

POSTER PRESENTATION ABSTRACT [POSTER SUNUM ÖZETLERİ]

PP1: OXIDATIVE DNA DAMAGE OF LAMBDA-CYHALOTHRIN IN MODEL ORGANISM

[JOMURGALI MODEL ORGANİZMA, ZEBRA BALIKLARINDA LAMBDA-CYHALOTHRİN OKSİDATİF DNA HASARI]

Rabia SEMSİ¹, Burcu ESER², Gülsüm KOCAK³, Goktug GUL⁴, Pınar ARSLAN⁵, Aysel Caglan GUNAL⁶, Aylin SEPICI DINCEL¹

¹Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara, Türkiye

²University of Health Sciences, Research and Development Center, Ankara, Türkiye

³Gazi University, Institute of Natural and Applied Sciences, Department of Environmental Sciences, Ankara, Türkiye

⁴Gazi University, Health Services Vocational School, Department of Medical Services and Techniques, Ankara, Türkiye

⁵Cankırı Karatekin University, Faculty of Science, Department of Biology, Cankırı, Türkiye

⁶Gazi University, Faculty of Education, Department of Biology, Ankara, Türkiye

Objectives: Pesticides, widely used for pest control in agriculture, public health and veterinary medicine, are usually present as pollutants in aquatic environments. After contamination of water bodies, pesticides cause negative effects on the non target organisms and long term problems in the ecosystem. Lambda-cyhalothrin (LCH) is a chemical compound, which belongs to the family of synthetic pyrethroids (type II), used as an active ingredient in several insecticides. In this study, we investigated the toxic effects of LCH exposure for 24 and 72 h on zebrafish as a DNA damage.

Materials-Methods: The zebrafish (*Danio rerio*) was obtained from commercial suppliers in Türkiye. Experiments were carried out in Gazi University Department of Biology Education. Zebrafish with an average length of 2.59±0.21 cm were placed in 3 aquariums of 10 liters filled with spring water and adapted to the laboratory conditions for 15 days. LCH was prepared at concentrations of 0.1 and 1 µg/L and applied for 24-72 h. After the exposure period, whole body zebrafish was prepared for 8-OHdG analysis. 8-OHdG measurement was done by the Agilent LC-MS/MS device using the electrospray ionization method and positive ion mode.

Results: In our study, it was observed that the whole-body tissue' 8-OHdG values were significantly increased in the group exposed to LCH for 72 hours (9.82±1.44 ng/100 g doku) compared to the control group (6.60±1.78 ng/100 g doku, p=0.004). These results suggest that LCH could lead oxidative DNA damage by causing an increase 8-OHdG activities.

Conclusions: These results suggested that LCH exposure had effects on DNA damage (8-OHdG) of the zebrafish. Evaluating the toxic effects of an individual pesticide may not be enough for protecting ecological environment due to interactions among substances The data acquired from this study provided valuable insights into the toxicity of LCH to zebrafish.

Keywords: Lambda-cyhalothrin, 8-OHdG, DNA damage, Toxicity, Zebrafish

Amaç: Tarım, halk sağlığı ve veterinerlik alanlarında haşere kontrolünde yaygın olarak kullanılan pestisitler genellikle su ortamlarında kirletici olarak bulunur. Pestisitler su kütlelerine bulaştıktan sonra, hedef olmayan organizmalar üzerinde olumsuz etkilere ve ekosistemde uzun vadeli sorunlara neden olmaktadır. Lambda cyhalothrin (LCH), çeşitli insektisitlerde aktif madde olarak kullanılan, sentetik piretroidler (tip II) ailesine ait olan kimyasal bir bileşiktir. Bu çalışmada 24 ve 72 saat boyunca LCH'ye maruz kalmanın zebra balığı üzerindeki toksik etkilerini DNA hasarı olarak araştırdık.

Gereç-Yöntem: Zebra balığı (*Danio rerio*), Türkiye'deki ticari tedarikçilerden temin edildi. Gazi Üniversitesi Biyoloji Eğitimi Bölümü'nde deneyler gerçekleştirildi. Ortalama 2.59±0.21 cm boyundaki zebra balıkları, kaynak suyuyla dolu 10 litrelik 3 adet akvaryuma yerleştirildi ve 15 gün boyunca laboratuvar koşullarına adapte edildi. LCH, 0.1 ve 1 µg/L konsantrasyonlarda hazırlandı, 24 ve 72 saat süreyle uygulandı. Maruz kalma süresinden sonra zebra balığı tüm vücut dokusu 8-OHdG analizi için hazırlandı. 8-OHdG ölçümü Agilent LC-MS/MS cihazı kullanılarak elektrosprey iyonizasyon yöntemi ve pozitif iyon modu kullanılarak yapıldı.

Bulgular: Çalışmamızda 72 saat boyunca LCH'ye maruz kalan grupta (9.82±1.44 ng/100 g doku) tüm vücut dokusunun 8-OHdG değerlerinin kontrol grubuna (6.60±1.78 ng/100 g doku, p=0.004) göre anlamlı düzeyde arttığı görüldü. Bu sonuçlar LCH'nin 8-OHdG aktivitesinde artışa neden olarak oksidatif DNA hasarına yol açabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç: Bu Sonuçlar, LCH'ye maruz kalmanın zebra balık dokularında DNA hasarı (8-OHdG) oluşturduğunu gösterdi. Tek bir pestisit toksik etkilerini değerlendirmek, maddeler arasındaki etkileşimler nedeniyle ekolojik çevreyi korumak için yeterli olmayabilir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, LCH'nin zebra balığı üzerindeki toksisitesi hakkında değerli bilgiler sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Lambda-cyhalothrin, 8-OHdG, DNA damage, Toksisite, Zebra balığı

PP3: ALPHA-GLUCOSIDASE INHIBITORS FOR TREATMENT OF DIABETES MELLITUS: SYNTHESIS AND BIOLOGICAL EVALUATION

[DİYABET TEDAVİSİNDE ALFA-GLUKOZİDAZ ENZİM İNHİBİTÖRLERİ: SENTEZ VE BİYOLÖJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI]

Merve ARI, Zeynep SOYER

Ege University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Izmir, Türkiye

Objectives: This study aims to design and synthesize a compound that can be an alpha-glucosidase enzyme inhibitor, one of the effective treatment approaches in Diabetes Mellitus, to confirm its structure by spectroscopic methods and to determine its alpha-glucosidase inhibitor activity *in-vitro*.

Materials-Methods:

Synthesis

The designed compound synthesized in three steps. First, o-phenylenediamine, oxalic acid dihydrate and 4N HCl refluxed, to obtain quinoxaline-2,3-dione. Next, intermediate product and the hydrazine-hydrate reacted to obtain 3-hydrazinylquinoxalin-2-one derivative. Finally, 3-hydrazinylquinoxalin-2-one and 4-dimethylaminobenzaldehyde reacted to give the final compound (KH11).

Inhibition Assay

Different concentrations of the KH11 (in DMSO) and enzyme solution added to wells and incubated at 37°C for 5 minutes. After incubation, the substrate solution added and spectrophotometric measurements were taken at 405 nm. DMSO used as standard, acarbose used as reference. %inhibition and IC₅₀ values calculated using the GraphPad Prism.

Results

The structure of KH11 confirmed with IR and ¹H NMR spectroscopic methods. The alpha-glucosidase inhibitory activity of the KH11 determined spectrophotometrically *in-vitro*, its IC₅₀ value calculated as 0.124 mM. This value determined as 1.211 mM for the acarbose. Additionally, KH11 was found as a mixed-type inhibitor of the alpha-glucosidase *in-vitro* by the kinetic studies (r²=0.98).

Conclusions

Results of *in-vitro* studies show that the synthesized quinoxaline-hydrazone derivative has significant alpha-glucosidase inhibitory activity. When the IC₅₀ values evaluated, it's seen that the KH11 inhibits the alpha-glucosidase much stronger than the reference acarbose. Additionally, according to kinetic studies, KH11 binds to allosteric site of the enzyme and reduces the affinity of the substrate to the enzyme.

Keywords: Diabetes Mellitus, Alpha-Glucosidase Inhibitors, Quinoxaline-Hydrazone, Synthesis.

Amaç: Bu çalışmada, diyabet hastalığında etkili tedavi yaklaşımlarından biri olan alfa-glukozidaz enzim inhibitörü olabilecek potansiyel aktif bir bileşiğin literatür verilerinden hareketle tasarımı, sentezi, yapısının spektral analiz yöntemleriyle doğrulanması, alfa-glukozidaz enzim inhibitör aktivitesinin ve enzim kinetik çalışmasının yapılarak enzim inhibisyon tipinin *in-vitro* belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem:

Sentez

Tasarlanan kinoksalin türevi bileşik üç basamakta sentezlendi. Buna göre, önce kinoksalin-2,3-dion bileşiğine ulaşmak üzere o-fenilendiamin, okzalik asit dihidrat ve 4N HCl ısıtılarak karıştırıldı. Daha sonra bu ara ürün hidrazin hidrat bileşiğiyle reaksiyona sokularak 3-hidrazinilkinoksalin-2-on elde edildi. Son basamaktaysa, 3-hidrazinilkinoksalin-2-on ve 4-dimetilaminobenzaldehit bileşikler KH11 kodlu bileşiği oluşturmak üzere reaksiyona sokuldu.

Biyolojik Aktivite

Kuyucuklara KH11 kodlu test bileşiğinin azalan konsantrasyonlardaki çözeltilerinden (DMSO içerisinde) ve enzim çözeltisinden eklenerek, 37°C'de 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası substratın tampondaki çözeltisinden eklenerek, 405 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümler alındı. Standart olarak DMSO, referans bileşik olarak akarboz kullanıldı. Üç tekrar çalışıldı. %İnhibisyon ve IC₅₀ değerleri GraphPadPrism programıyla hesaplandı.

Bulgular: Sentezlenen bileşiğin yapısı IR ve ¹H NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak aydınlatıldı. KH11 kodlu bileşiğin alfa-glukozidaz inhibitör aktivitesi spektrofotometrik yöntemle *in-vitro* olarak tespit edildi ve IC₅₀ değeri 0.124 mM olarak bulundu (Akarboz IC₅₀=1.211 mM). Ayrıca KH11 kodlu bileşiğin alfa-glukozidaz enziminin karışık-tip bir inhibitörü olduğu Lineweaver-Burk eğrisi ile *in-vitro* olarak tayin edildi (r²=0.98).

Sonuç: Aktivite sonuçları, sentezlenen kinoksalin-hidrazon türevi KH11 kodlu bileşiğin belirgin alfa-glukozidaz inhibisyonu yaptığını ve IC₅₀ değerleri kıyaslandığında, KH11'in alfa-glukozidaz enzimini referans bileşik akarboz'dan çok daha güçlü inhibe ettiğini göstermektedir. Ayrıca yapılan enzim kinetik çalışmasına göre KH11 bileşiği, karışık-tip bir inhibitör olup alfa-glukozidazın allosterik yoresine bağlanarak substratın enzime olan afinitesini azaltmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Alfa-Glukozidaz inhibitörleri, Kinoksalin-hidrazon, Sentez

PP4: IDENTIFICATION OF CIRCULAR RNAs AS BIOMARKER CANDIDATES IN LUNG CANCER TREATMENT

[AKCİĞER KANSERİ TEDAVİSİNDE BİYOBELİRTEÇ ADAYLARI OLARAK SİRKÜLER RNA'LARIN TANIMLANMASI]

Busra APAYDIN^{1,2}, Milad ASADI^{1,2}, Can MUFTUOGLU^{1,2},
Ufuk MERT^{1,2,4}, Ayşe CANER^{1,2,3}

¹Ege University, Institute of Health Sciences, Department of Basic Oncology, Izmir, Türkiye

²Ege University, Bedir Atasever Respiratory Research Center (EgeSAM), Izmir, Türkiye

³Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Parasitology, Izmir, Türkiye

⁴Ege University, Atatürk Vocational School of Health Services, Medical Laboratory Techniques Program, Izmir, Türkiye

Objectives: There is an important need for biomarkers that can be used in the early diagnosis and in the follow-up of lung cancer treatment. Circular RNAs (circRNAs) play an important role in regulation of gene expression and diverse biological mechanism. Also, circRNAs have closed circular structure that lacks 3' and 5' ends which makes them resistant to exonucleases. Although their levels are low, they can be found in tissues and body fluids thanks to their molecular nature. Therefore, they can serve as potential biomarkers in the diagnosis, monitoring of therapeutic response and prognosis of cancer. In our study, it was aimed to investigate the expression levels of circRNA molecules in the treatment of lung cancer and to determine those that have the potential to be biomarkers.

Materials-Methods: Expression levels of 169 circRNAs were investigated with or without carboplatin and pemetrexed treatment in A549 cell line. First, cytotoxicity tests of these drugs were performed and IC50 values were determined, and individual and combined treatments were applied in A549 cells. Total RNA isolation and cDNA synthesis were performed after drug administration. Expression levels of circRNA genes were determined by RT-qPCR with designed divergent primers.

Results: While alone and combined drug applications changed the expression levels of some circRNAs in lung cancer cells, expression of majority of them was undetectable. Some circRNAs were expressed only after treatment and several of them were silenced in response to treatment.

Conclusion: Two circRNAs have been identified as potential biomarker candidates for treatment follow-up and management.

Keywords: circRNA, Biomarkers, Lung Cancer, Treatment

Amaç: Akciğer kanserinin erken tanısında ve tedavisinin takibinde kullanılabilecek biyobelirteçlere önemli bir ihtiyaç vardır. Dairesel RNA'lar (circRNA'lar) gen ifadesinin

düzenlenmesinde ve çeşitli biyolojik mekanizmalarda önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, circRNA'lar 3' ve 5' uçlarından yoksun kapalı dairesel yapıya sahiptir ve bu da onları ekzonükleazlara dirençli hale getirir. Seviyeleri düşük olmasına rağmen, moleküler yapıları sayesinde dokularda ve vücut sıvılarında bulunabilirler. Bu nedenle, kanser tanısında, terapötik yanıtın izlenmesinde ve prognozunda potansiyel biyobelirteçler olarak hizmet edebilirler. Çalışmamızda akciğer kanseri tedavisinde circRNA moleküllerinin ekspresyon düzeylerinin araştırılması ve biyobelirteç olma potansiyeline sahip olanların belirlenmesi amaçlanmıştır

Gereç-Yöntem: A549 hücre hattında 169 circRNA'nın ekspresyon seviyeleri karboplatin ve pemetreksed tedavisi ile veya tedavisiz olarak araştırılmıştır. Öncelikle bu ilaçların sitotoksikite testleri yapılarak IC50 değerleri belirlenmiş ve A549 hücrelerinde tekli ve kombine tedaviler uygulanmıştır. İlaç uygulamasından sonra total RNA izolasyonu ve cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. CircRNA genlerinin ekspresyon seviyeleri, tasarlanan farklı primerler ile RT-qPCR ile belirlenmiştir.

Bulgular: Tek başına ve kombine ilaç uygulamaları akciğer kanseri hücrelerinde bazı circRNA'ların ekspresyon seviyelerini değiştirirken, çoğunun ekspresyonu tespit edilememiştir. Bazı circRNA'lar sadece tedaviden sonra eksprese edilmiş ve birçoğu tedaviye yanıt olarak susturulmuştur.

Sonuç: İki circRNA, tedavi takibi ve yönetimi için potansiyel biyobelirteç adayları olarak tanımlanmıştır

Anahtar Kelimeler: circRNA, Biyobelirteç, Akciğer kanseri, Tedavi

PP5: G6PD AS A PROGNOSTIC BIOMAKER IN NEUROBLASTOMA BY BIOINFORMATIC ANALYSIS

[BİYOİNFORMATİK ANALİZ İLE NÖROBLASTOMDA PROGNOSTİK BİR BİYOBELİRTEÇ OLARAK G6PD]

Hongling YUAN¹, Zekiye ALTUN¹, Selen KUM OZSENGEZER¹, Nur OLGUN²

¹Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Türkiye

²Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Pediatric Oncology, Izmir, Türkiye

Objectives: Despite advances in multidisciplinary diagnostics and therapies, the prognosis of neuroblastoma (NB) remains poor in high-risk groups. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) is a cytoplasmic enzyme found in human erythrocytes. Recent studies already found that increased mRNA expression levels of G6PD are predictive of adverse clinical outcomes in lots of cancer patients, including increased drug resistance, migration or proliferation of tumor cells. Up to now, the association between G6PD expression

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models

with NB is still poorly known.

Material-Methods: G6PD mRNA expression data of NB was chosen from TARGET- NBL (Therapeutically Applicable Research to Generate Effective Treatments project- Neuroblastoma) in cBioportal database. NB patients were divided into low and high expression of G6PD groups. Overall survival (OS) analysis of G6PD mRNA expression were performed within cBioPortal. KEGG analysis of G6PD co-expression genes was performed. Univariate and multivariate Cox regression analyses were performed to identify the prognostic values through PCAT (PDX for Childhood Cancer Therapeutics).

Results: 151 NB samples were selected from 2018 TARGET NBL dataset. Kaplan-Meier analysis showed higher G6PD expression was correlated with poor survival($p=0.0019$). KEGG analysis suggested G6PD co-expression genes mainly lie in mitochondrial matrix, participated in RNA splicing, carbon metabolism. Based on univariate and multivariate analyses identified low expression of G6PD is an independent prognostic factor for OS in NB patients($p=0.024$).

Conclusions: The results identified high expression of G6PD was associated with poor OS in NB. Low expression of G6PD may be a prognostic factor for NB. Further studies are required to explore the mechanism contributing to tumorigenesis in NB.

Keywords: Neuroblastoma, G6PD, TARGET, cBioPortal

Giriş: Multidisipliner tanı ve tedavilerdeki ilerlemelere rağmen, nöroblastomun (NB) prognozu yüksek riskli gruplarda kötü olmaya devam etmektedir. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) insan eritrositlerinde bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Son çalışmalar, G6PD'nin artmış mRNA ekspresyon seviyelerinin, artan ilaç direnci, tümör hücrelerinin göçü veya proliferasyonu dahil olmak üzere birçok kanser hastasında olumsuz klinik sonuçların öngörücüsü olduğunu bulmuştur. Şimdiye kadar, G6PD ekspresyonu ile NB arasındaki ilişki hala tam olarak bilinmemektedir.

Gereç-Yöntem: NB'nin G6PD mRNA ekspresyon verileri cBioportal veri tabanındaki TARGET- NBL'den (Therapeutically Applicable Research to Generate Effective Treatments project- Neuroblastoma) seçilmiştir. NB hastaları düşük ve yüksek G6PD ekspresyonu gruplarına ayrılmıştır. G6PD mRNA ekspresyonunun genel sağkalım (OS) analizi cBioPortal içinde gerçekleştirilmiştir. G6PD ko-ekspresyon genlerinin KEGG analizi gerçekleştirilmiştir. PCAT (PDX for Childhood Cancer Therapeutics) aracılığıyla prognostik değerleri belirlemek için tek değişkenli ve çok değişkenli Cox regresyon analizleri yapılmıştır.

Bulgular: 2018 TARGET NBL veri setinden 151 NB örneği seçilmiştir. Kaplan-Meier analizi, daha yüksek G6PD ekspresyonunun kötü sağkalım ile korele olduğunu göstermiştir ($p=0,0019$). KEGG analizi, G6PD ko-ekspresyon genlerinin esas olarak mitokondriyal matrikste

yer aldığını, RNA splicing ve karbon metabolizmasına katıldığını göstermiştir. Tek değişkenli ve çok değişkenli analizlere dayanarak, düşük G6PD ekspresyonunun NB hastalarında OS için bağımsız bir prognostik faktör olduğu belirlenmiştir($p=0.024$).

Sonuç: Sonuçlar, yüksek G6PD ekspresyonunun NB'de kötü OS ile ilişkili olduğunu belirlemiştir. Düşük G6PD ekspresyonu NB için prognostik bir faktör olabilir. NB'de tümör oluşumuna katkıda bulunan mekanizmayı keşfetmek için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nöroblastom, G6PD, TARGET, cBioPortal

PP6: INVESTIGATING THE POSSIBLE SYNERGISTIC EFFECT OF BORTEZOMIB AND IMATINIB IN PANCREATIC CANCER

[BORTEZOMİB VE İMATİNİB'İN PANKREAS KANSERİNDE OLASI SİNERJİSTİK ETKİSİNİN İNCELENMESİ]

Gaye PISİREN¹, Secil DEMİRKOL CANLI², Begum KOCATURK¹

¹Hacettepe University, Cancer Institute, Department of Basic Oncology, Ankara, Türkiye

²Hacettepe University, Cancer Institute, Department of Clinical Oncology, Department of Tumour Pathology, Ankara, Türkiye

Traditional treatment techniques cannot be sufficient to cope with pancreatic cancer, and high mortality rate underlines the importance of alternative strategies. Bortezomib known as a proteasome complex inhibitor hinders the degradation of unfolded/misfolded proteins via this structure, leading to their aggregation in the endoplasmic reticulum (ER). This triggers the formation of stress in the organelle, and regulatory factors then become active for death of cancer cells; however, other prospective ER stress inducers should be used with bortezomib for exceeding a stress threshold to achieve a potent cell death effect. In our study, the tyrosine kinase inhibitor imatinib was combined with bortezomib due to its known influence on ER stress. As a result of *in vitro* experiments done with BxPC-3 ve MIA PaCa-2 pancreatic cancer cell lines, synergistic effect was observed at specific combination doses. It is also shown that both can induce ER stress demonstrated by investigating the expression level of ER stress marker, sXbp1, by qRT-PCR. Moreover, both drugs were found to affect the RIDD mechanism regulated by IRE1 in the presence of ER stress. According to *in silico* analysis, it was revealed that ER stress-related genes DERL2, DNAJB11, EDEM1, EIF2AK3, HSPA5 and CEBPB may play a role in the generation of resistance against bortezomib. In conclusion, the unknown ER stress-related effects of both bortezomib and imatinib are uncovered regarding pancreatic

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models

cancer cell lines, and it is also shown that the ER stress-related cell death mechanism can be used as a new strategy for the treatment of pancreatic cancer.

Keywords: pancreatic cancer, bortezomib, imatinib, synergy, ER stress

This study was supported by Hacettepe University Scientific Research Project Coordination Unit. Project no:TKB-2021-19358

Günümüzde pankreas kanseri tedavisinde kullanılan geleneksel tedavi stratejileri hastalıkla mücadelede yeterli olmamaktadır ve hastalıkla ilişkili ölüm oranı artmaktadır. Dolayısıyla pankreas kanserine karşı yeni tedavi yöntemlerinin keşfi büyük önem taşımaktadır. Proteozom kompleks inhibitörü olarak bilinen bortezomib, bu yapı tarafından yıkımı gerçekleşen anormal proteinlerin yıkımını engelleyerek Endoplazmik retikulum (ER) organelinin lümeninde birikmelerine yol açmaktadır. Bu durum ER organelinde stres oluşumunu tetiklemektedir ve akabinde stres varlığında rol oynayan faktörlerin devreye girerek kanser hücrelerinin ölümü sağlanabilmektedir. Fakat bortezomib ile amaçlanan tedavi yaklaşımında istenilen güçlü etkinin yakalanabilmesi için diğer potansiyel ER stres aktive edici ajanların da kullanılarak stres eşliğinin aşılması gerekmektedir. Bu amaç doğrultusunda kombine tedavi olarak ER stresi aktive edici etkisi olduğu bilinen tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib ilacı kullanıldı. Çalışmamızda pankreas kanseri hücre hattı BxPC-3 ve MIA PaCa-2 ile yapılan *in vitro* deneyler sonucunda bortezomib ve imatinibin spesifik kombinasyon dozlarında sinerjistik etkinin meydana geldiği gözlemlendi. ER stres markörü olarak bilinen sXbp1 geninin ekspresyon seviyesinin qRT-PCR ile incelenmesi sonucunda bortezomib ve imatinibin ER stresi aktive ettiği gösterildi. Ayrıca bu iki ilacın ER stres varlığında aktive olan faktörlerden IRE1 aracılı gerçekleşen mRNA yıkım mekanizması (RIDD) üzerinde de aktive edici etkiye sahip oldukları gösterildi. Yapılan *in silico* analizler sonucunda da ER stres ile ilişkili genlerden DERL2, DNAJB11, EDEM1, EIF2AK3, HSPA5 ve CEBPB'nin pankreas kanserinde bortezomib ilacına karşı gelişen dirençte rol oynayabileceği ortaya koyuldu. Sonuç olarak, bortezomib ve imatinibin pankreas kanseri hücrelerine karşı ER stres aracılı bilinmeyen etkileri ortaya koyulmuştur ve ER stres aracılı hücre ölümünün pankreas kanseri tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: pankreas kanseri bortezomib imatinib sinerji ER stres

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje no:TKB-2021-19358

PP7:INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT EFFECTS OF ARUM CONOPHALLOIDES AND INVESTIGATION OF POSSIBLE ANTIPROLIFERATIVE EFFECTS ON BREAST CANCER CELL LINE

[ARUM CONOPHALLOIDES'İN ANTIOKSIDAN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ VE MEME KANSERİ HÜCRE HATTI ÜZERİNE OLASI ANTİPROLİFERATİF ETKİLERİNİN İNCELENMESİ]

Hajir Moosa Mohammed AL KHAFAJI¹, İlhan YAYLIM¹, Ceylan OZSOY HEPOKUR², Ozlem KUCUKHUSEYİN¹, Sema MISIR³

¹Istanbul University, Aziz Sancar Experimental Medicine Research Institute, Molecular medicine, Istanbul, Türkiye

²Sivas Cumhuriyet University, Department of Pharmacy, Biochemistry, Sivas, Türkiye

³Sivas Cumhuriyet University, Pharmacy, Basic Pharmacy, Sivas, Türkiye

Objective: Antioxidants neutralise the unpaired electron on free radicals and prevent the oxidation process. In the meantime, they oxidise themselves. Our need for food-derived antioxidants is increasing. The aim of this study was to investigate the effects of Arum Conophalloides extract on breast cancer cells and to evaluate its potential as a treatment option.

Materials-Methods:Arum conophalloides extracts were prepared from the leaves of the plant collected in Kayseri, Turkey. The extracts were analysed using HPLC to determine their compounds. The antioxidant properties of the extracts were further evaluated using Total Polyphenolic Content (TPC) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Scavenging Activity assays. Arum conophalloides extracts were tested on various cancer cell lines including MDA-MB-231 and MCF-7 as well as L929. IC50 values were determined using the Cell Proliferation Kit. The BrdU method was used to assess cell proliferation by incorporating BrdU, a thymidine analogue, into the DNA of growing cells and measuring its incorporation using an ELISA-based assay.

Results: The IC50 values of Arum conophalloides were 150.22±6.86 µg/mL for MCF-7 breast cancer cell line, 215.45±4.15 µg/mL for MDA-MB-231 breast cancer cell line and 248.25±3.21 µg/mL for L929 healthy cell line. In the antiproliferative evaluation with BrdU, approximately 40% BrdU correlation remained when 125 mg/mL concentration was applied on MCF-7 cell line.DPPH and total polyphenolic content of Arum conophalloides were analysed and the DPPH value of Arum conophalloides was found to be 16.33 µg/mL and the total phenolic content was determined as 347.83±1.39 mg GAE/100g.

Conclusion: At the end of our study, we suggest that the antiproliferative and apoptotic effects of Arum

conophalloides should be studied in more detail.

Keywords: Arum conophalloides, Antioxidant, Anticancer

Amaç: Antioksidanlar; serbest radikallerin üzerindeki eşleşmemiş elektronu etkisiz hale getirerek oksidasyon sürecini engellerler. Bu sırada kendileri okside olurlar. Gıda kaynaklı antioksidan ihtiyacımız artmaktadır. Bu çalışmada, Arum Conophalloides ekstresinin meme kanseri hücreleri üzerindeki etkilerini incelemek ve bir tedavi seçeneği olarak potansiyelini değerlendirmektir.

Gereç-Yöntem: Arum Conophalloides özütleri, Kayseri, Türkiye’de toplanan bitkinin yapraklarından hazırlanmıştır. Ekstraktlar, bileşiklerini belirlemek için HPLC kullanılarak analiz edilmiştir. Ekstraktların antioksidan özellikleri ayrıca Toplam Polifenolik İçerik (TPC) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Süpürme Aktivitesi deneyleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Arum conophalloides özütleri, MDA-MB- 231 ve MCF-7’nin yanı sıra L929 da dahil olmak üzere çeşitli kanser hücre hatları üzerinde test edilmiştir. IC50 değerleri, Hücre Proliferasyon Kiti kullanılarak belirlenmiştir. BrdU yöntemi, bir timidin analogu olan BrdU’nun büyüyen hücrelerin DNA’sına dahil edilmesi ve ELISA tabanlı bir tahlil kullanılarak dahil edilmesinin ölçülmesi yoluyla hücre çoğalmasını değerlendirmek için kullanılmıştır.

Bulgular: Arum Conophalloides’in MCF-7meme kanseri hücre hattı için $150.22 \pm 6.86 \mu\text{g/mL}$, MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı için $215.45 \pm 4.15 \mu\text{g/mL}$ ve L929 sağlıklı hücre hattı için $248.25 \pm 3.21 \mu\text{g/mL}$ IC50 değerleri bulunmuş ve BrdU ile yapılan antiproliferatif değerlendirmede 125 mg/mL konsantrasyon MCF-7 hücre hattı üzerine uygulandığında yaklaşık % 40 BrdU korparasyonu kalmıştır. Arum conophalloides’nin DPPH ve Total Polifenolik içeriğine bakılmış ve Arum Conophalloides’in DPPH değeri $16,33 \mu\text{g/mL}$ olarak bulunurken, toplam fenolikmadde miktarı $347.83 \pm 1.39 \text{ mg GAE/100g}$ olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Çalışmamız sonunda, Arum conophalloides’nantiproliferatif ve apoptotik etkilerinin daha detaylı çalışılmasını önermekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Arum conophalloides, Antioksdan, Antikanser

PP9: INVESTIGATION OF THE EFFECT OF SQUALENE ON CISPLATIN-INDUCED TOXICITY IN KELLY NEUROBLASTOMA CELL LINE

[SKUALENİN SİSPLATİN KAYNAKLI TOKSİSİTEYE ETKİSİNİN KELLY NÖROBLASTOM HÜCRE HATTINDA ARAŞTIRILMASI]

Sefayi Merve OZDEMİR, Ozde Elif GOKBAYRAK, Efe Ozgur SERINAN, Safiye AKTAS

Dokuz Eylul University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Türkiye

Objective: It is aimed at investigating the effect of the squalene substance obtained from olive oil and the combinations of squalene-cisplatin on the Kelly neuroblastoma cell line.

Materials-Methods: Kelly cells were treated with the different concentrations (200-3,12 uM) of squalene and the combinations of these doses with 50 uM, 20 uM and 10 uM cisplatin for 24, 48 and 72 hours. Cell viability was investigated by MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) cell proliferation assay. The effects of 200 uM squalene - 50 uM cisplatin (CDDP) and 3.12 uM squalene-50 uM cisplatin combinations on apoptotic induction of Kelly cell line were examined by Annexin-V FITC assay and flow cytometry analysis. The effect of these combinations on cell cycle of Kelly cell line was investigated with PI (propidium iodide) and flow cytometry analysis.

Results: As a result of cell proliferation tests, cell viability was determined to be above 50% in the tested dose range of squalene at 24, 48 and 72 hours incubation periods. The lowest cell viability at 24 hours was detected in the combination of 50 uM CDDP with 3.12 uM squalene. According to apoptosis results, a statistically significant increase in apoptosis was detected in both the 50 uM CDDP + 200 uM SQ group and the 50 uM CDDP + 3.12 uM SQ group compared to the control group. Although the 50 uM CDDP+200 uM SQ group increased apoptosis compared to the 50 uM CDDP+3.12 uM SQ group, no statistically significant difference was detected between these two groups.

Conclusion: Squalene did not show any antitumoral effect on the MYCN(+) neuroblastoma KELLY cell line. The combination of squalene with CDDP did not alter CDDP toxicity in Kelly cells.

Keywords: squalene, cisplatin, neuroblastoma

Amaç: Nöroblastom(NB), nöral krestten köken alan bir tümördür. Skualen (SQ), reaktif oksijen seviyelerini düşürerek anti-tümöral mekanizmada rol oynayan ve zeytinyağından elde edilen triterpendir. NMYC (-) NB hücrelerinde SQ’nun sitotoksik etkisi gösterilmesine karşın, NB’de kötü prognozu temsil eden NMYC (+) hücreler üzerinde denenmemiştir. Bu çalışmanın amacı; Kelly NB hücre hattında SQ’in ve konvansiyonel kemoterapiye kullanılan sispaltin (CDDP) ile kombinasyonunun anti

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models

tümöral etkiye olan değişiminin araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: SQ (3,12 uM-200 uM) ve CDDP (10 uM–50 uM)’nin farklı dozları MYCN (+) ile karakterize NB Kelly hücrelerine 24, 48 ve 72 saat boyunca uygulandı. Ajanların sitotoksik etkisi MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) testi ile değerlendirildi. IC50 dozları belirlenen ajanlar kombine edilerek hücrelere uygulandı. Apoptotik hücre ölümü üzerine olan etkileri akış sitometri yöntemi ile değerlendirildi.

Bulgular: SQ’nin sitotoksik etkisi; 24, 48 ve 72. saatte hücre canlılığını %50’nin altına düşürmedi. 3,12 µm SQ ve 50 µm CDDP kombinasyonunda 24 saatin sonunda Kelly hücrelerinde canlılık azaldı. Benzer şekilde, 3,12 µm SQ+ 50 µm CDDP ve 200 µm SQ +50 µm CDDP kombinasyonları, kontrol grubuna kıyasla hücreleri daha yüksek oranda apoptoza sürükledi. 200 µm SQ +50 µm CDDP verilen grup, 3,12 µm SQ+ 50 µm CDDP grubuna göre apoptozu artırıyor olsa da, bu iki grup arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı.

Sonuç: SQ, tek başına MYCN(+) karakterdeki Kelly NB hücreleri üzerinde herhangi bir antitümöral etki göstermemiştir. SQ’nin CDDP ile kombinasyonu Kelly hücrelerinde CDDP toksisitesini değiştirmemiştir.

Anahtar Kelimeler: skualen, nöroblastom, sisplatin

PP10:INVESTIGATION OF EFFECT RESVERATROL,EQUOL AND VITAMIN D ON COLON CANCER

[RESVERATROL, EQUOL VE D VİTAMİNİN KOLON KANSERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI]

Ceylan OZSOY HEPOKUR¹, Sema MISIR¹, İlhan YAYLIM², Mehmet Tolgahan HAKAN², Ozlem KUCUKHUSEYİN², Ege Alican TOPCU², Mediha SULEYMANOĞLU ERSEZ³

¹Cumhuriyet University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Sivas, Türkiye

²Istanbul University, Institute of Health Sciences, Experimental Medicine Research Institute, Molecular Medicine, Istanbul, Türkiye

³Istanbul University, Faculty of Medicine, Medical Biology, Istanbul, Türkiye

Objectives: Resveratrol(3,5,4 trhydroxystilbene) is abundant some plants mainly grape skins and equol (4,7'-isoflavanodiol) anticarcinogenic effects in cancer cell lines.Vitamin D is expressed in colon cancer tissue and it is intensively studied together with resveratrol and equol for synergic or antisnergic effects. Our purpose to determine the cytotoxic and other possible mechanism of resveratrol, equol and vitamin D in human colon cancer

Materials-Methods: Human colon cancer (HT29) and healthy

(L929) fibroblast cell lines were used in this study. Cells were cultured in 10% FBS, 1% Penicillin-Streptomycin, DMEM medium with 95% humidity and 5% CO₂ at 37°C. XTT (2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2Htetrazolium-5-carboxanilide) method was used to determine the cytotoxic effect in HT29. After 24 hours of incubation, the compounds were applied to HT29 cells at different concentrations and IC50 values were calculated. In order to determine the apoptotic effects on HT29 and L929 cells S-Equol+resveratrol+vitamin D mixture, flow cytometric measurement was performed using Annexin-V and propidium iodide (PI) kit and BrdU assay was performed to detect cell proliferation.

Results: Resveratrol and equol, were administered together with vitamin D, they showed antiproliferative properties in HT29 according to XTT and BrdU results. A dose-dependent decrease in the number of viable cells was observed in cancer cell lines. Consequently, flow cytometry of resveratrol+S-equol+vitamin D mixture increase in apoptosis value was observed in HT29 cell line, while necrosis value did not increase.

Conclusion:The combination of equol and resveratrol with vitamin D increases their antiproliferative effects.Further studies are needed for a better understanding of the protection mechanism and their safe use in medicine.

Keywords: resveratrol, s-equol, vitamin d, cancer

Amaç:Başlıca üzüm kabuğu olmak üzere bazı bitkilerde bol bulunan resveratrol (3,5,4-trihydroxystilbene) ve yine bir izoflavin türü olan equol (4,7'-izoflavanodiol) literatürde kanser hücre hatlarında antikanserojen etki göstermesi dolayısıyla yoğun çalışılmaktadır.D vitamininin özellikle kolon kanser dokusunda eksprese edilmesi dolayısıyla D vitamini sinerjik veya antisinerjik etkili diğer maddelerle beraber yoğun çalışılmaktadır. Bu çalışmada S-equol, resveratrol ve D vitamini maddelerinin etkin biyolojik aktivitelerinden yararlanarak insan kolon kanser hücre hatlarında sitotoksik ve diğer olası etki mekanizmalarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç -Yöntem:Bu çalışmada insan kolon kanseri (HT29) ve sağlıklı (L929) fibroblast hücre hatları kullanılmıştır. Hücreler %10 FBS, %1 Penisilin-Streptomisin, DMEM besiyeri içerisinde %95 nem ve %5 CO₂'li ortamda 37°C'de kültüre edilerek çoğaltıldı. insan kolon kanseri hücre hattında sitotoksik etkiyi belirlemek için XTT (2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenil)-2Htetrazolyum-5-karboksanilid) yöntemi kullanıldı. 24 saatlik inkübasyon sonrasında bileşikler farklı konsantrasyonda kolon kanseri hücrelerine uygulandıktan sonra IC₅₀ değerleri hesaplandı. HT29 ve L929 hücre S-Equol+resveratrol+D vitamini karışımının apoptotik etkilerinin tespiti amacıyla Annexin-V ve propidyum iyodür (PI) kiti kullanılarak flow sitometrik ölçüm yapıldı ve hücre proliferasyonunu tespiti için BrdU testi yapıldı.

Bulgular:Anti-kanser maddeler olan resveratrol ve equol, D vitamini ile beraber uygulandığında XTT ve BrdU testi

VIII. Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models

sonuçlarına göre kanser hücre hatlarında antiproliferatif özellik göstermiştir. Kanser hücre hattında doz bağımlı olarak canlı hücre sayılarında azalma görülmüştür. Ayrıca resveratrol+S-equal+D vitamini karışımının akış sitometrisi sonucunda HT29 hücre hattında, apoptoz değerinde artış gözlemlenir iken, nekroz değerinde artış olmamıştır.

Sonuç: Equol ve resveratrol yüksek antiproliferatif etkiye sahiptir, D vitamini ile kombinleri sonucu etkinliklerinin arttığı görülmektedir. İlgili koruyucu mekanizmaların daha iyi anlaşılması ve tıpta olası uygulamalarda güvenli kullanımları için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: resveratrol, s-equal, d vitamini, kanser Çalışmamız, İ.Ü BAP Birimi tarafından THZ-2016-23447 nolu proje ile desteklenmiştir. Proje Adı: Equol Resveratrol ve D Vitaminin Kolon Kanseri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

PP11: INVESTIGATION OF EFFECT RESVERATROL, EQUOL AND VITAMIN D ON COLON CANCER

[ETKİLİ KONFORMASYONEL ÖRNEKLEME İLE EKTO-5'-NÜKLEOTİDAZDAKİ ALLOSTERİK BAĞLANMA BÖLGELERİNİN KEŞFİ]

Fulden Ulucan KARNAK^{1,2}, Arzu UYAR^{2,3}, Sevcan ATAY¹, Ferhan GIRGIN SAGIN¹

¹Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry İzmir, Türkiye

²İzmir Institute of Technology, Faculty of Engineering, Department of Bioengineering, İzmir, Türkiye

³İzmir Institute of Technology, Computational Science and Engineering Program, İzmir, Türkiye

Objectives: Ecto-5'-nucleotidase, sometimes referred to as 5'-nucleotidase or CD73, is a homo-dimeric enzyme that is produced in humans by the NT5E gene. The function of CD73 is to catalyze the conversion of AMP to adenosine. CD73 is a key regulator of cancer cell proliferation, migration, and invasion *in vitro*, as well as tumor angiogenesis and tumor immune invasion *in vivo*. The aim of this study is to identify potential allosteric binding sites of CD73 by efficient conformational sampling for further drug discovery studies.

Materials-Methods: The ClustENMD, which is an unbiased conformational sampling method, was used to create ensembles of 300 conformers for the open and closed CD73. 14 conformers out of those, which are conformationally different (RMSD > 1 Å) than the initial states, were chosen. Then, Essential Site Scanning Analysis (ESSA) was performed for each conformer. ESSA considers residue side-chains to explore ligand binding effect on protein dynamics. The essential residues have the highest scores vice versa.

Results: The ESSA analysis of two CD73 states pointed out some residues at the top and bottom of the dimer interface with moderate essentiality scores, which constitute two different regions. However, more pronounced essentiality (high scores) for those residues were obtained from the ESSA analysis of 14 different CD73 conformers.

Conclusions: These computational results strengthen the possibility that these two regions might be potential allosteric sites. Further evaluation for the rest of the conformers would provide insight into further *in vitro* and *in vivo* studies for drug discovery against cancer.

Keywords: CD73, allosteric binding sites, conformational sampling, cancer

This study was supported by the İYTE AÜDP BAP project with code 2022İYTE-3-0041.

Amaç: Bazen 5'-nükleotidaz veya CD73 olarak da adlandırılan ekto-5'-nükleotidaz, insanlarda NT5E geni tarafından üretilen homo-dimerik bir enzimdir. CD73'ün işlevi AMP'nin adenoze dönüşümünü katalize etmektedir. CD73, *in vitro* kanser hücresi çoğalması, göçü ve istilasının yanı sıra *in vivo* tümör anjiyogenezi ve tümör immün istilasının ana düzenleyicisidir. Bu çalışmanın amacı, daha ileri ilaç keşif çalışmaları için etkili konformasyonel örneklem yoluyla CD73'ün potansiyel allosterik bağlanma bölgelerini belirlemektir.

Gereç-Yöntem: Açık ve kapalı CD73 için 300 adet konformerden (yapıdan) oluşan topluluklar oluşturmak amacıyla tarafsız bir konformasyonel örneklem yöntemi olan ClustENMD kullanılmıştır. Allosterik bölge araştırması için konformasyonel olarak başlangıç yapılarından farklı (RMSD > 1 Å) olanlardan 14 konformer seçilmiştir. Bu yapılara ligand bağlama etkisini araştırmak amacıyla amino asit yan zincirlerini dikkate alan Temel Bölge Tarama Analizi (ESSA) yapılmıştır. Dinamiği en çok etkileyen amino asitler en yüksek puana sahipken; en az etkileyenler ise en düşük puana sahiptir.

Bulgular: Açık ve kapalı CD73'e ait ESSA analizi, dimer ara yüzünün üstünde ve altında olmak üzere iki farklı bölgeyi oluşturan, orta derecede önemlilik skorlarına sahip bazı amino asitlere işaret etmektedir. Bununla birlikte, bu amino asitler için daha belirgin önemlilik değeri (yüksek skor), 14 farklı CD73 konformerin ESSA analizinden elde edilmiştir.

Sonuçlar: Bu Sonuçlar, bu iki bölgenin potansiyel allosterik bölge olma olasılığını güçlendirmektedir. Konformerlerin geri kalanı için daha fazla değerlendirme yapılması, kansere karşı ilaç keşfi için daha ileri *in vitro* ve *in vivo* çalışmalara ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: CD73, allosterik bağlanma bölgeleri, konformasyonel örneklem, kanser

Bu çalışma 2022İYTE-3-0041 kodlu İYTE AÜDP BAP projesi tarafından desteklenmiştir.

PP12: TRIMETHYLAMINE-N-OXIDE AS A PROGNOSTIC BIOMARKER FOR COVID-19-RELATED MORTALITY

[COVID-19 İLE İLİŞKİLİ MORTALİTE İÇİN PROGNOSTİK BİR BİYOBELİRTEÇ OLARAK TRİMETİLAMİN-N-OKSİT]

Zinnet Sevval AKSOYALP¹; Betül Rabia ERDOĞAN¹; **Saliha AKSUN²**; Melih Kaan SOZMEN³; Murat AKSUN⁴; Cüneyt Kemal BUHARALIOĞLU¹; Nagihan ALTINCI KARAHAN⁵; Nergiz Hacer TURGUT¹; Tijen KAYA TEMİZ⁶

¹Izmir Katip Celebi University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology, Izmir, Türkiye

²Izmir Katip Celebi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Izmir, Türkiye

³Izmir Katip Celebi University, Faculty of Medicine, Department of Public Health, Izmir, Türkiye

⁴Izmir Katip Celebi University, Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, Izmir, Türkiye

⁵Izmir Atatürk Training and Research Hospital, Department of Anesthesiology and Reanimation, Izmir, Türkiye

⁶Izmir Katip Celebi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology, Izmir, Türkiye

Objectives: Our primary aim was to investigate whether serum trimethylamine N-oxide (TMAO), a cardiac biomarker, is a prognostic biomarker for mortality in COVID-19 patients. Our secondary aim is the evaluation of other potential COVID-19 related parameters as predictors of COVID-19 prognosis.

Materials-Methods: COVID-19 patients prospectively included in the study were classified as death patients (group 1, n = 25) or discharged patients (group 2, n = 37). Demographic, clinical and laboratory data of COVID-19 patients were collected. TMAO, ACE2, and vitamin D levels were determined on the days of hospital admission and death/discharge. Results are presented with odds ratios (OR), 95% confidence intervals (CI). To determine cut-off values for biomarkers, ROC analysis was performed and areas under the curve were calculated.

Results: Serum TMAO and ACE2 levels and neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) determined on the day of hospital admission were found to be significantly higher in group 1. Among these parameters, serum TMAO level and NLR were determined as prognostic variables for mortality due to COVID-19. The optimum threshold value was found to be 7.9 ng/ml for TMAO and 19.41 for NLR.

Conclusions: Serum TMAO levels and NLR may be prognostic biomarkers for predicting mortality in the early stages of COVID-19.

Keywords: prognosis, COVID-19, mortality, biomarker, inflammation

Amaç: Primer amacımız bir kardiyak biyobelirteç olan serum trimetilamin-N-oksidin (TMAO) COVID-19 mortalitesi için bir prognostik biyobelirteç olup olmadığını araştırmaktır. Sekonder amacımız, COVID-19 prognozunu öngörücüleri olarak diğer potansiyel COVID-19 ile ilgili parametreleri değerlendirmektir.

Gereç-Yöntem: Prospektif olarak çalışmaya dahil edilen COVID-19 hastaları ölen hastalar (grup 1, n=25) veya taburcu olan hastalar (grup 2, n=37) olarak sınıflandırılmıştır. COVID-19 hastalarının demografik, klinik ve laboratuvar verileri toplanmıştır. Hastaneye başvuru ve ölüm/taburcu günlerinde TMAO, ACE2, ve D vitamini düzeyleri saptanmıştır. **Sonuçlar** olasılık oranları (OR), %95 güven aralıkları (CI) şeklinde verilmiştir. Biyobelirteçlere yönelik eşik değerlerini belirlemek için ROC analizi yapılmış ve eğri altındaki alanlar hesaplanmıştır.

Bulgular: Hastaneye başvuru gününde belirlenen serum TMAO ve ACE2 düzeyleri ile nötrofil/lenfosit oranı (NLR) grup 1'de anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu parametrelerden serum TMAO düzeyi ve NLR, COVID-19'a bağlı mortalite açısından prognostik değişkenler olarak belirlenmiştir. Optimum eşik değeri TMAO için 7,9 ng/ml ve NLR için 19,41 bulunmuştur.

Sonuç: Serum TMAO seviyeleri ve NLR, COVID-19'un erken evresinde mortaliteyi tahmin etmede bağımsız biyobelirteçler olabilir.

Anahtar Kelimeler: inflamasyon, mortalite, biyobelirteç, prognoz, COVID-19

PP13: ANIMAL MODELS FOR BONE METABOLISM [KEMİK METABOLİZMASI HAYVAN MODELLERİ]

Burcu ESER¹, Sahra Setenay BARAN², **Aylin SEPICI DİNCEL²**

¹University of Health Sciences, Gulhane Health Sciences Institute, R&D Center Directorate UPKYB-Chromatography Laboratory, Ankara, Türkiye

²Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara, Türkiye

Objectives: Considering the numerous factors involved in bone metabolism-related diseases, unclear pathogenesis, dramatic decrease in human quality of life, financial cost, and high mortality rate, preclinical modeling is needed for biomarker and therapeutic agent studies in these diseases. In research, animal models that mimic pathological conditions examine disease states, test hypotheses, and develop new effective treatments.

Materials-Methods: Models used in diseases related to bone metabolism can be divided into traumatic defect models and biologically induced models (osteoporosis and non-

VIII. Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models

osteoporosis models). The osteoporosis model is frequently studied due to its widespread occurrence today. The rabbit model, in which ovariectomy and its combinations are applied, is considered suitable due to its dimensions, showing haversian remodeling compatible with humans, closure of the epiphyseal plate, and having a faster bone turnover than rodents and primates. Another model is the rheumatoid arthritis (RA) model. It is thought that various pro-inflammatory cytokines that play a role in the pathogenesis of RA cause bone loss by disrupting the balance between osteoblasts and osteoclasts, and it is known that the risk of fracture increases due to bone loss. Modeling includes models of surgery, infectious and reactive arthritis, non-specific inflammatory stimuli and immune reactions, and genetically modified spontaneous arthritis. Our study was carried out in rabbits by intra-articular ovalbumin-Freund's complete adjuvant application.

Results: The osteoporosis model was confirmed by dual-energy X-ray absorptiometry and micro-CT measurement, and the RA model was confirmed by ultrasound.

Conclusions: Preclinical effects must be demonstrated in animal species before clinical studies. Improving existing models or discovering new models that can more realistically mimic bone diseases will significantly contribute to understanding the mechanisms underlying these diseases.

Keywords: animal models, osteoporosis, rheumatoid arthritis, bone

Amaç: Kemik metabolizması ile ilişkili hastalıklarda sürece dahil olan çok sayıda faktör, belirsiz patogenezi, insan yaşam kalitesindeki dramatik düşüş, finansal maliyet ve yüksek ölüm oranı dikkate alındığında, bu hastalıklarda biyobelirteç ve terapötik ajan çalışmaları için prelinik modellemelere ihtiyaç duyulmaktadır. Araştırmalarda hastalık durumlarının incelenmesi, bu amaca yönelik hipotezlerin test edilmesi ve yeni etkin tedavilerin geliştirmesi amacıyla patolojik koşulları taklit edebilen hayvan modelleri kullanılmaktadır.

Gereç-Yöntem: Kemik metabolizması ile ilişkili hastalıklarda kullanılan modeller travmatik defekt modelleri ve biyolojik olarak indüklenen modeller (osteoporoz ve osteoporoz dışı modeller) olarak ikiye ayrılabilir. Günümüzde yaygın olarak görülmesi sebebiyle osteoporoz modeli sık çalışmakta, ovariectomy ve kombinasyonları uygulanan tavşan modeli boyutlarından, insan ile uyumlu haversian yeniden şekillenmesi göstermesinden, epifiz plağının kapanmasından ve kemirgen ve primatlardan daha hızlı kemik döngüsüne sahip olması nedeniyle uygun model olarak kabul edilmektedir. Diğer bir model ise romatoid artrit (RA) modelidir. RA patogenezinde rol oynayan çeşitli pro-inflamatuvar sitokinlerin osteoblastlar ve osteoklastlar arasındaki dengeyi bozarak kemik kaybına yol açtığı düşünülmekte ve kemik kaybına bağlı olarak kırık riskinin de arttığı bilinmektedir. Modellemede cerrahi, enfeksiyöz ve reaktif artrit, özgül olmayan inflamatuvar uyarıcılar ve bağışıklık reaksiyonları ve genetiği değiştirilmiş spontan

artrit modelleri bulunmaktadır. Çalışmamız, tavşanlarda diz eklem içi ovalbümin- Freund's complete adjuvant uygulaması yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Osteoporoz modeli dual enerji X-ışını absorptiometresi ve mikro-CT ölçümü ile, RA modeli ise ultrason ile doğrulanmıştır.

Sonuç: Klinik çalışmalardan önce hayvan türlerinde prelinik etkilerin gösterilmesi gerekmektedir. Mevcut modellerin iyileştirilmesi veya daha gerçekçi bir biçimde kemik hastalıklarını taklit edebilecek yeni modellerin keşfedilmesi, bu hastalıkların altında yatan mekanizmaları anlama çabalarına önemli bir katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Deney hayvanı modelleri, osteoporoz, romatoid artrit, kemik

PP15: APPROACH TO CSF TOTAL PROTEIN TESTING: THE IMPORTANCE OF A PATIENT-SPECIFIC REACTION MONITOR

[BOS TOTAL PROTEİN TESTİNE YAKLAŞIM: HASTAYA ÖZGÜ REAKSİYON GRAFİĞİNİN ÖNEMİ]

Hasan Alp TURGUT, Hacer DOĞAN, Duygu DOĞAN, Mehmet SENES

Health Science University, Ankara Training and Research Hospital, Medical Biochemistry, Ankara, Türkiye

Objectives: Cerebrospinal fluid total protein (CSF-TP) measurement is used to diagnose and follow up on central nervous system diseases (such as multiple sclerosis, infections, and brain tumours). Our aim in this study is to present the appropriate approach to give accurate **Results** in the CSF-TP test.

Materials-Methods: CSF-TP (N=312) was measured with the turbidimetric method on the Roche Cobas 6000 analyser. Among the samples that were decided to be reanalysed during test approval (N=43), samples whose first measurement result was above the measurement limit (>2000 mg/L) were excluded (N=9). The per cent changes between the two measurements of result <450 mg/L (N=7) and 450-2000mg/L (N=27) were calculated, and individual-specific test reaction monitors were evaluated.

Results: Out of the 34 samples reanalysed, a change of >10% was observed in 13 samples in the CSF-TP measurement results. In 3 of the six samples with a ≥90% change in the result (4.1 mg/L, 20.2 mg/L, 99.4 mg/L), there was no flag on the analyser, and different results were obtained in repeated analyses (630.3 mg/L, 197.8 mg/L, 1250.2 mg/L respectively). While the initial results of the other three samples were 649 mg/L, 637 mg/L, and 1140 mg/L, the dilution performed due to irregularities detected in the test reaction monitors and different results were obtained (6793

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models

mg/L, 7072 mg/L, 2626 mg/L, respectively).

Conclusions: In order to give accurate results in the CSF-TP test and to avoid unnecessary repetition of tests, the measurement result should be given after evaluating the patient-specific test reaction monitor.

Keywords: postanalytical phase, csf total protein, reaction monitor

Amaç: Beyin omurilik sıvısında (BOS) total protein ölçümü, merkezi sinir sistemi hastalıklarının (multiple skleroz, enfeksiyonları, beyin tümörleri gibi) tanı ve takibinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada amacımız, BOS total protein testinde doğru sonuç vermek için uygun yaklaşımı sunmaktır.

Gereç-Yöntem: Hastanemizde 1.08.2023 – 20.11.2023 tarihleri arasında BOS total protein istemi yapılan (N=312) numuneler Roche Cobas 6000 analizöründe turbidimetrik yöntemle ölçüldü. Test onayı sırasında tekrar çalışılmasına karar verilen numunelerden (N=43), ilk ölçüm sonucu kit prospektusunda belirtilen ölçüm aralığının üzerinde olan (>2000 mg/L) numuneler dışlandı(N=9). İlk ölçüm sonucu <450 mg/L (N=7) ve 450-2000mg/L (N=27) olan numunelerin 2 ölçüm arasındaki yüzde değişimleri hesaplandı ve bireye özgü test reaksiyon grafikleri değerlendirildi.

Bulgular: Tekrar çalışılan 34 numuneden 13'ünde BOS proteini ölçüm sonucundaki değişim > %10 idi. Sonuç değerinde $\geq$ %90 değişim görülen 6 numunenin 3'ünde (4.1 mg/L, 20.2 mg/L, 99.4 mg/L) cihazda herhangi bir uyarı yoktu ve test tekrarlarında farklı sonuçlar elde edildi (sırasıyla 630.3 mg/L, 197.8 mg/L, 1250.2 mg/L). Diğer 3 numunenin ilk sonuçları 649 mg/L, 637 mg/L, 1140 mg/L iken test reaksiyon grafiklerinde tespit edilen düzensizlikler nedeniyle gerçekleştirilen dilüsyonlu tekrarları sırasıyla 6793 mg/L, 7072 mg/L, 2626 mg/L idi.

Sonuç: BOS total protein testinde doğru sonuç vermek ve gereksiz test tekrarından kaçınmak için ölçüm sonucunun, hastaya özgü test reaksiyon grafiğini değerlendirdikten sonra verilmesi önemlidir.

Anahtar Kelimeler: postanalitik evre, bos total protein, reaksiyon grafiği

PP16: WHAT DO THE CONSEQUENTIAL AND POSITIVE CANNABINOID MEASUREMENT RESULTS IN DRUG SCREENINGS MEAN? NEW USE OR A RESULT OF PREVIOUS USE?

[UYUŞTURUCU MADDE TARAMALARINDA ARDIŞIK ÖLÇÜLEN VE POZİTİF GELEN KANNABİNOİD ÖLÇÜM SONUÇLARI NE İFADE EDER? YENİ KULLANIM MI, YOKSA ÖNCEKİ KULLANIMIN ARTIĞI MI?]

Naz KOCOĞLU, Mehmet SENES

Health Science University, Ankara Training and Research Hospital, Medical Biochemistry, Ankara, Türkiye

Objectives: The question of whether a positive urine result for cannabinoids (tetrahydrocannabinol; THC) in drug screenings is due to the presence of residual metabolites from previous use or stems from a new use between monitoring periods is a significant matter. In our study, we investigate whether the positivity is due to reuse or residual product in individuals with two consecutive positive THC urine results.

Materials-Methods: Data from 36 urine samples were examined retrospectively from 18 individuals with positive THC results (≥ 15 ng/mL) in two consecutive urine tests (time interval between tests ≤ 96 hours) obtained. THC values were measured with LC*MS/MS method (SCIEX Triple Quad 5500). In order to obtain normalized THC values, urinary creatinine levels were measured using the Jaffe method with the Beckman Coulter AU480 analyser. Ratios were calculated by dividing the normalized THC/creatinine ratio of the second urine sample (U2) by the ratio of the first urine sample (U1) for each individual. This ratio (U2/U1) was evaluated according to two separate decision limits.

Results: Data were compared against the recommended U2/U1 threshold (0.5 ng/mg) and time-specific thresholds to predict new use. According to the first decision limit, 12 of 18 patients (66%) exceeded the 0.5 threshold value. They were considered new use, while according to the second decision limit, 10 of 18 patients (55%) exceeded the threshold values.

Conclusions: The data was examined based on the proposed U2/U1 threshold value of 0.5 ng/mg and time-dependent threshold values for predicting new usage. Time-dependent decision thresholds may be crucial in detecting residual metabolites.

Keywords: thc, cannabinoid/creatinine ratio, lc-ms/ms

Amaç: Uyuşturucu madde taramalarında pozitif idrar kannabinoid (tetrahidrokannabinol; THC) sonucunun, önceki kullanımdan kalan artık bir metabolit nedeniyle mi yoksa takipler arasında yeni bir kullanım sebebiyle mi olduğu önemli bir konudur. Çalışmamızda, pozitif THC idrar sonucu bulunan bireylerin ikinci örneklerinin de pozitif gelmesi üzerine bu pozitifliğin tekrar kullanıma mı, yoksa artık ürüne

VIII. Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models

mi bağlı olduğunu araştırılmaktadır.

Gereç- Yöntem: Laboratuvar Bilgi Yönetim Sistemi'nden (LBYS) retrospektif olarak ardışık iki (testler arasındaki süre ≤ 96 saat) idrar testinde THC sonucu pozitif gelen (≥ 15 ng/mL) 18 bireyden elde edilen 36 idrar numunesi verileri incelendi. THC değerleri SCIEX Triple Quad 5500+ LC-MS/MS cihazı ile ölçüldü. Normalize THC değeri elde edebilmek için, idrarda kreatinin, Beckman coulter AU480 cihazı ile Jaffe yöntemi kullanılarak ölçüldü. Her birey için 2. idrar örneğinin normalize edilmiş kannabinoid/kreatinin (U2) oranı 1. idrar örneği oranına (U1) bölünerek değerler hesaplandı. Normalize edilen idrar kannabinoid düzeyleri arasındaki oran (U2/U1) iki ayrı karar sınırına göre değerlendirildi.

Bulgular: Yeni kullanımı öngörmek için önerilen U2/U1 eşik değeri 0.5 ng/mg için veriler karşılaştırıldı. Daha sonra zamana özgü eşik değerlere (2 örnek arasında geçen süre zarfına göre belirlenen) göre veriler değerlendirildi. İlk karar sınırına göre 18 hastanın 12'si (%66) 0.5 eşik değerini aşmış olup yeni kullanım olduğu yönünde değerlendirilirken, ikinci karar sınırlarına göre 18 bireyin 10'u (%55) eşik değerlerini aşmıştır.

Sonuç: Bağımlı bireylerde pozitif gelen ardışık iki idrar THC sonuçlarının her zaman yeni kullanıma işaret etmeyeceği, karar sınırları doğrultusunda önceki kullanımdan kalan artık metabolit ihtimalinin olabileceği akıldaki tutulmalıdır. Zamana özgü karar sınırlarının (iki idrar örneği alımı arasındaki zaman farkı gibi) kullanılmasının artık metabolit tespitinde önemli olabileceği akıldaki tutulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: thc, thc/kreatinin oranı, lc-ms/ms

PP17: FREQUENCY OF PREGABALIN AND GABAPENTIN MISUSE IN PATIENTS WITH A HISTORY OF DRUG USE

[MADDE KULLANIM ÖYKÜSÜ OLAN HASTALARDA PREGABALİN VE GABAPENTİNİN KÖTÜYE KULLANIM SIKLIĞI]

İbrahim YANGIN, Ozge YAKAR, Sukran ARMAGAN BİCAKCI, Mehmet SENES

Health Science University, Ankara Training and Research Hospital, Medical Biochemistry, Ankara, Türkiye

Objectives: Gabapentinoids, gabapentine and pregabalin are addictive drugs which are widely used in the treatment of pain disorders, migraines, and some forms of epilepsy. This study aimed to investigate the frequency of gabapentine and pregabalin misuse in probation patients at the Alcohol and Substance Addictions Treatment Center (AMATEM) affiliated with our hospital.

Materials-Methods: Urine toxicology results of patients who applied to Ankara Training and Research Hospital AMATEM outpatient clinic between August and November

2023 were retrospectively examined. Patients were classified according to their use of pregabalin, gabapentine alone and other substances (amphetamine, methamphetamine, cocaine, cannabinoid, opiate and metabolites) (double, triple and $\geq$ quadruple use). Urine toxicology analyzes of the patients were performed with SCIEX QTRAP® 5500 triple quadrupole mass spectrometer (Massachusetts, USA) (LCMS/MS).

Results: Drug positivity was detected in 1003 (37.4%) of 2677 probation patients who applied to the AMATEM outpatient clinic in a 3-month period. When patients with positive test results were examined, the positivity rates for pregabalin and gabapentine alone were 21.5% and 2.3%, respectively. In addition, double, triple and $\geq$ quadruple substance use were 23.5%, 8.2% and 1.3%, respectively.

Conclusion: This study showed that gabapentinoid misuse was high in our patient population, with pregabalin being misuse is most. Evidence suggests that gabapentinoid misuse/abuse represents a growing trend that is causing significant patient harm. Prescribers should exercise appropriate caution with use in high-risk populations and monitor for signs of misuse or abuse.

Keywords: gabapentine, pregabalin, misuse

Amaç: Gabapentinoidlerden, gabapentin ve pregabalin, ağrı bozukluklarının, migren ve bazı epilepsi formlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan bağımlılık yapıcı ilaçlardır. Bu çalışmada hastanemize bağlı Alkol ve Madde Bağımlılıkları Tedavi Merkezi (AMATEM) denetimli serbestlik hastalarında gabapentin ve pregabalin kötüye kullanım sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Ağustos-Kasım 2023 tarihleri arasında Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi AMATEM polikliniğine başvuran hastaların idrar toksikoloji sonuçları retrospektif olarak incelendi. Hastalar tek başına pregabalin, gabapentin ve bunlarla birlikte diğer madde (amfetamin, metamfetamin, kokain, kannabinoid, opiat ve metabolitleri) kullanımlarına göre (ikili, üçlü ve $\geq$ dördümlü kullanım) sınıflandırıldı. Hastaların idrar toksikoloji analizleri SCIEX QTRAP® 5500 triple kuadropol kütle spektrometresi (Massachusetts, ABD) (LCMS/MS) ile gerçekleştirildi.

Bulgular: AMATEM polikliniğine 3 aylık dönemde başvuran 2677 denetimli serbestlik hastasının 1003'ünde (%37,4) madde pozitifliği saptandı. Test sonucu pozitif hastalar incelendiğinde tek başına pregabalin ve gabapentin pozitiflikleri sırası ile %21.5 ve %2.3 idi. Bunların yanında ikili, üçlü ve $\geq$ dördümlü madde kullanımı sırası ile %23.5, %8.2 ve %1.3 idi.

Sonuç: Bu çalışma gabapentinoid kötüye kullanımının bizim hasta popülasyonumuzda yüksek olduğunu ve en fazla

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models

pregabalinin kötüye kullanıldığını göstermiştir. Kanıtlar, gabapentinoid kötüye kullanımının/istismarının, hastaya ciddi zarar veren, büyüyen bir eğilimi temsil ettiğini göstermektedir. Reçeteyi yazanlar, yüksek riskli popülasyonlarda kullanımda uygun dikkati göstermeli ve yanlış kullanım veya suistimal belirtilerini izlemelidir.

Anahtar Kelimeler: gabapentin, pregabalin, kötüye kullanım

PP18: THE ROLE OF DOXORUBICIN-LOADED MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE TREATMENT OF ANAPLASTIC THYROID CANCER [DOKSORUBİSİN YÜKLÜ MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN ANAPLASTİK TİROİD KANSERİ TEDAVİSİNDEKİ ROLÜ]

Ozlem SILISTRELİ¹, Hilal KOCDOR¹, **Arzu YILDIRIM¹**, Ezel BILDIK¹, Halil ATEŞ², Erdem Erinc SILISTRELİ³, Mehmet Ali KOCDOR⁴

¹Dokuz Eylul University, Oncology Institute, Department of Basic Oncology, Izmir, Turkey

²Dokuz Eylul University, Oncology Institute, Department of Clinical Oncology, Izmir, Turkey

³Dokuz Eylul University, Faculty of Medicine, Department of Cardiovascular Surgery, Izmir, Turkey

⁴Dokuz Eylul University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Izmir, Turkey

Objectives: It was aimed to show that MSCs can be used as drug delivery vectors by loading Doxorubicin (DOX), which is used as a standard chemotherapeutic agent in the clinic in Anaplastic Thyroid Cancer Treatment, into mesenchymal stem cells (MSCs) obtained from adipose tissue.

Material-Methods: MSCs were obtained from healthy obese lipoaspirate with consent. Isolated MSCs were confirmed by Flow cytometry. Doxorubicin (DOX) IC₅₀ and IC₂₅ concentrations in CAL-62 (Anaplastic Thyroid Cancer-ATC) cell line were determined by the MTT method. After DOX was loaded into MSCs with these doses, the MSCs were called Conditioned Medium (CM). Wound Healing analysis was performed to evaluate the effect of CM on migration and metastasis. Oxidative Stress Index (OSI), MDH, GDH and NADP/IDH values were examined in cell homogenates.

Results: In our study conducted using conditioned media, MSCs were proven by confirming CD73⁺, CD90⁺ and CD105⁺ in the analysis performed by flow cytometry method; In the Wound Healing Analysis, the wound opening percentage of CM₅₀ and CM₂₅ according to the closure time in the Control and DOX₅₀ groups is 37.7% and 23.1%, respectively. When OSI is evaluated; A statistically significant difference was detected between the control group and other groups (p <0.005). When MDH and NADP/IDH were evaluated, a statistically significant difference was observed between the Control group and the other groups

(p<0.005). However, no statistically significant difference was found in GDH values.

Conclusions: It was observed that CM groups obtained by loading DOX on MSCs reduced the migration rate in ATC cells compared to DOX groups. When the effectiveness of CM₅₀ and CM₂₅ doses were compared between the groups, it was understood that there was no statistical difference. When energy metabolism data is evaluated; It was thought that MDH activity increased in the treatment groups and NADP/IDH changes were used in MDH production to achieve this increase. In the analyses; It was observed that MSCs could be loaded with drugs and reached the effectiveness of standard chemotherapeutics at lower doses. In the later stages of the study, a 3D spheroid model will be made to evaluate the tumorigenesis capacity of the conditioned medium. The analyzes will be examined and compared in another ATK cell line, 8505C.

Keywords: Adipose Tissue, Mesenchymal Stem Cell, Anaplastic Thyroid Cancer

Amaç: Adipoz dokudan elde edilen mezenkimal kök hücrelere (MSC), Anaplastik Tiroid Kanseri Tedavişi'nde klinikte standart kemoterapötik ajan olarak kullanılan Doksorubisin'in (DOX) yüklenmesi sağlanarak, MSC'lerin ilaç dağıtım vektörleri olarak kullanılabileceğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: MSC'ler sağlıklı obez lipoaspiratından onay alınarak elde edildi. İzole edilmiş MSC'ler Flow sitometri ile doğrulandı. CAL-62 (Anaplastik Tiroid Kanseri-ATK) hücre hattında Doksorubisin (DOX) IC₅₀ ve IC₂₅ konsantrasyonları MTT yöntemiyle belirlendi. DOX bu dozlarla MSC'lere yüklendikten sonra MSC'lere Koşullu Ortam (CM) adı verildi. CM'nin migrasyon ve metastaz üzerindeki etkisini değerlendirmek için Yara İyileşmesi analizi yapıldı. Hücre homojenatlarında Oksidatif Stres İndeksi (OSI), MDH, GDH ve NADP/IDH değerleri incelendi.

Sonuç: Akım Sitometri yöntemle gerçekleştirilen analizde CD73⁺, CD90⁺ ve CD105⁺ doğrulanarak MSC'lerin kanıtlandığı koşullu ortam kullanılarak yapılan çalışmamızda; Yara İyileşme Analizinde Kontrol ve DOX₅₀ gruplarında kapanma zamanına göre CM₅₀ ve CM₂₅'in yara açıklığı yüzdesi sırasıyla %37,7 ve %23,1'dir. OSI değerlendirildiğinde; Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (p<0,005). MDH, NADP/IDH değerlendirildiğinde Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi (p<0,005). Ancak GDH değerlerinde istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı.

Tartışma: MSC'lere DOX yüklenerek elde edilen CM gruplarının, DOX gruplarına göre ATC hücrelerindeki göç oranını azalttığı gözlemlendi. CM₅₀ ve CM₂₅ dozlarının etkinliği gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark olmadığı anlaşıldı. Enerji metabolizması verileri

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models

değerlendirildiğinde; tedavi gruplarında MDH aktivitesinin arttığı, NADP/IDH değişimlerinin bu artışı sağlamak için MDH üretiminde kullanıldığı düşünüldü. Yapılan analizlerde; MSC'lere ilaç yüklenebildiği ve daha düşük dozlarda, standart kemoterapötiklerin etkinliğine ulaştığı gözlemlendi. Çalışmanın sonraki aşamalarında koşullu ortamın tümörögenез kapasitesini değerlendirmek için 3D sferoid model yapılacaktır. Yapılan analizler diğer bir ATK hücre hattı olan 8505C'de de incelenerek karşılaştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Adipoz Doku, Mezenkimal Kök Hücre, Anaplastik Tiroid Kanseri