikoz seviyeleri 200 mg/dl ve üzerinde olan sıçanlara 100 mg/kg/gün gastrik gavaj ile 6 hafta süresince ALA verildi. Deney sonunda sıçanların serebellum dokuları çıkarıldı, oksidan ve antioksidan parametreler (tas-tos-osı-sod-gsh-cat-gsh px-pc) ölçüldü. Serebellum örnekleri %10 formaldehit ile tespit edilerek doku takip prosedürlerinden geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan alınan 5-6 µm kalınlığındaki kesitlere Hematoksilen-eosin ve krezil viyole boyamaları uygulandı. Boyanan preparatlar Nikon Optiphot-2 ışık mikroskobu DS-Fi2 kamera ve DS-L3 görüntü analiz sisteminde incelenerek fotoğraflar alındı.

BULGULAR:

Kontrol ve ALA gruplarında benzer şekilde H&E ve krezil viole boyanan serebellum kesitlerinde üç tabakalı serebellar korteks yapısı (S. molekülare, S. gangliosum ve S. granulosum) normal histolojik görünümde izlendi. Purkinje hücrelerinde sitoplazmik Nissl granülleri, ökromatik, düzgün konturlu nükleus ve belirgin 1-3 nukleolus görüldü. STZ grubunda; stratum gangliosum tabakasındaki Purkinje hücre nükleuslarında heterokromazi artışı ve piknotik nükleus yapısı dikkati çekti. Heterokromatik ve piknotik nükleuslu Purkinje hücrelerinde artmış sitoplazmik eozinofili ve hücre sınırlarında düzensizlik izlendi. Yer yer dejeneren Purkinje hücrelerine rastlandı. Ayrıca gangliosum tabakasında ödematöz alanlar saptandı. STZ+ALA grubunda; STZ grubunda izlenen hasar parametrelerinde belirgin azalma saptandı. Biyokimyasal sonuçlar histolojik bulgularımızı destekliyordu. STZ grubunda, kontrol ve ALA gruplarına göre oksidatif stres parametrelerinde artış, antioksidan parametrelerde düşüş saptandı. STZ+ALA grubunda oksidatif stres parametreleri azalırken, antioksidan parametrelerde artış izlendi. Diyabetin, serebellum ve özellikle Purkinje hücrelerinde oluşturduğu oksidatif stres hasarına karşı ALA etkili bir antioksidan olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: alfalipoik asit, diyabet, serebellum, streptozozosin

The Protective Effect Of Alpha Lipoic Acid (Ala) Against Oxidative Damage İn Diabetic Cerebellum

Cemile Ceren Gül¹, Mehmet Gül¹, Kevser Tanbek², Elif Özerol³, Nuray Bayat⁴

¹Department of Histology and Embryology, Inonu Univercity, Malatya, Turkey

²Department of physiology, Inonu Univercity, Malatya, Turkey

³Department of Medical Biochemistry, Inonu Univercity, Malatya, Turkey

⁴Department of Histology and Embryology, Gaziantep Univercity, Gaziantep, Turkey

Diabetes is a metabolic diseases common and chronic and has high morbidity and mortality because of inducing acud and chronic complications in many organs and systems. Streptozotocin (STZ) is a commonly used agent for making experimental Type-II diabetes. Alpha Lipoic acid (ALA) is a agent that targets the neurodegenerative process of diabetes with antioxidant and antiinflammatory properties. Besides the protective properties, improves the effects of other

antioxidants. In our study; to explore the protective effect of ALA against STZ-induced diabetic cerebellum containing Purkinje cells.

MATERIAL METHOD

40 male Wistar albino rats (250-300g) were used in this study divided into 4 groups.

Control (n=10); applied nothing. STZ (n=10); 50mg/kg i.p applied. After the 72 hours of STZ injection, the rats with blood glucose levels of 200 mg/dl and above were grouped as STZ and STZ + ALA. ALA (n=10); 100mg/kg/day was applied by gastric gavage for 6 weeks. STZ + ALA group; 100mg/kg/day was given by gastric gavage for 6 weeks. At the end of experiment tissues were obtained from rat cerebellum oxidant and antioxidant parameters in cerebellum tissue (tast-o-sod-cat-GSH-PX-PC). After the experimental application the cerebellum tissues were taken for histological analysis. Tissue samples were fixed in 10% formaldehyde and processed with routine histological procedures. Histopathological examination was done after cerebellum sections of 5-6 µm thickness were taken and stained with H&E and Cresyl violet. Stained sections were analyzed with Nikon Optic hot-2 light microscope, DS-Fi2 camera and the DS-L3 image analysis system.

RESULTS:

Control and ALA groups; in the sections stained H&E and Cresyl violet, three-layer structure of cerebellar cortex (S. molekulare, S. gangliosum and S. granulosum) were normal histological appearance. Nissl cytoplasmic granules, euchromatic showed well-defined nucleus and prominent nucleolus 1-3 were present in Purkinje cells. STZ group; Purkinje cell nuclei that found stratum gangliosum layer show heterochromasi increase and pyknotic nuclei. Increased in heterochromatic and pyknotic nuclei of Purkinje cells were observed irregularities in the cytoplasmic eosinophilia and cell borders. Purkinje cell degeneration have been found in part of part. Also revealed edematous areas in gangliosum layer. STZ+ALA group, damage of parameters that shown STZ group was markedly decreased. Biochemical result was supported by histological findings. In STZ group; an increase in oxidative stress parameters according to the ALA and control group and decreased in antioxidant parameters. STZ+ALA group decreased oxidative stress parameters in and increasing in antioxidant parameters were observed. ALA is an effective antioxidant against diabetic cerebellum caused by oxidative stress in Purkinje cells.

Keywords: AlphaLipoic acid, cerebellum, Diabetes, Streptozotocin

P206

Benzo(a)piren'in böbrek dokusu üzerinde etkisi ve Curcumin'in olası koruyucu özelliğinin incelenmesi

Dila Şener¹, Çiğdem Elmas², Deniz Erdoğan², Gülnur Take Kaplanoğlu², Güleser Göktaş²

¹Okan Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Gazi Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

AMAÇ: Polisiklik aromatik hidrokarbonlar endüstriyel işlemler ve organik maddelerin yanma sürecinde ortaya çıkan, toksik çevresel kirleticiler sınıfında yer alan bileşiklerdir. Benzo(a)piren (BAP) DNA üzerinde hasar yapıcı etkisi ve kanserojen erki kanıtlanmış bir polisiklik aromatik hidrokarbondur. Curcuma longa bitki köklerinden elde edilen curcumin, zerdeçalın esas sarı pigmenti olan hidrofobik polifenoldür. Güçlü antioksidan özelliği yanında biyolojik ve farmakolojik etkinliklere sahiptir. Çalışmamızda, benzo(a)piren' in sıçan böbrek dokusunda oluşturabileceği hasarlara karşı curcumin' in olası koruyucu etkilerinin elektron mikroskopik yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmada 36 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kontrol, mısır yağı, DMSO(curcumin çözücüsü), BAP(10 mg/kg/gün), curcumin(100 mg/kg/gün), curcumin+BAP olarak 6 gruba (n=6) ayrıldı. Uygulamalar altı hafta süresince gavaj yoluyla yapıldı. Süre sonunda alınan böbrek dokuları, alışımlı geçirgen elektron mikroskop (TEM) ve taramalı elektron mikroskop (SEM) izleme yöntemlerinden geçirildi ve Carl Zeiss EVO LS 10 TEM-SEM mikroskopunda incelendi.

BULGULAR: Kontrol, mısır yağı ve DMSO gruplarında yapılan değerlendirmelerde glomerül ve tübül yapılarının normal inceyapısal özellik sergilediği gözlemlendi. Benzo(a)piren grubunda glomerül kapillerlerinde genişleme, bazal membranda yer yer kalınlaşma ve kıvrılma, hücre sitoplazmaları organel içeriklerinde bozulma ayırt edildi. Bu gruba ait en belirgin dejeneratif bulgular podosit hücre gövdeleri ve pedisellerin silinmesi, glomerül yüzeyinin süngerimsi görünüm kazanması olarak dikkati çekti. Curcumin grubunda kontrol ve mısır yağı uygulanan gruplara benzer yapısal özelliklerin korunduğu, podosit gövdelerinin belirgin, pedisellerin normal ve düzenli yapıda olduğu izlendi. Curcumin+BAP grubunda heterokromatikliğin kontrole karşı sürdürdüğü ancak glomerüler bazal membranın normal yapısına döndüğü, proksimal tübül yapıların kontrol grubuyla eşdeğer olduğu gözlemlendi.

SONUÇ: Elde edilen bulgulara göre curcumin çözücüsü olarak uygulanan DMSO'ya ait grupta normal yapının korunması ile bu maddenin zararlı etkiye sahip olmadığı görülmektedir.

Benzo(a)piren uygulaması ile ortaya çıkan anomaliler bu ajanın nefrotoksik olduğunu düşündürmektedir. Sonuçta, curcumin' in BAP uyarımına koşut oluşan etkileri geri döndürebilen güçlü bir koruyucu olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Benzo(a)piren, curcumin, böbrek, inceyapı

Investigation of the possible protective effects of Curcumin against the effects of Benzo(a)pyrene in kidney tissue

Dila Şener¹, Çiğdem Elmas², Deniz Erdoğan², Gülnur Take Kaplanoğlu², Güleser Göktaş²

¹Department of Histology and Embryology, Okan University, Istanbul, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Gazi University, Ankara, Turkey

AIM: Polycyclic aromatic hydrocarbons are compounds classified as toxic environmental pollutants that occur during the industrial process and combustion period of organic materials.

Benzo(a)pyrene (BAP) is a polycyclic hydrocarbon that exhibit DNA damaging and carcinogenic properties. Curcumin is derived from the root of Curcuma longa plant and major yellow pigment in turmeric which broadly includes biological and pharmacological activities in conjunction with its strong antioxidant competence. Our aim is to investigate the possible protective effects of curcumin against the benzo(a)pyrene damage in rat kidney tissue by using electron microscopic methods.

MATERIAL-METHODS: 36 male Wistar albino rats are divided into 6 groups (n=6) as follows control, corn oil, DMSO(curcumin solvent), BAP(10 mg/kg/day), curcumin(100 mg/kg/day), curcumin+BAP. Agents were daily and orally administered for six weeks. Kidney tissues were removed at the end of experimental period for both transmission and scanning electron microscopy sample preparation processes. Tissues were viewed with Carl Zeiss EVO LS 10 TEM-SEM

microscope.

RESULTS: According to the results of control, corn oil and DMSO groups, the glomerular and tubular structures were exhibited normal ultrastructural features. Glomerular capillary dilation, thickening and folding of basement membrane and disruption of organelle contents were distinguished in the benzo(a)pyrene treated group. Deletion of the podocyte cell and pedicels also the sponge like appearance of glomerular surface were remarkable as degenerative findings in this group. The overall tissue components and the ultrastructural features were detected to protect in curcumin treated group. Podocyte cell process and the capillary interaction was similar to that of control, corn oil and DMSO groups. Heterochromatic appearance of the nucleus was still continuous in curcumin+BAP treated group however, glomerular basement membrane and proximal tubular structures were detected to have normal features similar with control.

CONCLUSION: In conclusion, administration of DMSO as a curcumin solvent resulted in no significant changes suggesting that the harmless content of these agent. The abnormalities that occur after benzo(a)pyrene administration strongly revealed the nephrotoxicity of this agent. Hence, there is a strong evidence that curcumin is an effective protective agent against benzo(a)pyrene nephrotoxicity.

Keywords: Benzo(a)pyrene, curcumin, kidney, ultrastructure

P207

Maternal diyabeti olan fetal testislerde Rapamisin uygulamasının Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi

Esmâ Konuk, Gizem Gamze Taş, Aslı Özmen, Emin Türkay Korgun, Necdet Demir
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

AMAÇ:

Diyabet, hiperglisemi ve hiperlipidemi ile sonuçlanan metabolik bir hastalıktır. Katlanmamış protein (UP) cevabında rol alan Endoplazmik retikulum (ER)'un, hiperglisemi varlığında homeostasisi bozulur. Hiperglisemiyle oluşan diyabetik komplikasyonlar, fetal gelişim sürecini etkilemektedir. Son dönemlerde hiperglisemik koşullarda mTOR (The Mammalian Target of Rapamycin) yolağındaki değişimlerle ilgili bilgiler ortaya konmuştur. mTOR, bir serin/treonin kinazdır ve mTOR Kompleks 1 (mTORC1) ve Kompleks 2 (mTORC2) olarak adlandırılan 2 alt üniteden oluşur. mTOR'un glukoz ve ER stresi ile ilişkisi bilinmekte fakat fetal testis gelişimi esnasında diyabete ya da mTOR'a bağlı ER stresinin nasıl etkilendiği bilinmemektedir. Bu çalışmada maternal diyabetin ve mTOR yolağının fetal testis gelişimi sürecinde, ER stresi ile ilişkili olup olmadığını belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla sunulan çalışmada; diyabetik sıçan fetuslarının testis örneklerinde hem hipergliseminin hem de hiperglisemi varlığında mTOR yolağının inhibitörü olan everolimus (rapamisin analogu) kullanılarak ER stresindeki değişimleri değerlendirdik. Bu amaçla ER stres proteinlerinden GRP78, Caspase 12 ve CHOP'a baktık. Caspase 12'nin alt yolaklarından biri olduğu bilinen cleaved caspase 3 miktarına da bakarak Caspase 12'deki değişimin ER stresi ile uyarılan apoptotik yolağını yoksa farklı yolağını etkilediğini gözlemledik. Bulgularımız sonucunda; Normal ve diyabetik gebe sıçanların 20 günlük fetuslarının testis örneklerinde GRP 78'in hem immünohistokimya (IHC) hem de western blot (WB) analizleri sonucunda, diyabet ve rapamisin gruplarında kontrole göre azalma gösterdiği dikkatimizi çekmiştir. Bu durum hiperglisemik koşulların UP cevabını azalttığını, mTOR inhibisyonunda cevabın daha da azalması ise, testis gelişiminde UP cevabının mTORC1 üzerinden oluştuğunu düşündürmektedir. Caspase 12'nin hem WB hem de IHC sonuçlarında diyabet, kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılığı olmamasına rağmen Rapamisin grubunda anlamlı bir yükseliş göstermiştir. Cleaved caspase 3'e IHC ile baktığımızda hem diyabetin hem de rapamisin grubunun kontrole göre anlamlı bir şekilde azalmış olması Caspase 12'deki bu yükselişin apoptotik süreci değil farklı bir yolağı aktive ettiğini düşündürmektedir. Apoptoz CHOP üzerinden mi gerçekleşiyor sorumuza cevap bulmak için IHC ile CHOP'a baktık. Sonuçlarına göre; CHOP'un diyabette kontrole göre neredeyse iki kat artış gösterdiği Rapamisin uygulaması sonucunda artışın belirgin şekilde azaldığı görülmektedir. Sonuç olarak diyabete bağlı UP'nin oluştuğunu, fizyolojik olarak artması gereken UP cevabının ise doğru bir şekilde gerçekleşmemesiyle hücrenin caspase 12 üzerinden değil CHOP üzerinden apoptoza gittiği düşünülmektedir. Fakat Rapamisin uygulaması, CHOP yolağını baskılamakta ve hücrenin apoptoza gitmesi önlenmektedir. Bu durum UP cevabında artışı sağlamadığı için UP'lerin fetal testis'e ait hücrelerin ER lümeninin de artışı söz konusu olacağından gelecekte oluşacak sperm morfolojisi ve fizyolojisinin bu durumdan etkileneceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Fetal Testis, Endoplazmik retikulum stresi, mTOR, Diabet

Evaluation of impact on Endoplasmic Reticulum (ER) stress application of Rapamycin in fetal testes with maternal diabetes

Esmâ Konuk, Gizem Gamze Taş, Aslı Özmen, Emin Türkay Korgun, Necdet Demir
Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology

Diabetes is a metabolic disorder resulting in hyperglycaemia. Endoplasmic reticulum involved in unfolded protein response which is disrupted homeostasis in the presence of hyperglycemia. Hyperglycemia induced diabetic complications that affects fetal development. Recently, It is put forward the informations associated with changes in the mTOR (The Mammalian Target of Rapamycin) pathway in the presence of hyperglycemic condition. mTOR is a serine / threonine kinase It is known mTOR's relationship with both glucose and the ER stress. But It is not known that how is effect to ER stres related either diabetes or mTOR during the development of the fetal testes. In this study, We are aimed to determine whether Maternal diabetes and mTOR pathway are associated with ER stress in the process of development fetal testes. We assessed changes in

ER stress both hyperglycemia and using inhibitor of the mTOR pathway, everolimus (rapamycin analogue), in the presence of hyperglycemia. we looked at the ER stress Proteins; GRP78, Caspase 12 and CHOP. We also examined Cleaved caspase 3. In result of GRP78 in testicular samples of the 20-day fetuses of normal and diabetic pregnant rats, It noticed that decreased both diabetes and rapamycin group with compared to the control. In this case, hyperglycemic conditions that reduce the UP response, the further reduction of response in mTOR inhibition, suggesting that UP response in the testicular development consists through mTORC1. In the result of Caspase 12; Although there is no significant difference diabetic group compared to control group, Rapamycin group showed a significant increase. In the result of cleaved caspase 3, We looked that both diabetes and rapamycin groups reduced significantly as a compared to the control groups. According to this data; Caspase 12 is not activate apoptosis but it is activated different pathway. We looked CHOP. According to the results, CHOP has been increased almost two-fold at diabetes compared to control groups. the group of rapamycin reduced significantly. UP may be made related to diabetes. But UP response may not be occur correctly. Apoptosis occur through CHOP but not Caspase12. But Rapamycin application suppress the CHOP pathway and is prevented to go to cell apoptosis. In this case, Because Rise in the UP response is not occur, UPs may be increased in the ER lumen of the cells of the fetal testes. In this case, sperm morphology and physiology will be able to affected by this situation in the future.

Keywords: Fetal testes, Endoplasmic reticulum stress, mTOR, Diabetes

P208

Maternal Diyabeti Olan Fetal Ovaryumlarda Rapamisin Uygulamasının Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi

Gizem Gamze Taş

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

AMAÇ: Diyabet, metabolik hastalıkların hiperglisemi ile karakterize bir grubudur. Hiperglisemi; hücre içi sinyal iletim yollarında gen ekspresyonunu ve proteinlerin fonksiyonunu etkilemektedir. Hiperglisemiye bağlı diyabetik komplikasyonların fetal gelişim sürecini de etkilediği bildirilmektedir. Son dönemlerde hiperglisemik koşullarda mTOR (The Mammalian Target of Rapamycin) yolağındaki değişimlerle ilgili bilgiler ortaya konmuştur. mTOR, Fosfoinositid-3-Kinaz ilişkili Kinazlar Ailesi'nin (PIKK) üyesi bir serin/treonin kinazdır. mTOR inhibitörü Rapamisin hücre içerisine girdiğinde, FK506 bağlanma protein bölümü ile mTOR'a bağlanarak mTOR'u inhibe etmektedir. mTOR'un hem glukoz ile hem de ER stresi ile ilişkisi bilinmemekte fakat fetal ovaryum gelişimi esnasında hem diyabete hem de mTOR'a bağlı ER stres proteinlerinin değişimi ile ilgili bilgi bulunmamaktadır. Biz Maternal diyabetin ve mTOR yolağının fetal ovaryum gelişimi sürecinde, ER stresi ile ilişkili olup olmadığını belirlemeyi amaçladık. Bu amaçla; hem maternal diyabetik sıçan fetuslarının ovaryum örneklerinde hem de everolimus (rapamisin analogu) kullanılarak mTOR yolağının inhibe edildiği durumda fetal ovarumyumda ER stres mekanizmalarının ne şekilde etkilendiği değerlendirdik. Her iki grupta da ER stres proteinlerinden GRP78, Caspase 12 ve CHOP düzeylerini araştırdık. Aynı zamanda Cleaved Caspase 3'e de bakarak Caspase 12' deki değişimin ER stresi ile uyarılan apoptotik yolak üzerinden mi yoksa farklı bir yolak üzerinden mi etki gösterdiğini belirlemeye çalıştık. Bulgularımız sonucunda; Normal ve diyabetik gebe sıçanların 20 günlük fetuslarının ovaryum örneklerinde GRP 78'in hem immünohistokimya (IHC) hem de western blot (WB) analizleri sonucunda birbirleri ile uyumlu olacak şekilde diyabet grubunda kontrole göre neredeyse yarı yarıya azalma, mTOR'un inhibe edildiği durum da ise kontrole göre anlamlı bir artış gösterdiği dikkat çekmiştir. Caspase 12'nin hem IHC hem de WB sonuçlarında hiperglisemik koşullarda ovaryumda Caspase 12 miktarı artmış ve rapamisin grubunda ise diyabet grubuna göre azalma izlenmiştir. Hem CHOP hem de cleaved caspase 3 hiperglisemik koşullarda artmıştır. Rapamisin uygulamasıyla CHOP ve Caspase12 azalmış olsa da, Cleaved caspase 3'ün artışının devam etmesi hiperglisemiye veya Rapamisin uygulamasına bağlı oluşmuş yanlış katlanma harici bir kusurun hücrenin apoptotik yola girmesine neden olduğunu düşündürmektedir. GRP78' deki değişimin ise bize hiperglisemik koşulların katlanmamış protein (UPR) cevabını bir şekilde azalttığını, mTOR inhibisyonu durumunda ise GRP78 cevabının çok aşırı bir şekilde artmış olması ovaryum gelişiminde mTOR yolağındaki bir mekanizmanın GRP78 ekspresyonunu baskıladığını mTOR inhibitörü kullanımı ile bu baskının kalkarak şiddetli bir artışa neden olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: mtor, diyabet, fetal ovaryum, ER stresi, rapamisin

Application Of Rapamycin Evaluation Of Effects On Endoplasmic Reticulum (ER) Stress Maternal Diabetes In Fetal Ovary

Gizem Gamze Taş

Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Antalya

PURPOSE: Diabetes is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia. Hyperglycemia, it affects the intracellular signaling pathways of gene expression and function of proteins. Recently the conditions of hyperglycemia have revealed information about the changes in the Mtor (The Mammalian Target of Rapamycin) pathway. Mtor associated with both ER stress and glucose is known but there isn't information about the change of ER stress proteins during ovarian development of fetal both diabetes and related to Mtor. We aimed to determine whether ER stress related in the process of development of the fetal ovary maternal diabetes and mTOR pathway. For this purpose; we evaluated ER stress mechanisms affected in fetal ovary in what way as well as samples of maternal diabetic rats fetal ovary and everolimus (rapamycin analogue) of using the mTOR pathway is inhibited by the situation in the fetal ovary. In both groups we investigated the levels of GRP78, Caspase 12 and CHOP of ER stress proteins. We tried to determine also looking for cleaved caspase 3 the change in Caspase 12 through the apoptotic

pathway induced by ER stress or the effect whether via a different pathway. As a result of our findings, in ovarian samples of normal and diabetic pregnant rats 20 days of the fetus both immunohistochemistry (IHC) and Western blot (WB) analysis of the results to be compatible with each other in the diabetes group decreased almost by half compared to controls, it is pointed out that compared to controls showed a significant increase in case where mTOR is inhibited. Both WB and IHC results in Caspase-12 under conditions of hyperglycemia increased amount of Caspase-12 in the ovary and in the rapamycin group observed the reduction of according to the diabetes group. Both cleaved caspase-3 and CHOP increased under conditions of hyperglycemia. With the application of Rapamycin CHOP and Caspase 12 although decreased continuation of cleaved caspase 3 increases rapamycin or hyperglycemia has occurred depending on the application misfolding to external defects suggest that causes the cell to enter the apoptotic pathway. GRP78 wherein the change the unfolded protein response in a manner that reduces conditions of hyperglycemia in the case of Mtor inhibition of GRP78 answer in a very extreme way to be increased in the development of ovarian the expression of GRP78 to suppress a mechanism of the Mtor pathway mTOR inhibitors with the use of this pressure to disappear suggests that causes a severe increase.

Keywords: mTOR, Diyabetes, fetal ovary, ER Stress, Rapamycin

P209

Prokain ve serum fizyolojik eklem kıkırdağı ve sinovyum üzerinde benzer etki gösterir

Aysun Ankay Yilbas¹, Başak Akca¹, Berkem Buyukakkus¹, Elham Bahador², Dilara Naciye Zeybek², Fatma Saricaoglu¹

¹Hacettepe Üniversitesi, tıp fakültesi, anestezi anabilim dalı, ankara, türkiye

²Hacettepe Üniversitesi, tıp fakültesi, histoloji embriyoloji anabilim dalı, ankara, türkiye

Intraartiküler lokal anestezikler postoperatif ağrıyı ve opioid kullanımını azaltmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (1). Prokainin Carpal Tunnel sendromu ve patellar kondromalasi üzerindeki pozitif etkileri bildirilmiştir (2). Prokain ve prokainin bir metaboliti olan dietilaminoetanol (DEAE)'ün lökositlerde serbest oksijen radikalleri oluşumunu azalttığı in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir (3). Prokain'in eklem kıkırdağı ve sinovyum üzerine etkisi henüz çalışılmamıştır. Bu çalışmada intraartiküler prokain enjeksiyonunun eklem kıkırdağı ve sinovyum üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Method. Çalışmada 20 erişkin Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Anestezi sonrası aseptik koşullarda sıçanların sağ dizlerine 0.25 ml %10 prokain ve sol dizlerine serum fizyolojik (kontrol) enjekte edildi.

Uygun ötanazi sonrası 1, 2, 7, 14 ve 21. günlerde her grupta dört sıçan olacak şekilde diz eklem örnekleri alındı ve ışık mikroskop incelemesi için takip edildi. Histolojik kesitlerde eklem bölgeleri ve sinovyum 2 histolog tarafından değerlendirildi ve inflammatuar değişiklikler kör olarak evrelendirildi.

Bulgular ve Tartışma Prokain ve serum fizyolojik grupları arasında inflamasyon açısından belirgin fark bulunmadı. Her iki grupta birinci güne ait örneklerde enjeksiyona bağlı hafif inflammatuar infiltrasyon gözlemlendi. Prokain grubunda ikinci güne ait örneklerde hemoraji daha belirgindi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.057).

SONUÇ: Sıçan diz eklemine yapılan bu in vivo çalışmada intraartiküler prokain enjeksiyonunun kullanımı güvenli görünmektedir. Ancak prokainin hem analjezik hem de histopatolojik etkilerini hasarlı eklem kıkırdağında ve sinovyum modellerinde gösteren ileri çalışmalar gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Prokain, serum fizyolojik, eklem kıkırdağı, sinovyum,

Procaine and saline have similar effects on articular cartilage and synovium in rat knee

Aysun Ankay Yilbas¹, Başak Akca¹, Berkem Buyukakkus¹, Elham Bahador², Dilara Naciye Zeybek², Fatma Saricaoglu¹

¹Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, Ankara, Turkey

²Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Ankara, Turkey

Background and Goal of The Study: Intraarticular local anesthetics are widely used for providing postoperative analgesia and decreasing the need for opioids (1). Procaine has proven positive effects in carpal tunnel syndrome and chondromalasia patella (2). In vitro studies also showed that procaine and its metabolite dietilaminoethanol (DEAE) decrease the formation of free oxygen radicals in leucocytes (3). However, the effects of procaine on articular cartilage and synovium has not been studied yet. The aim of this study was to evaluate the effects of intraarticular procaine injection on the articular cartilage and synovium.

MATERIALS-METHODS: Twenty adult Sprague-Dawley rats were enrolled in the study. After providing anesthesia and aseptic conditions; 0.25 ml 10% procaine was injected to the right knee joint and 0.25 ml normal saline (control group) was injected to the left knee joint. Knee joint samples were obtained from 4 rats in each group after appropriate euthanasia on days 1, 2, 7, 14 and 21. The histological sections of the articular regions and synovium were evaluated by two histologists and inflammatory changes were graded in a blinded manner.

Results and DISCUSSION: There were no significant differences of inflammation between procaine and saline groups in any time interval. Slight inflammatory infiltration due to injection was seen in both groups on the 1st day. Hemorrhage was more prominent on the 2nd day in procaine group but this difference was not statistically significant (p=0.057).

Conclusion(s): Injection of procaine seems safe to use intraarticularly in this in vivo study on rat knee cartilage. However, further studies investigating both the analgesic and histopathological effects of procaine on damaged articular cartilage and synovium models are needed.

Keywords: Procaine, saline, articular cartilage, synovium,

Kaynakça / References: 1. Piper SL, Kramer JD, Kim HT, Feeley BT. Effects of local anesthetics on articular cartilage. *Am J Sports Med.* 2011 Oct;39(10):2245-53. 2. Hauser RA, Sprague IS. Outcomes of prolotherapy in chondromalacia patella patients: improvements in pain level and function. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord.* 2014 Feb 17;7:13-20. 3. Dolganiuc A, Radu D, Olinescu A, Vrăbiescu A. Procain and diethylaminoethanol influence on the release of free oxygen radicals by polymorphonuclear leukocytes, in rabbits and humans. *Roum Arch Microbiol Immunol.* 1998 Jan-Mar;57(1):23-32

P210

Deneyisel Hayvan Modelinde Oluşturulan Akut Mezenter İskeminin Erken Tanısında D-Dimer, L-Laktat, IFABP'ın Yeri ve Prognostik Değeri

Emre Öner¹, Müge Günalp¹, Oya Evirgen², Emine Nazlı Hayırlı², Arda Demirkan³, Onur Polat¹, Serdar Gürler¹, İlker Yeşilkaya¹

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

GİRİŞ: Akut mezenter iskemisinde (AMİ) açık olmayan şikayetler, nonspesifik laboratuvar bulguları ve düşük klinik şüphe tanı koymada gecikmeye yol açmakta bu durum bağırsak enfarktüsünün ilerleyerek peritonit ve sepsis ile kötü sonuçlar doğurmasına neden olmaktadır(1). Erken tanı hayati önem taşımaktadır, bundan dolayı yeni stratejilere ihtiyaç vardır. Son yıllarda AMİ'de erken tanı koymada L-laktat, D-dimer ve bağırsak yağ asidi bağlayıcı proteinin(IFABP) tanısal değeri araştırılmaktadır(2). AMİ'de iskemi mukozada başlamakta olduğundan erken aşamada tespit etmek için ideal biyobelirteç mukoza kaynaklı olmalıdır. IFABP, AMİ için umut vaadeden plazma göstergelerinden biridir. Çalışmamızdaki amaç; iskeminin mukozada düzeyinde olduğu erken dönem akut mezenter iskemi olgularında L-laktat, D-dimer ve IFABP düzey değişikliğini belirlemek ve tanısal değerini araştırmaktır.

MATERYAL-METOD: Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan gerekli izinler alındıktan sonra 63 adet Wistar Albino cinsi dişi ratlar rastgele olarak 30., 60. ve 180. dakika alt gruplarını içeren 3'er adet kontrol, taklit ve iskemi gruplarına ayrıldı. Kontrol gruplarına sadece anestezi, taklit gruplarına laparotomi, iskemi gruplarına ise laparotomi ve SMA'ya klempleme yapılarak belirlenen sürelerde L-laktat, D-dimer ve IFABP düzeyleri bakılmak üzere kardiyak ponksiyonla kan örnekleri alındı. Ayrıca her gruptaki ratlardan jejunum ve ileum doku örnekleri alınarak ALFAC solüsyonu (%80 etanol, formaldehit, glasiyal asetik asit; %8.5,%1.0,%0.5; v/v/v) içerisinde 24 saat fikse edildi. Rutin histolojik takip işlemlerinden sonra bloklardan 4µm kalınlığında alınan kesitler(LeicaSM2000R) hematoksilin-eozin(H-E) ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu(LeicaD500) ile değerlendirildi ve fotoğraflandı(Leica ICC50 HD).

BULGULAR: Kontrol gruplarında ince bağırsak mukozası jejunum ve ileum bölümlerinde intakt villusları ile normal histolojik yapıda gözlemlendi. Taklit grubunda hem ileum hem jejunumda hasar skoru hafif ve orta şiddetli olarak belirlendi. İskemi grubu hasar skoru kontrol ve sham gruplarına göre daha yüksek olarak bulundu. 30.dakika iskemi grubu L-laktat değerlerinin 30.dakika kontrol ve taklit gruplarından anlamlı yüksek olduğu görüldü(p<0.002, p<0.001). IFABP; taklit gruplarının tüm zaman dilimlerinde IFABP değerlerinin kontrol gruplarına göre yüksek olduğu saptandı bunula birlikte 30.dakika kontrol grubuyla iskemi grubu arasında anlamlı fark bulundu(p<0.004). D-dimer tüm iskemi gruplarında negatif olarak değerlendirildi.

SONUÇ: IFABP'ın iskemiye ve süresine bağlı olarak artış gösterdiğini aynı zamanda laparotomi gibi diğer nedenlerle de yükselbileceğini ortaya çıkardı. Erken tanıdaki yerini belirlemek için daha fazla çalışma yapılması gerektiği öngörüldü. Erken iskemi döneminde L-Laktatın tanısında kullanılabileceği sonucuna varıldı. D-dimer'in nontrombotik AMİ'yi ekarte etmede şu an için yeterli olamayacağı görüşü savunuldu.

Anahtar Kelimeler: Jejunum, İleum, Akut Mezenter İskemisi, IFABP

Evaluation of L-Lactat, D-Dimer, IFABP Levels in The Early Diagnosis of Acute Mesenteric Ischemia in an Experimental Study

Emre Öner¹, Müge Günalp¹, Oya Evirgen², Emine Nazlı Hayırlı², Arda Demirkan³, Onur Polat¹, Serdar Gürler¹, İlker Yeşilkaya¹

¹Department of Emergency Medicine, Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey

³Department of General Surgery, Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey

INTRODUCTION: Mesenteric ischemia which has nonspecific laboratory values and the low clinical suspicion lead to late diagnosis and undesirable outcomes(1). Early diagnosis to begin treatment is vital, therefore, new strategies are needed. In recent years some markers such as L-lactate, D-

dimer and intestinal fatty acid binding protein (IFABP) have been investigated for their diagnostic value in early diagnosis in acute mesenteric ischemia (AMI)(2). After AMI, ischemia symptoms initiate in mucosal layers where ideal biomarkers should be detected. This study investigated the diagnostic value of L-laktat, D-dimer, IFABP in the early diagnosis of acute mesenteric ischemia, a life-threatening condition which can result in multiple organ injury and death if not identified and treated promptly.

MATERIALS-METHODS: Sixty-three female 250-300 gr Wistar albino rats were used in this randomized, controlled study. Rats were divided into 9 groups as control, sham and ischemia and each group was divided into 30th, 60th and 180th minutes subgroups. Anaesthesia was applied in the control group as well as other groups additionally laparotomy performed in the sham groups, and the superior mesenteric artery was ligated followed by laparotomy in the ischemia groups. Blood samples were collected at the specified intervals and evaluated with the predescribed markers. Jejunum and ileum tissue specimens were processed by routine histological methods and stained with Hematoxylin and Eosin.

RESULTS: The histological assessment of sections prepared from the ileum and jejunum of control rats revealed the healthy structure of the mucosa. Mild to moderate ischemia injury scores were observed in sham groups. Ischemia groups were possessed higher ischemia injury scores in comparison with other groups. Compared to control and sham groups, ischemia group revealed a significant rise in L-Laktat levels at the 30th minute ($p<0.002$, $p<0.001$). The rise in IFABP values in ischemia group at 30th minute was significantly high compared to control group ($p<0.004$). However, in the sham groups IFABP levels were higher than control group in all time points. D-dimer was negative in all ischemia groups.

CONCLUSIONS: These findings suggested that L-laktat levels can be helpful in the early diagnosis of acute mesenteric ischemia., IFABP levels may increase in the case of laparotomy as well as ischemic conditions and relative duration, therefore it needs to be further investigated. D-dimer assessed as an insufficient biomarker in the non trombotic acute mesenteric ischemia.

Keywords: Jejunum, Ileum, Acute Mesenteric Ischemia, IFABP

Kaynakça / References: 1) Teun C van den Heijkant, Bart AC Aerts, Joep A Teijink, Wim A Buurman, Misha DP Luyer. Challenges in diagnosing mesenteric ischemia World J Gastroenterol 2013; 19(9): 1338-1341. 2) Oldenburg WA, Lau LL, Rodenberg TJ, Edmonds HJ, Burger CD. Acute mesenteric ischemia: A clinical review. Arch Intern Med 2004; 164: 1054-1062.

P211

Siçan Gracilis Kas Fleplerinde İskemi-Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Sistemik Apokinin Uygulamasının Etkinliğinin Araştırılması

Emrah Aslan¹, Burak Kaya², Emine Nazlı Hayırlı³, Oya Evirgen³, Serdar Mehmet Gültan², Mustafa Rıza Özbek²

¹Bakırköy Dr.Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Plastik Cerrahi Kliniği, İstanbul, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Ankara, Türkiye

GİRİŞ: Apokinin metoksillenmiş katekol yapısında, vanilin ailesi ile benzerlik gösteren ve sahip olduğu antiinflamatuvar, antitrombotik ve antioksidan özellikleri sebebiyle son yıllarda yoğun şekilde farklı iskemi-reperfüzyon(I/R) modelleri üzerinde çalışılmış bir ajandır (1-4). Yapılan çalışmalarda, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz' ı selektif olarak inhibe etmesi apokinin kullanımını arttırmıştır (5). Bu çalışmada Apokinin'in siçan gracilis kasında oluşturulan iskemi-reperfüzyon modeli sonrası kas dokusu üzerindeki olası koruyucu etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL-METOD: Çalışma Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 02.04.2014 tarih ve 2014-8-55 karar numaralı onayı alınarak gerçekleştirildi. Toplam 27 adet siçan rastgele olarak 3 gruba ayrıldı. İkinci (I/R+5mg/kg Apokinin) ve üçüncü(I/R+10mg/kg Apokinin) gruplara iskemiden 6 saat önce 5mg/kg ve 10mg/kg dozunda Apokinin, I/R grubuna ise aynı hacimde serum fizyolojik intraperitoneal yolla verildi. Gracilis kasında iskemi-reperfüzyon modeli oluşturmak amacıyla müsküler arterde 2 saat süreyle oklüzyon ve ardından 2 saat boyunca reperfüzyon gerçekleştirildi. Deney sonunda alınan örneklerde biyokimyasal olarak glutatyon peroksidaz ve katalaz seviyeleri belirlendi. Histopatolojik inceleme için ise örnekler %10'luk tamponlu formalin solüsyonu ile 24-48 saat fikse edildi. Rutin histolojik takip sonrası hazırlanan parafin bloklardan 4 µm kalınlığında alınan kesitler (Leica SM 2000R) Hematoksilin-eozin ve Mallory azan ile boyandı. Tüm hayvanlardan elde edilen kesitler ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, çekirdek santralizasyonu, kas liflerinde ayrılma ve nekroz açısından ışık mikroskobu ile değerlendirildi (Leica D500) ve fotoğraflandı (Leica ICC50 HD).

BULGULAR: Histopatolojik olarak I/R grubunda I/R modeliyle uyumlu olarak dejenere kas lifleri ile karakterize nekrotik fasiküller gözlemlendi. Bazı kas liflerinde çizgilenme kaybı, çekirdek santralizasyonu ve çap değişiklikleri izlendi. Apokinin 5 mg/kg grubunda fasikül içerisinde miyofilaman kaybına uğramış, asidofilik ve küçük çaplı kas lifleri görüldü. Perimisyumda perifasiküler alanda ödem ve hücre infiltrasyonu mevcuttu. Apokinin 10 mg/kg grubunda boyuna kesitlerde diğer gruplara göre daha az olmakla birlikte kas liflerinde yer yer çizgilenme kaybı, miyofibrillerde ayrılma ve düzensizlik saptandı. Ayrıca 5mg/kg grubuna oranla hücre infiltrasyonu daha yoğun görüldü.

Biyokimyasal olarak da dokuda glutatyon peroksidaz ve katalaz düzeyleri I/R grubu ile karşılaştırıldığında apokinin (5 ve 10 mg/kg) verilen gruplarda anlamlı oranda yüksek bulundu (p=0,009; p=0,023)

SONUÇ: Apokinin'in elde edilen bu sonuçlara göre hastanede kalış süresi, maliyetler ve morbiditeye neden olan iskemi-reperfüzyon hasarı ve sonucundaki flep nekrozlarından koruyucu etkileri gösterilmekle birlikte yapılacak daha geniş çalışmalar bu maddenin etkisi hakkında daha fazla bilgiye ulaşılmasını sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: İskemi-reperfüzyon, antioksidan, flep cerrahisi, apokinin

Study of The Protective Effects of Apocynin on Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Gracilis Muscle Flaps

Emrah Aslan¹, Burak Kaya², Emine Nazlı Hayırlı³, Oya Evirgen³, Serdar Mehmet Gültan², Mustafa Rıza Özbek²

¹Department of Plastic Surgery, Bakırkoy Dr.Sadi Konuk Education and Research Hospital, Istanbul, Turkey

²Department of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery, Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey

INTRODUCTION: Apocynin, also known as acetovanillone, is a naturally occurring methoxy-substituted catechol and founded in plants(1-4). Apocynin plays an antioxidant, antiinflammatory and antiapoptotic role in the organism due to its inhibitory effect on nicotinamide dinucleotide phosphate-oxidase(5). In this study, the effects of apocynin on ischemia-reperfusion injury evaluated in rat gracilis muscle flap.

MATERIALS-METHODS: Rats were divided into 3 groups with 9 rats in each one within randomized pattern. 5 mg/kg and 10 mg/kg dose apocynin dissolved in saline and administrated intraperitoneally to each rat 6 hours before ischemia in experimental groups. In order to induce the similar stress to the control group, same amount of saline was given intraperitoneally. After preoperative planning, gracilis muscle explored from the medial side of rat limbs and muscle flap elevated as an island flap based on muscular artery. Afterwards occlusion achieved in muscular artery with microclomp. 2 hours of ischemia period, followed by 2 hours of reperfusion was performed. Subsequently, tissue samples were taken for biochemical and histochemical analysis from each muscle flap. Glutathione peroxidase and catalase levels determined in tissue samples. Routine histological methods were applied and Hematoxylin-Eosin stained sections were assessed for the edema, inflammatory cell infiltration, muscle fibers disruption and necrosis.

RESULTS: In I/R group correlated to I/R models, necrotic fascicules characterized with degenerated muscle fibers were observed histologically. Loss of striation, nucleus centralization and diameter changes occurred in some muscle fibers. Intra fascicule myofilament loss and acidophilic muscle fibers with small diameter also perifascicular edema and cell infiltration were observed in 5 mg/kg Apocynin group. Disorganization, loss of striation and myofibril disruption was detected in 10 mg/kg Apocynin group was fewer in comparison with other groups also cell infiltration was more intense than 5 mg/kg group. The statistical analysis of biochemical levels showed that a significant increase in glutathione peroxidase and catalase levels ($p=0,009$; $p=0,023$).

CONCLUSION: Although apocynin had positive effects on ischemia- reperfusion injury and flap survival in skeletal muscle tissue, further studies based on dose range and metabolism of apocynin will help us to get more information about this substance.

Keywords: Ischemia-reperfusion, antioxidant, flap surgery, apocynin

Kaynakça / References: 1) Weston RM, Lin B, Disting GJ, Roulston CL. Targeting oxidative stress injury after ischemic stroke in conscious rats: Limited benefits with apocynin highlight the need to incorporate long term recovery. *Stroke Res Treat* Volume 2013. 2) Chiang CH, Chuang CH, Liu SL. Apocynin attenuates ischemia-reperfusion lung injury in an isolated and perfused rat lung model. *Trans Res* 2011; 158: 17- 29. 3) Liu PG, He SQ, Zhang YH, Wu J. Protective effects of apocynin and allopurinol on ischemia-reperfusion induced liver injury in mice. *World J Gastroenterol* 2008, 18: 2832-2837. 4) Connell BJ, Saleh MC, Khan BV, Saleh TM. Apocynin may limit total cell death following cerebral ischemia and reperfusion by enhancing apoptosis. *Food Chem Toxicology* 2011, 49: 3063-3069. 5) Riganti C, Costamagna C, Bosia A, Ghigo D. The NADPH oxidase inhibitor apocynin (acetovanillone) induces oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006, 212: 179-187.

P212

Streptozotosinle indüklenmiş diyabetik ratlarda aortun histolojik yapısında oluşan değişikliklere karşı alfa lipoik asitin koruyucu ve iyileştirici etkileri

Salih Kahya Aksanyar¹, Semir Gül¹, Kevser Tanbek², Mehmet Gül¹, Elif Özerel²

¹İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD

²İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD

Diyabet metabolik hastalıklardan birisi olup, uzun dönemde hiperglisemi ile karakterizedir. Hiperglisemi, aort da dahil olmak üzere birçok doku ve organda fonksiyonel bozukluklara neden olmaktadır. Streptozotosin (STZ), deneysel diyabet oluşturmak için kullanılan maddelerden birisidir. Alfa lipoik asit (ALA) hasarlı doku ve organlarda normal fonksiyonel yapının iyileştirilmesi için yaygın olarak kullanılan bir antioksidandır. ALA oksidatif stres sonucu oluşan hasarın onarılması ve serbest radikallerin süpürülmesinde önemli bir role sahiptir. Bu çalışmada, STZ ile indüklenmiş diyabetik ratlarda aortta histopatolojik hasarlar üzerine ALA'nın koruyucu ve iyileştirici etkileri araştırılmıştır.

METOT

Bu çalışmada 40 adet Wistar albino erkek sıçan (250-300 g) kullanıldı ve 4 gruba ayrıldı. Kontrol (n=10); herhangi bir uygulama yapılmadı. STZ (n=10); 50 mg/kg i.p. uygulandı. STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra, kan glikoz seviyeleri 200 mg/dl ve üzeri olan sıçanlar STZ ve STZ+ALA gruplarına alındı. ALA; 100 mg/kg/gün gastrik gavaj ile 6 hafta süresince ALA uygulandı. STZ+ALA; 100 mg/kg/gün gastrik gavaj ile 6 hafta süresince ALA verildi. Uygulama sonunda histolojik incelemeler için aort dokuları alındı. Dokular %10 formaldehitte tespit edildikten sonra rutin histolojik takip prosedürleri uygulandı. Parafin bloklardan 5 µm'lik kesitler alındıktan sonra H&E ve aldehit fuksin ile boyandı. Boyanan aort kesitleri Nikon Optik Hot ışık mikroskobu ve DS L3 görüntü analiz sisteminde, DS F2 Nikon Kamera (Nikon, Tokyo, Japan) ile incelenerek fotoğraflar alındı.

BULGULAR

Kontrol ve ALA gruplarına ait H-E ile boyanan arter kesitlerinde intima, media ve adventisya tabakaları düzenli izleniyordu. İntima tabakasında endotel, media tabakasında sirküler seyirli düz kas lifleri ve kuvvetli eozinofilik boyanan elastik lameller ile adventisya tabakasında gevşek bağ dokusu normal histolojik yapıda değerlendirildi. Aldehit fuksin ile boyanan kesitlerde elastik lameller sınırları düzgün, kesintisiz sirküler seyirli izlendi. STZ grubuna ait H-E ile boyanan kesitlerde media tabakasında elastik lameller arasında yer yer mononükleer hücre infiltrasyonu mevcuttu. Düz kas hücre nükleuslarında heterokromazi artışı ve piknotik nükleus yapısı ile sitoplazmik vakuolizasyon dikkati çekti. Elastik lamellerde zayıf eozinofilik boyanma, inceleme, yer yer kesinti alanları ve lamel yapısında yaygın deformasyon saptandı. Aldehit fuksin ile boyanan kesitlerde elastik lamellerde inceleme, dağılıma yer yer kesintiler şeklinde deformasyonlar saptandı. STZ+ALA grubunda yer yer az sayıdaki düz kas hücrelerinde heterokromatik nükleus yapısı ve minimal sitoplazmik vakuolizasyon izlendi. Elastik lameller genel olarak normal yapıda değerlendirildi. STZ grubunda izlenen hasar bulgularının önemli oranda azalmış olduğu saptandı. Morfometrik analiz sonucunda, t.media kalınlığı/lümen çapı oranı ortalamaları, kontrol (0,061), ALA (0,060), STZ (0,057), STZ+ALA (0,059) olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Streptozotosin, alfa lipoik asit, diyabet, aorta

Ameliorative effects of alpha lipoic acid on damage of aorta in streptozotocin induced diabetic rats

Salih Kahya Aksanyar¹, Semir Gül¹, Kevser Tanbek², Mehmet Gül¹, Elif Özerel²

¹Inonu University Faculty of Medicine Histology and Embryology Department

²Inonu University Faculty of Medicine Medical Biochemistry Department

Diabetes Mellitus is a metabolic diseases which shows hyperglycemia over a prolong period. Hyperglycemia causes dysfunction of many tissues including aorta. Streptozotocin (STZ) is one of the commonly used agent to form experimental diabetes. Alpha lipoic acid (ALA) is an antioxidant to ensure the proper function of damaged tissues and organs. It plays a big role to remove free radicals in the cells and repair of oxidative damage. In this study, the protective effects of ALA on histopathological disruptions of aorta was searched in STZ induced diabetic rats.

METHODS

40 male Wistar albino rats (250-300 g) were used and divided into 4 groups. Control (n=10); applied nothing. STZ (n=10); 50 mg/kg i.p. applied. After 72 hours of STZ injection, rats with blood glucose levels of 200mg/dL and above were grouped as STZ and STZ+ALA. ALA (n=10); 100 mg/kg/day was applied by gastric gavage for 6 weeks. STZ+ALA (n=10); 100mg/kg/day was given by gastric gavage for 6 weeks. After the experimental application, aorta tissues were taken for histological analysis. Tissues were fixed in 10% formaldehyde and processed with routine histological procedures. Aorta sections of 5 µm thickness were taken and stained with H&E and aldehyde fuchsin. Sections were analyzed with Nikon Optik Hot-2 light microscope, DS-Fi2 camera and the DS-L3 image analysis system.

RESULTS

In control and ALA groups, intima, media and adventisia layers were in normal histological structure. Endothel in intima, circular smooth muscle fibers and dense eosinophilic stained elastic lamels in tunica media and loose connective tissue in adventitia were evaluated as normal histological appearance. Elastic lamels were observed as proper ordered, circular and continuous shape. In H&E sections of STZ group, there were occasional mono-nuclear cell infiltration between elastic lamels. Heterochromasia increase, picnotic nucleus and cytoplasmic vacuolization in smooth muscle cells were realised. Loose eosinophilic staining, slimming, outage areas and widely lamel deformation in elastic lamels were observed. In aldehyde fuchsin sections, slimming, disruptions, occasional interruptions in elastic lamels were monitored. In STZ+ALA group, rare heterochromatic nucleus and minimal cytoplasmic vacuolization were seen in smooth muscle cells. Elastic lamels were generally in normal appearance. It was observed that damage findings of STZ group were considerably repaired in STZ+ALA group. According to the morphometric analysis, thickness of t.media/lumen diameter ratios were found as, control (0,061), ALA (0,060), STZ (0,057), STZ+ALA (0,059).

Keywords: Streptozotocin, Alpha lipoic acid, diabet, aorta

P213

Capsaicinin Ovaryum Granuloza Hücrelerinin Proliferasyonu ve Apoptozisi Üzerine Etkisi

Sabire Peker¹, Berrin Zık¹, Korhan Altunbaş²

¹Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyon

Capsaicin, kırmızı bibere acılığı veren, alkoloid yapıda bir maddedir. Capsaicinin, sensorik sinirler üzerindeki etkilerinden dolayı, birçok çalışmada, farklı organ ve sistemler üzerindeki etkileri incelenerek geniş uygulama alanları bulmasına rağmen, ovaryum üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Bu çalışmanın amacı, capsaicinin farklı doz ve zaman uygulamalarının, primer olarak elde edilen ovaryum granuloza hücreleri üzerinde meydana getirdiği proliferatif ve/veya apoptotik, direk etkilerinin incelenmesidir. Bu amaca uygun olarak, 30 günlük sıçan ovaryumlarından, belirlenen primer hücre kültürü prosedürünün takibi ile granuloza hücreleri izole edildi. Elde edilen granuloza hücreleri ile; kontrol A (hücre kontrol grubu), kontrol B (taşıt maddenin (DMSO) verildiği kontrol grubu), 10, 50, 100, 150 ve 200 µM olmak üzere capsaicinin uygulanacağı 7 farklı doz grubu ve her doz grubu için, iki farklı zaman (24 ve 48 saat) grubu oluşturuldu. Doz ve zaman uygulamalarını takiben capsaicinin, granuloza hücreleri üzerindeki olası proliferatif etkilerinin incelenmesi amacıyla PCNA primer antikoruna ile immünohistokimya, immünofloresan ve western blot prosedürleri uygulandı. Ayrıca bu bulguları desteklemek amacıyla MTT hücre proliferasyon testi yapıldı. Capsaicinin apoptotik etkilerini incelemek amacıyla ise, apoptotik yolağın son elemanlarından aktif caspase-3 ve aktif PARP primer antikorları ile immünohistokimya, immünofloresan ve western blot deneyleri gerçekleştirildi.

Deneylerin sonucunda, capsaicinin 50 µM'a kadar düşük uygulama dozlarıyla, granuloza hücrelerinde proliferasyonun arttığı, 100 µM dozdan sonra ise apoptozisin meydana geldiği görüldü. Bu etkilerin 24 ve 48 saatlik zaman uygulamalarında benzer olmasından dolayı, 24 saatlik capsaicin uygulamasının istenen etkilerin görülmesi için yeterli olduğu görüldü.

Sonuç olarak, capsaicinin düşük dozlarının, ovaryum granuloza hücreleri üzerinde proliferatif etki gösterdiği, doz arttıkça ise apoptozisin meydana geldiği belirlendi. Bu etkilerinden dolayı, capsaicinin düşük dozlarının, reproduktif düzenin devamlılığında kullanılabileceği, yüksek dozlarının ise ovaryum kanserleri için geliştirilecek alternatif tedavi protokollerine temel oluşturabileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Granuloza hücresi, capsaicin, apoptozis, proliferasyon

Effects of Capsaicin on Ovarium Granulosa Cell Proliferation and Apoptosis

Sabire Peker¹, Berrin Zık¹, Korhan Altunbaş²

¹University of Uludag, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology, Bursa, Turkey

²University of Afyon Kocatepe, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology, Afyon, Turkey

Capsaicin, alkoloid substance, is pungent ingredient in red peppers. Due to the effects on sensory nerve fibers, many studies have examined the effects of capsaicin on different organs and systems. Despite the finding wide application areas on different systems, the studies of the effects on the ovary is very limited.

The aim of the present study, the possible proliferative and/or apoptotic effects of various doses and time periods in the application of capsaicin on primarily derived granulosa cells. In accordance with this purpose, identification procedure was followed for granulosa cells isolation from 30-day rat ovaries. The obtained granulosa cells were divided seven dose groups; control A (cell control), control B (vehicle (DMSO) control), 10, 50, 100, 150 and 200 µM and two different time (24 and 48 hours) groups. As the results of dosage and time administration of capsaicin, the proliferative effects were examined by PCNA primary antibody and immunocytochemistry, immunofluorescence and western blot procedures were performed. In addition, the MTT cell proliferation assay was performed to support these findings. In order to examine the apoptotic effects of capsaicin, immunocytochemistry, immunofluorescence and western blot assays were performed by last

elements in the apoptotic pathway; active caspase-3 and active PARP.

As a result of the experiments, granulosa cell proliferation with the lower application doses of up to 50 µM, but after 100 µM and increased doses showed the apoptosis occur. Due to these effects were similar in 24 and 48 hours application time, 24 hours capsaicin application was observed to be sufficient for of the occurrence of the desired effects.

In consequence of the present study, low doses of capsaicin have proliferative effects on granulosa cells and the apoptosis was occurred when the dose increase. Because of these effects, low-dose capsaicin can be used in the continuity of the reproductive pattern and higher doses in development alternative treatment protocols on ovarian cancers.

Keywords: Granulosa cell, capsaicin, apoptosis, proliferation

Kaynakça / References: ZHANG R, HUMPHREYS I, SAHU RP, SHI Y, SRIVASTAVA SK. In vitro and in vivo induction of apoptosis by capsaicin in pancreatic cancer cells is mediated through ROS generation and mitochondrial death pathway. *Apoptosis*, 13(12): 1465-1478, 2008. MORÁN C, MORALES L, RAZO RS, APOLONIO J, QUIRÓZ U, CHAVIRA R, DOMÍNGUEZ R. Effects of sensorial denervation induced by capsaicin injection at birth or on day three of life, on puberty, induced ovulation and pregnancy. *Life Sciences*, 73(16): 2113-2125, 2003. ZIK B, ÖZGÜDEN AKKOÇ CG, TÛTÛNCÛ Ő, TUNCAY I, YILMAZTEPE OA, OZENCI CÇ. Effect of low dose capsaicin (CAP) on ovarian follicle development in prepubertal rat. *Revue De Medecine Veterinaire*, 161: 288-294, 2010. ALATRISTE V, HERRERA-CAMACHO I, MARTINEZ MI, LIMON ID, GONZALEZ-FLORES O, LUNA F. Sensory denervation with capsaicin reduces ovarian follicular development and delays the onset of puberty in guinea pigs. *Advances in Reproductive Sciences*, 1(3): 29-37, 2013. VENIER NA, COLQUHOUN AJ, FLESHNER NE, KLOTZ LH, VENKATESWARAN. Lycopene enhances the anti-proliferative and pro-apoptotic effects of capsaicin in prostate cancer in vitro. *Cancer Therapeutics & Research*, 1:1-30, 2012.

P214

Domuz Timusunda Apoptozisin İnce Yapısı

Ahmet Ceylan, Belma Alabay

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Timus, kırmızı kemik iliğinden kan dolaşımıyla timusa gelen T lenfosit progenitörlerinin çoğalıp, farklılaştıkları ve olgunlaşarak immunokompetent hale geldikleri primer lenfoid organ olarak tanımlanmaktadır (Pearse, 2006). Timus, domuzda serviko-torakal yerleşim gösterir. Servikal timus trakeyanın sağ ve sol yan yüzünden iki lop halinde önce ventral sonrasında ise lateral yerleşimli olarak boyun bölgesinin anteriyörü boyunca uzanarak dorsalde larenkse kadar ulaşır (König ve Liebich, 2009). Timus, T lenfositlerin seleksiyonunun immunolojik olarak gerçekleştiği yerdir. Diğer bir deyişle gelişim süreci içerisinde timositlerin etkisiz olanları ve kendi dokularına karşı reaksiyon verme potansiyeli taşıyanlarının yaklaşık % 95'i kan dolaşımına girmeden önce apoptozis yoluyla yok edilirler (Andersen ve ark., 1996; Sprent ve Kishimoto, 2002; Elmore, 2007). Bu bağlamda apoptozis hem timustaki hemde periferel dolaşımdaki lenfosit popülasyonunun kontrolünde, santral ve periferel toleransın sağlanmasında önemli bir rol üstlenmektedir (Souza ve ark., 2010).

Bu çalışmada; domuz timusunda gelişimsel süreç içerisinde apoptozis yolu ile ortadan kaldırılan T lenfositlerin, transmisyon elektron mikroskop kullanılarak ince yapı düzeyinde göstermiş oldukları değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu araştırmada iki farklı yaş grubundaki (7 günlük, 1 aylık) sağlıklı Yorkshire ırkı domuzlardan alınan timusa ait doku parçaları, glutaraldehit-paraformaldehitte ön tespitleri yapıldıktan sonra kakodilat tamponunda yıkanarak %2'lik ozmik asitte ikinci kez tespit edildi. Daha sonra dereceli alkollerden ve propilen oksitten geçirilerek Araldit M'de blokları yapıldı. Bu bloklardan alınan 1 mikronluk yarı ince kesitlere toluidine blue boyama yöntemi uygulandı. İncelenen yarı ince kesitlerde istenilen bölgenin işaretlenmesi yapıldıktan sonra, bu bloklardan 300-400 Angstrom kalınlığında ince kesitler alındı. Bu kesitler, gridlere alındıktan sonra uranyl asetat ve kurşun sitrat boyalarından (Veneable ve Coggeshall, 1965) geçirilerek Philips CM 100 model transmisyon elektron mikroskopta incelendiler. Domuzlar üzerinde gerçekleştirilen tüm uygulamalar için Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2012-1/2012-4/2012-1-5 karar nolu onayı alındı.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda incelenen tüm gruplarda apoptotik lenfositlerin ince yapı düzeyinde benzer morfolojiler sergiledikleri görülmekle birlikte incelenen alanlarda zaman bağılı olarak apoptotik T lenfosit sayısında artış olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Timus, T lenfosit, apoptozis, transmisyon elektron mikroskop

Fine Structure of Apoptosis in Pig Thymus

Ahmet Ceylan, Belma Alabay

Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ankara, Turkey

The thymus is defined as a primary lymphoid organ, bone marrow derived progenitor cells undergo proliferation/differentiation/maturation, and eventually become to form the immunocompetent T cell repertoire (Pearse, 2006). In pig, thymus has both cervical and thoracic regions (König and Liebich, 2009). Thymus is a place where the T cells are selected immunologically. In other words most thymocytes (elimination of auto-reactive and ineffective lymphocytes) (95%) die via apoptosis in the course of this process, and only relatively few exit the thymus as mature cells to the bloodstream (Andersen et al., 1996; Sprent and Kishimoto, 2002; Elmore, 2007). In that respect, apoptosis, plays a pivotal role managing of the T lymphocytes population both bloodstream and in the thymus, maintaining central and peripheral tolerance (Souza et al., 2010). This research is focused on ultrastructural alterations, using with transmission electron microscopy, in T lymphocytes which are eliminated by apoptosis in the way of developmental processes in pig thymus.

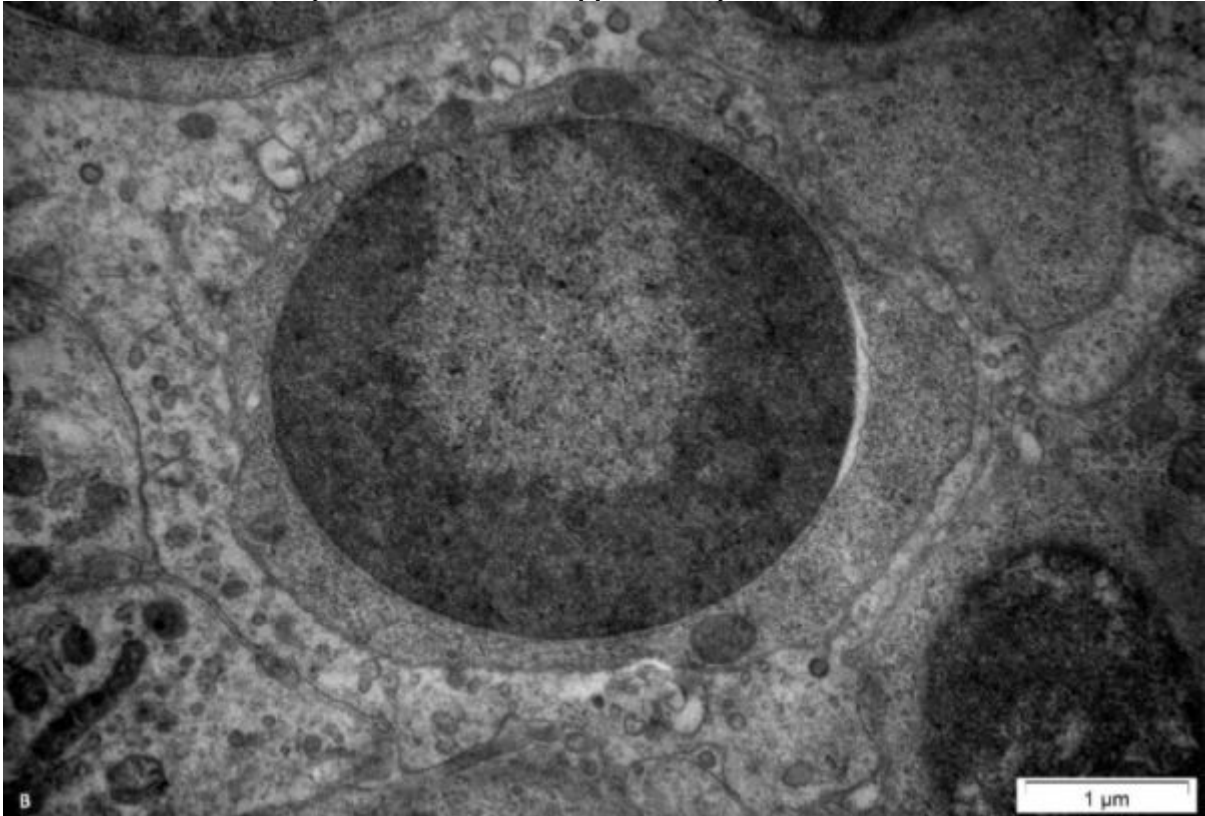
Tissues taken from the two different groups (7 days and 30 days old) of Yorkshire pigs were first fixed in glutaraldehyde-paraformaldehyde solution for 24 hours, and then in osmic acid for 2 hours. Subsequently, these tissue pieces were passed through a series of graded alcohols and propylene

oxide and then embedded in Araldite M. Semi-thin sections cut from these blocks were stained with toluidine blue and thin sections having a thickness of 300-400 Angstroms were taken from pre-determined regions (Veneable and Coggeshall, 1965). After that thin sections were stained with lead citrate and uranyl acetate and examined on a transmission electron microscope (model Philips CM 100). This study was approved by the Ethics Committee of the Ankara University (2012-1/2012-4/2012-1-5).

In conclusion, our data suggested that apoptotic T lymphocytes exhibit similar morphologies at the ultrastructural level in all groups. Beside that we observed a time-dependent increase of apoptotic T lymphocyte numbers.

Keywords: thymus, T lymphocyte, apoptosis, transmission electron microscopy

**Çekirdek kondenzasyonu (at nalı şeklinde)
Nuclear condensation ("horse-shoe" like appearance)**



*Medulla at nalı şeklindeki çekirdek kondenzasyonu.
Medulla, Nuclear condensation ("horse-shoe" like appearance)*

Kaynakça / References: Kaynaklar ANDERSON, G., MOORE, N.C., OWEN, J.J.T., JENKINSON, E.J. (1996). Cellular interactions in thymocyte development. *Annu. Rev. Immunol.*, 14: 73-99. ELMORE, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.*, 35(4): 495-516. KÖNIG, H.E., LIEBICH, H.G. (2009). *Veterinary Anatomy of Domestic Animals Textbook and Colour Atlas*. Schattauer, Fourth Edition, p.:481-489. PEARSE, G. (2006). Normal structure, function and histology of the thymus. *Toxicol. Pathol.*, 34: 504-514. SPRENT, J., KISHIMOTO, H. (2002). The thymus and negative selection. *Immunol. Rev.*, 185: 126-135. SOUZA, A.W.S., JUNIOR, D.M. ARAUJO, J.A.P., CATELAN, T.T.T., CRUVINEL, W.M. (2010). Immune System – Part III The delicate balance of the immune system between tolerance and autoimmunity. *Bras. J. Rheumatol.*, 50(6):665-679. VENEABLE, J.H., COGGESHALL, R. (1965). A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 25: 407-408.

P215

Oksitosinin L-Name ile Oluşturulan Hipertansiyon Deneysel Modelinde Apoptoz Üzerindeki Rolü

Alev Cumbul¹, Ünal Uslu¹, Hülya Buzcu², Alper Yıldırım²

¹Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

GİRİŞ-AMAÇ: Sinsi bir katil olarak da bilinen hipertansiyon, dünya genelinde en yaygın görülen kalp ve damar sistemi hastalığıdır. Oksitosinin neurohipofizyal bir hormon ve neurotransmitter olup uterus kasılmasını ve kan basıncının düşürücü bir yararlı etkileri bulunmaktadır. Oksitosinin kalp ve damar sistemi hastalıklarındaki koruyucu etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir (1). Biz bu çalışmada, L-Name ile oluşturulmuş hipertansiyon modelinde aortun media tabakasındaki düz kas hücrelerinde meydana gelen apoptoza oksitosinin etkisini araştırmaktır.

ARAÇ ve GEREÇLER: Çalışmamızda, 250-300 gr ağırlığındaki yetişkin Wistar Albino sıçanlardan oluşan 4 grup bulunmaktadır. Gruplar; Kontrol (K), L-NAME ile indüklemiş (hipertansiyon) grubu (L), L-NAME uygulanan ve Oksitosin alan (LO) and L-NAME uygulanan ve antioksisosin alan (LAO) şeklindedir. Deney süresi 14 gündür. Hayvanlara hergün periton içi 50mg/kg dozunda L-NAME verilmiştir. LO grubuna L-NAME ile birlikte her gün deri altına 0,1 mg/kg dozunda Oksitosin, LAO grubuna ise hergün periton içi 0,1 mg/kg dozunda anti-oksisosin verilmiştir (2). Deney sonrasında hayvanlar anestezi ile ötanazi edilerek, aortları histolojik olarak incelenmek üzere alınmıştır.

Dokular, +4C°'de, %10'luk nötral formaldehit solüsyonu (0,1 M fosfat tamponlu, pH=7,4) içeren doku kaplarına alınmıştır. Rutin histolojik doku takibinden sonra elde edilen paraffin bloklardan 5 mikronluk kesitler alınarak apoptotik indeks değerlendirilmesi amacıyla TUNEL (TdT - mediated dUTP nick end labeling) tekniğiyle immunohistokimyasal olarak boyanmıştır. Kesitler daha sonra aort media tabakasındaki düz kas hücrelerinin değerlendirilmesi için Leica DM 4000B mikroskopunda Stereoinvestigator 7,5 image analysis programıyla incelenmiştir.

SONUÇ: Aort dokusunun tunika medya tabakasındaki TUNEL pozitif hücreler kontrol grubu ile Oksitosin verilen grup arasında herhangi bir fark görülmemiştir. Apoptotik indeks L-NAME indüklenmiş hipertansiyon grubunda diğer deney gruplarına göre belirgin şekilde arttığı görülmüştür (p<0.001). L-NAME indüklenmiş ve Antioksisosin tedavisi alan gruptaki apoptoza uğrayan hücreler, Oksitosin tedavisi alan (LO) gruba göre belirgin şekilde artmıştır (p<0.001) (Şekil 1 ve 2).

TARTIŞMA: Bu çalışmadaki bulgularımız doğrultusunda Oksitosinin, hipertansiyon modelinde apoptoz mekanizmasını engelleyici bir etkisi olabileceği göstermektedir.

Kaynaklar

1. Eskandarian S, Vafaei A, Vaezi GH, Taherian F, Kashefi A, Rashidy-Pour A. Effects of Systemic Administration of Oxytocin on Contextual Fear Extinction in a Rat Model of Post-Traumatic Stress Disorder. Basic Clin Neurosci. 2013; 4(4): 315-22
2. Petersson M, Alster P, Lundeborg T, Uvnas-Moberg K. Oxytocin causes a longterm decrease of blood pressure in female and male rats. Physiol Behav 1996; 60: 1311-1315.

Anahtar Kelimeler: Anahtar sözcükler: Hipertansiyon, Oksitosin, Apoptoz, antioksisosin, aort, sıçan.

The role of Oxytocin treatment on apoptosis in a L-NAME induced animal model of Hypertension

Alev Cumbul¹, Ünal Uslu¹, Hülya Buzcu², Alper Yıldırım²

¹Yeditepe University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Istanbul, Turkey

²Marmara University Faculty of Medicine, Department of Physiology, Istanbul, Turkey

INTRODUCTION: Hypertension, also known as insidious killer, is the most common cardiovascular disorder worldwide. As a neurohypophyseal hormone and a neurotransmitter, oxytocin has beneficial effects on uterine contraction and blood pressure. Numerous studies indicate cardiovascular protective effects of oxytocin (1). In the current study, we aim to define the effects of oxytocin infusion on smooth muscle cell apoptosis in L-NAME induced animal model.

MATERIAL-METHODS: Adult Wistar albino rats (250-300 gr) were randomly assigned to 4

experimental groups: Control (C), L-NAME administrated (hypertension group) (L), L-NAME + Oxytocin treated (LO) and L-NAME + anti-oxytocin treated (LAO). The experimental duration was 14 days. L-NAME administrated 50mg/kg/day i.p. L-NAME administrated rats were injected with either Oxytocin (0,1 mg/kg per day; s.c.) or anti-oxytocin (1 mg/kg per day; i.p.) (2). On the 14th day of the experiment all rats were euthanized under anesthesia, and their aortas were dissected out and immersed 10% neutral formaldehyde in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) for fixation. Paraffin-embedded sections of 5µm thickness were prepared from the embedded aorta tissue. Each section was stained using a modified TUNEL (TdT - mediated dUTP nick end labeling) technique. The smooth muscle cells from these sections were examined under a Leica DM 4000B microscope with Stereo Investigator version 7.5 image analysis program.

RESULT: The number of TUNEL positive cells was not different in tunica media of aorta between control and Oxytocin treatment groups. Apoptotic index of tunica media sections significantly attenuated L-NAME induced apoptosis in hypertension group as compared to C, LO and LAO groups ($p < 0.001$). However, the number of TUNEL positive cells was higher in LAO group as compared to LO group ($p < 0.001$) (Figure 1 and 2).

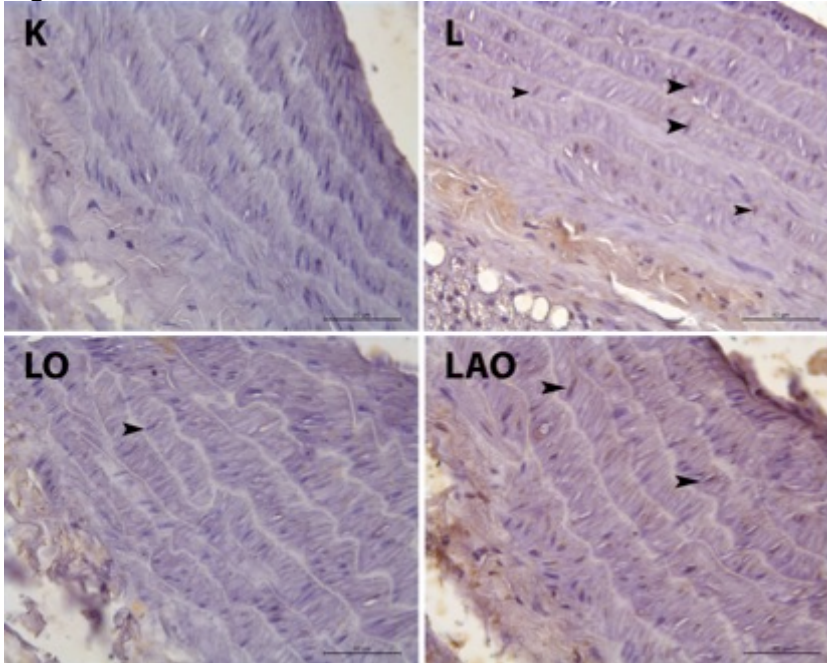
CONCLUSION: Our data suggest that oxytocin may interfere with the apoptotic mechanisms, which are involved in L-NAME induced cell death.

References

1. Eskandarian S, Vafaei A, Vaezi GH, Taherian F, Kashefi A, Rashidy-Pour A. Effects of Systemic Administration of Oxytocin on Contextual Fear Extinction in a Rat Model of Post-Traumatic Stress Disorder. *Basic Clin Neurosci*. 2013; 4(4): 315-22
2. Petersson M, Alster P, Lundeborg T, Uvnas-Moberg K. Oxytocin causes a longterm decrease of blood pressure in female and male rats. *Physiol Behav* 1996; 60: 1311-1315.

Keywords: Hypertension, oxytocin, apoptosis, antioxytocin, aort, rat.

Şekil 1
Figure 1

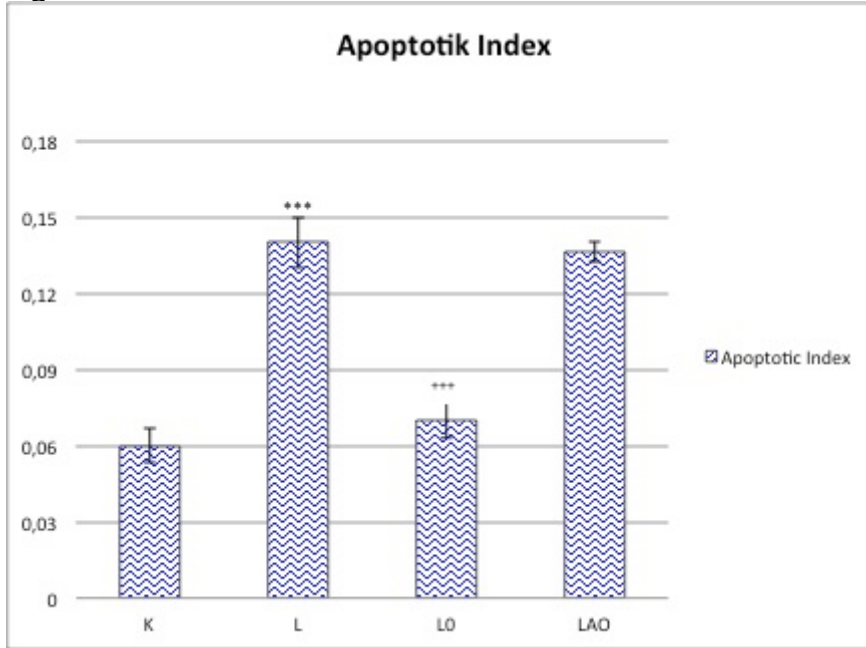


TUNEL pozitif düz kas hücreleri L-NAME uygulanan ve LAO gruplarında artmasına karşın Oksitosin uygulanan grupta azalmıştır. Fotoğraflar, aortun tunika medya tabakasından alınan kesitlerin TUNEL ile boyanmasını göstermektedir. Gruplar: K; Kontrol, L; L-NAME uygulanan, LO; L-NAME uygulanan ve Oksitosin verilen, LAO; L-NAME uygulanan ve Anti-oksitosin verilen şeklindedir. Apoptotik düz kas hücreleri (TUNEL pozitif hücreler) ok başı ile göstermiştir. Mikroskobun objektifi x40'lık ve scale bar ise 62 µm'dur.

The number of TUNEL positive cells was increased in L-NAME administrated group and decreased in Oxytocin treated group. Photomicrographs demonstrate TUNEL staining of sections taken from tunica media of aort. Groups: K; Control, L; L-NAME administrated, LO; L-NAME administrated and Oxytocin treated, LAO; L-NAME administrated and Anti-oxytocin treated. Apoptotic smooth muscle cell (TUNEL positive cell) is demonstrated with arrowhead. The magnification is x40. Scale bar

represents 62 μ m.

Şekil 2
Figure 2



Grafik K; Kontrol, L; L-NAME uygulanan, LO; L-NAME uygulanan ve Oksitosin verilen, LAO; L-NAME uygulanan ve Anti-oksitosin verilen grupların karşılaştırılmasını göstermektedir. Grafikteki veriler, aortun tunika meyasındaki apoptotic hücrelerin toplam hücre sayısına oranlanmasıyla elde edilmiştir. *** $p < 0.001$ kontrol grubuna göre değerlendirmiştir. +++ $p < 0.001$ ise LAO grubuna göre karşılaştırılmıştır.

Graphs comparing the Control (C), L-NAME administrated (L), L-NAME administrated and Oxytocin treated (LO), L-NAME administrated and Anti-oxytocin treated (LAO). Data are presented as percentage of apoptotic cells in tunica media of aort compared to total cells in this section.

*** $p < 0.001$ according to control group, +++ $p < 0.001$ compared to LAO group.

P216

Dental Restoratif Dolgu Materyalleri ile Beyin Hasarı Arasındaki İlişkinin İncelenmesi: Bir in-vivo çalışma

Selina Aksak Karamese¹, İsmail Can¹, Mustafa Düzyol², Nilgün Seven², Mevlüt Albayrak³, Fadime Atalay Dumlu⁴, Esra Düzyol⁵, Cemal Gündoğdu³

¹Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, KARS

²Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, ERZURUM

³Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

⁴Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, KARS

⁵Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı, ERZURUM

GİRİŞ: Bu çalışmada; amalgam, rezin kompozit ve cam iyonomer gibi dental restoratif dolgu materyallerinin rat beyin dokusu üzerine olan muhtemel etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, histopatolojik, immünohistokimyasal ve oksidatif stres parametreleri ile ilişkili metotlar kullanılmıştır.

MATERYAL-METOD: 32 adet, dişi Wistar-albino ratlar satın alındı ve ratların ense bölgelerinde küçük kesiler açılarak, bu kesilerin içine dental dolgu materyalleri yerleştirildi. Ardından, 8 hafta beklendi ve beyin dokuları çıkarıldı. Hematoksilin&Eozin ve NF-κB p65 boyama metotları uygulandı. Bunun yanı sıra, beyin dokusunda oksidatif strese bağlı hasarı ortaya koymak amacıyla Katalaz, Süperoksit dismutaz, Glutasyon peroksidaz ve Lipit peroksidaz seviyeleri tespit edilmiştir.

SONUÇLAR: Deney gruplarındaki immün-pozitif hücre sayısı kontrol grubuna göre daha yoğundu. Buna ilaveten, dental dolgu materyal gruplarında nöronal dejenerasyonlar mevcuttu. Tüm biyokimya sonuçları, gruplarda oksidatif stres oluştuğunu göstermekteydi.

TARTIŞMA: Elde ettiğimiz sonuçlar, 3 dolgu maddesinin de henüz keşfedilmemiş farklı mekanizmalar vasıtasıyla beyin dokusunda sitotoksik etki yarattığını göstermekteydi. Nöronlar, bu dolgu materyallerinin içeriğinde bulunan bazı ağır metal bileşiklerine maruziyet sonucu dejenerasyona uğramaktadır. Buna ilaveten dolgu maddeleri oluşturdukları sitotoksik etkiyle beraber tüm deney gruplarına ait beyin dokularında oksidatif stres oluşmasına öncülük etmişlerdir. Sonuç olarak, herhangi bir dental dolgu maddesi kullanılırken bir kez daha düşünülmelidir.

TEŞEKKÜR: Bu çalışma; 114S881 nolu proje numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Beyin dejenerasyonu, Dental amalgam, Cam iyonomer, Resin kompozit, Oksidatif stres, Sıçan

The Examination of the Relationship between Brain Damage and Dental Restorative Filling Materials: An In-vivo Study

Selina Aksak Karamese¹, İsmail Can¹, Mustafa Düzyol², Nilgün Seven², Mevlüt Albayrak³, Fadime Atalay Dumlu⁴, Esra Düzyol⁵, Cemal Gündoğdu³

¹Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, KARS

²Ataturk University, Faculty of Dentistry, Department of Restorative Dentistry, ERZURUM

³Ataturk University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, ERZURUM

⁴Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, KARS

⁵Ataturk University, Faculty of Dentistry, Department of Pediatric Dentistry, ERZURUM

INTRODUCTION: The aim of this study was to investigate the possible effects of dental restorative materials such as amalgam, resin composite and glass ionomer on rat brain tissue. For this aim, we used histopathological and immunohistochemical and oxidative stress parameters methods.

MATERIALS-METHODS: 32 adult, female Wistar albino rats were purchased and filling materials were replaced to back of the neck region. Rats were kept during 8 weeks. Brain tissues were removed. Hematoxylin&Eosin and NF-κB p65 staining was performed. Catalase, Superoxide dismutase, Glutathione and Lipid peroxidase levels were detected to put out the oxidative stress

damage in brain tissues.

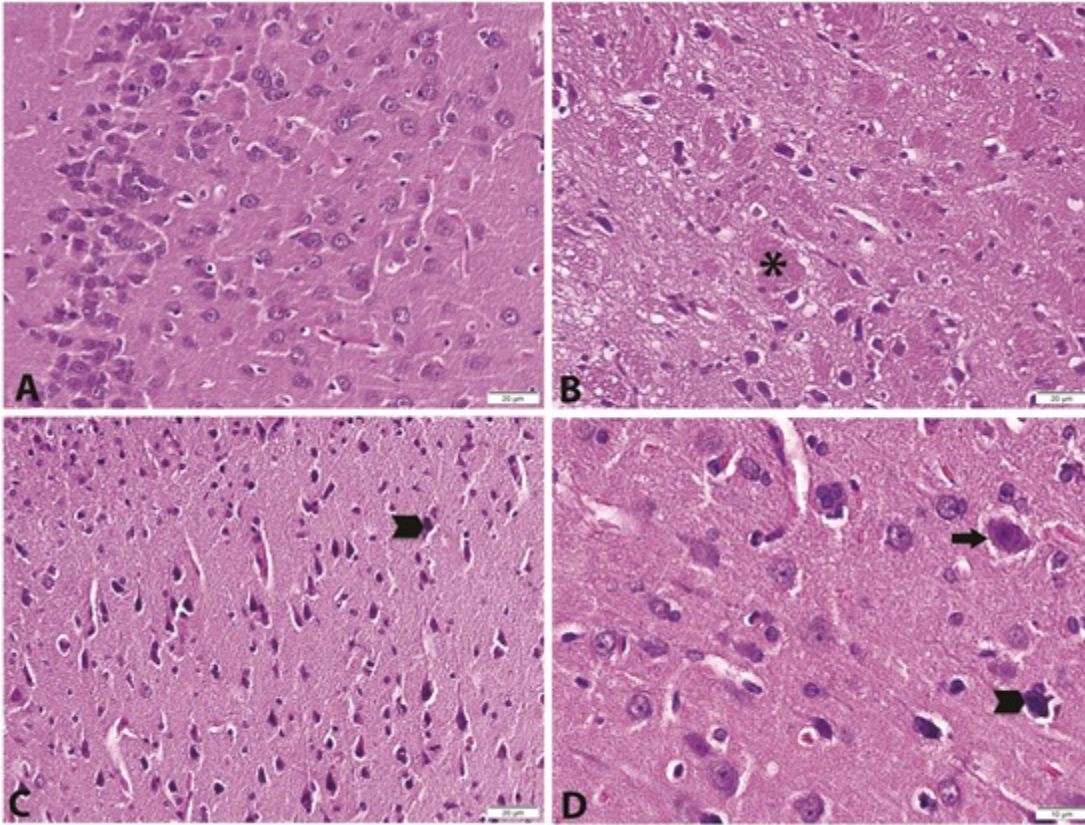
RESULTS: Immunopositive cells were more intense in dental amalgam, resin composite and glass ionomer groups than control group. Additionally, neuronal degeneration was detected in dental filling material groups. All biochemical results (Catalase, Superoxide dismutase, Glutathione and Lipid peroxidase) have pointed out the oxidative stress in all experimental groups except control group.

DISCUSSION: Our results showed that all 3 dental filling materials (dental amalgam, glass ionomer and resin composite) has severe cytotoxic effects on brain tissue with different mechanisms which are still unknown. The neurons were degenerated by some heavy metal compounds of these filling materials. Additionally, oxidative stress may also occur in brain tissue by leading the dental filling materials cytotoxic effects. Finally, the use of any dental filling materials should be carefully considered.

ACKNOWLEDGEMENT: This study was supported by The Scientific and Technical Research Council of Turkey (TUBITAK) with the following project number: 114S881.

Keywords: Brain degeneration, Dental amalgam, Glass ionomer, Resin composites, Oxidative stress, Rat.

Resim 1
Figure 1

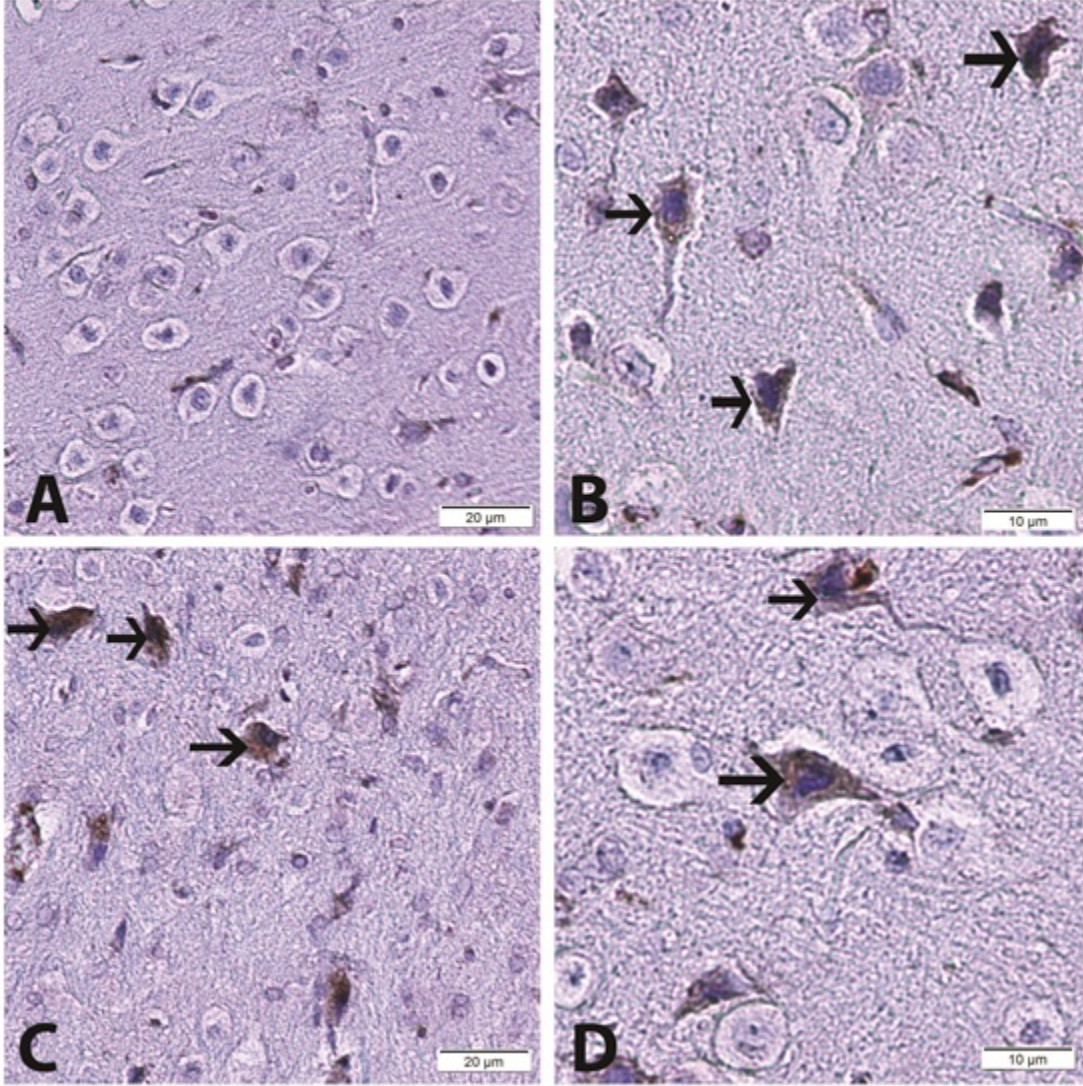


Tüm deney gruplarına ait ışık mikroskopik fotomikrograflar Boyama: Hematoksilen&Eozin A: Kontrol Grubu B: Rezin kompozit grubu C: Cam iyonomer grubu D: Dental amalgam grubu Ok: Dejeneratif nöronlar; okbaşı: Hiperkromatik nükleuslu nöronlar; yıldız: Beyin dokusundaki hiyalinize alanlar

Light microscopic photomicrograph of all experimental groups. Staining: Hematoxylen and eosin (H&E), A: Control group, B: Resine composite group, C: Glass ionomer group, D: Dental amalgam group, Arrows; degenerative neuron, Arrowhead; neuron with hyperchromatic nucleus, Star; hyalinized area in brain tissue.

Resim 2

Figure 2



Tüm deney gruplarına ait ışık mikroskopik fotomikrograflar Boyama: NF-κB p65 boyama A: Kontrol Grubu B: Resin kompozit grubu C: Cam iyonmer grubu D: Dental amalgam grubu Ok: NF-κB immün pozitif hücreler

Light microscopic photomicrograph of all experimental groups. Staining: NF-κB p65, A: Control group, B: Resine composite group, C: Glass ionomer group, D: Dental amalgam group, Arrows; NF-κB immune positive cells.

Kaynakça / References: Bu çalışma; 114S881 nolu proje numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

P217

Diş Dolgu Materyalleri ile Karaciğer ve Böbrek Hasarı Arasındaki İlişki

İsmail Can¹, Mustafa Düzyol², Mevlüt Albayrak³, Selina Aksak Karamişe¹, Nilgün Seven², Fadime Atalay Dumlu⁴, Cemal Gündoğdu³

¹Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, KARS

²Atatürk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, ERZURUM

³Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

⁴Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, KARS

GİRİŞ: Bu çalışma ile dental restoratif dolgu materyallerinin, sıçan karaciğer ve böbrek dokuları üzerine olan muhtemel etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, bazı histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal metotlar çalışma dâhilinde kullanılmıştır.

MATERYAL-METOD: 32 adet, yetişkin, dişi Wistar albino cinsi rat satın alınmış ve ense kısımları kesilerek dental dolgu materyalleri yerleştirilerek 8 hafta beklenmiştir. Ardından, böbrek ve karaciğer dokuları çıkarılmıştır. Hematoksilen&Eozin ve NF-κB p65 boyama metotları uygulanmıştır. Biyokimyasal olarak ise Katalaz, Süper oksit dismutaz, Glutatyon peroksidaz ve Lipit peroksidaz seviyeleri ölçülmüştür.

SONUÇLAR: Deney gruplarındaki immün-pozitif hücre sayısı kontrol grubuna göre daha yoğundu. Buna ilaveten, dental dolgu materyal gruplarında hepatik ve renal dejenerasyonlar mevcuttu. Tüm biyokimya sonuçları, gruplarda oksidatif stres oluştuğunu göstermekteydi.

TARTIŞMA: Elde ettiğimiz sonuçlar, 3 dolgu maddesinin de karaciğer ve böbrek dokusunda sitotoksik etki yarattığını göstermekteydi. Buna ilaveten dolgu maddeleri, tüm deney gruplarında karaciğer ve böbrek dokularında oksidatif stres oluşmasına öncülük etmişlerdir. Sonuç olarak, herhangi bir dental dolgu maddesi kullanılırken bir kez daha düşünülmelidir.

TEŞEKKÜR: Bu çalışma; 114S881 nolu proje numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer hasarı, Böbrek hasarı, Dental amalgam, Cam iyonomer, Resin kompozit, Oksidatif stres, Sıçan

The Relationship among Dental Restorative Filling Materials, Kidney and Liver Damage

İsmail Can¹, Mustafa Düzyol², Mevlüt Albayrak³, Selina Aksak Karamişe¹, Nilgün Seven², Fadime Atalay Dumlu⁴, Cemal Gündoğdu³

¹Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, KARS

²Ataturk University, Faculty of Dentistry, Department of Restorative Dentistry, ERZURUM

³Ataturk University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, ERZURUM

⁴Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, KARS

INTRODUCTION: The aim of this study was to investigate the possible effects of dental restorative materials on rat kidney and liver tissues. For this aim, we performed some histological, immunohistochemical and biochemical methods.

MATERIALS-METHODS: 32 adult, female Wistar albino rats were purchased and filling materials were replaced to back of the neck region. Rats were kept during 8 weeks. Kidney and liver tissues were removed. Hematoxylin&Eosin and NF-κB p65 staining was performed. Catalase, Superoxide dismutase, Glutathione and Lipid peroxidase levels were detected.

RESULTS: Immun-positive cells were more intense in all experimental groups than control group. Additionally, hepatic and renal degeneration was detected in dental filling material groups. All biochemical results (Catalase, Superoxide dismutase, Glutathione and Lipid peroxidase) have pointed out the oxidative stress in all groups.

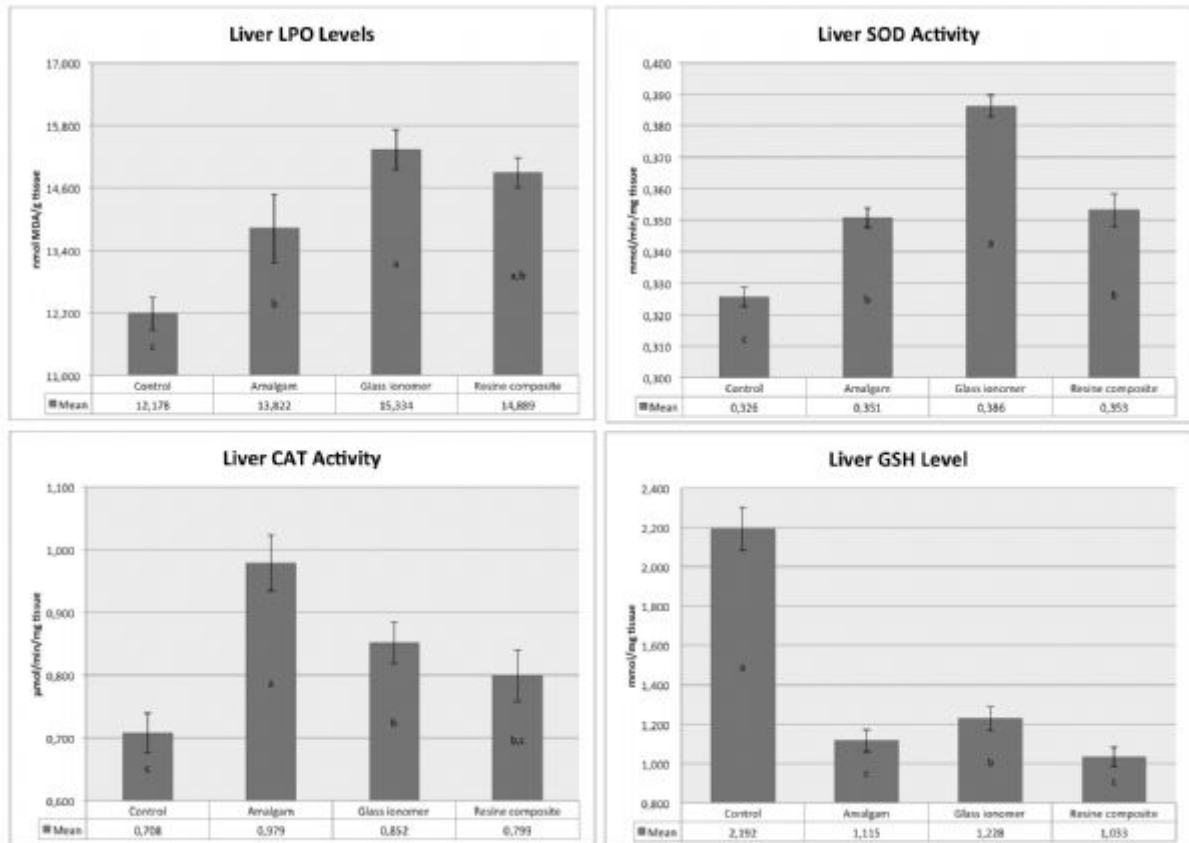
DISCUSSION: Our results showed that all 3 dental filling materials have severe cytotoxic effects on

kidney and liver tissues. Additionally, oxidative stress may also occur in brain tissue by leading the dental filling materials cytotoxic effects. Finally, the use of any dental filling materials should be carefully considered.

ACKNOWLEDGEMENT: This study was supported by The Scientific and Technical Research Council of Turkey (TUBITAK) with the following project number: 114S881.

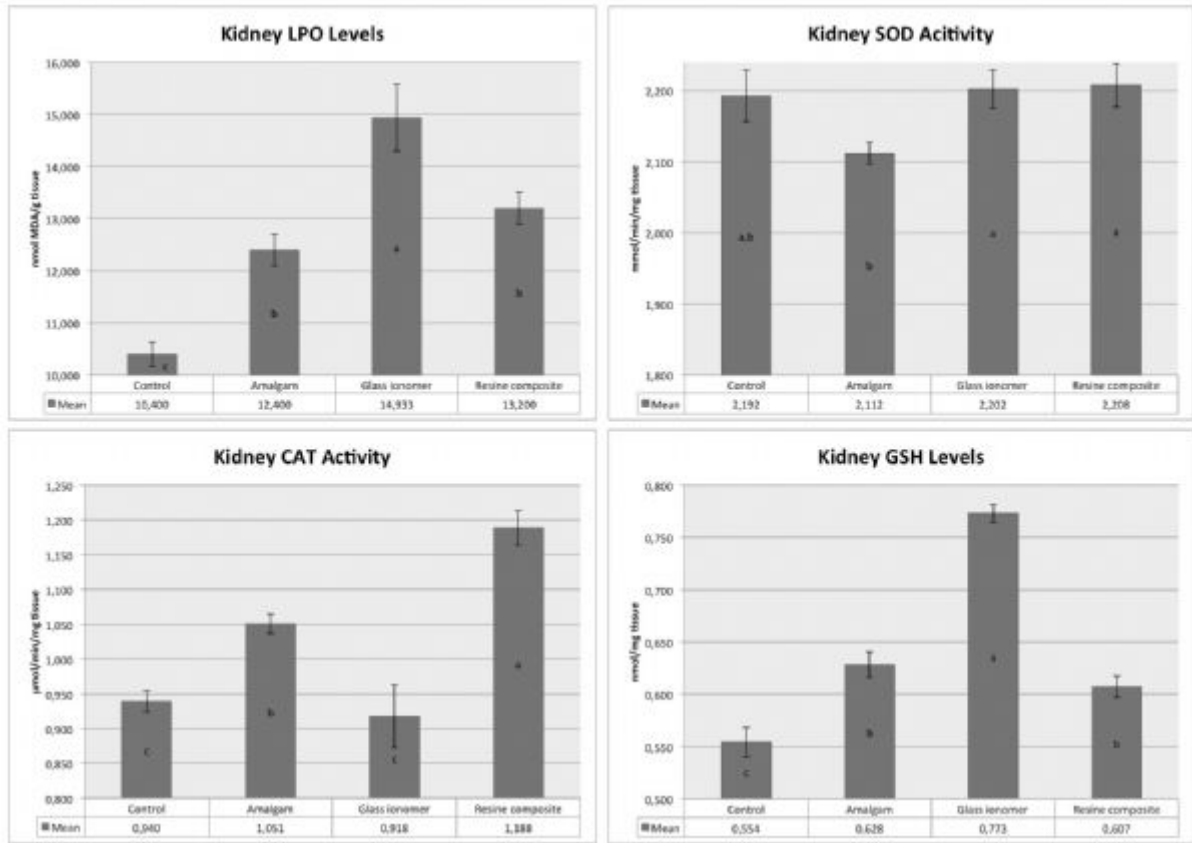
Keywords: Kidney damage, Liver damage, Dental amalgam, Glass ionomer, Resin composites, Oxidative stress, Rat

Resim 1
Figure 1



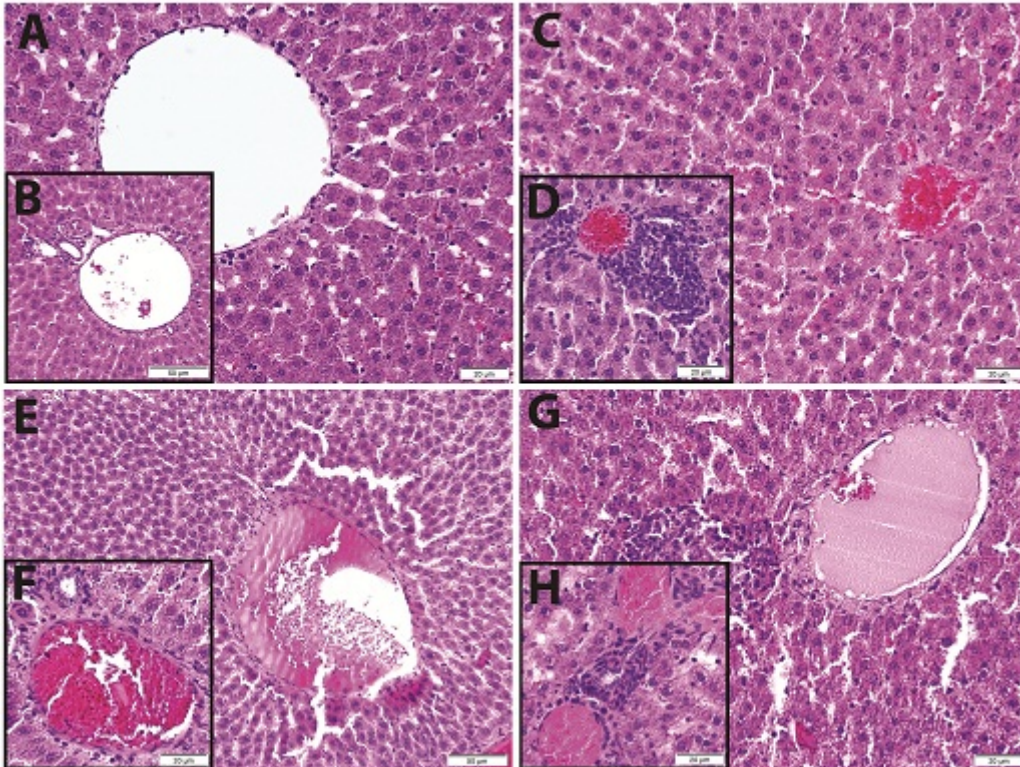
Tüm deney gruplarının karaciğer dokularına ait biyokimyasal sonuçlar
Biochemical results of all experimental groups liver tissues

Resim 2
Figure 2



Tüm deney gruplarının böbrek dokularına ait biyokimyasal sonuçlar
Biochemical results of all experimental groups kidney tissues

Resim 3
Figure 3



Karaciğer dokularına ait ışık mikroskopik görüntüler Boyama: Hematoksilen&Eozin A,B: Kontrol grubu, C,D: Rezin kompozit grubu, E,F: Cam iyonomer grubu, G,H: Dental amalgam grubu

Light microscopic images of livers. Dye; Haematoxylin&Eosin. A,B: Control group, C,D: Resine composite group, E,F: Glass-ionomer group, G,H: Dental amalgam group

Kaynakça / References: Bu çalışma; 114S881 nolu proje numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

P218

Metoksiklor ile Oluşturulan Oksidatif Stresin Karaciğer Dokusu Üzerine Etkisi

Esra Balcıoğlu, Gözde Özge Önder, Saim Özdamar
Erciyes Üniversitesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Endokrin bozucu; sağlıklı bir organizmada veya onun gelecekteki neslinde endokrin sistemin çalışmasını değiştirerek, sağlık sorunlarına neden olan dışarıdan alınan madde veya madde karışımlarıdır (1,2). Endokrin bozucuların etkileri; endokrin bozucunun süresine, miktarına, tek veya karışım madde ile karşılaşma durumuna göre değişebilmektedir (3). Metoksiklor (MXC) meyve, sebze ve bahçelerdeki böceklerle karşı yaygın olarak kullanılan organoklorür bir pestisitdir (4). Bu araştırmanın amacı, MXC uygulaması ile oluşturulan oksidatif stresin karaciğer dokusu üzerinde meydana getirdiği değişiklikleri tespit etmektir.

Bu çalışmada, 35 günlük Wistar albino türü (90-150 gr) 36 adet dişi sıçan 4 gruba ayrıldı. Deney gruplarına 10 ml susam yağı içinde 8 mg/kg dozda 50 mg MXC, 16 mg/kg dozda 100 mg MXC ve 32 mg/kg dozda 200 mg MXC intraperitoneal olarak 20 gün verildi. Kontrol grubuna ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Rutin histolojik doku takibi ile hazırlanan dokular genel histolojik yapıyı görmek amacıyla Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

Hem kontrol hem de deney gruplarına ait kesitlerde karaciğer parankimi dıştan Glisson kapsülü ile çevrilmişti ve karaciğerin lobül yapısı merkezde santral ven ve periferde yerleşik portal alanlar şeklindeydi. Tüm gruplarda portal alanlarda ven, arter ve safra kanalı yapıları mevcuttu. Kontrol grubunda santral venler etrafında ışınal olarak dizilmiş hepatosit kordonları ve sinüzoidler normal görünümündeyken, düşük dozdan yüksek doza doğru sinüzoidal açıklıklarda genişleme ve hepatositlerin ışınal diziliminde düzensizlikler gözlemlendi. Kontrol grubuna ait hepatositler normal ultrastrüktürel yapıda izlendi. Deney gruplarında bazı hepatositlerde çekirdeğin kaybolduğu ve vakuol görünüm aldığı, bazılarında ise iri ve heterokromatik yapıda olduğu gözlemlendi. Ayrıca deney grubuna ait kesitlerde balonlaşma dejenerasyonu gösteren hepatositlere rastlandı. Uygulanan MXC dozu arttıkça hem nekrotik alanlarda hem de Kupffer hücre sayısında artış gözlemlendi. Metoksiklor, diklorodifeniltrikloro etan (DDT), aldrin ve dieldrin gibi klorlu hidrokarbon yapısındaki insektisitlerin deney hayvanlarında enterohepatik dolaşıma girdiği gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde yüksek dozda MXC'ye maruz kalmanın hepatosit harabiyetine neden olduğu ve nekrotik alanlar oluşturduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Metoksiklor, Karaciğer, Oksidatif Stres

The Effect of Oxidative Stress Which is Formed by Methoxychlor on the Liver Tissue

Esra Balcıoğlu, Gözde Özge Önder, Saim Özdamar
Department of Histology-Embryology, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Endocrine disrupter is a substance which causes health problems by changing the function of the endocrine system of healthy organism or its future generations (1,2). The effects of endocrine disruptors can vary depending on the duration, amount or encounter case of endocrine disruptors with a single substance or mixture (3). Methoxychlor (MXC) is an organochlorine pesticide, commonly used against the insects which are in fruits, vegetables and gardens (4). The aim of this study is to examine the effects of MXC-induced oxidative stress oxidative stress on the liver tissue. For the purpose of this study, thirty six female Wistar albino rats were divided into four groups. Experimental groups were administered intraperitoneally in 10 ml of sesame oil 50 mg 8 mg / kg dose MXC, 100 mg 16 mg / kg dose MXC and 200 mg 32 mg / kg dose MXC for 20 days. No application was made to the control group. The tissues, prepared by routine histologic tissue follow-up were stained with hematoxylin– eosin (H+E) to evaluate the general histological structure and examined by light microscope.

In both control and experimental groups' sections, liver parenchyma was swarmed with Glisson's capsule externally. The lobule structure of the liver was in the form of central ven at the center and built-in portal areas at the periphery. There were vein, artery and bile duct structures in portal areas in all groups. While hepatocyte cords that were arranged radially around the central veins

and sinusoids were in the normal view in control group, from low dose to high dose expansion in the sinusoidal openings and irregularities were observed in hepatocytes radial lineup. Hepatocytes of the control group was seen in normal ultrastructural structure. It was observed that the core was lost in some hepatocytes and took vacuole appearance in experiment groups, while it was large and in heterochromatic structure in some hepatocytes. In addition, hepatocytes showing ballooning degeneration were found in the sections of the experimental group. As MXC dose used in the present study increased, an increase in both necrotic areas and in the number of Kupffer cells were observed.

It has been revealed that insecticides such as MXC, dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), aldrin and dieldrin in the chlorinated hydrocarbon structure entered into the enterohepatic circulation in experimental animal. When the obtained results were evaluated, it was determined that exposure to high dose MXC caused hepatocyte damage and created a necrotic areas.

Keywords: Methoxychlor, Liver, Oxidative Stress

Kaynakça / References: 1. Goldman JM, Laws SC, Balchak SK, Cooper RL, Kavlock RJ. Endocrine-disrupting chemicals: pre-pubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid activity in the female rat. A focus on the EDSTAC recommendations. *Crit Rev Toxicol* 2000; 30: 135-196, 2. Stoker TE, Parks LG, Gray LE, Cooper RL. Endocrine-disrupting chemicals: Prepubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid function in the male rat. A focus on the EDSTAC recommendations. *Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee. Crit Rev Toxicol* 2000; 30: 197–252.). 3. Lee MM. Endocrine Disruptors. A Current Review of Pediatric Endocrinology 2007; 109–118. 4. Wauchope, RD, Butler TN, Hornsby AG, et al. The SCS/ARS/CES pesticide properties database for environmental decision-making. *Rev Environ Contam Toxicol* 1992; 123: 1–155.

P219

Oksidatif stresin böbrek dokusu üzerinde meydana getirdiği hasarın incelenmesi

Esra Balcioğlu, Betül Yalçın, Saim Özdamar
Erciyes Üniversitesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

Çevresel endokrin bozucular sentetik veya doğal maddelerdir (1). Bu maddelerin çoğu yağda eriyerek, yağ dokusunda birikerek veya yıkılıp zararsız hale getirilmeleri işlemi zor olduğu için vücutta uzun süre kalıp zararlı etkilerde bulunabilirler (2, 3). Metoksiklor (MXC) meyve, sebze ve bahçelerdeki böceklerle karşı yaygın olarak kullanılan organoklorür bir pestisitir (4). Pestisitlerin yağda erimeleri ve yağ dokusunda birikmeleri temel alınarak, MXC ile oluşturulan oksidatif stresin böbrek dokusu üzerinde meydana getirdiği değişiklikleri belirlemeyi amaçladık. Çalışmada, 35 günlük Wistar albino türü (90-150 gr) 36 adet dişi sıçan 4 gruba ayrıldı. Deney gruplarına 10 ml susam yağı içinde 8 mg/kg dozda 50 mg MXC, 16 mg/kg dozda 100 mg MXC ve 32 mg/kg dozda 200 mg MXC intraperitoneal olarak 20 gün verildi. Kontrol grubuna ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Rutin histolojik doku takibi yapıldıktan sonra, dokular genel histolojik yapıyı görmek amacıyla Hematoksilin-Eozin (H+E) ile boyandı. Işık mikroskopik incelemede kontrol grubuna ait böbrek dokularında korteks ve medulla normal olarak gözlenirken, deney gruplarına ait böbrek dokularında proksimal kıvrıntılı tübüllerin lümeninde genişleme, fırçamsı kenar kaybı ve glomerul boşluğunda genişleme gözlemlendi. Tübül epiteli hücrelerinde vakuolizasyon, ayrılma ve bozulmalar, 8 mg/kg dozda MXC uygulanan grupta hafif şiddette görülürken; 16 mg/kg dozda ve 32 mg/kg dozda MXC verilen gruplarda daha şiddetli olarak gözlemlendi. Ayrıca hem kontrol hem de deney gruplarında tunel boyama sonucunda apoptotik hücreler gözlenmezken, tüm deney gruplarının tübül epitel hücrelerinde nekroz belirlendi. Endokrin bozuculara maruz kalınan doz ve süre oluşacak hasarın şiddetini belirlemektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, artan dozlarda MXC'ye maruziyet böbrek dokusunda nekrotik hasara neden olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: böbrek, MXC, oksidatif stres

observation of the damage generated by oxidative stress on kidney tissue

Esra Balcioğlu, Betül Yalçın, Saim Özdamar
Department of Histology-Embryology, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Environmental endocrine disruptors are synthetic or natural substances (1). Many of these substances may have detrimental effects on the body remaining in the body for a long time, as they melt in fat, accumulate in the fatty tissue or the process of destroying and making them harmless is difficult. (2, 3). MXC is an organochlorine pesticide which is commonly used against insects in fruits, vegetables and gardens (4). On the basis that pesticides melt in fat and accumulate in fatty tissue, we have aimed to identify the changes on kidney tissue, caused by MXC-induced oxidative stress.

In the study, 35 day-old 36 female Wistar albino (90-150 gr) rats were divided into 4 groups. Experimental groups were given at 8 mg/kg dose 50mg MXC in 10 ml sesame oil, 16 mg/kg dose 100 mg MXC in 10 ml sesame oil and 32 mg/kg dose 200 mg MXC in 10 ml sesame oil for 20 days. The control group had no applications. After routine tissue follow-up were done, the tissues were stained with hematoxylin-eosin (H+E) with the aim of determining the general histological structure.

On light microscopic examination, while cortex and medulla at kidney tissues of the control group were observed normally, the expansion in the lumen of proximal convoluted tubules, the damage of brush border and the enlargement at glomeruli space were observed in the kidney tissues of experimental groups. While vacuolization, separation and desquamation of tubule epithelium cells were observed as light severity in the group treated with MXC 8 mg/kg dose, they were observed as more severe in the groups treated with MXC 16 mg/kg dose and 32 mg/kg dose. Additionally, apoptotic cells weren't observed as a result of tunel staining in both control and experimental groups, necrosis was apparent in tubule epithelium cells of all experiment groups. Dose and time exposed to endocrine disruptors determines the severity of the damage caused. In line with this information, the exposure to increasing doses of MXC gives rise to necrotic damage in

the kidney tissue.

Keywords: kidney, MXC, oxidative stress

Kaynakça / References: 1. Cummings AM. Methoxychlor as a model for environmental estrogens. *Crit Rev Toxicol* 1997; 27: 367–379. 2. Solomon GM, Schettler T. Environment and health. 6. Endocrine disruption and potential human health implications. *Canadian Medical Association Journal* 2000; 1116: 1467-1474. 3. Lee MM. Endocrine Disruptors. A Current Review of *Pediatric Endocrinology* 2007; 109–118. 4. Wauchope RD, Butler TN, Hornsby AG, et al. The SCS/ARS/CES pesticide properties database for environmental decision-making. *Rev Environ Contam Toxicol* 1992; 123: 1–155.

P220

Kuersetin Analogu olan CHNQ in vitro ve in vivo Uygulamalarında Oksidatif Stresi ve Otofajiyi Tetiklemektedir

Shabnam Enayat¹, Müşerref Şeyma Ceyhan¹, Betül Taşkoparan¹, Milan Stefek², Sreeparna Banerjee¹

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara, Türkiye

²Slovakya Bilim Akademisi, Deneysel Farmakoloji ve Toksikoloji Enstitüsü, Bratislava, Slovakya

Kuersetin (Qc) gibi iyi bilinen fitokimyasalların sudaki çözünürlükleri ve biyoyararlanımlarının düşük olması nedeniyle klinikteki kullanımları sınırlıdır. Kuersetinin yarı-sentetik türevleri arasında yapılan taramalarda, 3,7- dihidroksi-2-[4-(2-kloro-1,4-naftokinon-3-iloksi)-3-hidroksifenil]-5-hidroksikromen-4-one (CHNQ) biyolojik etkinlik bakımından en çok ümit vaadeden madde olarak gösterilmiştir [1].

Kolon kanser hücre hatları olan HCT-116 ve HT-29 üzerindeki CHNQ etkisi; akridin oranj ve CytoID® boyamaları ile akış sitometrisi kullanılarak otofaji yönünden, dihidroetidyum (DHE) boyaması ve nitro blue tetrazolium (NBT) testi ile antioksidan etkisi yönünden değerlendirilmiştir. CHNQ'un *Saccharomyces cerevisiae* (RDKY 3023/ WinstonS288C suşu) üzerindeki etkisi spot testi, akridin oranj ve CytoID® boyamaları ile incelenmiştir.

HCT-116 ve HT-29 hücrelerine uygulanan CHNQ'nun, güçlü bir oksidatif stres tetikleyicisi olduğu artan süperoksit anyon üretimi ve MAP Kinaz fosforilasyonları ile belirlenmiştir. Reaktif oksijen türleri gibi hücresel stresler sıklıkla otofajinin indüklenmesine sebep olabilmektedirler. CHNQ uygulanan HCT-116 hücrelerinde belirgin bir şekilde LC3 proteinlerinin ifadelerinin ve LC3-I'den LC3-II'ye olan dönüşümlerinin arttığı, Akt/PKB aktivitesinin azaldığı ve asidik vezikül birikmesi ile CytoID® nokta oluştuğu gözlemlenmiştir. İlginç bir şekilde HT-29 hücrelerine CHNQ uygulandığında LC3 lipidasyonu olduğu fakat asidik vezikül oluşumunun olmadığı ve tamamlanmamış otofaji meydana geldiği gözlemlenmiştir.

Uygulanan CHNQ, *Saccharomyces cerevisiae*'da spot testi ile gözlemlenen sağkalımın azalmasına ve güçlü bir şekilde reaktif oksijen türlerinin oluşumunun tetiklenmesi ile otofajiye sebep olmuştur. Genel olarak, CHNQ maddesinin oksidatif stresi tetikleyerek hücre ölümüne sebep olabileceğini ve potansiyel kemoterapötik bir ilaç olarak daha detaylı olarak incelenebileceğini öngörmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Oksidatif Stres, Kolon Kanseri, Otofaji

Treatment With The Quercetin Analog Chnq Induces Oxidative Stress And Autophagy Both in Vitro And in Vivo

Shabnam Enayat¹, Müşerref Şeyma Ceyhan¹, Betül Taşkoparan¹, Milan Stefek², Sreeparna Banerjee¹

¹Middle East Technical University, Department of Biological Sciences, Ankara, Turkey

²Slovak Academy of Science, Institute of Experimental Pharmacology and Toxicology, Bratislava, Slovakia

Clinical application of well known phytochemical reagents such as quercetin (Qc) is limited due to poor water solubility and bioavailability. In a screening of novel semi-synthetic derivatives of Qc, 3,7- dihydroxy-2-[4-(2-chloro-1,4-naphthoquinone-3-yloxy)-3-hydroxyphenyl]-5-hydroxychromen-4-one (CHNQ) was the most promising in terms of biological efficacy [1].

Effect of CHNQ in HCT-116 and HT-29 colon cancer cell line was investigated acridine orange and CytoID® staining by flow cytometry in terms of autophagy, dihydroethidium (DHE) staining and nitro blue tetrazolium (NBT) in terms of its antioxidant effect. In addition, in vivo effect of CHNQ was analysed on *Saccharomyces cerevisiae* (strain RDKY 3023/ WinstonS288C) by spot assay, acridine orange and CytoID® staining.

HCT-116 and HT-29 colon cancer cells treated with CHNQ showed a strong induction of oxidative stress as determined by the increased production of superoxide anions and phosphorylation of MAP Kinases. Cellular stress such as reactive oxygen species (ROS) can frequently lead to the induction of autophagy. We observed a dramatic increase in the expression and conversion of LC3-I to LC3-II, decreased activation of Akt/PKB, acidic vesicle accumulation and CytoID® puncta formation in HCT-116 cells treated with CHNQ. Interestingly, an incomplete autophagy was observed in HT-29

cells where CHNQ treatment led to LC3 lipidation, but not the formation of acidic vacuoles. Treatment of *Saccharomyces cerevisiae* (strain RDKY 3023/ WinstonS288C) with CHNQ resulted in reduced viability in a spot assay, a strong induction of ROS formation and evidence of autophagy. Overall, we propose that CHNQ can induce cell death through the induction of oxidative stress, and may be examined further as a potential chemotherapeutic drug.

Keywords: Oxidative Stress, Colon Cancer, Autophagy

**CHNQ HCT-116 ve HT-29 hücrelerinde oksidatif stresi tetikler.
CHNQ induced oxidative stress in HCT-116 and HT-29 cells.**

Figure 1

HCT-116	(24h) With FBS	(24h) Without FBS	HT-29	(24 h) Without FBS
CHNQ (µM)	30.3 ± 1	10.3 ± 2.6	CHNQ (µM)	23.21 ± 2.4
QC (µM)	117 ± 8.9	_____	QC (µM)	_____ *

* Qc treatment was done in medium with FBS

Figure 2

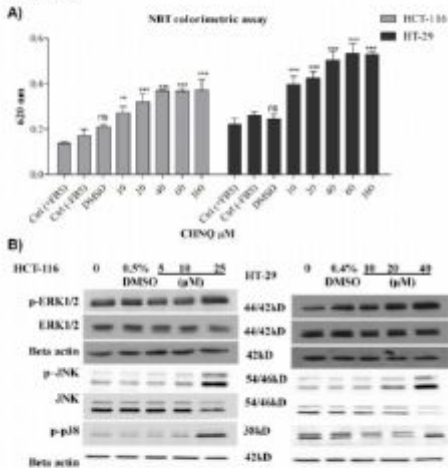
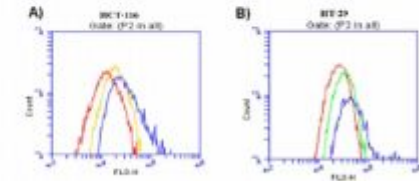


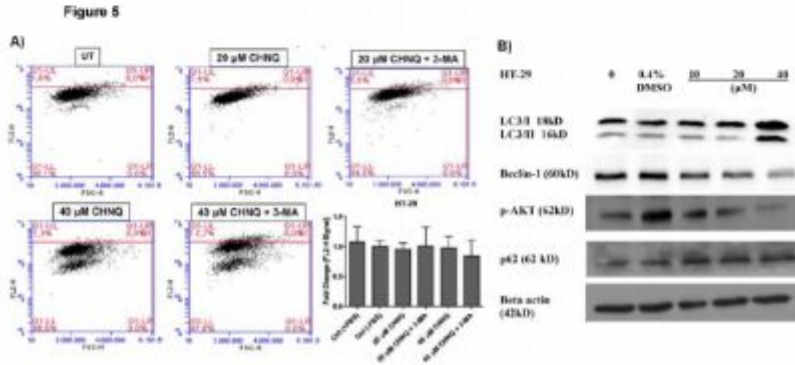
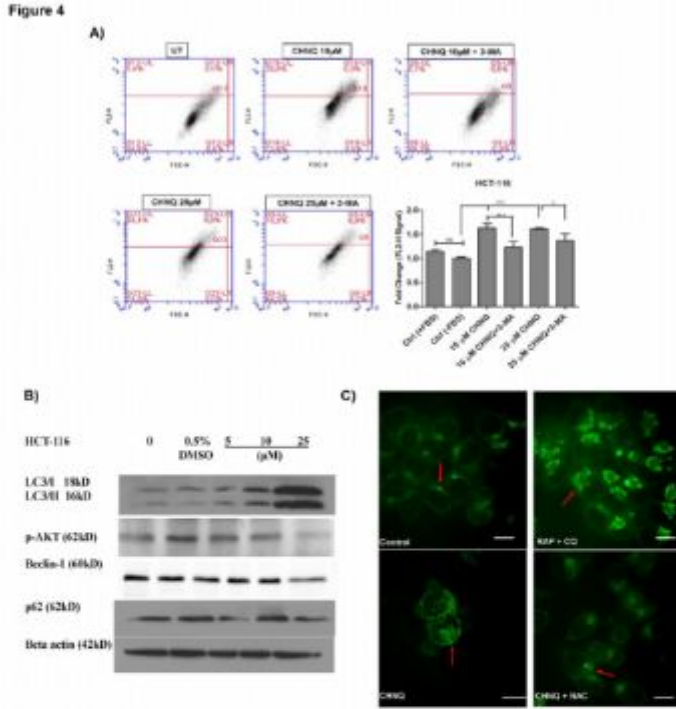
Figure 3



Figür 1: Kuersetin ve CHNQ 'nun HCT-116 ve HT-29 hücrelerindeki IC50 değerleri. (A) HCT-116 ve (B) HT-29 hücrelerine 24 saat Kuersetin ve CHNQ uygulandı. Figür 2: CHNQ HCT-116 ve HT-29 hücrelerinde oksidatif stresi tetikler. (A) NBT kolorimetrik testi CHNQ uygulamasının artan dozla birlikte her iki hücre hattında da süperoksit iyon oluşumunun indüklendiğini belirtmektedir. (B) Western Blot analizi CHNQ uygulamasıyla her iki hücre hattındaki stres bağlantılı proteinlerin artışı göstermektedir. Figür 3: CHNQ HCT-116 ve HT-29 hücrelerinde oksidatif stresi tetikler. Hücrelere 24 saat CHNQ uygulandıktan sonra 10 dakika boyunca dihidroetidyum ile muamele edildi. Akış sitometrisi ile 605 nm'de hücre analizleri yapıldı. (A) Kırmızı: Kontrol, Sarı:10 µM CHNQ, Mavi: 25 µM CHNQ. (B) Kırmızı: Kontrol, Sarı:20 µM CHNQ, Mavi: 40 µM CHNQ. Figure 1: IC50 of CHNQ and Qc in HCT-116 and HT-29 cells (BrdU) assay. (A) HCT-116 and (B) HT-29 cells were treated with CHNQ and Qc for 24 h. Figure 2: CHNQ induced oxidative stress in HCT-

116 and HT-29 cells. (A) NBT colorimetric assay indicated the induction of superoxide ion in both cell lines with CHNQ treatment as a response of dose. (B) Western blot showed upregulation of stress related proteins in both cell lines with CHNQ treatment. Figure 3: CHNQ induced oxidative stress in both HCT-116 and HT-29 cells. Cells were treated with CHNQ for 24h and then with dehydroethidium for 10 min. The cells were analyzed by flow cytometry at 605nm. (A) Red: vehicle control, Yellow: 10 μ M CHNQ, Blue: 25 μ M CHNQ. (B) Red: vehicle control, Yellow: 20 μ M CHNQ, Blue: 40 μ M CHNQ.

HCT-116 ve HT-29 hücrelerine yapılan CHNQ uygulaması otofajinin tetiklenmesiyle sonuçlanmıştır.
CHNQ treatment of HCT-116 cells resulted in the induction of autophagy.

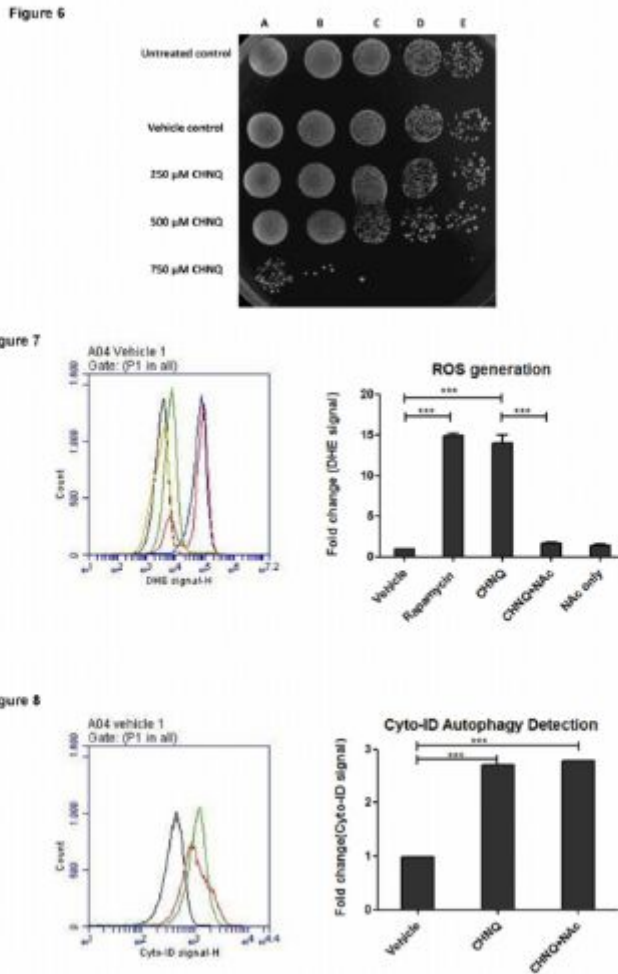


Figür 4: HCT-116 ve HT-29 hücrelerine yapılan CHNQ uygulaması otofajinin tetiklenmesiyle sonuçlanmıştır. (A) Asidik vakuol oluşumu akridin oranj boyaması ve akış sitometrisi ile analiz edilerek incelenmiştir. (B) Otofaji proteinlerinin Western blot analizi. Asidik vakuol oluşumu üzerindeki CHNQ etkisi özgül otofaji inhibitörü olan 3-Metil adenin (3-MA) ile anlamlı bir şekilde azalmıştır. (C) Cyto-ID® ile boyanan HCT-116 hücrelerinin konfokal mikroskop görüntüleri CHNQ ile birlikte klorokin (CQ) ve Rapamisin (Rap) (pozitif kontrol) otofajik kesecik oluşumunu göstermektedir. Kesecik oluşumu, hücelere antioksidan NAC ve CHNQ birlikte uygulandığında önemli ölçüde azalmıştır. CHNQ uygulandıktan sonra normal morfolojilerini kaybeden hücreler NAC ile birlikte yapılan uygulamalarda iyileşme görülmüştür. Figür 5: HCT-116 ve HT-29 hücrelerine yapılan CHNQ uygulaması otofajinin tetiklenmesiyle sonuçlanmıştır. (A) CHNQ uygulanan ve akridin

oranj ile boyanan HT-29 hücrelerinde AVO oluşumu uygulanan hiçbir konsantrasyon ile anlamlı bir artışa sebep olmamıştır. (B) HT-29 hücrelerine artan dozlarda CHNQ uygulandığında uygulama yapılmayan kontrol hücrelerine kıyasla LC3-I ve -II ifadesinde artış ve AKT fosforilasyonunda azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca Beclin-1 seviyesinde bir azalma gözlemlenmiştir. Beta aktin yükleme kontrolü antikor olarak kullanılmıştır.

Figure 4: CHNQ treatment of HCT-116 cells resulted in the induction of autophagy. (A) Acidic vacuole formation was determined using acridine orange staining and measurement by flow cytometry (B) Western blotting of autophagy related proteins. The effect of CHNQ on the formation of AVOs was significantly reduced by using 3-Methyl adenine (3-MA), a specific inhibitor of autophagy. (C) Confocal microscope images of HCT-116 cells stained with the Cyto-ID® indicate the formation of autophagic puncta with chloroquine (CQ) and Rapamycin (Rap) (positive controls) as well as CHNQ. The puncta formation was dramatically reduced when the cells were co-treated with CHNQ and the antioxidant NAC. The cells lost their morphology when treated with CHNQ, which was restored with NAC co-treatment. Figure 5: CHNQ treatment of HT-29 cells resulted in the induction of autophagy. (A) No significant difference in AVO formation was observed in CHNQ treated HT-29 cells stained with acridine orange at any of the concentrations of CHNQ used. (B) An increase in the protein levels of LC3-I and -II and a decrease in phosphorylation of AKT was observed in HT-29 cells treated with increasing doses of CHNQ, compared to the untreated and vehicle control cells. A decrease in Beclin-1 levels was observed. Beta actin was used as a loading control.

S.cerevisiae hücrelerine uygulanan CHNQ oksidatif stresi ve otofajiyi indüklemiştir.
CHNQ treatment of S.cerevisiae cells induced oxidative stress and autophagy.



Figür 6: CHNQ uygulanan maya hücrelerinin sağkalım değerlendirilmesi spot testi ile yapılmıştır.

RDKY 3023 *S.cerevisiae* hücrelerine YPD besiyerinde 24 saat CHNQ uygulanmıştır. Hücreler yıkandıktan sonra seri dilüsyonlar yapılarak ardıl 5 dilüsyon YPD agara konulmuştur. A: Seyreltilmemiş, B: 1:10 dilüsyon, C: 1:100 dilüsyon, D: 1:1000 dilüsyon, E: 1:10000 dilüsyon.

Bildirilen sonuçlar birbirinden bağımsız 3 tekrar deneyi göstermektedir. Figür 7: CHNQ maya hücrelerinde oksidatif stresi indüklemiştir. 24 saat CHNQ uygulanan hücreler 30 dakika 30 °C 'de dihidroetidyum ile boyanıp 605 nm (FL-3 Kanalı)'de akış sitometrisi ile analiz edilmiştir. Siyah: Kontrol, Mavi: Rapamisin (pozitif kontrol), Kırmızı: CHNQ (500µM), Yeşil: CHNQ+ NAC, Sarı: NAC.

Figür 8: Maya hücrelerine yapılan CHNQ uygulaması otofaji indüklenmesine sebep olmuştur. 24 saat CHNQ uygulanan hücreler 30 dakika 30 °C 'de Cyto-ID otofaji tespit boyası ile boyanmıştır ve sonrasında akış sitometrisinde yeşil (FL1) veya turuncu (FL2) kanalda analizleri yapılmıştır. Siyah: Kontrol, Kırmızı: CHNQ (500µM), Yeşil: CHNQ+ NAC.

Figure 6: Cell viability determination of CHNQ treated yeast cells by a spot assay. RDKY 3023 *S.cerevisiae* cells were treated with CHNQ for 24 h in YPD medium. The cells were washed, serially diluted and 5 consecutive dilutions were spotted on YPD agar plates. A: undiluted, B: 1:10 diluted, C: 1:100 diluted, D: 1:1000 diluted, E: 1:10000 diluted. The given data is representative of 3 independent replicates. Figure 7: CHNQ induced oxidative stress yeast cells. Cells were treated with CHNQ for 24h, stained with dehydroethidium for 30 min at 30 °C and analyzed by flow cytometry at 605nm (FL-3 channel). Black: vehicle control, Blue: Rapamycin (+control), Red: CHNQ (500µM), Green: CHNQ+ NAC, Yellow: NAC only. Figure 8: CHNQ treatment of yeast cells resulted in the induction of autophagy. Cells were treated with CHNQ for 24h and then stained with Cyto-ID Autophagy Detection Dye for 30 min at 30 °C and analyzed by flow cytometry in green

(FL1) or orange (FL2) channel. Black: vehicle control, Red: CHNQ (500 μ M), Green: CHNQ+ NAC.

Kaynakça / References: [1] I. Milackova, MS. Prnova, M. Majekova, R. Sotnikova, M. Stasko, L. Kovacikova, S. Banerjee, M. Veverka, M. Stefek. 2-Chloro-1,4-naphthoquinone derivative of quercetin as an inhibitor of aldose reductase and antiinflammatory agent. J Enzyme Inhib Med Chem, 2015, 30(1), 107-13.

P221

Agomelatin Uygulamasının Işık Stresine Maruz Bırakılan Sıçan Karaciğeri Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Elif Polat¹, Jale Selli¹, Zeliha Yetim¹, Adem Kara²

¹Atatürk Üniversitesi, Tıp Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Erzurum

²Atatürk Üniversitesi, Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Erzurum

Stres organizmada homeostasisi bozan her türlü uyarı olarak bilinir. Stres nedeniyle vücuttaki pek çok organ ve sistem etkilenmektedir. Işık stresi normal sirkadiyen ritmi bozduğundan dolayı hücrelerde reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türlerinde (RNT) artış meydana gelir. Oksidan moleküllerin oluşum hızında artma ve antioksidan savunma sistemi etkinliğinde azalmaya bağlı olarak oksidan/antioksidan denginin bozulması ile oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stresten etkilenen organların başında karaciğer başta gelmektedir. Agomelatin melatonin hormonunun analogu olan bir ilaçtır. Antioksidan özelliği de olan melatonin dokulardaki oksidatif hasarı ve lipid peroksidasyonunu engeller. Bu çalışmada özellikle ışık stresi maruziyetine bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stresin, karaciğer dokusunda ne düzeyde bir hasar oluşturduğu belirlenerek, olası etkilerin agomelatin uygulaması ile durdurulması veya azaltılması amaçlanmaktadır.

Bu çalışmada 12 haftalık Wistar dişi ratlar (220-250 gr) kullanıldı. Ratlar 6 şarlı olarak rastgele 6 gruba ayrıldı. Gruplar; 1. Grup (Kontrol), bu gruba herhangi bir stres ve tedavi uygulanmadı. 2. Grup Stres (S), bu grup ratlara 15 gün boyunca yoğun ışık stresi uygulaması yapıldı. 3. Grup 1-doza Agomelatin (AG-1), bu grup ratlara sadece oral yolla 10-mg/kg agomelatin tedavisi uygulandı. 4. Grup 2-doza Agomelatin (AG-2), bu grup ratlara sadece oral yolla 40-mg/kg agomelatin tedavisi uygulandı. 5. Grup AG-1+Stres, stress uygulanan ratlara 10-mg/kg agomelatin tedavisi uygulandı. 6. Grup AG-2+Stres, stress uygulanan ratlara 40-mg/kg agomelatin tedavisi uygulandı. Dokular histopatolojik, immunokistokimyasal ve sterolojik olarak değerlendirildi. İmmun pozitif hepatosit hücreleri steroinvestigator ile nicel olarak hesaplandı.

Yapılan incelemelerde 1. Grup Kontrol grubundan alınan karaciğer kesitlerinin normal histolojik yapıda olduğu görüldü. Vena centralis (Vc) ve sinüzoid (S) boşlukları ile çevrili hepatosit plakları sağlıklı olarak izlendi. 2. Grup Stress uygulanan grupta V. centralis çevresinde hafif hasar bulguları mevcuttu. Bazı alanlarda yer yer konjesyon odakları izlenirken hepatosit sınırlarında da düzensizlikler olduğu görüldü. Hepatositlerin çekirdeklerinde hafif hiperkromatik bulgular seçildi. Sinüzoidal boşluklarda dilatasyon saptandı. 3. Grup 1-doza Agomelatin (AG-1) uygulanan grupta ise; V. centralis (Vc) ile çevresinde ışınal tarzda düzenlenim gösteren hepatositler ve aralarında yer alan sinüzoidler (S) normal olarak izlendi. 4. Grup 2-doza Agomelatin (AG-2) uygulanan grupta karaciğer dokusu normal, merkezi venüller, hepatositler ve sinüzoidler (S) sağlıklı olarak izlendi. 5. Grup AG-1+Stres grubunda karaciğer dokusunda iyileşme ve kanlanma bulgularının oldukça azaldığı izlendi. V. centralis çevresindeki hepatositler düzgün görünümdeydi. Dokuda hafif vakuolizasyon mevcuttu. 6. Grup AG-2+Stres kesitlerinde, dokunun bazı alanlarında nadir-konjesyon bulguları mevcutken; V. centralis, hepatosit nükleusları ve sinüzoidal boşlukların görünümü normal olarak izlendi. Yapılan değerlendirmeler sonucunda ışık stresine maruz kalan ratlarda agomelatin uygulamasının dokuda oluşan hasar bulgularını iyileştirerek etkili olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Agomelatin, ışık stresi, karaciğer

Investigation of the Light Stress Effects on the Livers Of Agomelatin Administered Rats

Elif Polat¹, Jale Selli¹, Zeliha Yetim¹, Adem Kara²

¹Department of Medikal Histology and Embryology, Ataturk University, Erzurum, Turkey

²Department of Veterinary Histology and Embryology, Ataturk University, Erzurum, Turkey

Stress known as all kinds of stimulus that dispruts homeostasis of the organism. Many organs/systems in the body are affected due to stress. Light-stress disrupts the normal circadian rhythm, therefore reactive oxygen species(ROS) and reactive nitrogen species(RNS) increase in

cells. Increase of oxidants and decrease of antioksidant defence system, cause impairment oxidant/antioxidant equivalent with the condition known as oxidative stress. Liver is one-of the most affected organ from oxidative stress. Agomelatine is a drug analogue of melatonin. The antioxidant properties of melatonin prevents the tissue from oxidative damage and lipid-peroxidation. In this study, we aimed to determine to how light stress effects liver and if agomelatine application decrease or interrupt the effects.

In study 12-weeks Wistar female-rats(220-250g) were used. The rats were randomly divided into 6 groups. Each group includes 6 animals. Group-1(Control): No application any stress and treatment to this group. Stress Group-2(S): The rats underwent intense light stress treatment for 15-days. Group-3(AG-1): This group of rats were treated with orally only 10-mg/kg agomelatine. Group-4(AG-2): This group of rats were treated with orally only 40-mg/kg agomelatine. Group-5(AG-1+stress): Stress applied rats were treated with the 10-mg/kg agomelatine. Group-6(AG-2+stress): stress applied rats were treated with 40-mg/kg agomelatine. Tissues were evaluated histopathologically, stereologically and immunohistochemically. Immune-positive hepatocytes were calculated quantitatively with stereoinvestigator.

Examination of liver sections from Group-1 the control group was found to be normal histological structure. Hepatocytes plaques that surrounded by Venacentralis and sinusoidal-spaces are healthy. In the liver tissues of stress induced rats(Group-2), light signs of damage are available around V.centralis. Focuses of congestion in some areas was observed also there were irregularities in the border of hepatocytes. Hyperchromatic findings were seen in nucleus of some hepatocytes. Dilation was detected insinusoidal spaces. Group-3, one-dose of agomelatine(AG-1) applied, V.centralis(Vc) and around situated hepatocytes and sinusoidal spaces were showing normal track. Group-4, two-dose of agomelatine(AG-2) applied, are normal and liver tissue, central veins, hepatocytes and sinusoids(S) was seen as healthy. Group-5(AG1+stress), there was a decrease of less recovery and blood supplement in the liver tissue. Hepatocytes around V.centralis were in normal appearance. There was mild-vacuolization in the tissue. Group-6(AG-2+Stress), rare signs of congestion in some areas of the tissue is present and also V.centralis, nuclei of hepatocyte and sinusoidal spaces were observed normally. The result of assessments shows that signs of damage that occurs in the tissue of agomelatine implementation of rats exposed to stress as a result of light was seen to be effective.

Keywords: Agomelatine, light stress, liver

Kaynakça / References: 1. Montgomery, S.A. and S. Kasper, Severe depression and antidepressants: focus on a pooled analysis of placebo-controlled studies on agomelatine. *Int Clin Psychopharmacol*, 2007. 22(5): p. 283-91. 2. McCance, I., H.C. Parkington, and H.A. Coleman, Melatonin production by the guinea pig pineal gland in vitro. *Neuroendocrinology*, 1990. 52(2): p. 117-26. 3. Mahle, C.D., et al., Melatonin modulates vascular smooth muscle tone. *J Biol Rhythms*, 1997. 12(6): p. 690-6. 4. Mal'tseva, L.I., E.A. Gafarova, and G. Garipova, [The role of melatonin in regulation of gonadal function and its use in the treatment of pathological climax symptoms]. *Adv Gerontol*, 2007. 20(4): p. 68-74. 5. Reiter, R.J., Oxidative damage to nuclear DNA: amelioration by melatonin. *NEL Review. Neuro Endocrinol Lett*, 1999. 20(3-4): p. 145-150. 6. Wakatsuki, A., et al., Melatonin protects against ischemia and reperfusion-induced oxidative lipid and DNA damage in fetal rat brain. *J Pineal Res*, 1999. 26(3): p. 147-52. 7. Yamamoto, H.A. and P.V. Mohanan, Preventive effect of melatonin against DNA damage induced by cyanide, kainate, glutathione/Fe(3+)/O(2), or H(2)O(2)/Fe(2+). *J Pineal Res*, 2001. 31(4): p. 314-9. 8. Tinant B, Declercq J-P, Pupaert J-H ve ark. (1994) N-[2-(7-Methoxy-1-naphthyl)ethyl]acetamide, a potent melatonin analog. *Acta Cryst*, C50:907-910. 9. De Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaër E, Renard P et al (2010) Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. *Nat Rev Drug Discov* 9:628–642. 10. Calabrese F, Molteni R, Gabriel C, Mocaer E, Racagni G, Riva MA (2010) Modulation of neuroplastic molecules in selected brain regions after chronic administration of the novel antidepressant agomelatine. *Psychopharmacology*. doi:10.1007/s00213-010-2129-8. 11. Manikandan S. Agomelatine: A novel melatonergic antidepressant. *J Pharmacol Pharmacother*. 2010;1(2):122-3. 12. Millan MJ, Gobert A, Lejeune F ve ark. (2003) The novel melatonin agonist agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways. *J Pharmacol Exp Ther*, 306:954-964. 13. Hill MN, Hellems KG, Verma P, Gorzalka BB, Weinberg J. Neurobiology of chronic mild stress: parallels to major depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 2012;36(9):2085-117. 14. Mahar I, Bambico FR, Mechawar N, Nobrega JN. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014;38:173-92. 15. Slavich GM,

Irwin MR. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. *Psychol Bull.* 2014; 140(3): 774-815. 16. Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Reus GZ, Vuolo F, Petronilho F, et al. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. *Neurochem Int.* 2009; 54(5-6): 358-62. 17. Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Reus GZ, Vuolo F, Petronilho F, et al. Increased oxidative stress in submitochondrial particles into the brain of rats submitted to the chronic mild stress paradigm. *J Psychiatr Res.* 2009; 43(9): 864-9. 18. Ormonde do Carmo MB, Mendes-Ribeiro AC, Matsuura C, Pinto VL, Mury WV, Pinto NO, et al. Major depression induces oxidative stress and platelet hyperaggregability. *J Psychiatr Res.* 2015; 61: 19-24. 19. Wang C, Wu HM, Jing XR, Meng Q, Liu B, Zhang H, et al. Oxidative parameters in the rat brain of chronic mild stress model for depression: relation to anhedonia-like responses. *J Membr Biol.* 2012; 245(11): 675-81.

P222

Doğal bir polifenol bileşik olan Apigenin'in polimikrobiyal sepsis modeli ile indüklenmiş böbrek hasarı üzerine olan koruyucu etkilerinin incelenmesi

Selina Aksak Karamese¹, İsmail Can¹, Hüseyin Serkan Erol², Murat Karamese³

¹Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars

²Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum

³Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars

GİRİŞ-AMAÇ: Sepsis, tüm dünyada görülen mortalite ve morbiditenin en önemli sebeplerinden biri olmakla beraber enfeksiyona karşı verilen sistemik bir inflamatuvar yanıttır. Doğal bir polifenol bileşik olan apigenin, anti-oksüdant, anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, anti-viral ve anti-kanser gibi birçok koruyucu ve tedavi edici özelliğe sahiptir. Bu çalışmada, apigenin'in sepsis ile indüklenmiş böbrek hasarında ortaya çıkan inflamasyon ve oksüdatif stres gibi bazı hücrenel olaylar üzerine olan koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Bu amaçla, 64 adet dişi Wistar-albino sıçanlar; Kontrol, Kontrol+ Apigenin 20mg/kg, Kontrol+Apigenin 40mg/kg, Kontrol+Apigenin 60mg/kg, Sepsis, Sepsis+Apigenin 20mg/kg, Sepsis+Apigenin 40mg/kg ve Sepsis+Apigenin 60mg/kg olmak üzere sekiz gruba ayrıldı. İlgili gruplara, sepsis modeli çekal ligasyon ve perforasyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Sıçanlardan alınan kan örneklerinde pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokin seviyeleri (TNF-alfa, IL-1-beta, IL-6 ve IL-10) ELISA metodu ile tespit edildi. Doku biyokimyası için oksüdatif stres parametreleri ölçüldü. Histopatolojik analizler için, Hematoksilen & Eozin ve İmmünohistokimyasal boyama metotları gerçekleştirildi.

SONUÇLAR: Sepsis, pro-inflamatuvar sitokin seviyelerinde (TNF-alfa, IL-1-beta ve IL-6) ciddi bir artışa sebep olurken, IL-10 üretimini azaltmıştır. Apigenin uygulanan gruplarda ise pro-inflamatuvar sitokin seviyeleri azalırken, IL-10 üretiminin arttığı tespit edilmiştir. Doku biyokimyası analizleri, sepsisin LPO seviyelerini etkileyerek böbrek dokusunda ciddi bir hasar oluşturduğunu göstermiştir. Ancak, özellikle 40 mg/kg apigenin uygulamasının GSH, CAT ve SOD gibi anti-oksüdant parametrelere etki ederek oksüdatif stresi azalttığı tespit edilmiştir. Son olarak, histopatolojik analizler değerlendirildiğinde apigenin uygulamasının sepsis ile indüklenmiş böbrek hasarı üzerine koruyucu etkileri olduğu belirlenmiştir.

TARTIŞMA: Elde edilen bulgular, sepsis ile indüklenmiş böbrek hasarı üzerine apigenin'in muhtemel bir koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir. Sepsisin tüm dünyada yüksek mortalite oranına sahip olduğu ve hastalığa ait mekanizmaların tüm yönleri ile bilinmediği gerçeği göz önüne alındığında, mevcut tedavi protokollerine ilaveten apigenin gibi yeni terapötik ve/veya koruyucu ajanların tanımlanması oldukça büyük bir önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sepsis, Apigenin, İnflamasyon, Böbrek hasarı, Histopatoloji, Oksüdatif stres

The Protective Effects of a Natural Compound, Apigenin, on Polymicrobial Sepsis-induced Kidney Damage

Selina Aksak Karamese¹, İsmail Can¹, Hüseyin Serkan Erol², Murat Karamese³

¹Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Kars

²Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Erzurum

³Kafkas University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Kars

Aim and Scope: Sepsis is one of the main causes of mortality and morbidity all around the world and a systemic inflammatory response to infection. Apigenin, one of the common plant dietary flavonoid, shows a variety of biological activities, including anti-cancer, anti-viral, anti-microbial, anti-inflammatory, and antioxidant properties in various cellular process. In the present study, our aim was to investigate the protective effects of apigenin on some cellular process such as inflammation and oxidative stress in sepsis-induced kidney damage.

METHOD: For this reason, female Wistar albino rats (n=64) were divided into 8 groups as

following; Control, Control+Apigenin 20mg/kg, Control+Apigenin 40mg/kg, Control+Apigenin 60mg/kg, Sepsis, Sepsis+Apigenin 20mg/kg, Sepsis+Apigenin 40mg/kg and Sepsis+Apigenin 60mg/kg. A cecal ligation and puncture model of polymicrobial sepsis was applied. The pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine levels (TNF-alpha, IL-1-beta, IL-6, and IL-10) were measured by ELISA in rat blood samples. Oxidative stress parameters were measured by tissue biochemistry. Hematoxylin & Eosin and immunohistochemical staining methods were performed on kidney tissue.

RESULTS: Sepsis led to a significant increase in proinflammatory cytokine levels (TNF-alpha, IL-1-beta, IL-6) whereas it inhibited the IL-10 production. On the other hand, apigenin decreased proinflammatory cytokine levels and increased IL-10 levels. Biochemical results showed that sepsis caused dramatic kidney damage by affecting LPO levels; however apigenin applied groups, especially 40 mg/kg treatment group, decreased oxidative stress by affecting the anti-oxidative parameters including GSH, SOD, and CAT enzymes. Finally, apigenin application has protective effects on sepsis-induced kidney damage when histopathological analyses were evaluated.

DISCUSSION: The obtained data suggested that apigenin has potential preventive effects on sepsis-induced kidney damage. It is well-known that sepsis has high mortality rates all over the world. The current therapy options and mechanism of understanding of the disease is insufficient. Thus, the identification of new therapeutic and/or preventive approaches is crucial.

Keywords: Sepsis, Apigenin, Inflammation, Kidney damage, Histopathology, Oxidative stress

P223

Spinal Kord İskemi Reperfüzyon Hasarına Karşı Reseratrol ve CAPE'nin Koruyucu Etkileri

Esra Aslan¹, Yasemin Yüksel², Yücel Gönül³, Murat Tosun¹, Abdurrahman Genç⁴, Ziya Taner Özkeçeci⁵, Mehmet Gazi Boyacı⁶

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Afyon

²Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ÜYTEM, Ankara

³Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi AbD, Afyon

⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AbD, Afyon

⁵Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AbD, Afyon

⁶Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi AbD, Afyon

AMAÇ: Travmatik veya nontravmatik nedenlere bağlı gelişen spinal kord iskemileri ciddi sekelleri olan klinik tablolar olup mekanizmaları ve tedavileri hakkında yapılan çalışmalar halen oldukça yetersizdir. Çalışmamızın amacı, spinal kord iskemisi reperfüzyon hasarı sonucu ortaya çıkan doku hasarının doğal kaynaklı ürünler olan Resveratrol ve propolis türevi CAPE tarafından hem akut dönemde hemde profilaktik olarak hangi düzeyde kompanse edilebildiğinin histopatolojik ve biyokimyasal düzeyde incelenmesidir.

GEREÇ-YÖNTEM: Çalışmamızda ortalama ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 30 adet erişkin erkek Wistar-albino ratlar kullanıldı. Deney öncesi 1 hafta süreyle Resveratrol ve CAPE ile ayrı ayrı beslenen ratlara spinal kord iskemisi/reperfüzyon injury modeli uygulandı. Deney sonunda sakrifiye edilen ratlardan alınan spinal kord örneklerinde apoptotik, nekrotik ve otofajik hücre ölümü tipleri yanında p53, Bax ve nNOS ekspresyonları immunohistokimyasal olarak değerlendirildi. Ayrıca genel doku özellikleri değerlendirmek için histokimyasal boyamalar yapıldı. Deney sonunda hayvanlardan alınan kan örneklerinde oksidatif stres varlığı (TAS ve TOS) değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırılarak değerlendirildi.

BULGULAR-SONUÇ: İskemi grubunda Hematoksilin Eozin ve Toluidin Blue boyalarıyla yapılan değerlendirmede dokuda hasarın ve dejenerasyon nöron sayısının oldukça arttığı tespit edildi. TUNEL metodu kullanılarak yapılan apoptotik hücre ölümü değerlendirmesinde apoptotik hücre sayısında, nNos, Beclin 1, p53, Bax ekspresyonlarının immunohistokimyasal değerlendirmesinde immunopozitif hücre sayısında artışlar tespit edildi. Bununla birlikte, Resveratrol ve CAPE ile profilaksi ve/veya tedavi uygulanan gruplarda bu parametrelerde azalma gözlemlendi fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Aynı şekilde TAS, TOS ve OSİ ölçümleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi. Fakat iskemisi grubunda TOS ve OSİ değerleri en yüksek seviyede iken, tedavi gruplarında bu seviyelerin düştüğü görüldü.

TARTIŞMA: Elde edilen sonuçlar, spinal kord iskemisinin daha çok apoptotik hücre ölümünü uyarmak suretiyle ilerlediğini ve Resveratrol ve CAPE'nin doku hasarı üzerinde koruyucu etkisi olsa da bu etkinin anlamlı düzeyde olmadığını ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Spinal Kord İskemik Hasarı, Resveratrol, CAPE, Apoptozis, Oksidatif Stres

Protective Effects of Resveratrol And CAPE Against Spinal Cord Ischemia Reperfusion Injury

Esra Aslan¹, Yasemin Yüksel², Yücel Gönül³, Murat Tosun¹, Abdurrahman Genç⁴, Ziya Taner Özkeçeci⁵, Mehmet Gazi Boyacı⁶

¹Department of Histology and Embriology, Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Afyon, Turkey

²Assisted Reproductive Therapy Center, Zekai Tahir Burak Women's Health Education and Research Hospital, Ankara, Turkey

³Department of Anatomy, Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Afyon, Turkey

⁴Department of physiology, Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Afyon, Turkey

⁵Department of General Surgery, Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Afyon, Turkey

⁶Department of Neurosurgery, Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Afyon, Turkey

OBJECTIVE: Traumatic or nontraumatic spinal cord ischemia are clinical events that may have serious sequelae and studies on its mechanism and treatment is still quite insufficient. The aim of this study is to evaluate the protective and acute therapeutic effects, if possible, of resveratrol and CAPE which are natural products, on spinal cord ischemia reperfusion injury. For this aim, we

compared different histochemical, immunohistochemical and biochemical parameters in both protective and acute period and measured the degree of compensation in spinal ischemia reperfusion ischemia model.

MATERIAL-METHODS: In the study, 30 male mature Wistar albino rats, weighing 200-250 grams, were used. Before the experiment, during a week of process, the rats were fed with these two agents and then the experimental group rats were exposed to spinal cord ischemia-reperfusion injury. At the end of the experiment, spinal cord samples were taken from the sacrificed rats. In these samples, besides different cell death process such as apoptosis, autophagy and necrosis, the p53, Bax and nNos expressions were evaluated immunohistochemically. At the same time Hematoxyline Eosin and Toluidin Blue stains were made for evaluating general tissue structure. The presence of oxidative stress (TAS, TOS) were evaluated at the blood samples. All the data were statistically analyzed.

RESULTS: The damage on the tissue and the number of degenerated neurons were found quietly increased in the ischemia group with H-E and toluidine blue stainings. Also it were detected that the number of apoptotic cells and expressions of nNos, p53, Bax, Beclin 1 were increased. In the resveratrol ve CAPE prophylaxis/treatment groups, a decrease was found in these parameters but this decrease was not statistically significant. There was also no significant difference between the groups, in terms of TAS, TOS and OSI measurements. Although TOS and OSI levels were the highest in the ischemia group, these levels were lower than ischemia group in treatment groups.

DISCUSSION: The results show that in spinal cord ischemia injury cases necrotic and apoptotic cell death are more common then autophagic cell death. In this cases though resveratrol and CAPE have beneficial effects tissue injury, this effects are not significant.

Keywords: Spinal Cord Ischemic Injury, Resveratrol, CAPE, Apoptosis, Oxidative Stress

P224

Agomelatin ve Gallik Asidin STZ ile İndüklenmiş Diyabetik Sıçan Testislerindeki Oksidatif Stres Üzerine Antioksidan Etkisi

Gürkan Yiğittürk¹, Oytun Erbaş², Fatih Oltulu¹, Nefise Ülkü Karabay Yavaşoğlu³, Ayşegül Uysal¹, Altuğ Yavaşoğlu¹

¹Ege Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana bilim Dalı, İzmir

²İstanbul Bilim Üniversitesi, Fizyoloji Ana bilim Dalı, İstanbul

³Ege Üniversitesi, Genel Biyoloji Ana bilim Dalı, İzmir

Diabetes mellitus (DM) dünya genelinde mortalite ve morbidite açısından insidansı yüksek bir hastalıktır. Diyabet komplikasyonlarının gelişmesi ve ilerlemesinde oksidatif stresin yer aldığına dair birçok literatür bulunmaktadır. Protein glikasyonu ve glukoz oto oksidasyonu reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek lipid peroksidasyonuna sebep olmaktadır. Oksidatif stres antioksidan savunma sistemlerini zayıflatmakta, plazma proteinlerini glikozillendirerek ileri glikasyon son ürünlerine (AGE) dönüştürmektedir.

Diyabet multisistemik bir hastalıktır ve etkileri üreme sistemi üzerinde de gözlenmektedir. Diyabet kaynaklı aşırı üretilen ROS ve glikozile son ürünler, testis dokusundaki hasarın ana sebeplerindendir.

Agomelatin ve Gallik asid'in oksidatif stresi baskılayarak diyabetin yol açtığı artan testis hasarına tedavi edici olası etkisinin araştırılması çalışmamızın ana amaçlarındandır.

Yüksek düzeyde ROS üretimi hücrelerde apoptoza sebep olabilmektedir. Ayrıca, inflamasyon kaynaklı vasküler yapıdaki bozulmalar ve tübül dejenerasyonları diyabetin üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkilerindendir. Çalışmamızda; bu sorunların tespitine yönelik apoptoz oranlarının belirlenmesinde immünohistokimyasal TUNEL metodu, diyabetin oluşturduğu vasküler yapı ve kapillarizasyon bozukluklarının ve olası onarım modellerinin incelenmesinde VEGF belirteci, inflamasyon/fibrozis ve olası onarım modellerinin incelenmesinde ise TNF α , NOS2 ve Fibronektin immünohistokimya belirteçleri kullanılmıştır. İmmünohistokimya analizi için biyopsi/parça takibi ve ışık mikroskopik analiz yapılmıştır.

Agomelatin ve Gallik asid tedavilerinin Malondialdehit (MDA) seviyelerini önemli derecelerde düşürdüğü görülmüştür. Testis dokusundaki Superoksid Dismutaz (SOD) ve Katalaz (KAT) aktiviteleri ise artmış olarak bulunmuştur. Tedavi grubu testislerde diyabet grubuna göre immünohistokimya ile belirlenmiş Fibronektin, NOS2, TNF α , ve VEGF ifadesinin azaldığı görülmüştür.

Agomelatin tedavisinin, diyabete bağlı gelişen hasarda anlamlı biyokimyasal ve histolojik etkiler gösterdiği saptanmıştır. Gallik asid'in ise kullandığımız doza bağlı olarak biyokimyasal parametrelerde düzeltici etkiler gösterse de testis hasarı üzerine histolojik düzeyde minimal tedavi edici etkisinin olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak; Agomelatin uygulamasının, diyabetik sıçan testislerinde oksidatif stres seviyesini düşürerek, testiküler hasarı azaltan bir ajan olduğu gözlenmiştir. Gallik asid ise zayıf tedavi edici etki göstermektedir.

Bu araştırma, agomelatin ve gallik asidin diyabetik testis üzerine etkisini histolojik ve biyokimyasal olarak inceleyen ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: Agomelatin, Antioksidan, Diyabet, Gallik Asid, Streptozotolin, Testis

Antioxidant Role of Agomelatine and Gallic Acid on Oxidative Stress in Stz Induced Type 1 Diabetic Rat Testes

Gürkan Yiğittürk¹, Oytun Erbaş², Fatih Oltulu¹, Nefise Ülkü Karabay Yavaşoğlu³, Ayşegül Uysal¹, Altuğ Yavaşoğlu¹

¹Department of Histology and Embryology, Ege University, Izmir, Turkey

²Department of Physiology, Istanbul Bilim University, Istanbul, Turkey

³Department of General Biology, Ege University, Izmir, Turkey

Diabetes mellitus (DM) is a disease with a high incidence in terms of morbidity and mortality of worldwide. A considerable amount of literature suggests major role of oxidative stress in development and progression of diabetic complications. Protein glycation and glucose autoxidation

can produce reactive oxygen species (ROS) that can catalyze lipid peroxidation. Alternative potential mechanisms of oxidative stress include the decrease of antioxidant defense. Separately, reaction of glucose with plasma proteins forms advanced glycation end products (AGE), triggering production of ROS.

Diabetes is a multisystem disorder and its effects are observed on the reproductive system. One of the main causes of testicular tissue damage are diabetes-induced overproduction of ROS and glycated end products.

One of our main objectives; investigate the possible effects of Agomelatine and Gallic acid by suppressing oxidative stress in diabetes- induced testicular damage.

High levels of ROS production may lead to induction of apoptosis. In addition, Inflammation induced degeneration of vascular structures and seminiferous tubules possesses harm effects on the reproductive system in diabetes. In this study, Terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end-labeling (TUNEL) assay was used for detection of Apoptosis. For investigation of vascular structures and capillary disorders induced by diabetes and possible repair models, VEGF immunohistochemistry marker was studied. TNF α , NOS2 and Fibronectin immunohistochemistry markers were used for investigation of inflammation/fibrosis induced by diabetes and possible repair models. For analysis of immunohistochemistry, we were performed tissue processing and light microscopic investigation.

Agomelatine and Gallic acid treatment decreased significantly elevated tissue malondialdehyde (MDA) levels and increased reduced SOD and CAT enzyme activities in testes tissue samples. NOS2, TNF α and VEGF expression levels decreased at treatment rat groups testes than diabetic rat group.

Agomelatine treatment showed an improvement on biochemical parameters and histopathologic appearance on rat testes. Although Gallic acid showed regenerative effects on biochemical parameters according to dose we used, it was found histologically to be cure minimal on testes damages.

As a result; it is observed that Agomelatine administration is a potentially beneficial agent to reduce testicular damage by decreasing oxidative stress level and testicular damages in diabetic rat testes. But, Gallic acid treatment shows poor therapeutic effect.

This research is the first study to investigate the possible effects of agomelatine and gallic acid about biochemical and histological methods in diabetes-induced testicular damage.

Keywords: Agomelatine, Antioxidant, Diabetes, Gallic Acid, Streptozotocin, Testes

Kaynakça / References: 1. Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. Ankara: Bayt Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın Şti. 2009. 2. Von Mering, Minkowski. Arch F Exp Path u Pharmakol 1889; XXVI: 271. 3. Agardh CD, Stenram U, Torffvitt O, Agardh E. Effects of inhibition of glycation and oxidative stress on the development of diabetic nephropathy in rats. J Diabetes Complications 2002; 16: 395-400). 4. Armağan, A, Uz E, Yılmaz HR, Soyupek S, Oksay T, Özçelik N. Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. Asian J Androl 2006; 8: 595-600. 5. Eiserich JP, Patel RP, O'Donnell VB. Pathophysiology of nitric oxide and related species: Free radical reactions and modification of biomolecules. Molec Aspects Med 1998; 19: 221-357. 6. Ballone E, Colagrande V, Di Nicola M, Di Mascio R, Di Mascio C, Capani F. Probabilistic approach to developing nephropathy in diabetic patients with retinopathy. Stat Med 2003; 22: 3889-3897.

P225

Erkek Sıçanlarda Poliklorlu Bifenillerin (Aroklor 1254) Neden Olduğu Reprodüktif Hasara Karşı Tetrandrinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

Feride Karahan¹, Aslı Taşlıdere¹, Osman Çiftçi², Muhterem Aydın³, Neşe Başak Türkmen⁴

¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye.

²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye.

³Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye.

⁴İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Toksikoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye.

AMAÇ: Poliklorlu bifenillerden AR1254 immun sistem baskılayıcı, endokrin bozucu, nörotoksik, kanserojenik, teratojenik etkileri olan bir bifenil bileşiğidir. Tetrandrin (TET) ise antiinflamatuar, anti kanser, immunsupresif ve sitoprotektif etkilere sahip bir bisbenzilisokuoline bileşiğidir. Bu çalışma, AR1254 ile oluşturulmuş reprodüktif hasara karşı tetrandrinin koruyucu etkilerini göstermek amacıyla planlandı.

MATERYAL-METOD: Çalışmamızda 28 adet Sprauge-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar rasgele seçilerek 4 gruba ayrıldı. (n=7) Gruplar sırasıyla:

- 1.Grup: Kontrol
- 2.Grup: AR1254
- 3.Grup: AR1254+TET
- 4.Grup: TET

Deney süresi sonunda sıçanlardan testis doku örnekleri alındı. Örnekler rutin doku takip işlemlerinden geçirildi, 5µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere histopatolojik incelemeler için Hematoksilen-Eozin (H-E), immunohistokimyasal incelemeler için Kaspaz-3 boyama metodları uygulandı. Hazırlanan preparatlar Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve LeicaQWin Plus analiz sistemi kullanılarak incelendi.

BULGULAR: Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi ile kontrol ve TET grubu testis örnekleri normal histolojik görünümde izlendi. AR1254 uygulanan sıçanların testis dokusunda tunikaalbuginea tabakasında konjesyon gözlemlendi. İnterstisyel alanda ise vasküler konjesyon, vakuolizasyon ve ödem tespit edildi. Seminifer tübüllerde spermatogenik seri hücrelerde azalma, lümene dökülme ve bölünmenin herhangi bir evresinde duraksamış hücreler olduğu belirlendi. AR1254+TET grubunda ise bu bulgularda belirgin derecede azalma olduğu tespit edildi. Biyokimyasal analizlerde ise AR1254 verilen sıçanlarda TBARS düzeyinin anlamlı düzeyde arttığı, TET uygulamasının bu artışı anlamlı düzeyde azalttığı izlendi. AR1254 uygulaması GSH, SOD, GPx ve CAT düzeylerinde azalmaya neden olurken, TET uygulaması ise bu değerlerin artışına neden olmuştur. AR1254 uygulamasının sperm motilitesi ve konsantrasyonunda önemli düzeyde azalmaya neden olurken, TET uygulaması bu değerlerde artışa neden olmuştur.

SONUÇ: AR1254 ile oluşturulan reprodüktif hasara karşı TET'in iyileştirici etkileri olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Aroklor1254, Testis, Tetrandrin, Sıçan, Kaspaz-3.

The Investigation of Potential Protective Effects Of Tetrandrine Against Reproductive Damage Induced By Aroclor 1254 In Male Rats

Feride Karahan¹, Aslı Taşlıdere¹, Osman Çiftçi², Muhterem Aydın³, Neşe Başak Türkmen⁴

¹Inonu University Faculty of Medicine, Department of Histology and Histology, Malatya, Turkey.

²Inonu University Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology, Malatya, Turkey.

³Fırat University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Malatya, Turkey.

⁴Inonu University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutic Toxicology, Malatya, Turkey.

AIM: AR1254 is a compound which from polychlorinatedbiphenyls have some effects such as immune system suppressors, endocrine disruption, neurotoxic, carcinogenic and teratogenic. Tetrandrine (TET), a bisbenzylisoquinoline alkaloid, has anti-inflammatory, anti-cancer, immunosuppressive and cytoprotective effects. This study was planned to investigation of potential protective effects of Tetrandrine againts reproductive damage induced by AR1254 in male rats.

MATERIAL-METHOD: In our study 28 Sprauge-Dawley rats were used. Rat were divided into 4 groups randomly selected. Groups:

- 1.Group: Control
- 2.Group: Ar1254
- 3.Group: AR1254+TET
- 4.Group: TET

At the end of the study testis tissue samples were taken from rats. The testis samples were processed by routine tissue techniques and embedded in paraffin. 5µm thick sections of tissues were cut, mounted on slides, stained with Hematoxylin-Eosin (H-E) and examined under a Leica DFC280 light microscope by Leica Qwin and Image Analysis System.

RESULTS: In control and TET groups, testis showed a normal histological appearance with H-E procedure. Congestion in tunica albuginea layer were observed in AR1254 group, In AR1254 group, testis tissue showed some histological alterations such as: congestion in tunica albuginea layer, congestion, oedema and vacuolisation in interstitial area, reduction in germ line cells in seminiferous tubules, squamation in lumen, arrested spermatocytes in different stage in division were observed. These findings were significantly decreased in AR1254+TET group. In biochemical analysis, AR1254 lead to a significant increased in TBARS levels and significant decrease in GSH, SOD, GPx and CAT levels in testis tissue compared with other groups. Besides, in the AR1254+TET group there was an attenuated increased in TBARS levels and an increase in GSH, SOD, GPx and CAT activities.

CONCLUSION: As a result of TET have protective effects againsts the reproductive damage which created with AR1254.

Keywords: Aroclor1254, Testis, Tetrandrine, Rat, Caspase-3.

P226

Etanolün oluşturduğu böbrek hasarı üzerine borun koruyucu etkisinin araştırılması

Esra Çikler Dülger¹, Canan Hürdağ¹, İbrahim Söğüt², Türkan Sarioğlu¹

¹İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji abd

²İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu

Bu çalışmanın amacı, alkol kullanımı sonucunda böbreklerde oluşan oksidatif hasar ve hücre ölümünün, güçlü bir antioksidan olan borik asit kullanımı ile önlenmesidir.

Alkol; beyin, karaciğer ve böbrekler başta olmak üzere diğer pek çok hayvansal dokuda hasar oluşturucu etkileri bilinen toksik bir ajandır. Etil alkolün çeşitli dokularda meydana getirdiği toksisite, oksidatif stres nedeniyle oluşmaktadır. Oksidatif stres, böbrek tübüllerinde apoptoz, nekroz ve lokal inflamasyon ile glomerüloskleroz ve tübüller arası alanda fibroza yol açar. Hasarlı hücreler apoptoz ya da nekroza yönelirler.

Doğada borik asit ve boraks halinde bulunan bor, hayvanlar ve insanlardaki metabolik ve fizyolojik olayları destekleyici temel eser elementtir. Bor, oksidatif stresi nötralize edici ajanları uyararak dokulardaki oksidatif hasarı durdurur.

Deneylerde 250-300 gr ağırlığındaki Sprague-Dawley erkek sıçanlar kullanılmıştır. Kronik alkolik sıçan modeli oluşturmak için deneklere 4 hafta boyunca gavaj yolu ile etil alkol verilmiştir. Kontrol grubuna 4 hafta süresince sadece izokalorik dekstroza uygulanmış; bor grubuna ise izokalorik dekstroza ek olarak bor verilmiştir. Borun koruyucu etkisinin araştırıldığı gruba ise alkol ile birlikte bor verilmiştir. %10 tamponlu nötral formalin içerisinde fikse edilen böbreklere hematoksilen-eozin, PAS boyaları ile TNF- α ve caspase-3 immünohistokimya işaretlemeleri yapılmıştır. Diğer böbreklerde ise biyokimyasal olarak TAS ve TOS ölçümleri yapılmıştır.

Böbrek dokularının genel morfolojisi incelendiğinde alkol gruplarında artmış olan hasarlı tübül sayısının bor kullanımı ile azaldığı tespit edilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak alkol grubunda arttığı gözlenen apoptotik hücre sayısının bor kullanımı ile azaldığı gözlenmiştir. Biyokimyasal olarak belirlenen TAS ve TOS değerleri sitokimyasal ve immünohistokimyasal bulgularımızı desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Bor, etanol, böbrek, oksidatif stres

Investigation of preventive effects of boron on the ethanol induced kidney damage

Esra Çikler Dülger¹, Canan Hürdağ¹, İbrahim Söğüt², Türkan Sarioğlu¹

¹İstanbul Bilim University Faculty of Medicine Histology and Embryology Department

²İstanbul Bilim University Health Services Vocational College

The aim of this study is prevent oxidative damage and apoptosis occur on the kidney from alcohol intake. Alcohol has been known as a toxic agent has negative effects on various animal tissues especially brain, liver and kidneys. Ethanol toxicity which occurs in various tissue is a result of the oxidative stress. Oxidative stress causes apoptosis, necrosis, local inflammation and glomerulosclerosis in kidney tubules and fibrosis in intertubular area. Damaged cells death via apoptosis or necrosis.

Boron is a naturally occurring element as boric acid and borax forms. Boric acid is an essential trace element for plants, humans and animals to support metabolic events. Boron act by counteracting the inhibitory effect of oxidative stress on neutralizing agents.

Thirty two adult male Sprague-Dawley rats weighing between 250 and 300 g were used in the present study. Ethanol was given via intragastric gavage method during a 4 weeks experimental period for create chronic alcoholic rat model. Controls received intragastric gavage of isocaloric dextrose solution. For alcohol+boron group ethanol was given with boron. Animals were killed after experimental period and kidney specimens fixed in 10% neutral buffered formalin. They were stained with hematoxylin&eosine, PAS and immunohistochemically labeled TNF- α and caspase-3.

Other kidney samples were used for determining biochemical TAS and TOS levels.

In alcohol group tubular damage and apoptotic cell number increase. Damaged tubul numbers and apoptotic cells decrease in boron used group. TAS and TOS levels are wellmatched with cytochemical and immunocytochemical results.

In result boron has protective effects on alcoholic kidney injury.

Keywords: Boron, ethanol, kidneys, oksidative stress

P227

Ratlarda Sinir Sisteminde Cisplatinin Sebep Olduğu Yan Etkilere Karşı β -glukanın Koruyucu Etkileri

Kürşat Kaya¹, Osman Çiftçi², Aslı Taşlıdere³, Mehmet Tecelioğlu⁴, Neşe Başak Türkmen⁵

¹Adıyaman Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye.

²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye.

³İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya.

⁴İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye.

⁵İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Toksikoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye.

AMAÇ: Bu çalışmada ratlarda cisplatin ile indüklenen sinir sistemi hasarına karşı β -glukanın koruyucu etkilerini araştırmayı amaçladık.

MATERYAL-METOD: Bu çalışmada 24 Sprague-Dawley rat 4 eşit gruba ayrıldı. Gruplar sırası ile:

1. Grup (n=7): Kontrol

2. Grup (n=7): Cisplatin (CP) grup (7 mg/kg/gün)

3. Grup (n=7): CP (7 mg/kg/day) + β -glukan (50 mg/kg/gün)

4. Grup (n=7): β -glukan (50 mg/kg/gün)

Deney sonunda ratlar ketamine/ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildi. Işık mikroskopik inceleme için ratlardan beyin ve beyincik doku örnekleri alındı ve %10'luk formaldehit içinde tespit edildi. Doku örnekleri rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 μ m kalınlığında kesitler alındı. Kesitler histolojik inceleme için Hematoksilen-Eozin ile, immunohistokimyasal inceleme için Caspaz-3 ile boyandı. Kesitler Leica Q Win Image Analiz sistemi ve Leica DFC280 ışık mikroskobu altında (Leica Micros Imaging Solutions Ltd.; Cambridge, U.K) incelendi. Biyokimyasal analizler için de TBARS, SOD, CAT, GPx, GSH seviyeleri belirlendi.

SONUÇLAR: Kontrol ve β -glukan gruplarında, beyin dokusu normal histolojik görünümde izlendi. Kontrol ve β -glukan gruplarında serebral korteks nöronları normal histolojik görünümdeydi.

Cisplatin grubunda ise beyin dokusunda bazı histolojik değişiklikler gözlemlendi. Bu histolojik değişiklikler, pia materde vasküler konjesyon ve hücre infiltrasyonu, serebral kortekste hücre infiltrasyonu, serebral korteks nöronlarında sitoplazmik parçalanma ve oldukça koyu piknotik nükleus yapısı gözlemlendi. Buna karşın, β -glukan tedavisinde bu bulgularda önemli ölçüde azalma olduğu gözlemlendi. CP grubunda gözlenen bulguların CP + β -glukan grubunda azaldığı tespit edildi.

Kontrol ve β -glukan gruplarında, serebellar korteks normal histolojik görünümdeydi. Purkinje hücreleri normal histolojik görünümde izlendi. Cisplatin grubunda ise piknotik nükleuslu, oldukça koyu boyanmış değişik şekillerde dejeneratif Purkinje hücreleri gözlemlendi. CP + β -glukan grubunda ise dejeneratif Purkinje hücrelerinin azaldığı gözlemlendi. İmmunohistokimyasal olarak Caspaz-3 ile boyanan kesitlerde ise kontrol ve β -glukan gruplarında serebral kortekste boyanma gözlenmedi. CP grubunda ise Caspaz-3 pozitif boyanmış hücrelerin oldukça yoğun olduğu, CP + β -glukan grubunda ise bu hücrelerde belirgin derecede azalma olduğu tespit edildi.

Biyokimyasal analizlerde ise antioksidan enzim seviyeleri (SOD, CAT, GPx, GSH) CP + β -glukan grubunda artarken, CP grubunda ise önemli derecede azaldı. TBARS seviyeleri CP grubunda CP + β -glukan grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı tespit edildi.

SONUÇ: Sonuç olarak, β -glukanın sinir sistemi hasarında koruyucu etkileri olduğu gözlemlendi. Ratlarda Cisplatinle indüklenen beyin ve beyincik toksisitesinde β -glukanın toksisiteyi önemli derecede azalttığı gözlemlendi.

ANAHTAR KELİMELELER: Cisplatin, β -glukan, beyin, beyincik, histopatolojik hasar.

Anahtar Kelimeler: Cisplatin, β -glukan, beyin, beyincik, histopatolojik hasar.

Beneficial Effects of β -Glucan against Cisplatin Side Effects on The Nervous System in Rats

Kürşat Kaya¹, Osman Çiftçi², Aslı Taşlıdere³, Mehmet Tecelioğlu⁴, Neşe Başak Türkmen⁵

¹Adıyaman University Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Adıyaman, Turkey.

²Inonu University Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology, Malatya, Turkey.

³Inonu University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Malatya, Turkey.

⁴Inonu University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Malatya, Turkey.

⁵Inonu University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology, Malatya, Turkey.

AIM: This study was planned to observe the protective effects of Beta Glucan (β -glucan) on Cisplatin (CP) induced nervous system damage in rats.

MATERIALS-METHODS: In this study, twenty eight Sprague-Dawley rats were randomly divided into four equal groups. Groups:

1. Group(n=7): Control
2. Group(n=7): Cisplatin(CP) group(7 mg/kg/day)
3. Group(n=7): CP+ β -glucan(50 mg/kg/day)
4. Group(n=7): β -glucan

At the end of the study, rats were sacrificed under ketamine/xylazine anesthesia. For light microscopic evaluation, cerebrum and cerebellum samples were fixed in 10% formalin. Tissue samples were processed by routine tissue techniques and were embedded in paraffin. Paraffin-embedded specimens were cut into 5 μ m thick sections, mounted on slides and sections were stained with Hematoxylen- Eosin(H-E) for histological investigation. For immunohistochemical investigation, sections were stained with Caspase-3. Sections examined under a Leica DFC280 light microscope by Leica QWin and Image Analysis System (Leica Micros Imaging Solutions Ltd.; Cambridge, U.K). TBARS, SOD, CAT, GPx, GSH levels were determined for biochemical analysis. **RESULTS:** In Control and β -glucan groups, cerebrum showed normal histological appearance. Neurons of cerebral cortex showed normal histological appearance in control and β -glucan groups. Some histological alterations were detected in cisplatin group brain tissue. These histological alterations were vascular congestion and cell infiltration in pia mater, cell infiltration in cerebral cortex, shrinkage cytoplasm and extensively dark picnotic nuclei in neurons of the cerebral cortex in CP group. In contrast, β -glucan treatment significantly attenuated the harmful effects. These findings were decreased in CP + β -glucan group.

In control and β -glucan groups, cerebellar cortex showed normal histological appearance. Purkinje cells showed no histological changes. We detected deeply stained, shrunken and various shapes Purkinje cells with pyknotic nuclei in CP group. In CP + β -glucan group degenerative Purkinje cells were decreased.

Immunohistochemically Caspase-3-stained cells were not observed in the cerebral cortex in control and β -glucan groups. The percentage of Caspase-3 positive cells was high in CP group. The density of immunohistochemically Caspase-3-stained cells was minimal in CP + β -glucan group.

In biochemical analysis, the results showed that CP apply caused to significantly increase TBARS levels and significantly decrease in GSH, CAT, SOD and GPx compared to other groups. However, β -glucan treatment together with CP significantly ameliorated in elevated TBARS levels and in deteriorated GSH, CAT, SOD and GPx compared to CP alone group.

CONCLUSION: As a result, we observed that β -glucan have protective effects on nervous system damage. The results of this study suggest that cisplatin-induced cerebrum and cerebellum toxicity in rats could be significantly reduced by β -glucan administration.

Keywords: Cisplatin, β -glucan, cerebrum, cerebellum, histopathological damage.

P228

Karbondioksit ve Karbonmonoksite Maruz Bırakılan Sıçanlarda Histolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Değişimi

Mustafa Doğan¹, Osman Celbiş², Aslı Taşlıdere³, Osman Çiftçi⁴, Neşe Başak Türkmen⁵

¹Iğdır Adli Tıp Kurumu Şube Müdürlüğü, Iğdır, Türkiye.

²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye.

³İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya.

⁴İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye.

⁵İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Toksikoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye.

AMAÇ: Bu araştırmada karbondioksit ve karbonmonoksite maruz kalan sıçanların beyin ve beyincik dokusunda histolojik ve biyokimyasal parametrelerin değişimlerinin belirlenmesi amaçlandı.

MATERYAL-METOD: Bu çalışmada 24 adet Sprauge-Dawley sıçan rasgele 3 gruba ayrıldı. Gruplar sırası ile:

1.Grup (n=8): Kontrol grubu

2.Grup (n=8): CO₂ grubu (%20 doz)

3.Grup (n=8): CO grubu (%0,05 doz)

Histopatolojik incelemeler için alınan doku örnekleri %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi.

Tespit edilen dokulara rutin doku takip işlemleri uygulandı ve doku örnekleri parafin bloklar içine gömüldü. Hazırlanan bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin boya metodu ile boyandı. Kesitler Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Görüntü Analiz Sistemi kullanılarak incelendi ve fotoğraflandı.

BULGULAR-SONUÇ: Kontrol grubu beyin ve beyincik dokusu normal histolojik görünümde izlendi.

Kontrol grubuna ait Hematoksilen- Eozin (H-E) ile boyanan beyin dokusundaki nöronların ökromatik nükleus ve nükleolusu belirgindi. Kontrol grubu beyincik dokusunun tabakalarının ve Purkinje hücrelerinin normal histolojik görünümde olduğu tespit edildi. CO ve CO₂ gruplarında ise beyin dokusunda bazı histopatolojik değişiklikler olduğu gözlemlendi. Bu değişiklikler pia materde vasküler konjesyon, serebral kortekste belirgin hücre infiltrasyonu, serebral kortekste vasküler konjesyon, hemoraji ve nöronlarda dejenerasyon (sitoplazmik büzülme ve eozinofili gösteren, piknotik nükleuslu nöronlar) olarak tespit edildi. CO ve CO₂ grupları karşılaştırıldığında CO grubunda histopatolojik hasarın daha belirgin olduğu, CO₂ grubunda ise daha hafif derecede olduğu tespit edildi. Ayrıca CO uygulanan grupta beyincik dokusunda ise Purkinje hücrelerinde belirgin dejenerasyon olduğu, CO₂ uygulanan grupta ise CO grubuna göre daha az Purkinje hücre dejenerasyonu olduğu tespit edildi. Yapılan değerlendirmeler sonucunda karbonmonoksit verilen ratlarda oksidatif hasarın göstergesi olan TBARS düzeyinin kontrol ve diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi. Bununla birlikte karbonmonoksit uygulamasının antioksidan savunma sistemi elemanları olan GSH, SOD ve CAT düzeylerinde istatistik olarak önemli düzeyde azalmaya neden olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Karbonmonoksit, Karbondioksit, Beyin, Beyincik, Histopatoloji.

Changes of Histological and Biochemical Parameters in Carbon dioxide and Carbon monoxide Exposed In Rats

Mustafa Doğan¹, Osman Celbiş², Aslı Taşlıdere³, Osman Çiftçi⁴, Neşe Başak Türkmen⁵

¹Department of Forensic Medicine Institute of Iğdır, Iğdır, Turkey.

²Inonu University Faculty of Medicine, Department of Forensic Medicine, Malatya, Turkey.

³Inonu University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Malatya, Turkey.

⁴Inonu University Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology, Malatya, Turkey.

⁵Inonu University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology, Malatya, Turkey.

AIM: This study was aimed to determine the changes of rat cerebrum and cerebellum tissue exposed to carbon-dioxide and carbon-monoxide as biochemical and histopathological parametres.

MATERIALS-METHODS: In this study, twenty four Sprauge-Dawley rats were randomly divided into four equal groups. Groups:

1.Grup (n=8): Control goup

2.Grup (n=8): CO₂ group (%20-dose)

3.Grup (n=8): CO group (%0,05-dose)

The tissue samples were taken for histopathological examination were fixed in 10% formaldehyde. The cerebrum and cerebellum samples were processed by routine tissue techniques and were embedded in paraffin. Paraffin-embedded specimens were cut into 5 mm thick sections, mounted on slides and stained with Hematoxylin- Eosin (H-E). Sections examined under a Leica DFC280 light microscope by Leica Q Win and Image Analysis System (Leica Micros Imaging Solutions Ltd.; Cambridge, U.K).

RESULTS AND CONCLUSION: In control group, cerebrum and cerebellum tissue showed normal histological appearance. In control group with Haematoxylin and Eosin (H-E) stained neurons in the brain tissue was evident euchromatic the nucleus and nucleolus. Layers of the cerebellum and Purkinje cells were found to be normal histological appearance in control group. CO ve CO₂ group was observed that some histopathological changes in the cerebrum. These were identified as vascular congestion in pia mater, prominent cell infiltration in cerebral cortex, vascular congestion in cerebral cortex, hemorrhage and degeneration of neurons (eosinophilic stained pyknotic nuclei of neurons showing cytoplasmic shrinkage). When compared to CO ve CO₂ groups, the CO group has been found more specific histopathological damages against to CO₂ group. Also, Purkinje cells have obvious degeneration in cerebellum of CO treated group, in the CO₂ treated group was found to be less Purkinje cell degeneration according to CO group.

As a result of study, TBARS levels which the indicator of oxidative damage in rats, increased statistically in CO treatment according to control and the other groups. However, the application of carbon monoxide was found to be cause a statistically reduction levels of GSH, SOD and CAT which are the antioxidant defense system elements.

Keywords: Carbon-monoxide, Carbon-dioxide, Cerebrum, Cerebellum, Histopathology.

P229

Kobaylarda Rekombinant Kemik Morfogenik Proteini-2 (rhBMP-2) ve Rekombinant Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörünün (rhPDGF) Kemik Rejenerasyonuna Etkisinin Histolojik ve Histomorfometrik Analizi

Gökhan Güven¹, Selenay Furat Rençber², Elif Güzel Meydanlı³, Gamze Şenol Güven⁴, Alper Gültekin¹, Selim Erşanlı¹

¹İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Oral İmplantoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

³İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴Medipol Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul

Dental implant tedavisinde atrofik alveolar krest, optimum iyileştirmede ilgi çekiciliğini koruyan bir alandır [1]. Büyüme faktörlerinin atrofiye alveolar krestlerdeki kemik iyileşmesi üzerindeki potansiyelleri yüksektir. Çeşitli büyüme faktörleri arasında Rekombinant Kemik Morfogenik Proteini-2 (rhBMP-2) ve Rekombinant Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (rhPDGF) büyük ilgi görmektedir [2]. Bu çalışmanın amacı kobaylarda rhBMP-2 ve rhPDGF' nin emilebilir kollajen sünger (ACS) aracılığıyla kemik iyileşmesi üzerine etkisini değerlendirmektir.

Bu çalışmada 24 adet ortalama 6-7 aylık, 700-800 gr ağırlığında yetişkin Dunkin-Hartley kobay kullanılmıştır. Kobaylar başlangıçta, her grupta 12 hayvan olacak şekilde iyileşmenin 15. ve 45.günleri olarak iki gruba ayrılmıştır. Hayvanların tibia'larında 3 mm çapında yuvarlak kemik defektleri oluşturulmuştur. Her hayvanda oluşturulan kemik defektini dolduracak 4 biyomateryal grup şu şekildedir: rhBMP-2+ACS, rhPDGF+ACS, sadece ACS ve tedavi edilmeyen grup. Yeni kemik oluşumu 15.ve 45. günlerde histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilip, yeni kemik oluşum miktarı tek-yönlü varyans analizi ve post hoc Holm-Sidak testi kullanılarak analiz edilmiştir. İstatistiksel hesaplamalar Sigma Stat 3.0 versiyonu kullanılarak gösterilmiştir ve P<0.05anlamlı kabul edilmiştir.

15. günde rhBMP-2+ACS grubunda fibröz kallus oluşumu ve yeni oluşan kemik trabekülleri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla bulunmuştur (P<0.05). rhPDGF-BB+ACS grubunda yeni kemik oluşumu rhBMP-2+ACS grubundan daha az gözlemlenmiştir ancak yeni oluşan kemik trabeküllerinin miktarı kontrol gruplarıyla kıyaslandığında daha fazla tespit edilmiştir (p<0.05). 45. günde rhPDGF-BB+ACS grubunda yeni kemik oluşumu 15. gündeğine göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (P≤0.001). rhPDGF-BB+ACS grubunda yeni kemik oluşumu kontrol gruplarına göre anlamlı olarak fazla gözlemlenmiştir (Boş grup için P=0.007, ACS grubu için P=0.006). 45. günde rhBMP-2+ACS ve rhPDGF-BB+ACS grupları arasında anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

Uygun taşıyıcıların geliştirilmesi ve rhBMP-2 ile rhPDGF-BB'nin osteoindüktif etkileriyle kemik greftlerinde altın standarda ulaşılabilir. Daha uzun süreli çalışmalar ve klinik denemeler gerekse de, burada sunulan bulgular kemik iyileştirme uygulamalarında rhBMP-2 ve rhPDGF-BB kullanılabilirliğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Kemik iyileşmesi, rhBMP-2, rhPDGF-BB

Histologic And Histomorphometric Comparison Of Bone Regeneration Between Bone Morphogenetic Protein-2 And Platelet-Derived Growth Factor-BB In Guinea Pigs

Gökhan Güven¹, Selenay Furat Rençber², Elif Güzel Meydanlı³, Gamze Şenol Güven⁴, Alper Gültekin¹, Selim Erşanlı¹

¹Department of Oral Implantology, Istanbul University Faculty of Dentistry, Istanbul, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Kocaeli University Faculty of Medicine, Kocaeli, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Istanbul University Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey

⁴Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Medipol University Faculty of Dentistry, Istanbul, Turkey

The atrophic alveolar crest remains a challenging area for optimum rehabilitation with dental implant treatment [1]. Growth factors have great potential for bone regeneration at the atrophied alveolar crest. Among the various growth factors, recombinant human bone morphogenetic protein-2

(rhBMP-2) and recombinant human platelet-derived growth factor (rhPDGF) have received a great deal of attention [2]. This study evaluates the efficacy of rhBMP-2 and rhPDGF-BB delivered via absorbable collagen sponge (ACS) on bone formation in guinea pig.

24 adult Dunkin-Hartley guinea pigs were randomly assigned initially into two groups as 15 and 45 days of healing. Three-millimeter-circular bone defects were created on the tibiae of animals as 2 defects per each tibia; totally 4 defects per each animal. The four groups in each animal corresponded to the biomaterial used to fill the created bone defects as follows: rhBMP-2+ACS, rhPDGF-BB+ACS, ACS only, and no treatment. New bone formation was evaluated histologically and histomorphometrically at 15 and 45 days. Quantities of new bone were analyzed with one-way ANOVA followed by post hoc Holm-Sidak testing.

At day 15, new bone formation was seen at the peripheral portion of the defect where ACS was partly resorbed. The amounts of fibrous callus and newly formed bone trabeculae in the rhBMP-2+ACS group were significantly higher than the other groups at the end of day 15 ($P < 0.05$). New bone formation in the rhPDGF-BB+ACS was lower than the rhBMP-2+ACS but higher than the control groups at day 15 ($P < 0.05$). The ratio of new bone to total defect area increased significantly over time. At the end of day 45, a large part of the ACS had been resorbed. New bone per defect area was significantly higher than at day 15 in the rhPDGF BB+ACS ($P \leq 0.001$). In the rhPDGF-BB+ACS, at the end of day 45, the defects were almost filled with new bone, and remodeling was determined. New bone formation was significantly higher in the rhPDGF-BB+ACS than the control groups ($P = 0.007$ and $P = 0.006$ for empty and ACS only groups, respectively). There was no significant difference between the rhBMP-2+ACS and rhPDGF-BB+ACS at day 45. Advances in suitable carriers, coupled with the osteoinductive effects of rhBMP-2 and rhPDGF-BB, could ultimately create a future gold standard for bone grafting. Although further long-term studies and clinical trials are required, the findings presented herein suggest a promising use of rhBMP-2 and rhPDGF-BB for bone regeneration applications.

Keywords: Bone regeneration, rhBMP-2, rhPDGF-BB

Kaynakça / References: [1] Merli M, Migani M, Bernardelli F, et al (2006) *Int J Oral Maxillofac Implants* 21:600-606. [2] Park SY, Kim KH, Shin SY, et al (2013) *Tissue Eng Part A* 19:2495-2505.

P230

Yara İyileşme Modelinde {*Foeniculum vulgare*} Bileşiklerinden Fenhone ve Limonene'in Etkileri

İlknur Keskin¹, Yalçın Günel², Şule Ayla¹, Bircan Kolbaşı⁷, Arzu Şakul³, Ülkan Kılıç⁴, Özlem Gök⁵, Kutay Köroğlu⁶, Hanefi Özbek³

¹İstanbul Medipol Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Medipol Üniversitesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Medipol Üniversitesi, Farmakoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁴İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁵İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İstanbul

⁶Marmara Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁷İstanbul Medipol Üniversitesi, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul

GİRİŞ: Bu çalışmanın amacı, *Foeniculum vulgare* bileşiklerinden fenhone ve limonenenin eksizyonel deri yara modelinde iyileştirici etkisini araştırmaktır.

METHOD: Sıçanların sırt bölgelerinde oluşturan yaraların üzerine fenhone ve limonene ekstraktları günlük olarak fenhone, limonene ve fenhone+limonene grupları olacak şekilde ayrı ayrı ve beraber, lokal olarak 10 gün boyunca uygulandı. Doku kesitleri histopatolojik olarak incelendi. İyileşme potansiyeli referans gruplar olan kontrol ve ayçiçeği yağı uygulanan gruplar ile karşılaştırılarak incelendi.

SONUÇLAR: Mikroskopik olarak, yara iyileşmesi Image J analiz programı ile ölçüldü ve 6. günden sonra, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında limonene grubundaki iyileşmenin önemli ölçüde iyi olduğu tespit edildi. 10. günde ayçiçeği grubu ile fenhone ve limonenenin aynı anda verildiği grup karşılaştırıldığında yara küçülmesinde ve epitelizasyonunda önemli ölçüde artış görüldü. Mikroskopik yara iyileşme değerlendirmesi, epidermal rejenerasyon, granülasyon dokusunun kalınlığı ve anjiyogenez skorlamalarıyla yapıldı (1,2). Bu skorlamaya göre fenhone, limonene ve fenhone+limonene grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldıklarında ölçüm değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu görüldü. Ancak, ayçiçeği yağı uygulanan sham grubu ile karşılaştırıldıklarında skorlamalarda anlamlı bir farklılık görülmedi.

TARTIŞMA: *Foeniculum vulgare* substratlarından fenhone ve limonenenin yara iyileşme sürecinde yararlı etkilerinin olduğunu ve bitkilerin geleneksel olarak kullanımını desteklemektedir (3). Yara iyileşme süreci üzerinde iyileştirici etkilerinin olmasından dolayı fenhone ve limonenenin anti-inflamatuvar ve antimikrobiyal etkileriyle kollajen üretimi teşvik edilmekte ve inflamatuvar hücre sayısında düşüş görülmektedir. Bu nedenle bu bileşikler yara iyileşmeleri için bir opsiyon olarak düşünülebilirler.

Anahtar Kelimeler: *Foeniculum vulgare*, Esansiyel yağ, Yara İyileşmesi, Fenhone, Limonene

Efficiency of {*Foeniculum vulgare*} essential oil compounds Fenhone and Limonene in experimental wound healing

İlknur Keskin¹, Yalçın Günel², Şule Ayla¹, Bircan Kolbaşı⁷, Arzu Şakul³, Ülkan Kılıç⁴, Özlem Gök⁵, Kutay Köroğlu⁶, Hanefi Özbek³

¹Department of Histology and Embryology, İstanbul Medipol University, İstanbul, Turkey

²Department of Physiology, İstanbul Medipol University, İstanbul, Turkey

³Department of Pharmacology, İstanbul Medipol University, İstanbul, Turkey

⁴Department of Medical Biology, İstanbul Medipol University, İstanbul, Turkey

⁵Vocational School of Health Services, İstanbul Medipol University, İstanbul, Turkey

⁶Department of Histology and Embryology, Marmara University, İstanbul, Turkey

⁷Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), İstanbul Medipol University, İstanbul, Turkey

BACKGROUND: The aim of this study was to investigate the wound-healing activity of *Foeniculum vulgare* compounds fenhone and limonene on excisional cutaneous wound model in rats.

METHODS: An excision wound was made on the back of the rat and fenchone and limonene extract was applied topically once daily separately or together to wounds for 10 days. Tissue sections were evaluated histopathologically. The healing potential was comparatively assessed with a reference to control group and olive oil extract group.

RESULTS: Macroscopic wound healing assessed with image analyzer program revealed that after the 6 th day wound contraction with limonene was significantly better compared to the control group. On the 10th day, a significant increase was observed in wound contraction and reepithelialization in the groups treated with both fenchone and limonene oil compared to the sham control. Microscopic wound healing assesment was done with scoring epidermal regeneration, granulation tissue thickness and angiogenesis (1,2). According to this scoring groups treated with fencone, limone and fenchone +limonene scored significantly higher then control group. However the difference was not significantly high when compared to the group treated with olive oil extract.

CONCLUSION: The results support the beneficial effects of *Foeniculum vulgare* substrats fenchone and limonenein augmenting the wound healing process and supporting the traditional use of the plant (3). Due to their influence on the wound healing process, the anti-inflammatory and antimicrobial activities of fenchone and limonene oil can promote increased collagen synthesis and decreased numbers of inflammatory cells during the wound healing process and may thus be considered an option for treating skin wounds.

Keywords: Foeniculum vulgare, Essential oil, Wound healing, Fenchone, Limonene

Kaynakça / References: 1) Galeano M, Altavilla D, Bitto A, Minutoli L, Calò M, Lo Cascio P, Polito F, Giugliano G, Squadrito G, Mioni C, Giuliani D, Venuti FS, Squadrito F. Recombinant human erythropoietin improves angiogenesis and wound healing in experimental burn wounds. Crit Care Med. 2006 Apr; 34(4): 1139-46. 2) Loutrari, H.; Magkouta, S.; Pyriochou, A.; Koika, V.; Kolisis, F.N.; Papapetropoulos, A.; Roussos, C. Mastic oil from Pistacia lentiscus var. chia inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. Nutr. Cancer, 2006, 55, 86-93. 3) Araque M, Rojas LB, Usubillaga A. Antibacterial activity of essential oil of F. vulgare Miller against multiresistant Gram-negative bacilli from nosocomial infections. Science, 2007; 15(3): 366-70

P231

Sıçan siyatik sinirinin kronik konstriksiyon hasarında dekompresyonun ultrastrüktürel yapı üzerine etkisi

Orhan Özatik¹, Atacan Emre Koçman², İlknur Dağ³

¹Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD. Kırşehir Türkiye

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstruktif Cerrahi AD. Eskişehir Türkiye

³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Yüksek Okulu Eskişehir Türkiye

AMAÇ:

Kronik konstriksiyon hasarında kullanılan ilaçların sınırlı etkileri ve ağrıyı oluşturan mekanizmalar konusundaki bilgilerimizin yeterli olmamasından dolayı nöropatik ağrının tedavisindeki başarımız henüz tam değildir. Sıkışmış sinirin cerrahi olarak serbestleştirilmesi daha radikal bir tedavi imkanı sağlamaktadır. Çalışmamızda çeşitli zamanlarda yapılan cerrahi serbestleştirmenin etkinlikleri karşılaştırılmıştır.

YÖNTEM

Çalışmamızda 5 grup olmak üzere 35 Sprague-Dawley, yetişkin(200-250 g), dişi sıçan kullanıldı. KKZ oluşturulması amacıyla sham grubundakiler hariç tüm ratlarda siyatik sinir ligasyonu uygulandı. 7., 21. ve 35. günde hayvanların bir kısmına ikincil bir cerrahi uygulanarak sinir sıkışmaları serbestleştirildi (KKS). Bu süre içinde 0,1,3,5, 9,11 ve 13. haftalarda termal hiperajezi (TH) testi gerçekleştirildi. İstatistiksel analizde İki yönlü Varyans Analizi ve ikili karşılaştırmada Tukey testi kullanıldı.

BULGULAR

TH'de 1. haftada yapılan serbestleştirmede kontrol,3. ve 5. haftada yapılan serbestleştirmelere göre anlamlı fark saptanmıştır (p<0.05). Aynı şekilde 1. hafta serbestleştirme yapılan grupta ışık ve elektron mikroskopunda hasar bölgesinde ve dorsalkök gangliyonlarında rejenerasyonun daha iyi olduğu saptandı.

SONUÇ

Bu çalışmada KKZ'de erken serbestleştirmenin sinir hasarını hem fonksiyonel hem de histolojik olarak azalttığı gösterilmiştir.

AEÜ BAP tarafından desteklenmektedir. TIP.E2.16.007

Anahtar Kelimeler: Nöropatik ağrı, cerrahi serbestleştirme, kronik konstriksiyon zedelenmesi.

The effect of decompression as a treatment tool on ultrastructure in chronic constriction injury of rat sciatic nerve

Orhan Özatik¹, Atacan Emre Koçman², İlknur Dağ³

¹Ahi Evran University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology Kırşehir/TURKEY

²Eskişehir Osmangazi University Medical Faculty Department of Plastic and Reconstructive Surgery Eskişehir Turkey

³Eskişehir Osmangazi University Health Services College, Eskişehir Turkey

OBJECTIVE:

because the drugs used in chronic constriction injury have limited effect, and lack of knowledge on its mechanisms, improvement in the treatment of neuropathic pain is far less than ideal. Surgical release of the constricted nerve is a more radical treatment option. In the present study various timings for surgical release were compared.

METHOD

5 groups of 35 Sprague-Dawley adult female rats were used in the experiments. To induce CCI sciatic nerve ligation were performed in all rats except the sham group. Constriction were released in employed groups on 7th,21th and 35th days with a second surgery. Thermal hyperalgesia tests were performed on weeks 1,3,5,9,11 and 13. Two-way analysis of variance was used for statistical analysis and the Tukey pairwise comparison test.

RESULTS

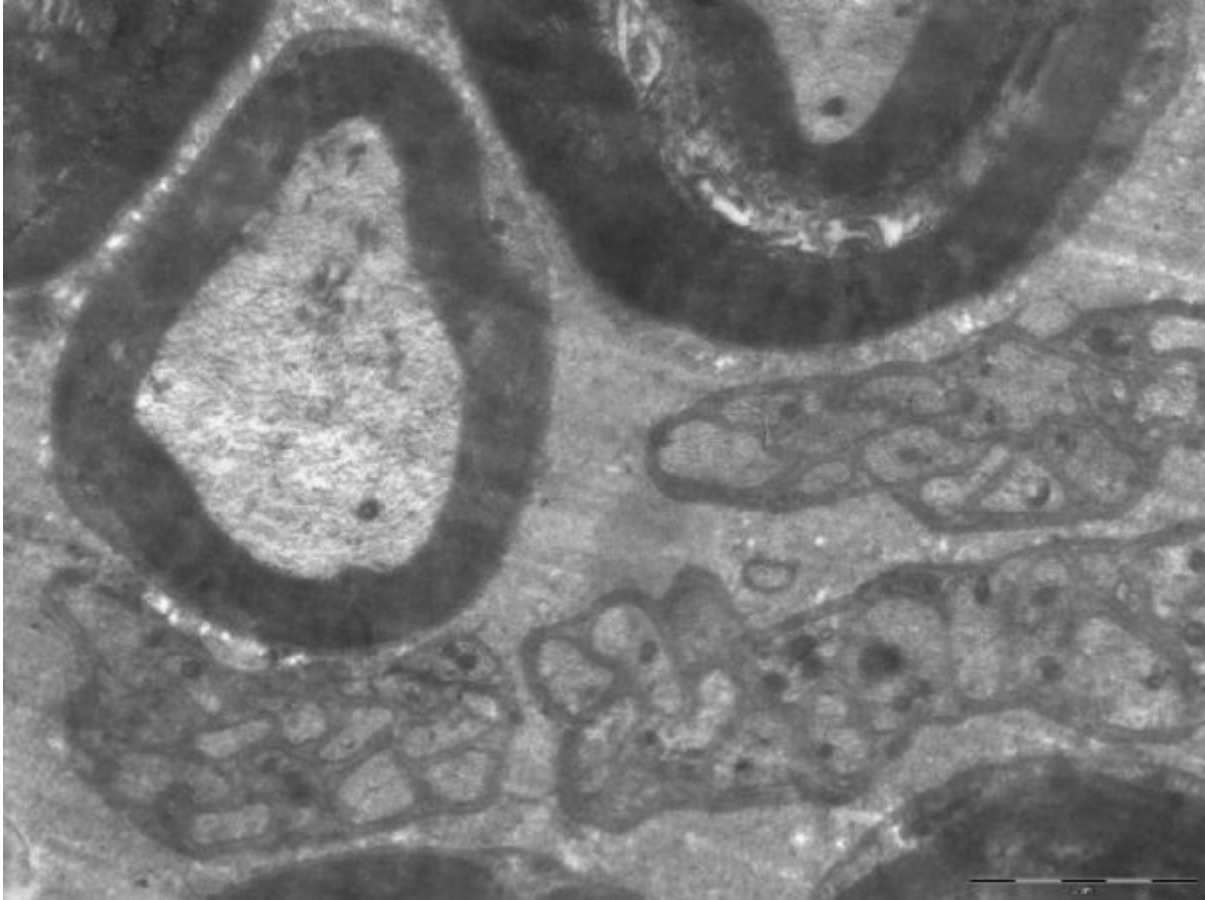
Compared with other groups the difference is significant in constriction release group at one week in thermal hyperalgesia tests. ($p < 0.05$). Similarly the regeneration of nerve injury site and dorsal root ganglions are superior in light and electronmicroscopic examinations.

CONCLUSION

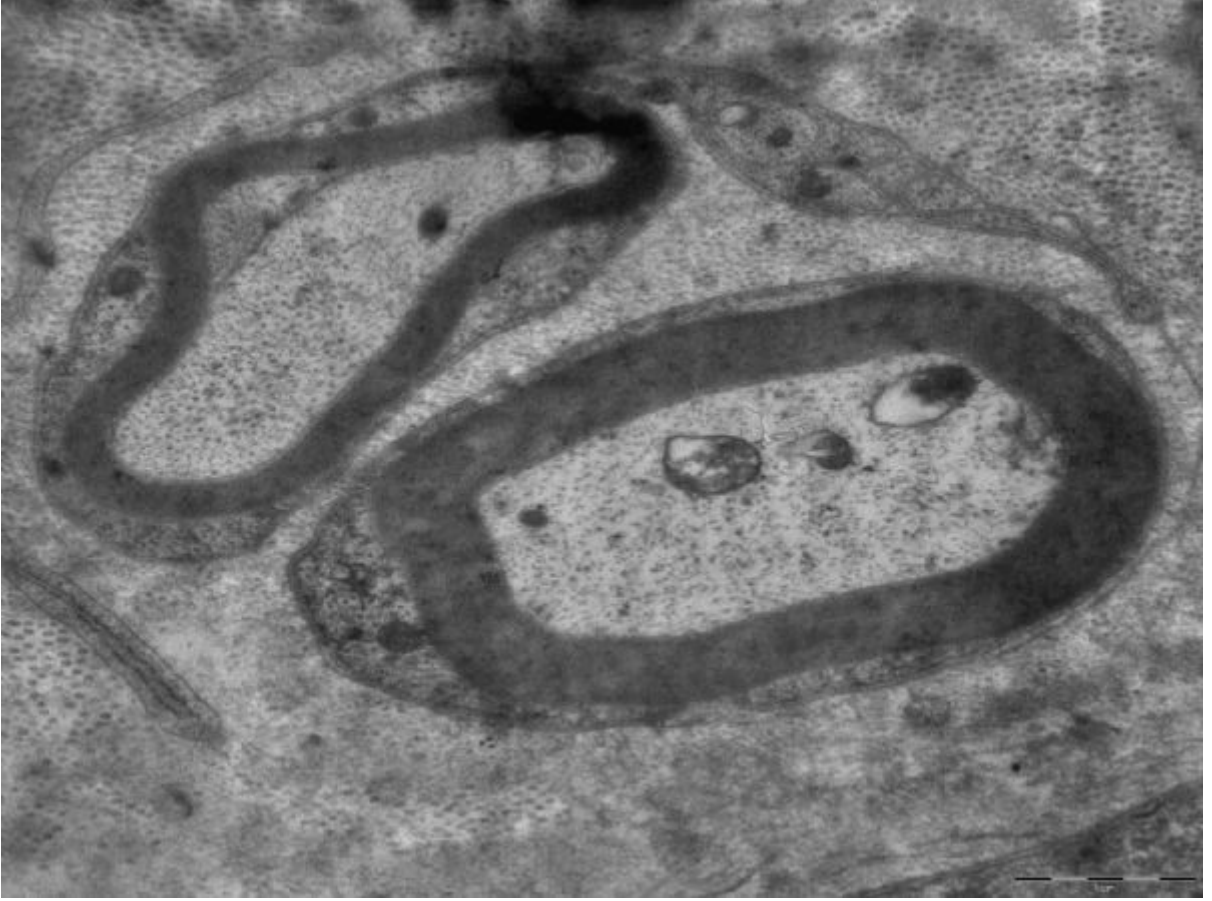
In this study the early surgical release of constricted nerve has been shown to reduce both the nerve damage both functionally and histologically.

Keywords: Neuropathic pain, surgical liberalization, chronic constriction injury.

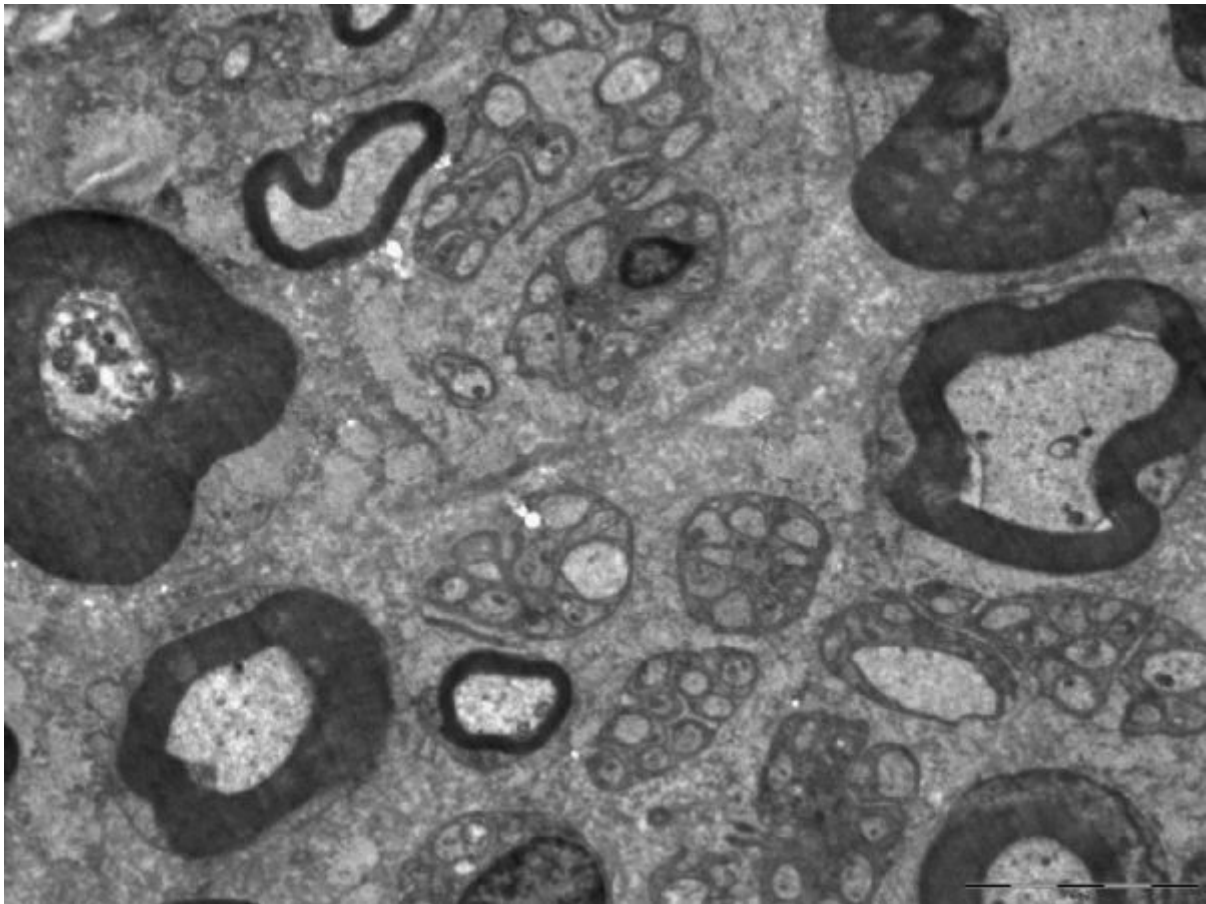
resim 1
figure 1



resim 2
figure 2



resim 3
figure 3



Tablo 1

Termal hiperaljezi testi (sn)	Sham	CCI	CCR1W	CCR3W	CCR5W
0. gün	17,2	18,2	16,9	17,3	18,2
7. gün	18,2	7,3	6,1	8,6	9,7
21. gün	16,4	8,9	9,2	7,6	10,3
35. gün	17,8	6,9	13,2	8,3	7,6
9. hafta	18,4	7,2	15,8	11,2	8
11. hafta	16,9	8,2	0	12,2	9,9
13. hafta	17,6	8,3	0	0	9,3

Termal hiperaljezi testi

Table 1

Test of Hyperalgesia (sec)	Sham	CCI	CCR1w	CCR3W	CCR5W
0. day	17,2	18,2	16,9	17,3	18,2
7. days	18,2	7,3	6,1	8,6	9,7
21. days	16,4	8,9	9,2	7,6	10,3
35. days	17,8	6,9	13,2	8,3	7,6
9. weeks	18,4	7,2	15,8	11,2	8
11. weeks	16,9	8,2	0	12,2	9,9
13. weeks	17,6	8,3	0	0	9,3

Test of Termalhyperalgesia

Kaynakça / References: 1. Smith HS, Argoff CE: Pharmacological treatment of diabetic neuropathic pain. *Drugs*, 71(5):557–89, 2011. 2. Kumar K, Taylor RS, Jacques L, Eldabe S, Meglio M, Molet J, Thomson S, O'Callaghan J, Eisenberg E, Milbouw G, Buchser E, Fortini G, Richardson J, North RB: Spinal cord stimulation vs conventional medical management for neuropathic pain: A multicentre randomised controlled trial in patients with failed back surgery syndrome. *Pain*, 132:179–88, 2007. 3. Jaggi A.S, Singh N: Role of different brain areas in peripheral nerve injury-induced neuropathic pain. *Brain Res*, 1381:187–201, 2011. 4. Zieglgansberger W, Berthele A, Tolle TR: Understanding neuropathic pain. *CNS Spectr*, 10: 298–308, 2005. 5. Sacerdote P, Franchi S, Moretti S, Castelli M, Procacci P, Magnaghi V, Panerai AE: Cytokine modulation is necessary for efficacious treatment of experimental neuropathic pain. *J Neuro immune Pharmacol*, 8:202–211, 2013.

P232

DeneySEL Yara Modelinde ACTH ile Oluşturulan Stresin ve Royal Jelly'nin Yara İyileşme Sürecine Etkileri

Turan Karaca, Yeşim Hülya Uz, Ahmet Çağatay Çiçek, Selim Demirtaş
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD, Edirne

GİRİŞ: Stres, çağımızın en önemli sağlık sorunlarının başında gelen ve birçok hastalık için yatkınlık sağlayan, çok sayıda sistem ve organı etkileyen bir faktördür. Farklı kaynaklı stres faktörünün, yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkisinin olduğu bilinmektedir. Arı sütü (Royal jelly- RJ) işçi arıların hypofarangingial ve mandibular bezlerinin bir salgı ürünü olup, kraliçe arının beslenmesi ve gelişmesi için hayati öneme sahiptir.

AMAÇ: Bu çalışmada, açık yara modeli oluşturulan sıçanlarda, adrenokortikotropik hormonu (ACTH) kaynaklı stres ve arı sütünün yara iyileşme sürecine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM: Bu araştırmada, 24 adet yetişkin (8-10 haftalık) Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Deri traş edilip temizlendikten sonra, torakolomber bölgede orta hattın her iki tarafında 2 adet, 6 mm çapta tam kat eksizyonel deri biyopsisi yapılarak açık yara modeli oluşturuldu. Sıçanlar rastlantısal olarak, 4 gruba ayrıldılar:

Grup I: Yara grubu;

Grup II: Yara+ACTH (7 gün süresince günde 2 kez 250µg/kg ACTH uygulanması yapılanlar, s.c);

Grup III: Yara+Royal jelly (oral yolla 400 mg/kg arı sütü verilen);

Grup IV: Yara+ACTH+Royal jelly grubu (7 gün süresince günde 2 kez 250µg/kg ACTH ve 400mg/kg dozlarında arı sütü verilenler).

Deney bitiminde sakrifiye edilen deneklerden alınan yara bölgesi deri örneklerine, rutin histolojik işlemlerden sonra histolojik değerlendirmeler için H&E ve Sirius red boyamaları yapıldı. Ayrıca, yara iyileşme alanındaki apoptotik hücre değerlendirmesi için TUNEL boyaması yapıldı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak analiz edildi.

BULGULAR: Yapılan değerlendirmelerde, inflamasyonun en yüksek Yara+ACTH grubunda, kollajen sentezini yine Yara+ACTH grubunda en düşük; bunun aksine inflamasyon en düşük Yara+RJ grubunda tespit edilirken kollajen sentezi ve anjiyojenezis oranı en yüksek bu grupta belirlendi.

TUNEL pozitif hücre sayısı Yara+ACTH grubunda artarken, Yara+RJ grubunda azalmıştır (Tablo 1).

SONUÇ: Sunulan bu çalışma, RJ'nin açık yaraların iyileşme sürecine katkıda bulunabileceğini ileri sürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Yara, ACTH, Arı sütü, sıçan

Effects of ACTH-Induced Stress and the Royal Jelly on Wound Healing Process in the Experimental Wound Model

Turan Karaca, Yeşim Hülya Uz, Ahmet Çağatay Çiçek, Selim Demirtaş
Department of Histology and Embryology, Trakya University, Edirne. Turkey

INTRODUCTION: Stress is a factor which is the primary health issue among many other health problems of our time, causing predisposition too many diseases and affecting many systems and organs. Royal Jelly (RJ) is a secretion of the hypopharyngeal and mandibular glands of worker honey bees, and it plays an important role in queen honeybee feeding and development.

AIM: The present study aimed to the evaluated the effects of the adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-induced stress and RJ on wound healing process in the experimental wound models in rats.

MATERIAL-METHOD: Twenty four male Wistar albino rats (8-10 weeks) were used for the experiment. After shaving the dorsal hair and cleaning of the exposed skin, two full-thickness excisional wounds were made side of the throcolumbar region of the rats using sterile 6mm biopsy punch. They were divided into four equal groups (n = 6):

Group I: Wound group;

Group II: Wound+ACTH (250µg/kg - 2 times per day; during 7 days, s.c);

Group III: Wound+RJ (400mg/kg/day, orally);

Group IV: Wound+ACTH+RJ (250µg/kg - 2 times per day (s.c), and 400mg/kg/day orally during 7 days).

After shaving the dorsal hair and cleaning of the exposed skin, four full-thickness (including the Panniculus carnosus) excisional wounds were punched at two sites in the middle of the dorsum using sterile 4 and 6 mm biopsy needles.

At the end of the experiment, the animals were decapitated. The wound area skin tissues were removed, fixed in 10% formalin solution and, following routine laboratory methods, embedded in paraffin. For histological evaluation H&E and Sirius red staining were performed. TUNEL staining was made for assessment of apoptotic cell number. The results were analyzed statistically.

RESULTS: In the assessments, inflammation was observed highest in the Wound+ACTH group; however, collagen synthesis was the lowest in the same group. In contrast, inflammation rate was decreased in the Wound+RJ group, and collagen synthesis and anjiyojenezis rate was highest in the Wound+RJ group. Furthermore, the number of TUNEL positive cells increased in the Wound+ACTH group but, decreased in the Wound+RJ group (Table 1).

CONCLUSION: The present study provides evidence for a beneficial effect of on wound healing process.

Keywords: Wound, ACTH, Royal jelly, rat

Tablo 1: Deri dokusunda histolojik değerlendirme sonuçları

	İnflamasyon	Kollajen sentezi	Anjiyojenez
Yara	2(1-3)	1(1-2)	1(1-2)
Yara+ACTH	2(2-3)*	1(1-2)	1(1-2)
Yara+RJ	1(1-2)**	2(2-3)¥	2(2-3)¥
Yara+ACTH+RJ	2(1-2)***	2(1-2)***,¥	2(1-2)¥

*: $P < 0.05$; Yara grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı; **: $P < 0.05$; Yara+ACTH grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı; ***: $P < 0.05$; Yara ve Yara+RJ gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı; ¥: Yara ve Yara+ACTH gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı.

Table 1: Histological evaluations of the skin tissue

	Inflammation	Collagen synthesis	Angiogenesis
Wound	2(1-3)	1(1-2)	1(1-2)
Wound+ACTH	2(2-3)*	1(1-2)	1(1-2)
Wound+RJ	1(1-2)**	2(2-3)¥	2(2-3)¥
Wound+ACTH+RJ	2(1-2)***	2(1-2)***,¥	2(1-2)¥

*: $P < 0.05$; Compared with Wound group; **: $P < 0.05$; Compared with Wound+ACTH group; ***: $P < 0.05$; Compared with Wound group and Wound+RJ groups; ¥: Compared with Wound group and Wound+ACTH groups.

P233

Shea Yağının Yara İyileşmesi Üzerine Etkisi

Nihan Bayındır¹, Olgu Enis Tok¹, Mukaddes Esrefoğlu¹, Elif Kılıç², Huri Bulut²

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

Yara iyileşmesi karmaşık bir tamir sürecidir. Yara iyileşmesinin gecikmesi ciddi problemlere yol açabilir. Shea yağı Afrika'da yetişen Shea ağacının meyvesinden elde edilen yağdır. Kozmetik sektöründe cilt ve saç bakım ürünlerinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada Shea yağının yara iyileşmesine etkisinin incelenmesi amaçlandı. Sprague Dawley sıçanların dorsal derileri 3,25 cm² yara alanı (1,5 cmx1,5 cm) elde etmek amacı ile eksize edildi. Shea grubu her gün 1ml Shea yağı ile tedavi edildi. Yara grubuna tedavi uygulanmadı. Yara bölgesinde 2., 4., 7., 10., 15. ve 30. Günlerde FGF-2, VEGF-A, PDGF-A, TGFβ-1, kollajen-III, MMP-1 ve TIMP-1 protein seviyeleri (Western blot analizleri ile), Total antioksidan seviyeleri (TAS) ve total oksidan seviyeleri (TOS) (biyokimyasal metod ile) tayin edildi. Yara alanı shea grubunda yaklaşık 17,5 günde, yara grubunda yaklaşık 23,5 günde iyileşti. Sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p < 0, 0009). Elde ettiğimiz veriler shea yağının yara iyileşme sürecini hızlandırdığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Shea yağı, yara iyileşmesi, FGF-2, VEGF-A, PDGF-A,

Effect of Shea Butter on Wound Healing

Nihan Bayındır¹, Olgu Enis Tok¹, Mukaddes Esrefoğlu¹, Elif Kılıç², Huri Bulut²

¹Department of Histology and Embryology, Bezmialem Vakif Univesity Medical Faculty, Istanbul, Turkey

²Department of Medical Biochemistry, Bezmialem Vakif Univesity Medical Faculty, Istanbul, Turkey

Wound healing is a complex repairing process. Delayed wound healing can cause serious problems. Shea butter obtains from the fruit of Shea tree which grows in Africa. In the cosmetics industry it is used in skin and hair care products. In this study, the effect of Shea butter on wound healing was aimed. The dorsal skins of Sprague Dawley rats were excised to full thickness to obtain a wound area of 3,25 cm square (1,5 cmx1,5 cm). Shea group was treated with 1ml of shea butter every day. Wound group did not receive any treatment. In wound area FGF-2, VEGF-A, PDGF-A, TGFβ-1, collagen-III, MMP-1 and TIMP-1 protein levels (Western Blot analysis) and total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) (biochemical method) were determined on days 2., 4., 7., 10., 15. and 30. Wound area completely healed in shea group approximately on day 17,5 and in wound group approximately on day 23,5. The result was statistically significant (p < 0, 0009). Our data showed that butter accelerates wound healing process.

Keywords: Shea butter, wound healing, FGF-2, VEGF-A, PDGF-A,

P234

İpek Serisinin, sıçan dorsal deri flebi üzerinde oluşturulan kesi modeli üzerine etkileri

Murat Ersel¹, Yiğit Uyanıkgil², Funda Karbek Akarca¹, Enver Özçete¹, Yusuf Ali Altuncı¹, Fatih Karabey³, Ayfer Meral⁴, Türker Çavuşoğlu², Gürkan Yiğittürk⁵, Emel Öykü Çetin⁶

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı & Kordon kanı Hücre- Doku Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir

³Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İzmir

⁴Dumlupınar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kütahya

⁵Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

⁶Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyofarmasotik ve Farmakokinetik Anabilim Dalı, İzmir

AMAÇ: Yara iyileşmesi karmaşık ve hala tam olarak anlaşılammış bir süreçtir. Serisin, ipek böceğinin (*Bombyx mori*) sentezlediği bir ipek proteindir. Bu çalışmanın amacı serisin içeren jel formülasyonunun sıçanlarda kesi yarası modelinde in vivo iyileştirici etkisinin değerlendirilmesidir.

GEREÇ-YÖNTEM: Yirmi sekiz Wistar-Albino sıçan 4 gruba ayrıldı (n=7). Kontrol grubuna herhangi müdahale yapılmadı, tedavi uygulanmadı. Diğer gruplara 9x3 cm boyutlarında dorsal cilt flebi çizildi ve keskin diseksiyon ile kaldırıldı. Sham grubuna herhangi bir tedavi uygulanmadı. Plasebo grubunda yara bölgesine içinde serisin olamayan plasebo jeli, günde bir kere 0. gün ve 9. gün arasında uygulandı. Serisin grubunda, yara bölgesine 1% serisinli jel günde bir kere 0. gün ve 9. gün arasında uygulandı. Histolojik analizler için hematoksilen ve eozin ve Mallory-Azan boyası, immünohistoimmünokimyasal analizleri için, anti-iNOS ve anti-desmin boyamaları yapıldı. Yara bölgesindeki oksidatif stres parametreleri biyokimyasal yöntemlerle ölçüldü.

BULGULAR: Epidermal kalınlık ve vaskülarizasyon artarken; kıl kökleri dejenerasyonu, ödem, hücrel infiltrasyon, kollajen diskolorizasyonu ve nekrozis; Serisin grubunda Plasebo grubu ve Sham grubuna kıyasla azaldı. Serisin grubunda Malondialdehid (MDA) seviyeleri azalırken, katalaz (CAT) ve glutanyon peroksidaz (GPx) aktivitesi artmıştır.

SONUÇ: Serisinin yara iyileşmesi üzerinde anlamlı pozitif etkisi olduğu ve antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Serisin bazlı formülasyonlar kesi yarası tedavisinde geliştirmeye açıktır.

Anahtar Kelimeler: Antioksidant, Serisin, Yara iyileşmesi

Effects of Silk Sericin on Incision Wound Healing in a Dorsal Skin Flap Wound Healing Rat Model

Murat Ersel¹, Yiğit Uyanıkgil², Funda Karbek Akarca¹, Enver Özçete¹, Yusuf Ali Altuncı¹, Fatih Karabey³, Ayfer Meral⁴, Türker Çavuşoğlu², Gürkan Yiğittürk⁵, Emel Öykü Çetin⁶

¹Department of Emergency Medicine, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine & Cord Blood Cell – Tissue Research and Application Center, Ege University, Bornova, Izmir, Turkey

³Department of Biotechnology, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ege University, Bornova, Izmir, Turkey

⁴Department of Biochemistry, Dumlupınar University Faculty of Medicine, Evliya Celebi Training and Research Hospital, Kutahya, Turkey

⁵Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey

⁶Department of Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, Faculty of Pharmacy, Ege University, Bornova, Izmir, Turkey

BACKGROUND: The wound healing process is complex and still poorly understood. Sericin is a silk protein synthesized by silk worms (*Bombyx mori*). The objective of this study was to evaluate in vivo wound healing effects of a sericincontaining gel formulation in an incision wound model in rats.

Material/METHODS: Twenty-eight Wistar-Albino rats were divided into 4 groups (n=7). No

intervention or treatment was applied

to the Intact control group. For other groups, a dorsal skin flap (9×3 cm) was drawn and pulled up with sharp dissection. The Sham operated group received no treatment. The Placebo group received placebo gel without sericin applied to the incision area once a day from day 0 to day 9. The Sericin group received 1% sericin gel applied to the incision area once a day from day 0 to day 9. Hematoxylin and eosin stain was applied for histological analysis and Mallory-Azan staining was applied for histoimmunochemical analysis of antibodies and anti-*INOS* and anti-desmin was applied to paraffin sections of skin wound specimens. Parameters of oxidative stress were measured in the wound area.

RESULTS: Epidermal thickness and vascularization were increased, and hair root degeneration, edema, cellular infiltration, collagen discoloration, and necrosis were decreased in Sericin group in comparison to the Placebo group and the Sham operated group. Malonyldialdehyde (MDA) levels were decreased, but superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GPx) activities were increased in the sericin group.

Keywords: Antioxidant, Sericin, Wound Healing

resim 1
Figure 1

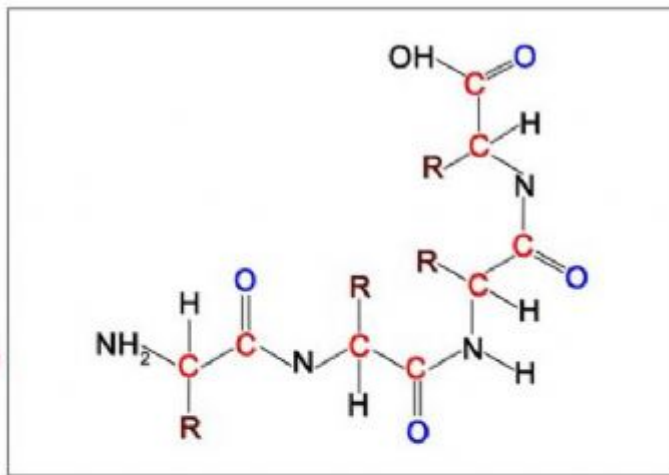


Figure 1. Chemical structure of sericin.

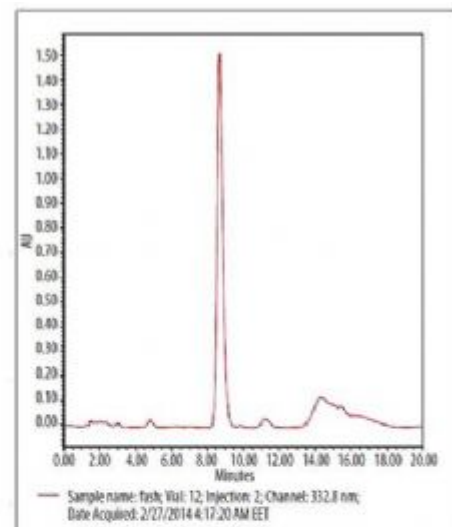


Figure 2. HPLC spectrum of sericin (concentration=2.5 mg/mL).

	Sham operated group	Placebo group	Sericin group
MDA (nmol/mg)	0.255±9.3	0.248±8.9	0.177±10.2* [#]
GPx (mU/ml)	7.6436±12.3	7.772±11.5	11.9708±8.3* [#]
SOD (U/ml)	8.029±11.2	8.105±10.4	9.715±8.9* [#]
Catalase (U/ml)	0.3346±10.7	0.3567±12.7	0.7832±10.6* [#]

* p<0.001, when compared to sham-operated group; [#]p<0.001, when compared to placebo group. GPx – glutathion peroxidase; MDA – malonyldialdehyde; SOD – superoxid dismutase.

resim 2
Figure 2

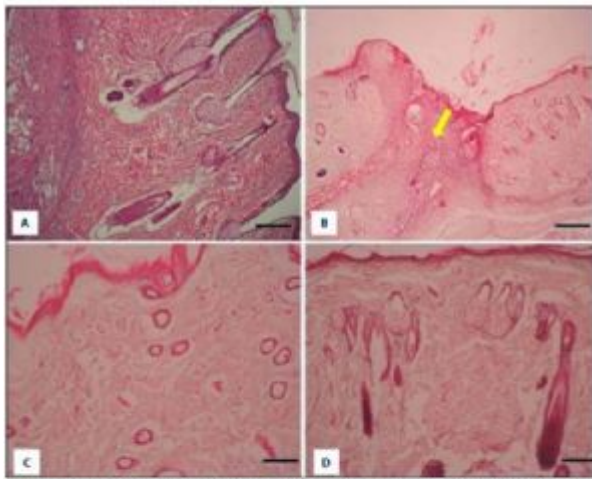


Figure 3. Light microscopic images of dorsal skin flap: (A) Intact control group, (B) Sham operated group, (C) Flaxseed group, (D) Sericin group. H&E staining, original magnification x20, scale bar = 250 µm. White arrow shows location of incision line.

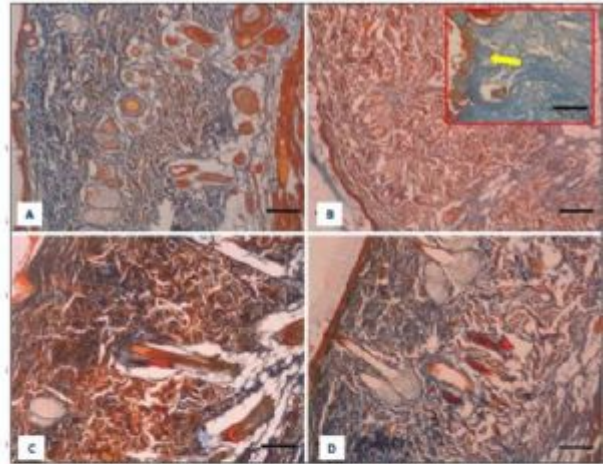


Figure 4. Masson Azan staining of the sections images of dorsal skin flap: (A) Intact control group, (B) Sham operated group, (C) Flaxseed group, (D) Sericin group. Original magnification x30, scale bar = 250 µm. Small picture magnification x10, scale bar = 500 µm. Yellow arrow shows location of incision line.

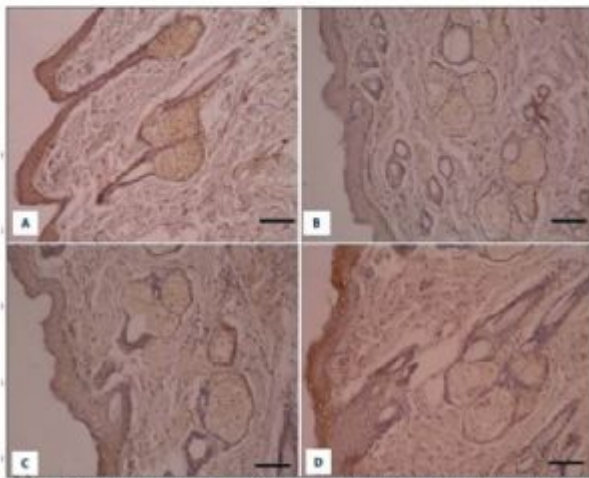


Figure 5. Anti-ND2S staining of the sections images of dorsal skin flap: (A) Intact control group, (B) Sham operated group, (C) Flaxseed group, (D) Sericin group. Original magnification x20, scale bar = 250 µm.

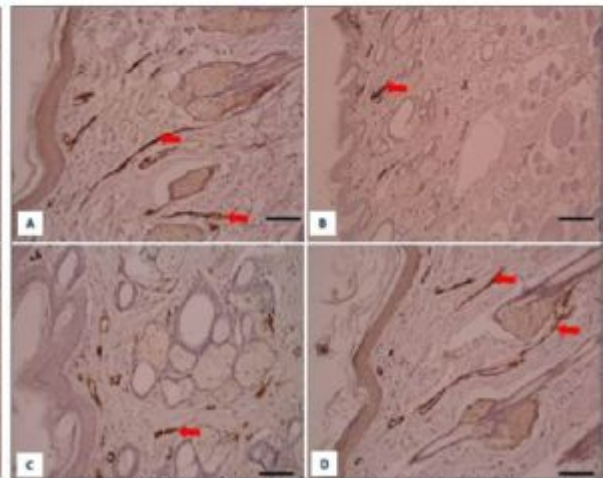


Figure 6. Anti-desmin staining of the sections of dorsal skin flap: (A) Intact control group, (B) Sham operated group, (C) Flaxseed group, (D) Sericin group. Original magnification x30, scale bar = 250 µm. Red arrows show Ar. arteriofills.

Kaynakça / References: 1-Aramwit P, Kanokpanont S, Nakpheng T, Srichana T: The effect of sericin from various extraction methods on cell viability and collagen production. *Int J Mol Sci*, 2010; 11: 2200–11 2-Witte MB, Barbul A: Role of nitric oxide in wound repair. *Am J Surg*, 2002; 183: 406–12 3-Paulin D, Li Z: Desmin: A major intermediate filament protein essential for the structural integrity and function of muscle. *Exp Cell Res*, 2004; 301: 1–7 4-Frank S, Heiko Kamper H, Wetzler C, Pfeilschifter J. Nitric oxide drives skin repair: Novel functions of an established mediator. *Kidney Int*, 2002; 61: 882–88

P235

Sıçan Aşil Tendonu Hasarında Taurinin Etkisi

Övünç Akdemir¹, Emel Öykü Çetin², Türker Çavuşoğlu³, Erdal Binboğa⁴, Mahmut Pekediş⁵, Turgay Yağcı⁶, Aylin Gökhan⁷, Yiğit Uyanıkgil³

¹Kemerburgaz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Plastik ve Rekonstruktif Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul

²Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyofarmasotik ve Farmakokinetik Anabilim Dalı, İzmir

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı & Kordon kanı Hücre- Doku Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir

⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İzmir

⁵Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Makine Mühendisliği Bölümü, İzmir

⁶Şişli Etfal Hastanesi, Ortopedi Anabilim Dalı, İstanbul

⁷Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

AMAÇ: Taurin anti-inflamatuar ve antioksidan karakter gösterir. Taurin'in tendon-tedavi modelinde iyileşme ve adezyon oluşumu üzerinde etkisini gösteren bir çalışmadır.

GEREÇ-YÖNTEM: 2 gruba ayrılmış 16 sıçan derivasyona uğratıldı ve Aşil tendonları onarıldı. Grubun birinde onarılan bölgeye 200 mg/ml taurin enjekte edilirken diğer gruba 1ml tuzlu su uygulandı.

Örneklere 6 hafta sonunda biyomekanik ve histolojik değerlendirmeler yapıldı.

BULGULAR: Hiçbir tendon yırtılması saptanmadı. Ortalama maksimum güç, taurin uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.05$). Benzer şekilde taurin uygulanan grupta ortalama enerji alımı kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.05$).

Histolojik değerlendirmelerin ardından, fibroblast proliferasyonu, ödem ve inflamasyon tedavi grubunda istatistiksel olarak azaldığı görüldü ($p < 0.05$).

SONUÇ: Bu sonuçlar daha az adezyon oluşumu ile daha yüksek tendon gerilimini göstermektedir ve bu taurinin adezyon oluşumu üzerine etkisi olabilir.

Anahtar Kelimeler: Taurin, antiadezyon, Sıçan, Tendon yaralanması, fibrozis

Effect of Taurine on Rat Achilles Tendon Healing

Övünç Akdemir¹, Emel Öykü Çetin², Türker Çavuşoğlu³, Erdal Binboğa⁴, Mahmut Pekediş⁵, Turgay Yağcı⁶, Aylin Gökhan⁷, Yiğit Uyanıkgil³

¹Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Kemerburgaz University, Istanbul, TURKEY

²Department of Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, Faculty of Pharmacy, Ege University, Bornova, Izmir, Turkey

³Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine & Cord Blood Cell – Tissue Research and Application Center, Ege University, Bornova, Izmir, Turkey

⁴Department of Biophysics, Ege University, Izmir, TURKEY

⁵Department of Mechanical Engineering, Engineering Faculty, Ege University, Izmir, TURKEY

⁶Department of Orthopedic Surgery, Sisli Etfal Hospital, Istanbul, TURKEY

⁷Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Izmir, Turkey

BACKGROUND: Taurine has anti-inflammatory and antioxidant characteristics. We have introduced taurine into a tendon-healing model to evaluate its effects on tendon healing and adhesion formation.

MATERIALS-METHODS: 2 groups of 16 rats underwent diversion and repair of the Achilles tendon. One group received a taurine injection (200mg/ml) at the repair site, while the other group received 1 ml. of saline. Specimens were harvested at 6 weeks and underwent biomechanical and histological evaluation.

RESULTS: No tendon ruptured. Average maximum load was significantly greater in the taurine-applied group compared with the control group ($p < 0.05$). Similarly, average energy uptake was significantly higher in the taurine-applied group compared with the control group ($p < 0.05$). We observed no significant differences in stiffness in both groups ($p > 0.05$). After histological assessment, we found that fibroblast proliferation, edema, and inflammation statistically decreased in the treatment group ($p < 0.05$).

CONCLUSION: These findings could indicate greater tendon strength with less adhesion formation, and taurine

may have an effect on adhesion formation.

Keywords: Taurine, antiadhesion, rat, tendon healing, fibrosis

resim 2
figure 2

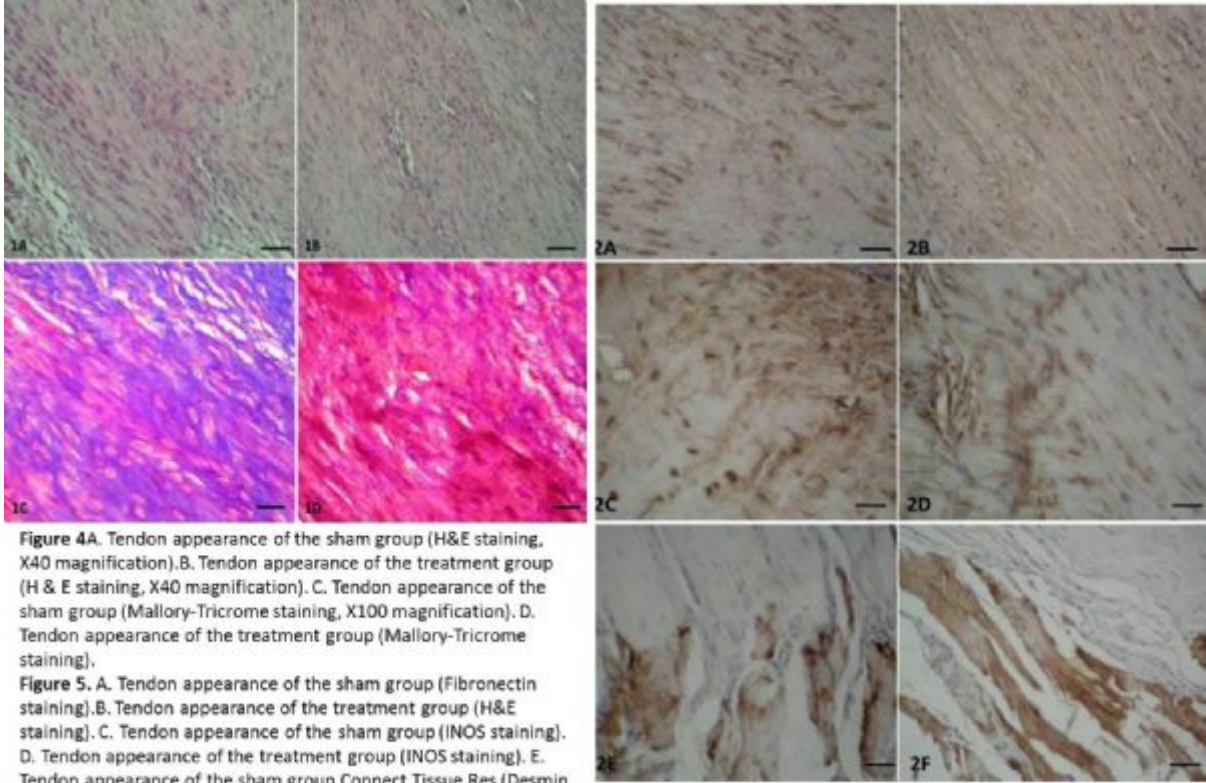


Figure 4A. Tendon appearance of the sham group (H&E staining, X40 magnification). **B.** Tendon appearance of the treatment group (H & E staining, X40 magnification). **C.** Tendon appearance of the sham group (Mallory-Tricrome staining, X100 magnification). **D.** Tendon appearance of the treatment group (Mallory-Tricrome staining).
Figure 5. A. Tendon appearance of the sham group (Fibronectin staining). **B.** Tendon appearance of the treatment group (H&E staining). **C.** Tendon appearance of the sham group (INOS staining). **D.** Tendon appearance of the treatment group (INOS staining). **E.** Tendon appearance of the sham group. Connect Tissue Res (Desmin staining). **F.** Tendon appearance of the treatment group (Desmin staining).

resim1
figure 1

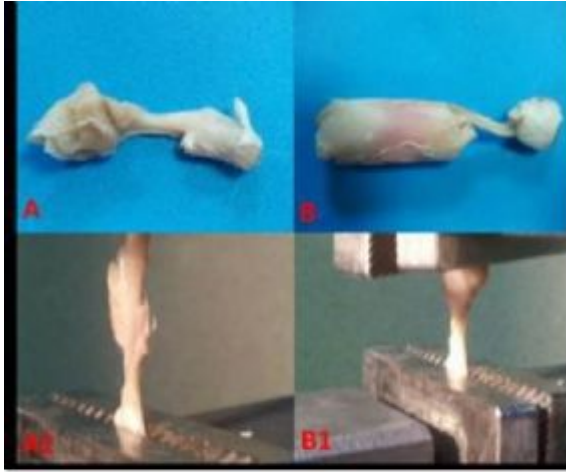
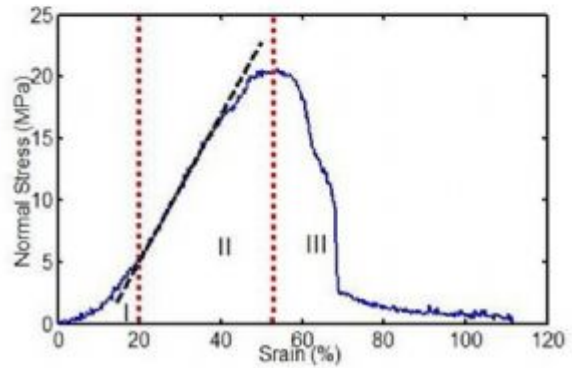
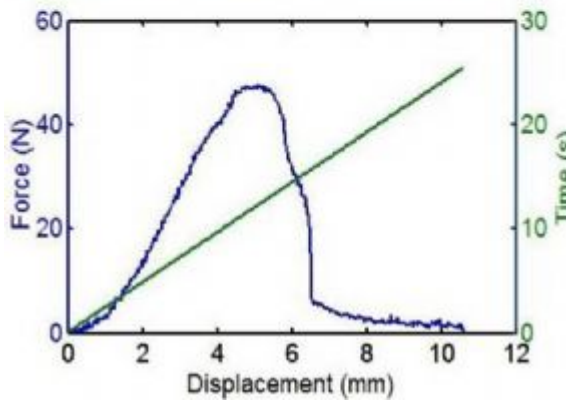


Figure 1. A. Sham group sample prior to biomechanical analysis B. Treatment group sample prior to biomechanical analysis. A1.The appearance of sham group sample during biomechanical analysis B1. The appearance of treatment group sample during biomechanical analysis.

Figure 2. A typical displacement-force curve of the rat Achilles tendon.

Figure 3. A typical strain-stress curve of the rat Achilles tendon.



Kaynakça / References: 1- Aspenberg P, Virchenko O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand*, 2004; 75: 93–99. 2-Akdemir O, Hede Y, Zhang F, Lineaweaver WC, et al. Effects of taurine on reperfusion injury. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011 Jul; 64(7): 921–8. 3-Peterson WW, Manske PR, Lesker PA. The effect of flexor sheath integrity on nutrient uptake by primate flexor tendons. *J Hand Surg* 1986; 11A: 413–6. 4- Tang JB, Ishii S, Usui M. Surgical management of the tendon sheath at different repair stages biomechanical and morphological evaluations of direct sheath closure, partial sheath excision, and interposing sheath grafting. *Chin Med J (Engl)* 1990; 103: 295–303.

P236

Tavşanlarda Korneadaki Asit Yanıklarda Angiogenik Sitokinler ve Reseptörleri Epitelial Repair ve Neovaskularizasyonu Uyarır

Hakan Sağsöz¹, Semih Altan², Zeki Oğurtan³

¹Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

²Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

³Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Mikrovasküler ağların şekillenmesi olan angiogenezis; büyüme, gelişme ve yara iyileşmesi için normal bir süreçtir. Buna karşın, neovaskularizasyon normal olmayan lokalizasyondaki kan damarlarının proliferasyonu yolu ile karakterize angiogenezisin patolojik bir formudur. Avasküler bir organ olan korneada neovaskularizasyon, limbustan köken alan kan damarlarının korneaya doğru büyümesi ile angiogenik ve antiangiogenik faktörler arasındaki dengenin bozulması ile karakterize bir durumdur. Angiogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulan vasküler endotelial büyüme faktörü ve reseptörleridir. Vasküler endotel hücre büyümesini baskılayan faktör ise anjiyogenezin spesifik bir inhibitörüdür. Sunulan çalışmada, deneysel hidroflorik asit yanığı sonrasında şekillenen korneal hasarda, VEGI, VEGF ve reseptörlerinin (flt1/fms, flk1/KDR ve flt4) ekspresyonlarını ve topikal ilaç uygulamalarının korneal neovaskularizasyonun düzenlenmesinde rollerinin bulunup bulunmadığını immunohistokimyasal olarak belirlemeyi amaçladık. Çalışmada, 72 adet erişkin, New Zealand ırkı erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar rastgele 4 gruba ayrıldı. Genel anestezi altında hidroflorik asit ile korneal yanık meydana getirildikten sonra indometasin ve DMSO gibi ilaç uygulamaları yapıldı. Uygulamaların 2., 7. ve 14. günlerinde hayvanlar ötenazi edildi ve kornea çıkarılarak %10 nötral formol solüsyonunda tespit edildi. Rutin laboratuvar işlemlerini takiben parafine bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Asit yanık şekillendirildikten sonra oluşturulan grupların tamamında kornea epiteli, endoteli, stromal ve yangı hücrelerinden VEGI, VEGF ve reseptörlerinin (flk1/KDR, flt1/fms and flt4) değişen yoğunluklarda ekspresse olduğu ortaya konuldu. Uygulamaların 2., 7. ve 14. günlerinde VEGF, flk1/KDR ve flt1/fms'nin korneal endotel hücrelerinden ziyade epitel, stromal ve yangı hücrelerinden daha güçlü ekspresse olduğu belirlendi (p<0.05). 7. günde yeni şekillenen kan damarlarının korneanın merkezine doğru ilerlediği görüldü. Tüm gruplarda neovaskularize alanlardaki kan damarlarında VEGI, VEGF ve reseptörlerinin (Flk1/KDR, flt1/fms, flt4) değişen yoğunluklarda ekspresse olduğu, özellikle indometasin ve indometasin-DMSO gruplarında uygulamaların 2. gününden ziyade 7. ve 14. günlerinde VEGF ve reseptörlerinin (Flk1/KDR, flt1/fms, flt4) neovaskularize alanlardaki birçok patolojik damarlardan ekspresse olduğu ve bu durumda istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi (p<0.05). Sonuç olarak, endojen VEGF ve reseptörlerinin korneal repair ve neovaskularizasyonun şekillenmesinde, VEGI'nin ise hücrelerdeki proliferasyon ve apoptosis arasındaki dengenin sağlanması ile patolojik damarlaştırmanın baskılanmasında etkili olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: anjiogenik sitokin, kornea, yanık, indometasin

Angiogenic Cytokines and Receptors in Acid Burn of the Rabbit Corneas Stimulates Epithelial Repair and Neovascularization

Hakan Sağsöz¹, Semih Altan², Zeki Oğurtan³

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Dicle University, Diyarbakir, Turkey

²Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, Dicle University, Diyarbakir, Turkey

³Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, Selçuk University, Konya, Turkey

As a remodeling of microvascular connections, angiogenesis is a normal process for growth, improvement and recovery of wounds. However, neovascularization is a pathological form of angiogenesis characterized by proliferation of blood vessels in abnormal localizations. Neovascularization in cornea, an avascular organ, is characterized by the growth of blood vessels originated from limbus toward cornea and by imbalances between angiogenic and antiangiogenic factors. The most important of angiogenic molecules is vascular endothelial growth factor and receptors (flt1/fms, flk1/KDR and flt4). Vascular endothelial growth inhibitor is a specific inhibitor

of angiogenesis. In the study, in the corneal damage remodeled after an experimental hydrofluoric acid burn, whether VEGI, VEGF and receptors expressions and topical drug treatments play a critical role in regulating corneal neovascularization was aimed to find out immunohistochemically. In the study, 72 mature male New Zealand rabbits were used. The rabbits were randomly separated into 4 different groups. Under general anesthesia, after a corneal burn was formed by hydrofluoric acid, drug treatments of indomethacin and DMSO were performed. The animals were euthanized on the 2nd, 7th and 14th days of the experiment and each cornea was fixed in 10% neutral formol solution. After routine laboratory process, they were embedded into paraffin. Paraffin blocks were cut of 5 µm thick. After the acid burn remodeling, from cornea epithelium, endothelium, stromal and inflammation cells, VEGI, VEGF and receptors (flk1/KDR, flt1/fms and flt4) were observed to be expressed with changing density. On the 2nd, 7th and 14th days of experiments, VEGF, flk1/KDR and flt1/fms were strongly expressed in epithelium, stromal and inflammation cells rather than corneal endothelium cells ($p < 0.05$). On the 7th day, it was observed that newly blood vessels were improving toward the center of cornea. In all groups, it was observed that VEGI, VEGF and receptors (flk1/KDR, flt1/fms and flt4) were expressed with changing density in blood vessels in neovascularized regions and that particularly in indomethacin and indomethacin-DMSO groups, on the 7th and 14th days of the experiments compared to the 2nd day and this condition was statistically significant ($p < 0.05$). In conclusion, in remodeling of corneal repair and neovascularization, endogenous VEGF and receptors were observed to be effective, whereas VEGI plays a critical role in the inhibition of pathological angiogenesis by supporting balance between proliferation and apoptosis in cells.

Keywords: angiogenic cytokine, cornea, burn, indomethasine

P237

Maternal Hipotiroidinin Prepubertal ve Pubertal Dönemlerde Yavru Rat Hipokampusünde MAP-2 İmmunreaktivitesi Üzerine Etkileri

Ayşegül Burçin Yıldırım¹, Saim Özdamar², Betül Yalçın², Mehmet Fatih Sönmez², Arzu Yay²

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kahramanmaraş

²Erciyes Üniversitesi, Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri

Tiroid hormonu santral sinir sistemi gelişiminde çok önemli rol oynamaktadır. Gebelikte annenin hipotiroidizmi hem insan hem de ratlarda beyin fonksiyonlarını bozmaktadır (1). Beyin gelişiminin kritik dönemlerinde tiroid hormonu yokluğu, hipomiyelinizasyon, hücre göçü ve çoğalmasında gecikme ve sinaps oluşumu bozukluğu gibi durumlara sebep olmaktadır (2). Mikrotübüle bağlı protein, MAP-2 hücre iskeletinin bir parçasıdır ve nöronal morfogenezde önemli bir rol oynar. Bu protein özellikle yetişkin beyinde, dendritik hücre iskeletinin temel bir bileşenidir (3). MAP-2, öğrenme ve hafıza olayları sırasında dendritlerin yapısal organizasyonundaki değişikliklerde oldukça önemli bir beyin proteindir (4). Hipotiroidizmde de öğrenme ve bellek gibi süreçlerin bozulduğu bilinmektedir (5). Hipokampusün hafıza, davranışların şekillenmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir (6). Bu çalışmada maternal hipotiroidinin yavru hipokampus gelişiminin erken ve geç dönemlerinde MAP-2 ekspresyonu değişiminin araştırılması amaçlanmıştır.

12 Wistar albino türü gebe sıçanlar E ve K (kontrol) grubu olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Hipotiroidi içme sularına propiltiourasil (PTU), %0.01 eklenerek oluşturuldu. E grubu sıçanlara gebelik süresince 21 gün PTU verildi. Kontrol grubuna ise sadece su verildi. Hipotiroidili ve kontrol grubu annelerden doğan erkek yavrular 15. ve 60. günlerde her grupta 7 adet olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deney süresi sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek beyin dokuları alındı. Beyin dokularının koronal kesitinde hipokampuste MAP-2 dağılımını ve yoğunluğunu değerlendirmek için MAP-2 immunohistokimyası yapıldı. MAP-2 ekspresyon yoğunluğu hipokampuste Imaje J programında ölçüldü. Veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Ayrıca Tunel yöntemiyle de nöronal hücre apoptozisi değerlendirildi.

15 ve 60 günlük deney ve kontrol grubu MAP-2 ekspresyonu hipokampus kesitlerinde ayrı ayrı değerlendirildi. Hem 15 günlük gruplar hem de 60 günlük gruplar arasında MAP-2 ekspresyonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü. Ayrıca dendritik uzantıların kontrol grubunda kesintisiz, hipotiroidi grubunda kesik kesik olması ile dendritik organizasyon bozukluğu olduğu tespit edildi. Nöronal hücre apoptozisine ise rastlanmadı. Elde edilen verilere göre maternal hipotiroidinin etkisiyle hipokampusteki nöronal sitoiskelet yapısında ve dendritik organizasyonundaki bozulma ile MAP-2 ekspresyonunda azalma olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Hipokampus, Hipotiroidi, MAP-2, Propiltiourasil

The Effects of Maternal Hypothyroidism on the Immunoreactivity of MAP-2 in Pup Rats' Hippocampus at the Prepubertal and Pubertal Periods

Ayşegül Burçin Yıldırım¹, Saim Özdamar², Betül Yalçın², Mehmet Fatih Sönmez², Arzu Yay²

¹Department of Histology-Embryology, Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Kahramanmaraş, Turkey

²Department of Histology-Embryology, Erciyes University, Kayseri, Turkey

Thyroid hormone plays a very important role in the development of the central nervous system. During pregnancy, maternal hypothyroidism impairs brain functions in both people and rats (1). In critical periods of brain development, thyroid hormone deficiency leads to situations such as hypomiyelinization, cell migration and delay in cell proliferation and disorder of formation synapses (2). Microtubule-associated protein is the part of the MAP-2 cytoskeleton and plays an important role in neuronal morphogenesis. This protein is an essential component of dendritic cytoskeleton particularly in adult brain (3). MAP-2 is quite an important brain protein in the changes of the structural organization of dendrites during the processes of learning and memory (4). Hypothyroidism also affects processes such as impairment of learning and memory (5). It is known that the hippocampus contributes to memory and behaviour shaping (6). In this study, it is aimed to investigate the effect of maternal hypothyroidism on changes in MAP-2 expression in pups'

hippocampus at early and late stages of development.

12 Wistar albino pregnant rats were divided into two groups, namely E and K (control) groups. Hypothyroidism was induced by adding %0.01 of propylthiouracil (PTU). Group E were given PTU for 21 days during pregnancy. Group K (control) were only given water. Male pups which were borne by mothers with hypothyroid and of control group were divided into 4 groups, including 7 in each group, at postnatal day (PND) 15 and 60. At the end of the experimental period, animals brain tissues were removed by decapitating. To determine of immunoreactivity intensity and distribution of MAP-2, immunohistochemical staining method was performed in the brain tissues. MAP-2 immunoreactivity intensity was measured in the hippocampus by Image J program. Data were statistically analyzed. In addition, the neuronal cell apoptosis was assessed by Tunel method. PND 15 pups, PND 60 pups and control groups of MAP-2 immunoreactivity intensity were assessed separately in the sections of the hippocampus. MAP-2 immunoreactivity intensity showed a statistically significant reduction in both PND 15 pups and PND 60 pups compared to the control group. Additionally, it was observed that dendritic processes were uninterrupted in control group, however they were intermittent in hypothyroid groups and there was dendritic organization disruption. Neuronal cell apoptosis was not seen. According to data, deterioration of structure of neuronal cytoskeleton and dendritic organization caused by maternal hypothyroidism may be associated with decreased MAP-2 immunoreactivity intensity.

Keywords: Hippocampus, Hypothyroidism, MAP-2, Propylthiouracil

Kaynakça / References: 1. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neurophysiological development of the children. *N. Eng J Med* 1999;341:549-55. 2. Zoeller, RT, Rovet, J. Timing of thyroid hormone action in the developing brain: clinical observations and experimental findings. *J. Neuroendocrinol.* 2004;16:809–818. 3. Hurtado AP, Rengifo AC, Torres-Fernández O. Immunohistochemical overexpression of MAP-2 in the cerebral cortex of rabies-infected mice. *Int. J. Morphol.* 2015; 33(2):465-470. 4. Woolf NJ. A structural basis for memory storage in mammals. *Progress in Neurobiology.* 1998; 55: 59-77. 5. Cortes C, Eugenin E, Aliaga E, et al. Hypothyroidism in the adult rat causes incremental changes in brain-derived neurotrophic factor, neuronal and astrocyte apoptosis, gliosis, and deterioration of postsynaptic density. *Thyroid* 2012;22:951-963. 6. Songur A, Ozen OA, Sarsılmaz M. Hippocampus. *J Med Sci.* 2001;21:427–31.

P238

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dallarında Yapılan Tezlerin Genel Profili

İlknur Keskin, Nejda Güneş Bedri, Tangül Müdok
Medipol Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

GİRİŞ: Lisansüstü eğitim araştırmaları, öğrencilerin derslerde öğrendikleri teorik bilgileri kullanarak bilime katkı sağlama, yeni bir bilimsel yöntem geliştirme veya bilinen bir yöntemi yeni bir çalışma alanı üzerine uygulama amacıyla yapılan tez çalışmaları ile sona ulaşır. Tez çalışmalarında konu genellikle tez danışmanının önerileriyle olabildiği gibi tez öğrencisinin ilgisi ve becerileri paralelinde de belirlenmektedir (2). Yüksek Lisans, Doktora ve Tıpta Uzmanlık tezleri, bir disiplinin gelişmesinde önemli rol oynarlar. Bir alanda yapılmış bilimsel tezlerin analiz edilmesi, o alanın derinliği ve yaygınlığı hakkında bilgiler verebilir, çalışılan konuların genel görünümünü ortaya çıkarabilir.

AMAÇ: Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dallarında yapılan Yüksek Lisans, Doktora ve Tıpta Uzmanlık tezlerinin genel profilini incelemektir. Bu çerçevede 2010-2016 yılları (son 5 yıl) arasında yapılmış ve YÖK tez veri tabanına geçmiş 418 tezin yıl, konu, yöntem, tezin fulltextine ulaşılabilirliği, yayına dönüşme durumu gibi özelliklerine göre genel profilleri ortaya kondu.

MATERYAL-METOD: Araştırmacının evrenini Türkiye’de HEAD ile ilgili olan tüm Lisansüstü, Doktora ve TU tezleri oluşturmaktadır. Araştırmada, 2010-2016 yılları arasında üniversitelerin Tıp veya Veterinerlik Fakülteleri’ndeki Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dallarında yapılan ve YÖK Tez veritabanına geçmiş tüm tezlere ulaşılmaya çalışıldı.

Söz konusu tezlere, <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tarama.jsp> adresinde “gelişmiş arama” alt başlığında anabilim dalı olarak Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ve yıl olarak 2010-2015 işaretlenerek tez türü sırayla Yüksek Lisans, Doktora ve Tıpta Uzmanlık seçenekleri işaretlenerek ulaşıldı. Çalışmada YÖK Tez Merkezine ulaşmamış, özellikle son yıllarda tamamlanmış tezlere ulaşamadı. Ulaşılan tezler tek tek gözden geçirilerek yayınlanma yıllarına göre sıralandı. Daha sonra konu, çalışma materyali, yapıldığı üniversite, ortak çalışılan diğer bilim dalları, kullanılan yöntemler, tezlerin veri tabanında ulaşılabilirliği ve tezlerin bir dergide yayınlanma durumu gibi tez değişkenleri ayrı ayrı incelendi.

SONUÇ: HEAD’nın farklı alanların etkileşimine açık multidisipliner bir bilim dalı olduğu gözlemlendi. Tezlerin veri tabanına yüklendikten sonraki 2-3 yıl full pdf’lerine ulaşımın yazar tarafından kısıtlandığı gözlemlendi. HEAD’da yapılan tezlerde insan veya deney hayvanlarından alınan doku parçaları ya da hücre kültürü gibi alternatif yöntemler kullanılmaktadır. Özellikle YL tezlerinin üreme konusu üzerine toplanması dikkat çekicidir. Doktora ve Tıpta Uzmanlık tezlerinde ise, üreme konulu tezlerin ilk sıralarda yer aldığı gözlemlendi. HEAD’da yapılan tezlerin makaleye dönüştürülüp ulusal veya uluslararası bir dergide yayınlanması kriterini değerlendirmek için uluslararası ve ulusal veri tabanlarından yazar adı ve tezin Türkçe/İngilizce ismi ile tarama yapıldı. Bu tarama sonucunda YL, Doktora ve TU tezlerinin her üçünde de yayın oranının oldukça düşük olduğu gözlemlendi (5 yılda Toplam %15).

Elde edilen sonuçlar en çok çalışılan konunun üreme olduğunu ve HEAD yapılan tezlerin yayına dönüşme amacı taşımadan yapıldığını gözler önüne serdi.

Anahtar Kelimeler: Histoloji ve embriyoloji, tezler, Yüksek Lisans, Doktora, Tıpta Uzmanlık

General View to Thesis of Histology and Embryology Department

İlknur Keskin, Nejda Güneş Bedri, Tangül Müdok
Department of Histology and Embryology, Medipol University, Istanbul, Turkey

Graduate research comes to an end by thesis studies aiming to contribute to science by using theoretical knowledge gained in the lectures, to develop a new scientific method, and to apply an existing method to a novel study field. Subject of the thesis can be determined by either the thesis advisor’s suggestions or the student’s interests and skills. Master’s, Doctorate and Medicine Specialty thesis have important roles in progression of a discipline. Analysis of scientific thesis of a specific field, gives information about the profundity and prevalence of that field and can also reveal a general view of the subjects of interest within that field.

To examine the general profile of the thesis written in Histology and Embryology Departments

(HED) in this framework 418 thesis, prepared between the years 2010-2016 (last 5 years) and included in the YOK's database, were analyzed in terms of their subjects, methods, years, availability of their full-text and their publication status.

The universe of this investigation consists of all thesis written within HED, in Turkey. In this investigation, effort was taken to reach all of the thesis written in the HED of the Medicine or Veterinary Faculties at the universities. Relevant thesis were reached through the <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tarama.jsp> web page, using the "advanced search" sub-title, identifying HED and the years 2010-2016 and the thesis type as Master's, Doctorate and Specialty in Medicine in sequence. The thesis were put into an order according to their publication years before their review. Next, thesis variables like subject, study materials, university at which the study was performed, collaborated departments, methods used, availability of the thesis in the database and their publication status in scientific journals were investigated separately.

It was observed that HEAD is multidisciplinary science field exposed to interactions of different fields and availability of full-texts of the thesis are restricted by the authors for 2-3 years after they are uploaded to database. Alternative methods like tissue samples and cultures of cells taken from humans or experimental animals are used in the thesis in HEAD. It is especially remarkable that not only majority of the Master's thesis are on reproduction but also in the majority in Doctorate and Medicine Specialty thesis. It was also noted that the publication rates of thesis were quite low. The results show that the subject that is mostly studied in HEAD is the reproduction/fertility without an aim of publishing the thesis.

Keywords: Histology and embryology, theses, Master's, Doctorate, Specialty in Medicine

Kaynakça / References: 1. (<http://www.sb.gov.tr/TR/belge/1-2867/uremeye-yardimci-tedavi-yontemleri-konusunda-egitim-ver-.html>. Ulaşma Tarihi: 07.02.2015) 2. Necati AĞIRALIOĞLU. Türkiye'de Lisansüstü Öğretim DOI: 10.5961/jhes.2013.05 3. Tatık, R. Ş. & Doğan, S. (2014). Marmara Üniversitesi Eğitim Yönetimi ve Denetimi Alanındaki Yüksek Lisans Tezlerinin İncelenmesi. The Journal of Academic Social Science Studies. Sayı 25. Cilt 1 sf 399-410 4. SEVİNÇ, B. (2001). Türkiye'de lisansüstü eğitim uygulamaları, sorunlar ve öneriler. Ankara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Fakültesi Dergisi. Cilt:34, Sayı:1-2, s.125-137. 5. BAKİOĞLU, A. ve GÜRDAL, A. (2001). Lisansüstü tezlerde danışman ve öğrencilerin rol algıları: yönetim için göstergeler. Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi. Sayı:21, s.9-18. 6. BENLİGİRAY, S. (2009). Türkiye'de insan kaynakları yönetimi alanında yapılan lisansüstü tezler ve bu tezlerde incelenen temaların analizi: 1983-2008 dönemi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi İİBF Dergisi. Cilt:4, Sayı:1, s.167-197. 7. GÜVEN, İ. ve TUNÇ, B. (2007). Lisansüstü öğretim öğrencilerinin akademik sorunları: Ankara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü örneği. Milli Eğitim Dergisi. Sayı:173, Kış 2007, s.157-172. 8. GÜVEN, İ. ve TUNÇ, B. (2007). Lisansüstü öğretim öğrencilerinin akademik sorunları: Ankara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü örneği. Milli Eğitim Dergisi. Sayı:173, Kış 2007, s.157-172.

P239

Kolon, Meme ve Prostat Kanseri Hücre Hatlarında Ökse Otu Ekstraktının Terapötik Etkisi

Fulya Gülbağça, Dila Hatun Sal, Suna Karadeniz Saygılı, Pınar Sönmez Kılıçaslan, Işıl Aydemir, Mahmut Özkut, Mehmet İbrahim Tuğlu
Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Manisa

Prostat kanseri erkekte en çok gözlenen kanser tipi iken meme kanseri kadınlarda 1. sıradadır. Kadınlar çeşitli tiplerde meme kanseri ile teşhis edilmeyi beklemektedir ve çeşitli derecelerde terapötik cevaplar vermektedir. Bu nedenle meme ve ayrıca prostat kanserinde erken teşhis çok önemlidir. Kolon kanseri dünya genelinde en çok gözlemlenen kanserlerden biridir. Ökse otu ekstraktının antioksidan etkiye sahiptir ve birçok hastalık için alternatif tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmamızda meme kanseri hücre hattı olan MCF-7, MDA-MB-231, kolon kanseri hücre hattı COLO320 ve prostat kanseri hücre hattı DU-145'te Ökse otu ekstraktının terapötik etkisinin MTT, immünohistokimya ve TUNEL assay kullanılarak incelenmesi hedeflenmiştir. Meme, kolon ve prostat kanseri hücre hatları 96 gözlü plate'ye ekilmiş ve farklı dilüsyonlarda Ökse otu ekstraktı (0 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml, 1000 µg/ml) uygulanmıştır. Ekstraktın IC50 dozunun belirlenmesi için MTT assay yapılmıştır. İmmünohistokimya ve TUNEL assay için ise kanser hücrelerine IC50 dozu uygulanmıştır. Hücreler oksidatif stres marker'i eNOS ve iNOS antikoru ile ve TUNEL kiti ile boyanmıştır. H-skor sonuçları tek yönlü ANOVA testi ile istatistiksel olarak hesaplanmış ve apoptotik indeks % olarak hesaplanmıştır. Ökse otu ekstraktı uygulamasının oksidatif stres marker'i eNOS ve iNOS'u, ayrıca apoptotik hücre miktarını yükselttiği bulunmuştur. Ökse otu ekstraktı meme, kolon ve prostat kanseri hücre hatları üzerine etki etmiş ve oksidatif stres parametreleri ile apoptozisi tetiklemiştir. Ökse otu ekstraktı uygulaması kanser tedavisinde alternatif terapi olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Ökse otu ekstrakt, MDA-MB-231, COLO320, DU-145, oksidatif stres, apoptozis.

Therapeutic Effects Of Mistletoe Extract On Colon, Breast And Prostate Cancer Cell Lines

Fulya Gülbağça, Dila Hatun Sal, Suna Karadeniz Saygılı, Pınar Sönmez Kılıçaslan, Işıl Aydemir, Mahmut Özkut, Mehmet İbrahim Tuğlu
Faculty of Medicine, Department of Histology & Embryology, Celal Bayar University, Manisa, Turkey

Prostate cancer is the most common cancer in men where as breast cancer is the first in women. Women are expected to be diagnosed with various types of breast cancer, exhibiting varying degrees of therapeutic response rates so Early diagnosis is important in breast and also prostate cancer. Colon cancer is the most common cancer worldwide. Mistletoe extract has an antioxidant effect is used as an alternative treatment for many diseases. In our study we aimed to determine the therapeutic effect of Mistletoe extract on breast cancer cell lines MCF-7 and MDA-MB-231, colon cancer cell line COLO320 and prostate cancer cell line DU-145 using MTT, immunocytochemistry and TUNEL assay. Breast, colon and prostate cancer cell lines were seeded in 96-well plate and different dilutions of Mistletoe extract (0 µg/ml, 10 µg/ml, 100 µg/ml, 1000 µg/ml) were applied. MTT assay was performed to detect IC50 dose of extract. For immunocytochemistry and TUNEL assays, IC50 dose was administered to the cancer cells. Cells were stained with oxidative stress markers eNOS and iNOS antibodies and TUNEL kit. H-score results were analyzed using One-Way ANOVA test statistically and apoptotic index was calculated as % percentage. It was indicated that application of Mistletoe extract was increased the oxidative stress markers eNOS and iNOS and also number of apoptotic cell was rised. Mistletoe extract effected the breast, colon and prostate cancer cell line and triggered the apoptosis via oxidative stress parameters. It is supposed that the use of Mistletoe extract may be cured as an alternative therapy in cancer treatments.

Keywords: Mistletoe extract, MDA-MB-231, COLO320, DU-145, oxidative stress, apoptosis.

P240

Histoloji pratiğinde dijital dönem

Hakan Darıcı, Selin Ursavaş, Aysel Güven Bağla

Sanko Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

Teknolojinin ilerlemesi, bilimin tüm bilim alanlarında olduğu gibi histolojik analiz yöntemlerinde de pek çok yenilik getirmiştir. Yeni teknolojiler bizlere gerek canlı gerekse cansız materyalde, çok daha yüksek çözünürlüklü ve gerçek zamanlı inceleme olanakları sunmaktadır. Gelişen hücre analiz yöntemlerine rağmen histoloji pratiği, temel bilimlerdeki önemini korumaktadır. Diğer yandan, yeni teknolojilere adaptasyon hızı akademisyenlere oranla daha yüksek olan öğrenciler, ders çalışırken ses ve video kaydından, sosyal paylaşımına kadar günlük kullandığımız her tür teknolojiden faydalanmaktadır.

Son on yılda, dijital fotoğrafçılığın ucuzlaması sayesinde öğrenciler, laboratuvar derslerinde daha sonra incelemek üzere mikroskopun okülerinden resim çekmeye başlamıştır. Kameralı ve dokunmatik telefonların da yaygınlaşmasıyla çekilen fotoğraflar derste grup arkadaşları ile tartışılabilir, sosyal medya sayesinde de tüm sınıfa kolayca yayılabilir hale gelmiştir. Ancak öğrencilerin çektikleri bu fotoğraflar her zaman doğru bilgileri göstermemekte, üzerine öğrenciler tarafından alınan notlar da yanlış olabilmektedir. Bu tip hatalar da sınıf içinde kolayca yayılıp, tüm sınıfın yanlış bilgi edinmesine yol açabilmektedir.

Slayt tarama (Slide scanner) cihazları, histolojik bir preparatı baştan sona 20'lik veya 40'lik objektifle fotoğraflayarak tüm çekilen fotoğrafları tek bir resimde birleştirebilen cihazlardır. Yüzlerce ayrı fotoğrafın bileşimi olan bu dosyaların çözünürlükleri ve boyutları HD kalitede bir fotoğrafın 1000 katı kadar (5-6 GB) olabilmektedir. Bilgisayarlarda saklanan bu fotoğraflar, 4'lük objektifte incelenir gibi genel hatlarıyla hızlıca görüntülenebileceği gibi, herhangi bir bölgede anında 400X'e kadar yakınlaştırma da yapılabilmektedir. Slayt tarama cihazları, rutin çalışan patoloji laboratuvarları için tasarlanmış olmasına rağmen, araştırma ve eğitim amaçlı da kullanılabilir.

Türkiye'de ilk kez üniversitemizde, 2014 yılında kullanıma başlanan Dijital Histoloji Laboratuvarı'nda (Dijilab), öğrenciler dijital olarak geliştirilmiş yüksek çözünürlükte fotoğraflar ile histoloji ve patoloji pratiği yapma imkanına sahip olmuştur. Ders işleyişi sırasında, en kaliteli preparatlardan hazırlanmış görüntüler, öncelikle öğrencilere eğitim tarafından anlatılmakta, ardından her öğrenci kendi bilgisayarında preparatları hem küçük büyütmede hem de dilediği alanı büyütüp inceleyebilmektedir. Geliştirdiğimiz eğitim sistemi öğrencilerin mikroskop kullanımı ve görüntü bulmayı öğrenmeleri için klasik mikroskopi dersleri ile de desteklenmektedir.

Daha önceki deneyimlerimiz göz önüne alındığında, öğrencilerin Dijilab'daki öğrenme hızları ile preparatlardaki küçük ayrıntıları fark etme oranlarının, klasik histoloji laboratuvarında işlenen derslere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca, hatalı bilgi paylaşım oranları da azalmış, konular daha kısa sürede öğrenilebilir hale gelmiştir. Yöntemin bir diğer avantajı da preparatlar arası kalite farkını ortadan kaldırarak her öğrencinin en iyi preparatlara aynı anda erişebilmesine, dolayısıyla eğitimin öğrencilere eşit olarak verilmesine olanak sağlamasıdır. Deneyimlerimiz doğrultusunda, geliştirdiğimiz, klasik histoloji pratiğini de içeren dijital ağırlıklı bileşik eğitim sisteminin, histoloji laboratuvarlarını teknoloji çağına ve gelişen teknolojiler ile büyümüş yeni nesil öğrencilere daha uyumlu hale getireceği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Histoloji, laboratuvar, pratik, mikroskop, öğrenci

Digital age of histology practice

Hakan Darıcı, Selin Ursavaş, Aysel Güven Bağla

Department of Histology & Embryology, School of Medicine, Sanko University, Gaziantep, Turkey

Technological advances brought many innovations to the histological analyze methods as it happened all other scientific fields. This new technologies allowed us to observe either fixed or alive tissues with much higher resolution or on real-time. Despite developing cellular analyze methods, histological practice still carries its importance. On the other hand, students, with their adaptation abilities to the new technologies, which is faster than many academics, use every aspect of daily technology from voice and video recording to social media sharing.

Along with decreased cost of digital photography, students started to take pictures through ocular of microscopes to evaluate later. With the spreading of smartphones with touchscreens and high-resolution cameras, these taken pictures became easily sharable. However, these photographs doesn't always demonstrate the right information and may carry mistakes with them. These mistakes can also easily spread among other students which may cause to misinform all classmates.

Slide scanner devices can photograph an entire histological slide with 20X and 40X objectives and combine all these photographs in one big picture. These files, composed of hundreds of separate photos can be as big as a thousand times of an HD photograph in resolution and size (up to 5-6 GB). These photographs can be stored on computers, superficially evaluated like it is made on 4X objective or can be zoomed up to 400 times on any area, any time. Even though these devices designed for high-throughput pathology laboratories, they can be used on either research or education.

In 2014, our students had the opportunity to try practical histology courses with digitally developed high resolution photographs, for the first time in Turkey, in our Digital Histology Laboratory (Digilab). During the course period, slides were introduced to the students before they have their own time to evaluate best slides, starting from lowest magnification to the tiniest detail. This course system is also supported with classical histology laboratories which allows them to observe and learn through real microscopes.

Considering our previous experiences, we found that the learning curve were shorter and detection rate of details were higher in Digilab, when compared to conventional histology laboratory. This method was also decreased the misinformation and eliminated differences between different quality slides within the class which created an equal learning environment. We believe that our combined system will increase the compatibility of histology practices to the technology age and the new generation raised with these technologies.

Keywords: Histology, laboratory, practice, microscope, student

YAZAR İNDEKSİ

AUTHOR INDEX

Abban Mete Gülçin
S15
P129

Acar Muradiye
P156

Acar Nuray
S03
S27
P033
P049
P069
P143
P190

Acikel Elmas Merve
P184

Açıköz Eda
S21
S23
P111
P142
P150
P155
P183

Adalı Yasemin
P026
P161

Adıgüzel Dileyra
S03
P080

Adıgüzel Esat
P159
P163

Aerts Kaya Fatima
S14
S20

Afshani Masoud
P007

Aguş Sami
S06

Ak Esin
P020

Akakın Akın
P027

Akakın Dilek
P027

Akar Soycan İrem
S22

Akaras Nurhan
P195
P196
P198

**Akarca Dizakar
Saadet Özen**
P174

**Akbalık Mehmet
Erdem**
P093

Akca Başak
P209

Akdemir Övünç
P235

Akgöz Selen
P087

Akgün Celal
P190

Akinoglu Eser Metin
S24

Akkaya Nur Pakize
P095

**Akkaya Özlem
Özden**
P043
P072

Akkoyunlu Gökhan
P061
P099
P103

Akova Murat
P035

**Aksak Karamişe
Selina**
P169
P216
P217
P222

**Aksanyar Salih
Kahya**
P212

Aksöz Merve
S12
S18
S25
P011

Aksu Kübra
P190

Aktaş Cevat
P005
P014
P074

Aktuğ Hüseyin
S21
S23
P083
P111
P150
P155
P183

Aktuna Süleyman
P075

Alabay Belma
P214

Aladağ İbrahim
S26

Alan Emel
P015
P039
P098

Albayrak Esra
S12
P011
P118

Albayrak Mevlüt
P216
P217

Alev Burcin
P020

Alpat Servet Elçin
P178

Altan Semih
P236

Altınöz Eyyüp
P010

Altun Seyhan
P137

Altunbaş Korhan
P043
P072
P131
P213

Altunci Yusuf Ali
P234

Alturfan Ebru
P020

Anıl Damla
P027

Ankay Yilbas Aysun
P209

Arbak Serap P184	Atalay Arzu S17	Aydemir Işıl S11 P120 P122 P123 P157 P239	Bahador Elham P209
Arbatlı Semih S18 S25	Atalay Dumlu Fadime P216 P217		Bahar Leyla P073 P204
Arı Şeymus P002	Atay Seda P008	Aydemir Işıl P114	Bahçeci Selen S26
Arıkan Şevket P032	Ateş Utku S10 S29	Aydın Ayşegül Güngör P159	Baka Meral S10 P030
Arslan Ahmet Hamdi P200	Atilay Hilal P195 P196 P198	Aydın Gözde S20	Bakacak Murat P096
Arslan Şevki P142		Aydın Mehmet Şerif P166 P177	Baki Acar Duygu P106
Aşır Fırat P002	Atilla Pergin P107	Aydın Muhterem P225	Bakırcıoğlu Emre P080
Aslan Ali P022	Atış Gökhan P036	Ayhan Sıdika P177	Bal Ahmet P182
Aslan Emrah P211	Atmaca Ali Fuat P070	Ayık Şule P140	Bal Tuğba P195 P196 P198
Aslan Esra P043 P156 P076 P182 P223	Atmaca Pelin P142	Aykanat Hasibe P079	Balcı Serdar P140
Aslan Galip Servet S12 S18 S25	Attaallah Wafi P184	Ayla Şule P081 P230	Balcıoğlu Esra P218 P219
	Avcı Berkant S27	Aytaç Ersin P115	Ballı Ebru P021
Aslan Melisa P097	Avcı Berrin P104 P109 P110	Aytürk Nilüfer P165	Banerjee Sreeparna P220
Ata Barış P109 P110	Avcı Sema S27 P049 P143	Badakul Gamze P080	Barış Veysel P181
Atabenli Erdemli Esra P106	Ayas Bülent P105	Bağrıyanık H Alper P125	Baş Orhan P022

Başağa Hüveyda
P136

Bayram Sinasi
P067

Birsen İlkur
P033

Çakır Cihan
P028

Başak Türkmen Neşe
P225
P227
P228

Bayramlı Erdal
P134

Boyacı Mehmet Gazi
P223

Can Alp
P135

Basdemir Gulcin
P184

Baysal Işıl
P204

Bozdemir Dönmez Yeliz
P005
P014
P074

Can Belgin
P178

Başlar Zafer
P127
P128

Bedri Nejda Güneş
P238

Bozkurt Yeşim Akaydın
P048

Can Betül
P173

Baştan Ayhan
P106

Beksaç M. Sinan
P107

Bugan İlkur
P137

Can İsmail
P216
P222

Baştuğ Osman
P012

Bektur Ezgi
P130

Bulut Gülay
P045

Can İsmail
P169
P217

Bayat Nuray
P194
P197
P199
P201
P205

Bektur Ezgi Nuriye
S28
P186

Bulut Huri
P233

Can Özge
P184

Bayçu Cengiz
S28
P130
P186
P202

Belce Ahmet
P184

Burcu Busra
P203

Can Serpil
P169

Bayındır Nihan
P233

Beyaz Feyzullah
P006
P041
P066
P098

Burukoğlu Dönmez Dilek
S28
P130
P202

Can Şahin Tuğba
P202

Bayrak Fatma Zehra
P079

Bilgic Elif
S07

Büyükakıllı Belgin
P021

Canbaz Halime Tuba
P192

Bayraktar İlkur
P068

Bilgiç Elif
S01

Buyukakkus Berkem
P209

Canikyan Serli
P011
P118

Bayraktaroğlu Alev Gürol
P032
P132

Billur Deniz
P007

Buzcu Hülya
P215

Cantürk Fazile
P054

Bayram Pınar
P007

Binboğa Erdal
P235

Çakar A. Nur
P107

Çaşkurlu Turhan
P036

Biray Avcı Çığır
P117

Çakır Bekir
P140

Çavdar Zahide
P060

Birinci Hülya
P176
P197

Çavuşoğlu Türker
S10
S29
P026

P117 P161 P234 P235	Çenetoğlu Seyhan P001	Cevher İnci S22	Çilenk Kübra Tuğçe P055
Çaylı Sevil S04 S19 P070 P140	Çerkez Cem P178	Ceyhan Müşerref Şeyma P220	Çınar Bahar P096
Celbiş Osman P228	Cerkezkayabekir Aysegul P067	Ceylan Ahmet P006 P132 P214	Çınar Bilge Piri S29
Çelebi Simge P089	Çetin Emel Öykü P161 P234 P235	Çiçek Ahmet Çağatay P065 P232	Çınar Özgür P135
Çelebi Saltık Betül S22	Çetin Meltem P158	ÇİÇEK Ahmet Çağatay P193	Çolakoğlu Neriman P019 P078
Çelebiler Aydan P083	Çetin Nebi P062	Cici Mansur P146	Çölçimen Neşe P045
Çelen Kaan P122	Cetinel Sule P020	Cici Mansur P151	Çonkur Erdinç Şahin P159
Çelik Ahmet P194	Cetiner Banu P184	Çiftçi Osman P225 P227 P228	Çoruh Atilla P113
Çelik Dolay Damla S12 P011	Cetinkaya Mehmet Alper P035	Çiftçi Dede Eda P133	Coskun Abdurrahman P184
Çelik Latife Seyran P084	Çetinkaya Ayşe S15	Çiftçi Dede Eda P133	Cüce Gökhan P168 P191 P192
Çelik Soner P099	Çetinkaya Büşra S31	Çiftçioğlu Akif P143	Cumbul Alev S16 S25 P215
Çelik Sefa P156	Çetinkaya Mehmet Alper P133	Çiğerci İbrahim Hakkı P191	Dabak Durrin Ozlem P019
Celik Ozenci Ciler P064	Çetinkaya Seda P108 P172 P191 P192	Çikler Dülger Esra P075 P226	Dağ İlknur P092 P231
Çelik Özenci Çiler S03 P080 P099 P148	Çetintaş Vildan Bozok S23	Çil Nazlı S15 P129	Dağbaşı Nükhet P027

Dağlıoğlu Kenan
P084

Dalkılıç Nizamettin
P172

Dalman Büşra
P074

Darıcı Hakan
P240

Dede Toprak Ümray
P040

Delibaşı Tuncay
S04

Deligönül Erkan
P057

Demir Kenan
S23
P155
P183

Demir Mustafa Tuğrul
P035

Demir Necdet
S06
P025
P071
P138
P207

Demiratan Aslı
P088

Demircan Turan
P165

Demirci Sibel
P184

Demirel Ayşe Mürşide
P106

Demirel Hasan Hüseyin
P043
P076
P191

Demirel Haydar Ali
P174

Demirkan Arda
P210

Demiroğlu Murat
P018

Demirtaş Selim
P017
P065
P232

Demirtaş Tuğçe
P187

Dikmen Miriş
P153

Dilmaç Sayra
P025
P138
P146
P148
P151

Diniz Unlu Gulden
P139

Dioguardi Carola Conca
S09

Doğan Göksel
P044

Doğan Mustafa
P228

Doğan Sibel
P180
Doğancı Suat
S01

Döğer Remziye
S12
S18
S25
P118

Dündar Yenilmez Ebru
P059

Durmuş Elif
P038

Dursunoğlu Duygu
P008
P079

Duygu Çapar Gonca
P200

Düzağaç Fahriye
S21
P183

Düzağaç Fahriye
P155

Düzyol Esra
P216

Düzyol Mustafa
P216
P217

Edizer İmren
P069

Ekerbiçer Nuran
P009

Ekim Burcu
P106

Ekiz Yılmaz Tuğba
P013
P086

Ekizceli Gulcin
P023

Ekmekçioğlu Esra Nur
P166

Elmas Çiğdem
P001
P088
P089
P095
P164
P174
P206

Elmas Çiğdem
P034

Enayat Shabnam
P220

Engür Selin
P153

Eralp Ayhan
P201

Eras Emin Burak
P079

Erbaş Deniz
P174

Erbaş Oytun
S29
P026
P224

Erbil Güven
P060

Erboğa Mustafa
P005
P014
P018
P036
P074

Ercan Ertuğrul
P003

Ercan Feriha
P027

Ercan Gülinnaz
P119

Ergeç Özlem Ergül
P045

Ersoy Nevin
P125

EYİĞÖR Özhan
S02

Erdal Ş Esra
P125

Ergün Emel
P006
P032
P041
P066

Ersoy Onur
P067

Fadıllıoğlu Ersin
P181

Erdem Ayşen
P181

Ergün Levent
P006
P041
P066

**Ersoy Çanilloğlu
Yasemin**
P082
P097

Fidan Esra
P189

Erdem Seda
P063

Erhan Füsün
P006
P041

Ertekin Tolga
P141
P152

**Fidanol Erboğa
Zeynep**
P005
P014
P036
P074

Erdem Yunus
P035

Erimşah Sevilay
P077
P189

**Ertosun Mustafa
Gökhan**
P138

Findik Orhan
P175

Erdemgil Yigit
P184

Erdemli Esra
S17

Erin Nuray
P138
P146
P148
P151

Ertuğrul Fatma
P190

**Findık Güvendi
Gülname**
P169

Erdoğan Aslı
S13
P180

Esen Elif
P079

Findıkçioğlu Kemal
P164

Erdoğan Deniz
P087
P088
P089
P206

Erişgin Züleyha
P004
P051
P052
P053

Eşki Funda
P062

Fırat Tülin
P077

Erdoğan Ender
P166

**Erkanlı Şentürk
Gözde**
P097

Esmaelian Yashar
S17

**Furat Rençber
Selenay**
P175
P187
P229

Erdoğan Esra
P171

Eroğlu Hakan
P134

Esrefoğlu Mukaddes
P233

Eşrefoğlu Mukaddes
P177

Gedikli Esra
P181

**Erdoğan Mehmet
Mustafa**
P010

Erol Hüseyin Serkan
P022
P222

Evirgen Oya
P210
P211

Genç Abdurrahman
P223

Erdost Hatice
P091

Erşanlı Selim
P229

Eyerci Nilnur
S04

Genç Seyhan
S12
P118

Eren Erdem
S26

Ersel Murat
P161
P234

Eyigör Özhan
P023
P024
P028
P029

Gevrek Fikret
P188
Giersig Michael
S24

Göç Rasgele Pınar
P016

Gül Cemile Ceren
P205

Güenal Yalçın
P230

Gürel Çevik
P150

Göç Rastgele Pınar
P189

Gül Mehmet
P037
P073
P204
P205
P212

Günalp Müge
P210

Gürgör Pınar Naile
P153

Gök Özlem
P230

Gündoğdu Cemal
P216
P217

Gürgül Serkan
P021

**GÖK YURTSEVEN
Duygu**
S02

Gül Mustafa
P169

Gündüz Cumhur
P117

Gürler Serdar
P210

**Gök Yurtseven
Duygu**
P024

Gül Semir
P010
P212

Güner İbrahim
P013

Gürses Kadri Murat
S01

Gökalp Sevtap
P144
P149

Gülbağça Fulya
S11
P114
P120
P122
P123
P239

Güney Kırdar
P001

Güven Eray
P051

Göker Bağca Bakiye
P117

**Güney Saruhan
Berna**
P093

Güven Gökhan
P229

Gökhan Aylin
P235

Gülbaş Zafer
P118

Güngör Esin
P038

Güven Ümmü
S21
P145
P155
P183

Göksu Asiye Kübra
P025

Güler Feride
P079

Güngör Tuna
P111

Güven Bağla Aysel
P003
P240

Göktaş Güleser
P034
P174
P206

Gülsari Yusuf
P182

Güngör Zeynep Banu
P086

Güzel Elif
P013

Göktaş Tayfun
P034

**Gültan Serdar
Mehmet**
P211

**Güngör Aydın
Ayşegül**
P163

Güzel Emine Elif
P086

Göktürk Hilal
S19
P178

Gültekin Alper
P229

**Gungor Ordueri
Nazlı Ece**
P064

Güzel Mahmut
P056

Gonca Süheyla
P077

Gültekin Burcu
P108
P172

**Güngör Özdemir
Yasemin**
P160

Güzel Meydanlı Elif
P200
P229

Gönül Yücel
P223
Guengoer Tuena
S10

Gümürdülü Derya
P101

Gür Ersin
P119

Hancı Hatice
P022

Güenal Ömer
P184

Gürel Ahmet
P074

Hanoğlu Azmi
P154

Hasanoğlu Nursel P068	Inan Sevinç P147 P157	Kaleli Semih P127 P128	Karabay Yavaşoğlu Nefise Ülkü P224
Hashemihesar Ramin P185	İnan Sevinç S21 S24 P009	Kalkan Serpil P168 P191 P192	Karabey Fatih P234
Hayırlı Emine Nazlı P210 P211	Inkaya Ahmet Çağkan P035	Kambur Merve P189	Karaboğa İhsan P017
Haynes Monique S09	Ipekci Hazal P020	Kamburoğlu Haldun P185	Karabulut Derya P085
Hayran Kadir Mutlu P035	Iraz Mustafa P177	Kanbur Merve P016	Karabulut Bulan Ömür P137
Hekimoğlu E. Rümeyza P107	Işık Yakup P119	Kanca Halit P106	Karaca Çiğdem P176 P194
Hidişoğlu Enis P071	Işıldar Başak P128	Kanıt Lütfiye P009	Karaca Turan P017 P065 P067
Hoffman Gloria S09	Işıldar Başak P127	Kankılıç Berna P134	KARACA Turan P193
Hürdağ Canan P075 P082 P226	İşitez Nilay P191	Kanter Mehmet P005 P014 P018 P036 P203	Karaca Turan P232
İçkin Gülen Meltem P003	İzgüt Uysal V. Nimet P033	Kaplanoğlu Gülnur Take P089 P095	Karaca Zafer İsmail P188
İlgaz Celal P087 P088	Johnson Joshua S09	Kaplanoğlu İskender P088 P089	Karagenç Levent S21 P031 P044 P116
İlgaz Yasin P171	Kabadayı Hilal P119	Kabu Mustafa P072	Karahan Feride P225
İlhan Tuncay P091	Kacar Sedat P173	Kara Adem P221	Karahüseyinoğlu Serçin P160
İlter Gizem P016	Kahraman Münevver S27	Kara Mikail P063	Karaismailoğlu Eda S07
Inan Sevinc P139		Karabacak Rukiye P203	

Karakas Bahriye
P136

Kaya Haydar
P022

P230
P238

Kılıncı Leyla
P069
P077

Karameşe Murat
P222

Kaya Kürşat
P227

Keskin Mustafa
P167

Kipmen Korgun Dijle
S31

Karaoğlan Özdem
P101

Kayabölen Alişan
P131

Kesriklioğlu Ahmet Emre
P079

Kıran Hakan
P096

Karaosmanoğlu Beren
S14

Kayahan Başak
P037
P073

Kibria A.s.m. Golam
P131

Kiray Müge
P125

Karataş Ömer Faruk
P070

Kaygısız Bilgin
S28

Kılıç Elif
P233

Kırılmaz Bahadır
P003

Karavelioğlu Afra
P182

Kayış Saliha
P079

Kılıç Emine
S22

Kırmızıkan Seda
P105

Karbak Akarca Funda
P234

Kaymak Emin
P012
P056
P090
P152

Kılıç Kubilay Doğan
S10
S29
P026
P150
P155
P161

Kızıl Şule
P007
P178

Karlıtepe Ayfer
P119

Kaymaz Fevziye Figen
P035

Kılıç Mehmet
P140

Kızılay Gulnur
P067

Kasapoğlu Işıl
P109
P110

Kekeçoğlu Meral
P016
P189

Kılıç Ülkan
P230

Koç Ahmet
P048

Kaska Yakup
P040

Keleş Zelal
P174

Kılıçaslan Pınar Sönmez
P239

Kocaaslan Ramazan
P169

Katırcı Ertan
S31
P047

Kendirci Remziye
P115

Kılıçaslan Sönmez Pınar
P114

Kocabaş Fatih
S12
S18
S25
P011
P118
P121

Kavas Ayşegül
P131

Kendirci Remziye
P154

Kılıçaslan Sönmez Pınar
S24
P120
P123
P157

Koçak Seda
P013

Kavram Kübra
P175
P187

Kerimoğlu Gökçen
P022

Kaya Burak
P211

Kerman Bilal Ersen
P126

Kaya Erkan
S01

Keskin İlknur
P081
P165
P167

Kılıncı İbrahim
P168

Kocaman Nevin
P019

**Koçman Atacan
Emre**
P231

Korkusuz Feza
P133
P134

Kunter İmge
P125

Mamadov Emil
P115

Koçyiğit Abdurrahim
P177

Korkusuz Petek
S01
S07
S14
P133
P185

Kurt Asli Giray
P136

Martbaş Şemsettin
P199

Koçyiğit Duygu
S01

Kurt Şeyma
P052

Mcgrath James
S05

**Köksal İbrahim
Türker**
P143

Köroğlu Kutay
P230

Kurtman Cengiz
S24

Meral Ayfer
P234

Köksal Yasin
S19

Köroğlu Pınar
P137

Kurtoğlu Elçin
P037
P073

Meriç Neslihan
P118

Kolbaşı Bircan
P230

Korucu Berfu
P035

Kürüm Aytül
P032

Mert Başak
P082

Kömür Mustafa
P021

Köse Mehmet
P012

Kuşcu Nilay
S03
P148

Mete Ergun
S15

Konaş Ersoy
P185

Köse Sevil
S07
S14

Kuşpınar Gökten
P104
P109
P110

Mete Ufuk Özgü
P059
P084

Konuk Esmâ
P071
P207

Kotil Tuğba
P180

Kütan Esmâ
P200

Meydanlı Elif Güzel
S07

Koparal Ayşe Tansu
P130

Koyuncu Ecem
P082

Kutlu Hatice Mehtap
P202

Minbay Zehra
P023
P024
P028
P029

Köprü Çağla
S14

Koyutürk Meral
P127
P128

Kütük Özgür
P136

MİN BAY Zehra
S02

**Köprü Çağla
Zübeyde**
S01

Küçüktürk Serhan
P191

Kuyucu Yurdun
P059
P084
P101

Molbay Müge
S31

Koralan Fidan
P079

**Küçük Bayram
Güner**
P098

Latifoğlu Osman
P164

Müdok Tangül
P166
P238

Korgun Emin Türkay
S31
P207

Kükner Aysel
P016
P077

Liman Narin
P015
P039
P093
P098

Müftüoğlu Sevda
P181
Mungan Ceren
P135

Korkmaz Oya
P139

Kuloglu Tuncay
P019

Mungan Muhittin Tamer P092	Okay Sehkar P020	P018 P203	P185
Musmul Ahmet P092 P173	Öktem Gülperi S21 S23 P145 P155 P183	Oruç Hatice P129	Özcan Metin Tuba P021
Mustafa Hesham N. P170	Öktem İbrahim Suat P113	Ozan Enver P019	Özçete Enver P234
Mutlu Hasan Serdar S30 P180	Okuyaz Çetin P021	Özatik Orhan P092 P231	Özçınar Emine S21 P083 P111
Nacar Emel P048	Okyay Karaca Mehtap P188	Özbek Elvan S20 P042	Özçoban Özge P054 P090 P113
Narin Figen P054	Oltulu Fatih S21 S23 P083 P111 P183 P224	Özbek Hanefi P230	Ozdal Kurt Feyzan P115
Nemutlu Emirhan S14	Ömeroğlu Suna P087	Özbek Mehmet P006 P041 P066	Ozdal Kurt Feyzan P154
Nergiz Yusuf P002	Önal Tuna P124 P144	Özbek Mustafa Rıza P211	Özdamar Saim P090 P113 P141 P152 P218 P219 P237
Nikerel İlkem Emrah S25	Öncül Mahmut P127 P128	Özbey Özlem S27	Özdemir Şükrüye P056
Ocaklı Seda S04	Önder Gözde Özge P090 P113 P141 P218	Özbey Ünlü Özlem P143 P190	Özdemir Süleyman P179
Öcal Berrak Gümüşkaya P070	Önel Tuğçe P081	Özbilgin Kemal S24 P124	Özdemir Tuba S19 P140
Odacı Ersan P022	Öner Emre P210	Özçakır Tomruk Ceyda P200	Özden Akkaya Özlem P131
Oğurtan Zeki P236	Orhon Zeynep Nur	Özcan Öykü P186	Özgül Berrin P150
Oğuz Emin Oğuzhan S15 P040		Özcan Utku	

Özel Bora P001	Özkan Serbay P127 P128	Özsoy Mustafa P182	Polat Elif P221
Özen Asuman P132	Özkavukcu Sinan P058 P099	Öztaş Emin S10 P171	Polat Onur P210
Özer Alev P096	Özkavukçu Sinan P106	Öztürk Gürkan P166	Polat Sait P101 P179
Özer Mehmet Caner P129	Özkeçeci Taner Ziya P182	Öztürk Hasan Serdar P007	Popken Jens S10
Özer Özkan P007	Özkeçeci Ziya Taner P223	Öztürk Saffet S08 P061 P103	Rağbetli Murat Çetin P045 P063
Özeral Elif P212	Özkum Yavuz Dudu P154	Öztürk Şükrü P162	Rouhrazi Hadi P145 P155 P183
Özerkan Kemal P104	Özkut Mahmud S24 P114	Özyüncü Özgür S20	S. Kılıçaslan Pınar S11
Özerol Elif P204 P205	Özkut Mahmud Mustafa P009 P122 P123 P124	Pancaroğlu Güzin P091	Saçık Uygur P060
Özfiliz Nesrin P158	Özkut Mahmut S11 P239	Parlak Gozde P019	Sağsöz Hakan P093 P236
Özgenç Özge P006 P041 P132	Özmen Aslı S31 P046 P047 P207	Parlak Gözde P078	Şahin Duygu P063
Özgörgülü Aydan P108 P172	Özmen Füsün S01	Pehlivanoğlu Suray S22	Şahin Engin P202
Özgül Melike P147	Özpınar Aysel P184	Pekcan Mert P035	Şahin Erhan S28 P130 P186
Özgül Mustafa P036	Özpolat Bülent P149	Pekediş Mahmut P235	Şahin Fikrettin S16 P112 P121
Özgül Abuç Özlem P195 P196 P198		Peker Sabire P102 P213	Şahin Gizem Nur P160
Özgüner Habibe Meltem S19		Pişkin İlkay S19	

Şahin Gülderen
P013

Şahin Hatice
P058

Şahin Özlem
P008

Şahin Sadık
P097

Şahin Zeliha
P069

Sahinturk Varol
P173

Sakallı Hilal
P096

Şaker Dilek
P179

Şakul Arzu
P230

Sal Dila Hatun
S11
P120
P122
P123
P239

Sal Dila Hatun
P114

Sancı Muzaffer
P139

Sandıkçı Mustafa
P031
P116

Şanlı İlkan
P079

Sapmaz Tuğçe
P179

Sapmaz Metin
Melike
P067
P100

SAPMAZ METİN
Melike
P193

Sarıbal Seda
P109
P110

Saricaoglu Fatma
P209

Sarikaya Aysun
S20

Sarıoğlu Türkan
P075
P226

Sarybaeva Ainura
P164

Satı Leyla
S05

Say Görkem
P115

Saygı Serkan
P003

Saygılı Suna
S11
P114
P120
P122

Saygılı Suna
Karadeniz
P239

Saygılı Suna
P123

Sayhan Sevil
P139
P149

Seckin İsmail
P184

Şeflek Hatice
P192

Şeflek Hatice Nur
P168

Şekerdağ Emine
P160

Selli Jale
P221

Şen Alaattin
P142

Şen Büşra
P176
P199

Sencar Leman
P179

Şendağ Sait
P062

Şenel Ufuk
S04

Sener Göksel
P020

Sener Umit
P005

Şener Burçin
P134

Şener Dila
P034
P095
P206

Şener Ustabaş
Tuğba
P081

Şenol Güven Gamze
P229

Şentürk Şengül
P050

Serel Savaş
P178

Serter Sema
P028
P029

Serteser Mustafa
P184

Seven Nilgün
P216
P217

Seydaoğlu Gülşah
P101

Seymen Cemile
Merve
P001
P034
P087
P088
P089
P164

Seymen Merve
Cemile
P095

Sezer Zehra
P086

Shahbazi Reza
P162

Şimşek Fatma
S26

Şimşek Özkan
P032
Singer Davut
P181

Sır Gözde P117	Soylu Hakan S27 P049 P143	Tanrıöver Gamze P025 P138 P146 P147 P148 P151	Tecellioğlu Mehmet P227
Sirav Bahriye P088	Söyüncü Yetkin P190	Tap Özgül P101	Tekayev Muhammetnur P197 P201
Şirvancı Serap P027	Sözen Berna P025	Tapul Leyla S30 P050	Tekeli Kunt Atiye P175
Siyah Pınar S12 P118	Sözen Elif P042	Taş Gizem Gamze P207 P208	Tekelioğlu Yavuz P004 P051 P052 P053
Söğüt İbrahim P226	Sözen Mehmet Enes P168 P191 P192	Taşkaya Gül Diğdem S12	Temel Şehime Gülsün P136
Solakoğlu Seyhun S13 P180	Stefek Milan P220	Taşkın Mine İslimye P090	Temeltaş Gökhan P120
Solmaz Merve P008	Sucu Merve P135	Taşkıran Ekim Zihni S14	Terzi Elçin Hakan P077 P189
Solmaz Volkan S29	Sunay Fatma Bahar P038 P068	Taşkoparan Betül P220	Terzioğlu Ender S27
Somuncu Özge Sezin P112 P121	Sürmeliöğlu Özgür P179	Taşlı Neslihan P112	Teymur Hakan P026
Somuncu Salih P112	Sütçü Mustafa P167	Taşlı Pakize Neslihan S16 P121	Teyyareci Özdemir İlkay P200
Sönmez Mehmet Fatih P012 P055 P056 P057 P085 P237	Take Kaplanoğlu Gülnur P088 P206	Taşlıdere Aslı P225 P227 P228	Tezcan Orhan P002
Sönmez Pınar Kılıçaslan P122	Tan Semih P129	Taşyürekli Mustafa P127	Tiftikcioğlu Yiğit Özer P119
Soyal Tolga S01	Tanbek Kevser P204 P205 P212	Tatar Sedat P164	Tiftikcioğlu Bedile İrem P026
Söyler Gizem P016	Tanrıöver Derya P038		Tiftikcioğlu Yiğit Özer P026

Tok Olgu Enis P027 P177 P233	Tunali Akbay Tugba P020	Türköz Uluer Elgin P144 P157	P195 P196 P198
Tokgözoğlu Lale S01	Tünay Kamil P182	Türközkan Nurten P007	Ünal Işık P035
Topal Çelikkan Ferda P099 P106 P135	Tuncer Seçkin P172	Türkyılmaz İsmet Burcu P137	Ünal Murat Serkant P129
Toros Pelin P083	Tuncer Serhan P001	Tütüncü Şerife P158	Ünal Serhat P035
Tosun Murat P043 P072 P076 P156 P223	Turan Raife Dilek S12 S25 P121	Tüysüz Emre Can S12 P011 P118	Uncu Gurkan P110
Tufan Ahmet Çevik P070	Turgal Mert P107	Uçar Emel P201	Uncu Gürkan P109
Tuğlu İbrahim P083	Turgan Nevbahar P145	Uçkan Çetinkaya Duygu S14 S20 S22 S22	Ünek Gözde S31 P046
Tuğlu Mehmet İbrahim P120 P123 P144 P157	Turgut Alpgiray P022	Uğur Mete Gürol P201	Ünsal Evrim P075 P082
Tuğlu Mehmet İbrahim S11 P114 P122 P124 P239	Turgut Mehmet P030	Udum Duygu P158	Ünsal İbrahim P184
Tuli Abdullah P059 P084	Turhan Gülden P038	Ulubayram Kezban P162	Ural Cemre P060
Tülü Emel P076	Türk Özgür P182	Ulus Ahmet Tulga P135	Ursavaş Selin P059 P240
	Türk Pınar P104	Ünal Betül P143	Ürünsak İbrahim Ferhat P101
	Türker Mehmet P176	Ünal Bünyami P169 P195 P196 P198	Usdin Karen S09
	Türkkanı Ayten P034		Uslu Bahar S09
	Türkoğlu İsmail P087		Uslu Barış Atalay P062
	Turkoz Uluer Elgin P139		
		Ünal Deniz	

Uslu Merve S12	P111 P142 P155 P224	Visal Okur Fatma S22 S22	Yarali Oguzhan P203
Uslu Rüçhan S21	Uysal Fatma S08 P061 P099 P103	Wehrend Axel P062	Yarat Aysen P020
Uslu Sema P062	Uysal Mükremin P156	Yaba Uçar Aylin S06 P094	Yardımcı Ömer Faruk P079
Uslu Ünal S16 S25 P215	Üysal Ayşegül P145	Yağcı Artay P072 P131	Yardımoğlu Yılmaz Melda P175
Üstünbaş İlknur P110	UZ Yeşim Hülya P193	Yağcı Turgay P235	Yargıçoğlu Piraye P071
Ustundag Unsal Veli P020	Uz Yeşim Hülya P232	Yahşi Hande P012	Yarloğlu Gülşüm P070 P140
Üstünel İsmail S27 P033 P049 P069 P143 P190	Uzal Cem P018	Yakan Birkan P054	Yavaşoğlu Altuğ S21 S23 P111 P155 P183 P224
Usubütün Alp S07 P107	UZUN GÖREN Duygu P193	Yalçın Betül P219 P237	Yavuz Celal P002
Utkan Tijen P187	Var Ahmet S11	Yalçın Gül Merve P200	Yay Arzu P237
Uyanıkgil Yiğit S10 S29 P026 P030 P117 P161 P234 P235	Vardi Nigar P010	Yalçın Ülker Gül Merve S16	Yay Arzu Hanım P090 P113
Uygul Kıymet Zülal P024	Varlı Yelke Tuba P081	Yalım Yusuf P109	Yaylalı Aslı P096
	Vatandaşlar Emre P166	Yaman Onur P013	Yazir Yusufhan P175
	Vatansever H. Seda P115 P149	Yanardağ Refiye P137	Yazır Yusufhan P187
	Vatansever H.seda P119	Yaprakçı Mustafa Volkan P131	Yegen Cumhuriyet P184
Uysal Ayşegül S21 S23 P083	Vatansever Hafize Seda P144 P154		

Yelmen Nermin P013	P111 P117 P155 P161 P183 P224 P234	P200	P156 P182 P223
Yenilmez Ebru Dündar P084		Yılmaz Bayram S06 S25 P094	Yüncü Mehmet P176 P194 P197 P199 P201
Yersal Nilgün S01 P181	Yıldırım Alper P215	Yılmaz Özlem S10	
Yeşil Çelikleş Özlem P161	Yıldırım Ayşegül Burçin P237	Yılmaz Seyfettin P079	Zakhartchenko Valeri S10 P111
Yeşilkaya İlker P210	Yıldırım Ecem S06 P094	Yörük Mecit P062	Zayman Emrah P010
Yetim Zeliha P221	Yıldırım Nuh P006 P041	Yücel Doğan S25	Zengin Gülşen P194
Yiğit Polat P178	Yıldırım Zeynep P184	Yücel Çiçek Özge Senem P107	Zeybek Dilara Naciye P209
Yiğit Hanoğlu Duygu P154	Yıldız Azibe P010	Yüksel Kemal P079	Zeybek Naciye Dilara P162
Yiğitcan Birgül P037 P073	Yıldız Mustafa P031 P116	Yüksel Ramazan P043	Zık Berrin P102 P213
Yiğittürk Gürkan S23	Yılmaz Ayşe	Yüksel Yasemin P043 P076	

KONGREYE DESTEK VEREN KURULUŞLAR / SPONSORS

Uluslararası Katılımlı XIII. 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
- Ege Üniversitesi
- Türkiye Bilimler Akademisi
- TÜBİTAK – Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurulu
- İmmüno-Onkoloji Derneği

Destek Veren Kuruluşlar

- Üstünsoy Teknik Sogutma Sistemleri ve Kaynak Ürünleri
- Pera Medikal
- Leica
- Carl Zeiss
- Becton Dickinson
- Ligand
- Sis Medikal
- Odeabank
- Genera
- Medsantek
- Ser-Med
- Sacem
- Medikaltim Sağlık Hizmetleri
- Zade Vital
- SY Nanoboyatek Kimya Enerji San. Tic. Ltd. Şti.
- İstanbul Kitabevi
- Tem-Sem Kimyasal Madde ve Laboratuvar Cihazları

Not: Firma sıralaması kongreye vermiş oldukları destek oranlarına göre sıralanmıştır.

Firmamız ÜSTÜNSOY LTD. ŞTİ. ünvanı ile 2004 yılından beri Endüstriyel ve Medikal Alanda ticari faaliyetini sürdürmekte olup, Kalite ve Müşteri memnuniyet odaklı satış sonrası hizmetlerimizle fark yaratmaktadır. Özellikle medikal alanda kullanılan ürünlerimizin kalite ve performans test raporları uluslararası sertifikasyon firmaları tarafından akredite edilmiştir. İnsan sağlığı, Çevre duyarlılığı ve Enerji verimliliği öncelikli değerlerimizdir.

ÜSTÜNSOY LTD. ŞTİ.

-40 C Medikal Dondurucular



Aşı / Kit Saklama Dolabı

UST 420 F

-86 C / -150 C Medikal Dondurucular



LVD EMC



1004 Sokak No: Z/29 Tesisat İş Merkezi B Blok Yenışehir / Konak İZMİR / TURKEY

Tel: +90 232 4581088 – 90 Fax: +90 232 458 10 81 info@ustunsoy.com www.ustunsoy.com