HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

LİPİT ARAŞTIRMA GRUBU (HÜLİPAG)

IV. LİPİT ARAŞTIRMALARI ÇALIŞTAYI

BİLDİRİ ÖZET KİTABI

27 Kasım 2020

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
LİPİT ARAŞTIRMA GRUBU (HÜLİPAG)

TÜBİTAK destekli

IV. LİPİT ARAŞTIRMALARI ÇALIŞTAYI

Hastalıkta ve Sağlıkta Lipitler

Sanal Toplantı - 27 Kasım 2020

KONUŞMACILAR

Asuman ÖZKARA

Volkan SEYRANTEPE

Mutay ASLAN

Devrim GÖZÜAÇIK

Hatice Mehtap KUTLU

Sreeparna BANARJEE

Güneş ÖZHAN

İpek EROĞLU

Ercan SARUHAN

Besim ÖĞRETMEN

Düzenleme Kurulu

Yeşim Öztaş
Mutay Aslan
Suna Sabuncuoğlu
Gökçe Alp

İletişim: hulipag@hacettepe.edu.tr, Daha fazla bilgi için: www.hulipag.hacettepe.edu.tr

Düzenleme Kurulu

Doç. Dr. Yeşim Er Öztaş, Hacettepe Üniversitesi (Başkan)

Prof. Dr. Mutay Aslan, Akdeniz Üniversitesi

Doç. Dr. Suna Sabuncuoğlu, Hacettepe Üniversitesi

Dr. Gökçe Alp, Hacettepe Üniversitesi

Bilim Kurulu Üyeleri

Prof. Dr. Mutay Aslan, Akdeniz Üniversitesi

Prof. Dr. Yasemin Balaban, Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Sreeparna Banerjee, Ortadoğu Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Devrim Gözüaçık, Sabancı Üniversitesi

Prof. Dr. Hatice Mehtap Kutlu, Eskişehir Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. İncilay Lay, Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Asuman Özkara, Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Volkan Seyrantepe, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü

Doç. Dr. Yeşim Er Öztaş, Hacettepe Üniversitesi

Doç. Dr. Güneş Özhan, Dokuz Eylül Üniversitesi

Doç. Dr. Suna Sabuncuoğlu, Hacettepe Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. İpek Boşgelmez, Erciyes Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Başak Çeltikçi, Hacettepe Üniversitesi

TÜBİTAK Destekli

IV. LİPİT ARAŞTIRMALARI ÇALIŞTAYI

'Hastalıkta ve Sağlıkta Lipitler'

27 Kasım 2020, Hacettepe Üniversitesi Ev Sahipliğinde-Uzaktan Erişimli

9.00-9.15	Açılış Konuşmaları
9.15-10.30	**1. Oturum: Hastalıkta ve Sağlıkta Lipitler-I**
Oturum Başkanı: Asuman Özkara, Hacettepe Üniversitesi	
9.15-9.40	*Glikosfingolipitler, Hastalıkları ve Patogenez Mekanizmaları*, Asuman Özkara, Hacettepe Üniversitesi
9.40-10.05	*Tay-Sachs Hastalığı Fare Modelinde 'Shotgun' Lipid Analizi*, Volkan Seyrantepe, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü
10.05-10.30	*Deneysel ER Stresi Modelinde Karaciğer-Böbrek Fonksiyonları, Sfingolipid Düzeyleri Ve Enflamasyon*, Mutay Aslan, Akdeniz Üniversitesi
10.30-10.45	*ARA*
10.45-12.00	**2. Oturum: Hastalıkta ve Sağlıkta Lipitler-II**
Oturum Başkanı: Mutay Aslan, Akdeniz Üniversitesi	
10.45-11.10	*Otofaji Ve Kanser*, Devrim Gözüaçık, Koç Üniversitesi
11.10-11.35	*Sağlıkta Ve Hastalıkta Plazma Membranı Lipitlerinin Wnt/ß-Katenin Sinyal İletimi İle Bağlantılı Rolleri*, Güneş Özhan, İzmir Uluslararası Biyotıp Ve Genom Enstitüsü
11.35-12.00	*Engineering Of Commensal Bacteria To Generate The Ketone Body Β -Hydroxybutyrate* , Sreeparna Banerjee, Ortadoğu Teknik Üniversitesi
12.00-13.00	*ÖĞLEN ARASI*
13.00-14.30	**3. Oturum: Hastalıkta ve Sağlıkta Lipitler-III**
Oturum Başkanı: Yeşim Öztaş, Hacettepe Üniversitesi	
13.00-13.25	*Bir Seramidaz Hedefli İnhibitör Olan B13 İle Yüklü Yeni Katı Lipit Nanopartiküllerin Antikanser Aktivitesi*, Hatice Mehtap Kutlu, Eskişehir Teknik Üniversitesi
13.25-13.50	*Lipozom Formülasyonları Ve Sağlık Alanında* Uygulamaları , İpek Eroğlu, Hacettepe Üniversitesi
13.50-14.15	*Gestasyonel Diyabetli Hastalarda LDL Alt Grup Analizleri*, Ercan Saruhan, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
14.15-14.30	*ARA*
14.30-15.10	**4. Oturum: Sözlü Sunumlar**
Oturum Başkanı: Suna Sabuncuoğlu, Hacettepe Üniversitesi	
14.30-14.40	*Diklofenak Toksisitesinde Böbrek Epitel Hücrelerinde Artan PUFA Düzeyleri*, Çağatay Yılmaz, Akdeniz Üniversitesi
14.40-14.50	*Retinal Pigment Epitel Hücrelerinde ER Stresinin Sfingolipid Seviyeleri Ve Apoptotik Yolaklar Üzerine Etkisi*, Tuğçe Çeker, Akdeniz Üniversitesi
14.50-15.00	*FTO Geni (Rs9939609) Polimorfizmi (T/A) İle Adipozite Ve Kan Lipid Profili Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi*, Duygu Ağagündüz, Gazi Üniversitesi
15.00-15.10	*Glutamin Yüklü Lipozomların Üretilmesi Ve Eritrositler İle Etkileşiminin İncelenmesi*, Gökçe Alp, Hacettepe Üniversitesi
15.10-15.20	*Lipidomik Yaklaşım Kullanılarak Tüberküloz Hastalığı İçin Lipid Belirteçlerinin Saptanması, Serap Şahin Bölükbaşı, Cumhuriyet Üniversitesi*
15.20-15.30	*ARA*
15.30-16.30	**Kapanış Konuşması**
	Sphingolipid metabolism and signaling in cancer therapeutics: Implications in aging, neurodegeneration, and immunotherapy, Besim Öğretmen, Medical University of South Carolina, USA

İçindekiler

Sayfa

Glikosfingolipitler, Hastalıkları ve Patogenez Mekanizmaları, Asuman Özkara 7
Tay-Sachs Hastalığı Fare Modelinde 'Shotgun' Lipidom Analizi, Volkan Seyrantepe 9
Shotgun Lipidome Analysis in Tay-Sachs Disease Mouse Mode, Volkan Seyrantepe 10
Deneysel ER Stresi Modelinde Karaciğer-Böbrek Fonksiyonları, Sfingolipid Düzeyleri Ve Enflamasyon, Mutay Aslan 11
Liver-Kidney Functions, Sphingolipid Levels and Inflammation in Experimental ER Stress Model, Mutay Aslan 12
Otofaji Ve Kanser, Devrim Gözüaçık 13
Autohagy and Cancer, Devrim Gözüaçık 14
Sağlıkta Ve Hastalıkta Plazma Membranı Lipitlerinin Wnt/ß-Katenin Sinyal İletimi İle Bağlantılı Rolleri, Güneş Özhan 15
Investigation of the Role of Plasma Membrane Lipids in Association with Wnt/ß-catenin Signaling in Health and Disease, Güneş Özhan 16
Keton Cisimciği β –Hidroksibutirat Üretimi için Komensal Bakteri Tasarımı, Sreeparna Banerjee 17
Engineering Of Commensal Bacteria To Generate The Ketone Body β -Hydroxybutyrate, Sreeparna Banerjee 18
Bir Seramidaz Hedefli İnhibitör Olan B13 İle Yüklü Yeni Katı Lipit Nanopartiküllerin Antikanser Aktivitesi, Hatice Mehtap Kutlu 19
Anti-cancer Activity of a Ceramidase-targeted Inhibitor, B13-loaded Novel Solid Lipid Nanoparticles, Hatice Mehtap Kutlu 20
Lipozom Formülasyonları Ve Sağlık Alanında Uygulamaları, İpek Eroğlu 21
Liposome Formulations and Reflections in the Field of Health, İpek Eroğlu 22
Gestasyonel Diyabetli Hastalarda LDL Alt Grup Analizleri, Ercan Saruhan 23
LDL Subfraction Analysis in Patients with Gestational Diabetes, Ercan Saruhan 24
Sphingolipid Metabolism and Signaling in Cancer Therapeutics: Implications in Aging, Neurodegeneration, and Immunotherapy, Besim Ogretmen 26
Diklofenak Toksisitesinde Böbrek Epitel Hücrelerinde Artan PUFA Düzeyleri, Çağatay Yılmaz 29
Increased PUFA Levels in Kidney Epithelial Cells in The Course of Diclofenactoxicity 30
Retinal Pigment Epitel Hücrelerinde ER Stresinin Sfingolipid Seviyeleri Ve Apoptotik Yolaklar Üzerine Etkisi, Tuğçe Çeker 31
Effect of ER Stress on Sphingolipid Levels and Apoptotic Pathways in Retinal Pigment Epithelial Cells, Tuğçe Çeker 32
FTO Geni (Rs9939609) Polimorfizmi (T/A) İle Adipozite Ve Kan Lipid Profili Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi, Duygu Ağagündüz 33
Determination of the Relationship Between FTO (rs9939609) Polymorphism (A/T) and Adiposity&Blood Lipid Profile, Duygu Ağagündüz 34
Glutamin Yüklü Lipozomların Üretilmesi Ve Eritrositler İle Etkileşiminin İncelenmesi, Gökçe Alp 35
Preparation of L-Glutamine Loaded Liposomes and Investigation of their Interactions with Erythrocytes, Gökçe Alp 36
Lipidomik Yaklaşım Kullanılarak Tüberküloz Hastalığı İçin Lipid Belirlerinin Saptanması, Serap Şahin Bölükbaşı 37
Determination Of Lipid Markers For Tuberculosis Disease Using Non-Targeted Shotgun Lipidomic Approach, Serap Şahin Bölükbaşı. 38

DAVETLİ KONUŞMA ÖZETLERİ

Glikosfingolipitler, Hastalıkları ve Patogenez Mekanizmaları

Asuman Özkara

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 06230 Ankara, Türkiye

Glikosfingolipitler, seramid molekülüne karbohidrat baş gruplarının eklenmesi ile sentezlenen karmaşık yapılı sfingolipit molekülleridir. Karbohidrat baş grubundaki ve seramidin zincir uzunluğundaki farklılıklar, glikosfingolipitlerin sayı ve çeşitlerinin çok olmasından sorumludur. Memeli hücrelerinde hücre tipine spesifik şekilde hücre zarlarının dış yaprağında bulunur ve yüzeyde karmaşık şekiller oluştururlar. Siyalik asit içeren tipleri yani gangliozidler özellikle sinir sisteminde bulunurlar. Glikosfingolipitlerin moleküler çeşitliliği sentezde görev alan birkaç enzimle sağlanır. *De novo* sentez, ER'da zara bağlı enzimlerle başlar ve Golgi'de zara bağlı enzimlerle devam eder. Yıkımları, çözünür lizozomal enzimlerle, geç endozomda endozom içinde, lizozomda ise lizozom içi veziküllerin yüzeyinde gerçekleşir. Kısa oligosakkarit yan zinciri olan glikosfingolipitlerin hidrolizi için ek olarak küçük lipit bağlayan proteinler olan sfingolipit aktivatör proteinleri gerekir.

Lizozomal enzimler veya aktivatör proteinlerdeki kalıtsal bozukluklar glikosfingolipit depo hastalıklarına (glikosfingolipidozlar) neden olur. Sentez yolundaki enzim eksiklikleri sınırlı olmasına rağmen, yıkım yolunda hemen her basamaktaki enzimin eksikliği gösterilmiştir. Glikosfingolipidozlar, X'e bağlı resesif geçen Fabry hastalığı dışında otozomal resesif kalıtılan, nadir görülen ve ilerleyici özellik gösteren hastalıklardır. Ülkemizde yaklaşık 1/21000 sıklıkta görülürler. Metabolize olmamış glikosfingolipitlerin lizozomlarda patolojik miktarda birikimi, hücrelerin balonlaşmasına, fonksiyonlarının kaybına ve sonunda hücrelerin ölümüne neden olur. Katabolik süreçler, substrat taşıyan zarların lipid bileşimi tarafından büyük ölçüde değiştirilir ve birincil depolama bileşiklerinin patolojik birikimi, ikincil depolama bileşiklerinin birikimini tetikleyebilir. Bu hastalıkların çoğunda hem merkezi sinir sisteminde, hem de iç organlara ait dokularda depolanma görülür. Bozuk proteinin düzeyi, biriken substrat miktarı, tipi ve biriktiği dokuya bağlı olarak farklı klinik fenotipler ortaya çıkar.

Glikosfingolipit depo hastalıklarında moleküler ve hücresel patoloji henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Var olan bilgilerimiz çok sınırlıdır. Bunun nedeni, hücrede biriken maddenin yol açtığı karmaşık biyokimyasal ve hücresel mekanizmalardır. Sadece lizozomlar değil, diğer hücre organelleri de etkilenir. Biriken maddeler, hücrelerde lipit trafiğinde değişikliğe, ikincil metabolitlerin birikimine, endoplazmik retikulum stresine, oksidatif stres ve serbest radikal oluşumuna, kalsiyum dengesinde değişikliğe, inflamasyona, otofaji gibi patojenik yolların aktivasyonuna yol açabilir. Primer depo edilen lipitler, diğer lipitlerin ikincil birikimini tetikleyerek klinik bulguları şiddetlendirebilir ve değiştirebilirler. Hücrede zar lipitleri, depo bileşikleri ve sfingolipit aktivatör proteinler lizozomda enzimlerin aktivitelerini düzenlerler, ancak deney tüpünde çözünür sentetik substratların hidrolizini etkileyemedikleri için, bu etkilerini sentetik substratla yapılan enzim analizi üzerinde saptamak güçtür.

Sonuç olarak, hücrede metabolizma bozukluklarının ortaya çıkmasında zar lipitlerindeki patolojik değişimlerin oluşturduğu yeni bileşim ve desenlerin rolü olabileceği düşünülmekte ve lipidomik analizlerin değeri sınırlı olduğu için lipit bileşimlerinin in situ analiz edilmesi önerilmektedir.

Glycosphingolipids, their diseases and pathogenesis mechanisms

Asuman Özkara

Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, 06230 Ankara, TURKEY

Glycosphingolipids are complex sphingolipid molecules synthesized by the addition of carbohydrate head groups to the ceramide molecule. The differences in the carbohydrate head group and the chain length of the ceramide moiety are responsible for the large number and variety of glycosphingolipid molecules. In mammalian cells, they are located on the outer leaflet of cell membranes specific to the cell type and form complex patterns on the cell surface. The sialic acid containing types, namely gangliosides, are found especially in the nervous system. The molecular diversity in glycosphingolipids is generated by a few enzymes that are involved in the synthesis. De novo synthesis starts with membrane-bound enzymes in the ER and continues with membrane-bound enzymes in the Golgi. Their degradation occurs by soluble lysosomal enzymes, on the surface of intraendosomal vesicules in the late endosome and on the surface of intralysosomal vesicles in the lysosome. For the hydrolysis of glycosphingolipids with short oligosaccharide chains, small lipid-binding glycoproteins, (sphingolipid activator proteins) are required additionally.

Inherited deficiency of lysosomal enzymes or activator proteins cause glycosphingolipid storage diseases (glycosphingolipidoses). Although the enzyme deficiencies in the synthesis pathway are limited, the enzyme deficiency in almost every step in the degradation pathway has been demonstrated. Glycosphingolipidoses are autosomal recessive inherited with the exception of Fabry which is X-linked, rare, and progressive diseases. Their frequency is approximately 1/21000 in Turkey. The accumulation of pathological amounts of non-metabolized glycosphingolipids in lysosomes causes the ballooning of the cells, loss of cell functions, and eventually the death of the cells. Catabolic processes are greatly altered by the lipid composition of substrate-containing membranes; and the pathological accumulation of primary storage compounds may trigger the accumulation of secondary storage compounds. In most of these diseases, accumulations are observed in both the central nervous system and the tissues of the internal organs. Different clinical phenotypes occur depending on the level of the defective protein, the amount and type of the substrate that is accumulated, and the tissue in which the accumulating substrate is deposited.

Molecular and cellular pathology in glycosphingolipid storage diseases has not been fully understood yet. Our existing knowledge is very limited. This is due to the complex biochemical and cellular mechanisms caused by the material that accumulates in the cell. Not only lysosomes, but other cell organelles are also affected. The substances that accumulate can cause changes in lipid trafficking inside the cells, accumulation of secondary metabolites, endoplasmic reticulum stress, oxidative stress and free radical formation, changes in calcium balance, inflammation, and activation of pathogenic pathways such as autophagy. Primary stored lipids can aggravate and alter clinical symptoms by triggering secondary accumulation of other lipids. Membrane lipids of the cell, storage compounds, and sphingolipid activator proteins regulate the activities of enzymes in the lysosome, but since they cannot affect the hydrolysis of soluble synthetic substrates in the test tube, it is difficult to detect these effects on enzyme analysis with synthetic substrates.

As a result, new compositions and patterns generated by pathological changes in membrane lipids may play a role in the misregulation of metabolism in the cell, and since the lipidomics analyses are limited value analyses of the in situ lipid composition of organelles is recommended.

Tay-Sachs Hastalığı Fare Modelinde 'Shotgun' Lipidom Analizi

Volkan Seyrantepe

İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir, Türkiye

Tay-Sachs, Hexa genindeki mutasyonlar sonucu beta-Hexosaminidaz A eksikliğine bağlı olarak merkezi sinir sistemindeki hücre lizozomlarında GM2 gangliozid birikiminin görüldüğü ve bu birikimin nörodejenerasyona sebep olduğu lizozomal bir depo hastalığıdır. Tay-Sachs hastalığı fare modeli olan $Hexa^{-/-}$ farelerden farklı olarak yaratmış olduğumuz $Hexa^{-/-}Neu3^{-/-}$ faresi erken başlangıçlı Tay-Sachs hastalarında görülen neropatolojik ve klinik anomalileri taklit etmektedir. Önceki çalışmalarda ikincil lipidlerinde merkezi sinir sisteminin işlevselliğinde rol oynadığı ve nörodejeneratif hastalıklarda lipid metabolizmasının düzenlenmesinde rol aldığı gösterilmiştir. Çalışmamızda, erken başlangıçlı Tay-Sachs hastalığı fare modelinde ikincil lipidlerin etkilerini ve lipid metabolizmasındaki olası düzensizlikleri tespit etmek amacıyla, iki beyin bölgesinde lipidom profillemesi yapılmıştır. Bu amaçla 5 aylık WT, $Hexa^{-/-}$, $Neu3^{-/-}$ ve $Hexa^{-/-}Neu3^{-/-}$ farelerin korteks ve hipokampüs bölgelerindeki gliserolipidler, gliserofosfolipidler, sfingolipidler ve sterol lipidler sınıflarındaki lipid miktarları shotgun lipidomik tekniği ile tayin edilmiştir. Analiz sonucuna göre $Hexa^{-/-}Neu3^{-/-}$ farelerde korteks ve hipokampüs bölgelerinde diğer genotiplere göre, gliserofosfolipid sınıfında bulunan LPC, LPE ve PG lipidlerinde azalış, PC ve PS lipidlerinde ise artış görülmüştür. Korteks bölgesinde seramid ve sterolipid seviyelerinde belirgin azalma tesbit edilmiştir. Sonuçlarımızla GM2 birikiminin yanında, ikinci lipidlerin erken başlangıçlı Tay-Sachs hastalığının fizyopatolojisine etki edebileceği düşünülmüştür. Ayrıca lipid metabolizmasındaki değişiklikler, hücresel yolaklarda bozulmalara sebep olabilir, otofaji bunlara örnek olarak gösterilebilir.

Bu çalışma TÜBİTAK 215Z083 no'lu proje ile fonlanmıştır.

Shotgun Lipidome Analysis in Tay-Sachs Disease Mouse Model

Volkan Seyrantepe

İzmir Institute of Technology, Dept of Molecular Biology and Genetics, İzmir, Turkey

Tay-Sachs disease is one of the lysosomal disorders caused by mutation in Hexa gene coding beta-exosaminidase A. HEXA gene deficiency affects the central nervous system owing to GM2 accumulation in lysosomes resulting in progressive neurodegeneration in the patient. Previously generated Hexa-/-Neu3-/- mice that are different from Hexa-/- mice mimic neuropathological and clinical abnormalities of early onset Tay-Sachs patients. Several studies showed that neurodegenerative diseases indicate alterations in lipid metabolism. Here, we aimed to clarify the secondary accumulation of lipids and presence of unregulated lipid metabolism in brain of early onset Tay-Sachs disease mice model by lipidome profiling. Cortex and hippocampus of 5-month-old of WT, Hexa-/-, Neu3-/- and Hexa-/-Neu3-/- mice were analyzed by mass spectrometry and lipid levels belonging to glycerolipids, glycerophospholipids, sphingolipids, sterol lipids were evaluated by using shotgun lipidomics approach. In glycerophospholipid class, high level of LPC, LPE and PG lipids while low level of PC, PS lipids were detected in cortex and hippocampus of Hexa-/-Neu3-/- mice compared to age matched control group. Significantly high levels of ceramide and sterolipid were also measured in cortex. Alterations in glycerolipid class were detected in both regions. Here we report that in addition to abnormal GM2 accumulation in lysosomes, secondary but distinct lipid alterations may also contribute to pathophysiology of early onset Tay-Sachs disease suggesting the possible dysfunctionality of cellular pathways such as autophagy.

Research was funded by TUBITAK 215Z083.

Deneysel ER Stresi Modelinde Karaciğer-Böbrek Fonksiyonları, Sfingolipid Düzeyleri ve Enflamasyon

Mutay Aslan

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Endoplazmik retikulum (ER) bozuklukları hücresel hasara yol açar ancak ER disfonksiyonu uzamışsa hücre ölümüne neden olabilir. Çalışmamızda ER stresi altındaki sıçanlarda karaciğer/böbrek fonksiyonları, nötral sfingomiyelinaz (N-SMase) enzim aktivitesi, sfingolipid düzeyleri, sitosolik fosfolipaz A2 (cPLA2) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) protein ekspresyonu araştırıldı.

Endoplazmik retikulum stresi tunikamisin (TM) tarafından indüklendi ve bazı deney gruplarına ER stres indüksiyonundan önce ER stres inhibitörü taurodeoksikolik asit (TUDCA) enjekte edildi. Endoplazmik retikulum stresi, artmış doku GRP78 düzeyleri ile doğrulandı. Hematolojik ve biyokimyasal profiller otoanalizörler tarafından ölçülürken, hepatik ve renal hasar oluşumu mikroskopi ve histopatolojik skorlama ile değerlendirildi. C16-C24 sfingomiyelin (SM), C16-C24 seramidler (CER) ve sfingosin-1-fosfat (S1P) doku düzeyleri LC-MS/MS ile belirlendi. Doku cPLA2 ve COX-2 miktarı, western blot ve aktivite deneyleriyle ölçüldü.

Tunikamisin verilmesi böbrek ve karaciğer fonksiyon testi anormalliklerine neden oldu, hematokrit ve hemoglobin düzeylerinde artış oluşturdu, beyaz kan hücresi (WBC) sayılarını azalttı. Histopatolojik bulgular, TM verilen sıçanlarda hepatik nekroinflamasyon ve renal tübüler hasarı gösterdi. TUDCA uygulaması, serum ALT, AST, kreatinin ve total bilirubin düzeylerini bazal seviyelere yaklaştırdığı gibi, ER stresinde WBC anormalliklerini ve TM kaynaklı hepatik/renal fonksiyonel bozukluğu azalttı. ER stresi altındaki karaciğer ve böbrek dokusunda N-SMase aktivitesinde, C16-C24 CER doku düzeylerinde, cPLA2 ve COX-2 ekspresyonunda anlamlı bir artış gözlendi. TUDCA uygulaması doku CER düzeylerini, cPLA2 ve COX-2 ekspresyonunun yanı sıra prostaglandin E2 (PGE2) oluşumunu azalttı.

Elde edilen veriler, ER stresinin hepatik ve renal toksisiteye neden olduğunu ve bunun yanı sıra karaciğer ve böbrekte CER kaynaklı PGE2 oluşumunu tetiklediğini göstermektedir.

Liver-Kidney Functions, Sphingolipid Levels and Inflammation in Experimental ER Stress Model

Mutay Aslan

Department of Medical Biochemistry, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

Disorders of the endoplasmic reticulum (ER) lead to cellular damage but can cause cell death if ER dysfunction is prolonged. We aimed to examine liver/kidney functions, neutral sphingomyelinase (N-SMase) activity, sphingolipid levels, cytosolic phospholipase A2 (cPLA2) and cyclooxygenase-2 (COX-2) protein expression in rats under ER stress.

ER stress was induced by tunicamycin (TM) and the ER stress inhibitor taurodeoxycholic acid (TUDCA) was injected before induction of ER stress. ER stress was confirmed by increased tissue levels of GRP78. Hematological and biochemical profiles were measured by autoanalyzers while hepatic and renal injury was evaluated via microscopy and histopathological scoring. Tissue levels of C16-C24 sphingomyelins (SM), C16-C24 ceramides (CERs) and sphingosine-1-phosphate (S1P) were determined by LC-MS/MS. Tissue cPLA2 and COX-2 were measured by western blot and activity assays.

Tunicamycin treatment caused kidney and liver function test abnormalities, increased hematocrit and hemoglobin levels but decreased white blood cell counts. Histopathological findings showed hepatic necroinflammation and renal tubular damage in rats treated with TM. TUDCA administration attenuated WBC abnormalities and TM- induced hepatic/renal functional impairment in ER stress, as evident by significantly restored serum ALT, AST, creatinine, and total bilirubin levels. A significant increase was observed in N-SMase activity, tissue levels of C16-C24 CERs, cPLA2 and COX-2 expression in liver and kidney tissue under ER stress. TUDCA administration decreased tissue CER levels, cPLA2 and COX-2 expression as well as prostaglandin E2 (PGE2) formation.These results signify that ER stress causes hepatic and renal toxicity as well as CER-induced PGE2 formation in liver and kidney.

Otofaji ve Kanser

Devrim GÖZÜAÇIK

Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı ve Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi (KUTTAM), İstanbul, Türkiye

Otofaji, hücre içi makro moleküllerin ve organellerin bir kesecik içine alınarak lizozomlara yönlendirilmesi ve lizozomla birleşerek burada parçalanmasına yol açan bir mekanizmadır. Kısa ömürlü proteinlerin ubikitin-proteazom sisteminde parçalanmasına karşın, uzun ömürlü proteinler ve hücre içi organeller otofaji sistemi tarafından parçalanırlar ve oluşan yapı taşları (örn. amino asitler) hücre kullanımı için yeniden kazandırılırlar. Son on yılda yapılan çalışmalar otofajinin, metabolizmanın düzenlenmesi, morfojenez, hücre farklılaşması, yaşlanma, stres yanıtları, bağışıklık yanıtları ve hücre içi patojenlerin yıkımı gibi önemli fizyolojik ve patolojik durumlarda etkin bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Son yıllarda yapılan araştırmalar, otofaji bozukluklarının kanser oluşum, gelişim ve yayılmasında rol oynadığına dair veriler ortaya koymaktadır. Konuşmamda, laboratuvarımda keşfettiğimiz ve otofaji yolaklarını düzenlediğini bulduğumuz moleküllerin, kanser biyolojisi üzerine otofaji ile alakalı etkileri konusunda en yeni veriler sunulacaktır. Bu moleküllerin ve otofajinin sağlık ve hastalıktaki görevleri tartışılacaktır.

Autophagy and Cancer

Devrim GÖZÜAÇIK

School of Medicine, Department of Molecular Biology and Genetics, Translational Medicine Research Center, İstanbul, Turkey

Autophagy is a mechanism through which intracellular molecules and organelles are engulfed by a double-membrane structure and directed to lysosomes where they are eventually degraded into building blocks. Although short-lived proteins are degraded by ubiquitin proteasome system, long-lived proteins and organelles are cleared by autophagic machinery, and emerging building blocks (e.g., amino acids) are recycled to fuel further cellular processes. Studies in last decade have implicated the role of autophagy in important physiological and pathological conditions, including metabolic remodelling, morphogenesis, differentiation, aging, stress responses, immune responses and degradation of intracellular pathogens. Recent studies have also provided compelling evidence suggesting that autophagy plays role in cancer formation, progression and metastasis. In my talk, the most recent data about the discovery of molecules that regulate autophagy in cancer will be presented. The function of these molecules and autophagy in health and disease will also be discussed.

Sağlıkta ve Hastalıkta Plazma Membranı Lipidlerinin Wnt/ß-katenin Sinyal İletimi ile Bağlantılı Rollerinin Araştırılması

Güneş Özhan

İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir, Türkiye

Wnt/β-katenin sinyal iletimi (kanonik Wnt sinyal iletimi) gelişimde, yetişkin doku homeostazında, rejenerasyonda ve immünolojide çok sayıda önemli role sahiptir ve Wnt sinyal iletim yolağının yanlış düzenlenmesi kanseri, genetik bozuklukları ve dejeneratif hastalıkları içeren çeşitli hastalıklara neden olur. Bu nedenle Wnt-aracılı hücresel yanıtların altında yatan moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmak, tıbbi biyoloji alanındaki temel araştırma konularından birini oluşturmaktadır. Bununla birlikte, çok sayıda yolak bileşeni ve işlevleri karakterize edilmiş olmasına rağmen, Wnt sinyalinin düzenlenmesi ve modifikasyonları ile ilgili birçok soru yanıtsız kalmaktadır. Özellikle Wnt/β-katenin yolağını hedefleyen terapötik ajanlar ancak yakın zamanda klinik çalışmalara girmiş olup henüz hiçbiri onaylanmamıştır. Bu çalışma, farklı düzeylerde Wnt/β-katenin sinyal aktivitesine sahip çeşitli hepatoselüler karsinom (HCC) hücre hatlarındaki plazma membranı lipidom profillerinin ortaya çıkarılmasını amaçlamaktadır. Bu amaçla, (1) endojen Wnt sinyal aktivitesi yüksek olan ve Wnt ile indüklenebilen hücreler, (2) endojen Wnt aktivitesi yüksek fakat Wnt ile indüklenemeyen hücreler, (3) endojen Wnt aktivitesi düşük fakat Wnt ile dışarıdan indüklenebilen hücreler ve (4) hem endojen Wnt aktivitesi düşük hem de dışarıdan herhangi bir indükleme yapılamayan hücreler olmak üzere dört farklı HCC hücre hattının plazma membranı tüm lipidom profilleri analiz edilmiştir. Aynı zamanda Wnt sinyal yolağına ait mutasyonları da içeren bu HCC hücre hatlarının, farklı lipid içeriklerine sahip olduğu ve Wnt sinyal iletiminin aktivasyonu veya baskılanması sonucunda bu lipid içeriklerinin değiştiği gösterilmiştir. Sağlıkta ve hastalıkta membran lipid profillerinin detaylı bir şekilde karakterizasyonu, anormal şekilde aktive olmuş olan Wnt/ß-katenin sinyal iletiminin membran lipid kompozisyonunun doğrudan modifikasyonu yoluyla seçici olarak inhibe edilebilmesine olanak sağlayacaktır. Bu çalışmanın sonuçları, membran bölgelerinin özelliklerinden yararlanarak Wnt-reseptör kompleksini hedefleyen ilaçların geliştirilebileceği araştırmalar için önemli bir temel oluşturacaktır.

Investigation of the Role of Plasma Membrane Lipids in Association with Wnt/ß-catenin Signaling in Health and Disease

Güneş Özhan

İzmir Biomedicine and Genome Center, Dokuz Eylul University Health Campus, İzmir, Turkey

Wnt/β-catenin signalling, the so-called canonical Wnt signalling, plays important roles in development, adult tissue homeostasis, regeneration and immunology. Misregulation of Wnt pathway can cause cancer, genetic defects and degenerative diseases. Thus understanding the molecular mechanisms underlying Wnt-mediated cellular responses is one of the most challenging and fundamental issues in medical biology. Although many components and their functions are well characterized, many questions about regulation and modifications of Wnt signaling remain unanswered. Especially the therapeutic agents specifically targeting Wnt/β-catenin pathway have only recently entered clinical trials and none of them have yet been confirmed. Here, we aim to reveal the plasma membrane lipidome profiles of various hepatocellular carcinoma (HCC) cell lines with varying levels of Wnt/β-catenin signaling activity. To this purpose, we have analyzed the complete lipidome profiles of the plasma membranes isolated from four different HCC cell lines: (1) Cells with high endogenous Wnt signaling activity and can be induced by Wnt, (2) cells with high endogenous Wnt activity but cannot be induced by Wnt, (3) cells with low endogenous Wnt activity but can be induced by Wnt, and (4) cells with low endogenous Wnt activity and cannot be induced by Wnt. We have found that these HCC cell lines, which are known to have mutations for several Wnt pathway components, exhibit different lipid contents and these contents are altered in response to activation or inhibition of Wnt/β-catenin signaling. Detailed characterization of membrane lipid profiles in health and disease will provide an opportunity to selectively inhibit the abnormal activation of the Wnt / ß-catenin signal by direct modification of the membrane lipid composition. We consider this study to be a basis for future research where drugs targeting Wnt-receptor complex based on membrane environment can be developed.

Komensal Bakterilerin β-hidroksibutirat Keton Cismini Üretmek Üzere Geliştirilmesi

Sreeparna Banerjee

Biyolojik Bilimler Bölümü, Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Keton cisimleri (KC), karaciğerde üretilen ve açlık, ketojenik diyet veya uzun süreli egzersiz zamanlarında kaslar, kalp ve beyin gibi dokular için kan dolaşımında bir enerji kaynağı görevi gören, küçük 3-5 karbonlu lipid türevi moleküllerdir. Üç tip keton cismi tanımlanmıştır: β-hidroksibutirat (βHB), asetoasetat (AcAc) ve aseton. Asetil CoA (Ac-CoA) ile başlayan ve AcAc sentezi ile biten bir dizi reaksiyon, karaciğerde KC'lerin oluşumuna yol açar. AcAc'nin bir kısmı dolaşıma salınırken, çoğunluğu 3-hidroksibütirat dehidrojenaz (BDH) ile katalize edilen NAD+ -NADH-bağlı yakın denge reaksiyonunda βHB'ye indirgenir. İnsanlarda üretilen βHB, R enantiyomerik konfigürasyonuna (R-βHB) sahiptir ve protein deasetilazlar gibi enzimleri rekabetçi bir şekilde inhibe etmek için G-protein bağlı reseptörlere bağlanabilir, protein translasyon sonrası modifikasyonu için bir substrat olarak işlev görebilir ve iyon kanalı aktivitesini modüle edebilir. Bu nedenle, bir enerji taşıyıcısı olarak metabolik işlevinin yanı sıra, βHB, epigenetik gen düzenlenmesi ve hücresel işlev gibi mekanizmalarda ve yaşlanma, demans, epilepsi ve biliş gibi hastalıklarında da rol almaktadır. Ayrıca kolon epitel hücrelerinin canlılığını, metabolizmasını, proliferasyonunu, köklülüğünü ve hareketliliğini düzenlediği de bilinmektedir. Bazı kommensal bakteri türlerinin βHB'nin (S-βHB) kiral enantiyomerini sentezlediği bilinmektedir. S-βHB, βHB sentezi sırasında endojen olarak da üretilebilmesine rağmen, kullanım için R-βHB'ye dönüştürüldüğü bilinmektedir. Şu anda kommensal bakterilerden türetilen keton cisimlerinin insanlarda kullanılıp kullanılamayacağı belirsizdir ve βHB'nin R ve S enantiyomerlerinin hücresel sinyal yolları üzerindeki etkilerinin arasındaki farklılıkların açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Mevcut çalışmada, komensal bakteriler, R-βHB, S-βHB veya rasemik βHB karışımını özel olarak sentezlemek ve salgılamak için tasarlandı. Bu bakterilerden salgılanan besi yerleri Gaz Kromatografi Kütle Spektrometresi ve Kiral HPLC kullanarak karakterize edildi. Bu tasarlanmış bakteri türlerinden şartlandırılmış besi yeri toplandı, filtre ile sterilize edildi ve besin algılama, farklılaşma, hücre-hücre yapışması ve köklülükteki değişiklikleri belirlemek için kolon kanseri hücre hatları ile inkübe edildi. Çalışmamız, insan hücrelerinde hücresel sinyal yolaklarındaki değişikliklerde komensal bakterilerden türetilen metabolitlerin önemini vurguladı ve ketojenik diyet yerine kullanılabilecek probiyotik bakteri tasarımında ilk adımları sağladı.

Anahtar kelimeler: β-hidroksibutirat, keton cisimleri, kommensal bakteri, sinyal yolakları, enantiyomer.

Engineering of Commensal Bacteria to Generate the Ketone Body β-hydroxybutyrate.

Sreeparna Banerjee

Department of Biological Sciences, Middle East Technical University, Ankara, Turkey

Ketone bodies (KB) are small 3-5 carbon lipid-derived molecules that are generated in the liver and serve as a circulating energy source for tissues such as muscles, heart and brain in times of fasting, ketogenic diet or prolonged exercise. Three types of ketone bodies have been identified: β-hydroxybutyrate (βHB), acetoacetate (AcAc) and acetone. A series of reactions lead to the formation of KBs in the liver, starting with acetyl CoA (Ac-CoA) and ending with the synthesis of AcAc. A part of the AcAc is released into the circulation while the majority is reduced to βHB in an NAD^+–NADH-coupled near equilibrium reaction catalyzed by 3-hydroxybutyrate dehydrogenase (BDH). The βHB generated in humans is with the R enantiomeric configuration (R-βHB), and can bind to G-protein coupled receptors to competitively inhibit enzymes such as protein deacetylases, function as a substrate for protein post-translational modification, and modulate ion channel activity. Therefore, besides its metabolic function as an energy carrier, βHB has been implicated in processes like epigenetic gene regulation and cellular function, aging, diseases like dementia, epilepsy and cognition. It is also known to modulate viability, metabolism, proliferation, stemness and motility of the colon epithelial cells. Of note, several commensal bacterial species are known to synthesize the S chiral enantiomer of βHB (S-βHB). Although, S-βHB can also be produced endogenously during the synthesis of βHB, it is known to be converted to R-βHB for utilization. It is currently unclear whether commensal bacteria derived ketone bodies can be utilized in humans and the differences in the effect of the R and S enantiomers of βHB on cellular signaling need to be elucidated. In the current study, commensal bacteria were engineered to specifically synthesize and secrete either R-βHB or S-βHB, or a racemic mixture of βHB that was confirmed by Gas Chromatography Mass Spectrometry and Chiral HPLC. Conditioned medium from these engineered bacterial species were collected, filter sterilized and incubated with colon cancer cell lines to determine alterations in nutrient sensing, differentiation, cell-cell adhesion and stemness. Our study has highlighted the importance of commensal bacteria derived metabolites in alteration of cellular signaling in human cells and provides the first steps in the design of probiotic bacteria that can be used in lieu of a ketogenic diet.

Bir Seramidaz Hedefli İnhibitör Olan B13 ile Yüklü Yeni Katı Lipit Nanopartiküllerin Antikanser Aktivitesi

Hatice Mehtap Kutlu

Eskişehir Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Yunus Emre Kampüsü, Eskişehir, 26470 Tepebaşı, Türkiye

Sfingolipidler hücrelerin çift tabakalı membran yapısının elemanlarıdır. Hücre içerisinde sfingolipid aktivitesinde meydana gelen değişiklikler kanser hücrelerinin ölümünü veya sağ kalımını tetiklemek için kilit bir role sahiptir. Seramidazlar hücre içindeki ana sfingolipid elemanı olan seramidi katabolize ederek hücreleri sağkalıma yönlendirmektedirler. Kanser hücrelerinde seramid birikiminin hücreleri apoptoza yönlendirdiği kaynaklarda yer almaktadır. Kanser tedavisi için bu metabolik enzimlerin hedeflenerek inhibe edilmesi yoluyla hücrelerde seramid birikimine yol açılarak kanser tedavisine yeni yaklaşım oluşturulabilineceği düşünülmektedir. Bu akümülasyonun seramidaz inhibitörleri kullanılarak gerçekleştirildiği literatürde mevcuttur ancak bu inhibitörlerin katı lipid nanopartikül şeklinde tasarlanıp biyoelverişliğinin arttırılmasıyla kanser tedavisi yaklaşımı çalışmaları henüz çok çalışılmamış konulardır.

Çalışmanın amacı, bir seramidaz inhibitörü olan B13'ün yeni sentezlenen katı lipid nanopartiküle yüklenmiş formunun hücre içi seramid düzeyini kontrol ederek kanser hücrelerindeki antikanser aktivitelerinin hücre ölüm şekilleriyle beraber belirlenmesidir. Bu çalışmaların hücre lipid membran yapısından kaynaklı olarak kanser hücrelerinde ilaç yararlanımının arttırılması ve hedefli tedavi ajanı tasarlanması yönünde fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Çalışmada, sfingolipid yolağı bileşenlerinden olan seramidazların etkili bir inhibitörü olan B13'ün katı lipid nanopartikül halinde sentezlenmesi sıcak homojenizasyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Nanopartiküllerin karakterizasyonu için zeta size, polidispers indeks ve taramalı elektron mikroskobunda yüzey morfolojisi incelemeleri gerçekleştirilmiştir. Kanser hücrelerinde yeni sentezlenmiş olan formulasyonun sitotoksik, anti proliferatif ve proapoptotik aktivitelerinin belirlenmesi için sırasıyla MTT, konfokal mikroskopi, geçirimli elektron mikroskopi (TEM) ve aneksin V yönlemleri kullanılmıştır.

Sonuçlar, hem B13 hem de nanopartikül formulasyonunun kanser hücrelerinde ölüme yol açtığı fakat B13'ün katı lipid nanopartikül formulasyonunun hücre morfolojisi ve ince yapısı üzerinde daha belirgin apoptotik bulgulara neden olarak daha düşük dozda sitotoksik ve proapoptotik özellik sergilediğini göstermiştir.

Hücre içi seramid birikimi farklı hücre hatlarında farklı düzeylerde meydana gelmektedir. Seramidazların inhibe edilmesiyle bu düzeyin arttırıldığı literatürde mevcuttur. Bu çalışmada B13'ün katı lipid nanopartikül formunun kanser hücrelerini daha düşük dozlarda baskıladığı ve etkili bir şekilde antikanser etkinlik gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Bu bulguların kanser tedavisi için hedefli terapi ajanı sentezlemek için yok gösterici ve faydalı seçenekler sunacağına inanmaktayız.

Anti-cancer Activity of a Ceramidase-targeted Inhibitor, B13-loaded Novel Solid Lipid Nanoparticles

Hatice Mehtap Kutlu

Eskisehir Technical University Faculty of Science Department of Biology, Yunus Emre Campus, Eskisehir, 26470 Tepebaşı, Turkey

Sphingolipids members of cellular membrane lipid bilayers. Changes on intracellular sphingolipid activity have a key role on trigering cell death/survival of cancer cells. Studies revealed that ceramidases, as main members of sphingolipid metabolism catabolize ceramide and lead to apoptosis. It is stated that the accumulation of ceramide on cancer cells induce apoptosis on cancer cells. It was thought that a novel cancer therapy approach can be designed by targeted inhibition of this metabolic enzymes. Increasing the accumulation of ceramides by inhibiting of ceramidases is well known on studies but designing solid lipid nanoparticle formulation of these inhibitors with enhenced bioavailability are not studied in details, yet.

The aim of this study is to control the intracellular ceramide level of cancer cells by using B13, a ceramidase inhibitor-loaded solid lipid nanoparticles and to determine their anti-cancer activity including with cell death modes. Based on the lipid bilayer structure of cellular membrane it was thought that this study results will help on enhencing bioavailability o drugs and designing novel targeted cancer therapy agents.

The solid lipid nanoparticle formulation of B13, as a member of sphingolipid pathway and effective inhibitor of ceramidases was synthesized by hot homogenization. For the charachterization of nanoparticles zeta size, polydispersity index and morphological evaluations were done on scanning electron microscope. The cytotoxic, antiproliferative and proapoptotic activities of the formulation were performed by MTT, confocal microscopy, transmission electron microscopy and annexin V methods, respectively.

Results showed that both B13 and nanoparticle formulations induce cell death on cancer cells but the proapoptotic effect of nanoparticle formulation on cellular morphology and ultrastructure was higher than that of B13. Moreover, B13 solid lipid nanoparticle formulation was found to exert its cytotoxicity and proapoptotic activity on lower doses on cancer cells.

Intracellular ceramide accumulation sevels differs between cell types. It is showed that the accumulation levels of intracellular ceramide by inhibiting ceramidases. With this study is is revealed that B13-loaded solid lipid nanoparticle formulation cause growth inhibition on lower doses and show effective anti-cancer activity on cancer cells. We thing that our findings will contribute for design of a targeted cancer therapy agent and provide options for novel cancer therapy approach.

Lipozom Formülasyonları ve Sağlık Alanındaki Uygulamaları

İpek Eroğlu

Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı, Ankara

Lipozomlar, doğal ve toksik olmayan fosfolipitlerden oluşan küresel veziküllerdir. Hidrofilik ve hidrofobik yapıları sayesinde, içerisine farklı özellikteki aktif farmasötik bileşenler (APIs) enkapsüle edilebilir. Lipozomlar, yüksek biyouyumluluk, düşük immunojenisite ve hücre membranına benzer yapıları nedeniyle gösterdikleri yüksek penetrasyon özellikleri nedeniyle oldukça avantajlı sistemlerdir. Özellikle son 10 yılda sağlık alanındaki lipozom araştırmalarına olan ilgi giderek artmıştır. Lipozomların tıp alanında parenteral, oral, nazal, dermal/transdermal ve oküler ilaç taşıyıcı sistemler olmak üzere, hem teşhis hem tedavi amaçlı uygulamaları mevcuttur. Piyasada farmasötik ve kozmetik alanda kullanılan ve klinik aşamada olan ürünler bulunmaktadır. Özellikle kanser tedavisinde, pekçok sayıda lipozom ürünü başarılı bir şekilde formüle edilmiş, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından onaylanmıştır. Bu alanda, lipozomal ilaç taşıyıcı sistemler özellikle serbest ilaca göre tedavi etkinliğinin arttırılmasının yanısıra toksisite profilinin düşürülmesine bağlı yan etki görülme riskinin azaltılmasını sağlarlar. Lipozomlar, kontrollü salım sağlamaları nedeniyle enfeksiyon tedavisinde antibakteriyel, antiviral ve antifungal ajanlar için tercih edilen etkili taşıyıcı sistemlerdir. Birçok klinik çalışma ile lipozomların deri hastalıklarında kullanımının yararları ortaya konulmuştur. Nanotaşıyıcı sistemler arasında lipozomlar, teranostik uygulamalar için, terapötik ve diagnostik ajanların aynı sistem içerisinde girişim yapmadan verilebileceği sistemler olarak dikkat çekmektedir. Ayrıca, katyonik lipozomlar etkili gen taşıyıcı sistemler olup, hücreye hedefleme ve hücre içine etkin taşıma sağlarlar. Son yıllarda lipozom şeklinde formüle edilmiş aşılar, etkili immunolojik adjuvanlar olarak tanımlanmış, antijenlerin intranazal ve oral verilmesinde kullanılmışlardır. Sonuç olarak, sağlık alanında lipozomlar yaygın kullanılsa da, halen yapılan çalışmalar yeni pekçok alanda da lipozomların kullanılmasının avantajlı olabileceğini göstermektedir. Bu bağlamda, yeni lipitler ve üretimdeki teknik zorlukları aşmaya yönelik yeni yöntemler geliştirildikçe, lipozomların gelecekteki uygulamaları artacaktır. Özellikle, son yıllarda geliştirilen ilaç/gen kombinasyon ve yenilikçi nanoformülasyon (lipozom içeren mikroiğne, mikropartikül, nanofiber vs…) yaklaşımları, lipozomların yeni tedavi alanlarında önerilebilecek değerli yaklaşımları olarak görülmektedir.

Liposome Formulations and Reflections in the Field of Health

İpek Eroglu

Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Basic Pharmaceutical Sciences, Ankara, Turkey

Liposomes are spherical vesicles which are mainly comprised of natural non-toxic phospholipids. They can incorporate a variety of active pharmaceutical ingredients (APIs) within their hydrophilic and hydrophobic compartments. They are extremely biocompatible, have low immunogenicity and their characteristic bilayer structure successfully mimics the cellular membrane. The field of liposome research in health area has expanded markedly over the last 10 years. Applications of liposomes in medicine can be classified as therapeutic and diagnostic applications which contain parenteral, oral, nasal, dermal/transdermal and ocular delivery. A number of liposome products have been successfully formulated and approved by the U.S. Food and Drug Administration (FDA) and European Medicines Agency (EMA), especially in cancer treatment. Liposomal drugs exhibit reduced toxicity profiles and retain enhanced efficacy when compared to free counterparts for cancer therapy. In addition to that, liposomes serve as useful tools for delivery of anti-bacterial, anti-viral, anti-fungal agents. Especially cationic liposomes were also found to be effective for gene delivery systems that exhibit targeted and enhanced intracellular delivery. Among the types of nanocarriers, liposomes keep one of the most promising systems for theranostic applications without interference between different therapeutic and diagnostic agents in the system. Furthermore, liposomes are rapidly developed as multifunctional vaccine adjuvant-delivery systems owing to their useful properties, such as high safety, alternative surface charges and high resistance to enzymatic degradation. In conclusion, we believe that further developments on the novel lipids and production approaches on technical challenges will play major roles in improving the function of liposomes for future applications. Drug/gene combination and embedded nanoformulation approaches (liposomes in microneedles, microparticles, nanofibers etc…) will be serving to overcome the challenges for novel precious treatment perspectives.

Gestasyonel Diyabetli Hastalarda LDL Alt Grup Analizleri

Ercan Saruhan

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) gebelik döneminde başlamış olan veya ilk olarak gebelik döneminde fark edilen glukoz intoleransıdır. Diyabetin; insülin sentez, salgılanma ve etkisine bağlı yetmezliklerin sonucu olduğu ve hormonun sadece karbonhidrat metabolizmasını değil aynı zamanda lipid metabolizmasını etkileyerek dislipidemi tablosu oluşturduğu bilinmektedir. Bu çalışmada GDM hastaları ile sağlıklı kontrol grupları LDL alt gruplarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya Haziran 2018 – Eylül 2019 tarihleri arasında Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde GDM tanısı almış ve diyet tedavisi uygulanan 21 hasta ve kontrol grubu olarak 20 sağlıklı gebe (SG) ve 21 sağlıklı gebe olmayan (SGO) kadın dahil edildi. Serum örneklerinde LDL lipoprotein alt grup analizleri Lipoprint Sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki farklılıklar Wilcoxon-Mann-Whitney test ve Fisher's Exact test (R versiyon 4.0.2) ile değerlendirildi.

Ortalama LDL değeri GDM grubunda 159.67 ± 44.89 mg/dl, SG grubunda 147.1 ± 40.8 mg/dl, SGO grubunda 102 ± 23.39 mg/dl ölçüldü. GDM ile SG grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken, GDM hasta grubunun LDL değerleri SGO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla; $p=0.375$, $p<0.001$, Wilcoxon-Mann-Whitney Test). LDL alt grupları karşılaştırıldığında small dense LDL (sdLDL) alt grup (LDL3,4,5,6 ve 7) yüzdeleri SGO grubunda (%8.09 ± 1.65), GDM (%17.7 ± 3.72) ve SG (%16.23 ± 3.34) grubuna oranla anlamlı olarak düşük bulundu. Pattern B sıklığı GDM grubunda %95.2 (n=20) ve SGO grubunda %61.9 (n=13) bulundu ($p=0.021$, Fisher's Exact Test). Friedewald formülü ile hesaplanan LDL kolesterol düzeyleri ile lipoprint sisteminden elde edilen LDL kolesterol sonuçlarının korele olduğu bulundu ($r=0.92$; $p<0.001$).

Gebelik döneminde serum lipid parametreleri incelendiğinde LDL kolesterol düzeylerinin gebe olmayanlara oranla yüksek olduğu ve alt grup analizi yapıldığında özellikle GDM hastalarında bu artışın büyük oranda sdLDL alt gruplarında olduğu görülmektedir. GDM hastalarında uzun dönem kardiyovasküler hastalık gelişme riskinin geniş kapsamlı prospektif çalışmalarla belirlenmesi oldukça önemlidir. Ayrıca çalışmamızda elektroforetik yöntemle elde edilen verilerin rutin biyokimyasal yöntemlerle elde edilen verilerle uyumlu olması lipoprint sisteminin güvenilirliğini ortaya koymaktadır.

LDL Subfraction Analysis in Patients with Gestational Diabetes

Ercan Saruhan

Department of Medical Biochemistry, Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Medicine, Muğla, Turkey

Gestational diabetes mellitus (GDM) is glucose intolerance during pregnancy. GDM is the result of insulin synthesis or secretion insufficiencies and causes dyslipidemia by affecting not only carbohydrate metabolism but also lipid metabolism. The aim of this study was to compare the LDL subgroups of GDM patients and healthy control groups.

We enrolled 21 patients diagnosed with GDM at Muğla Sıtkı Koçman University Training and Research Hospital between June 2018 and September 2019 and undergoing diet therapy and 20 healthy pregnant (HP) and 21 healthy non-pregnant (HNP) women as control group. LDL lipoprotein subgroup analyzes in serum samples were performed using the Lipoprint System. Differences between groups were evaluated with Wilcoxon-Mann-Whitney test and Fisher's Exact test (R version 4.0.2).

The mean LDL concentration was 159.67 ± 44.89 mg/dl in the GDM group, 147.1 ± 40.8 mg/dl in the HP group, and 102 ± 23.39 mg/dl in the HNP group. There was no statistically significant difference between GDM and HP groups, but LDL values of the GDM patient group were found to be statistically significantly higher than the HNP group ($p = 0.375$, $p < 0.001$, respectively, Wilcoxon-Mann-Whitney Test). When the LDL subgroups were compared, the percentages of small dense LDL (sdLDL) subgroups (LDL3,4,5,6 and 7) were found significantly low in HNP group (8.09 ± 1.65%) than GDM (17.7 ± 3.72%) and HP (16.23% ± 3.34) groups. Pattern B frequency was 95.2% (n = 20) in GDM group and 61.9% (n = 13) in HNP group ($p = 0.021$, Fisher's Exact Test). It was found that LDL cholesterol levels calculated by Friedewald formula were positively correlated with LDL cholesterol results obtained from lipoprint system ($r = 0.92$; $p < 0.001$).

In our study, serum lipid parameters were examined during pregnancy. We found higher levels of LDL cholesterol in pregnant women than non-pregnant women. This increase was mostly in sdLDL subgroups especially in GDM patients in subgroup analysis. It is very important to determine the risk of developing long-term cardiovascular disease in GDM patients with comprehensive prospective studies. In addition, LDL levels obtained by electrophoretic method in our study was correlated with routine biochemical methods that reveals the reliability of the lipoprint system.

KAPANIŞ KONUŞMASI

Sphingolipid Metabolism and Signaling in Cancer Therapeutics: Implications in Aging, Neurodegeneration, and Immunotherapy

Besim Ogretmen

Department of Biochemistry and Molecular Biology and Developmental Cancer Therapeutics, Hollings Cancer Center, Medical University of South Carolina, Charleston, SC, USA

SÖZLÜ BİLDİRİLER

Diklofenak Toksisitesinde Böbrek Epitel Hücrelerinde Artan PUFA Düzeyleri

Çağatay Yılmaz[1], Esma Kırımlıoğlu[2], Ebru Afşar[1], Tuğçe Çeker[1], Mutay Aslan[1]

1 Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye
2 Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada diklofenak (DCL) toksisitesine maruz kalan insan böbrek epitel hücrelerinde çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) değerlendirildi.

Gereç ve Yöntem: Böbrek hücreleri, sitotoksisiteyi indüklemek için DCL ile muamele edildi ve sitotoksik etkileri azaltmak için timokinon (TQ) uygulandı. Araşidonik asit (AA, C20: 4n-6), dihomo-gama-linolenik asit (DGLA, C20: 3n-6), eikosapentaenoik asit (EPA, C20: 5n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22: 6n-3) seviyeleri tandem kütle spektrometresi ile birleştirilmiş sıvı kromatografi ile belirlendi. Sitozolik fosfolipaz A2 (cPLA2) ve siklooksijenaz 1 (COX-1) enzim aktivitesi spektrofotometrik metot, prostaglandin E2 (PGE2) seviyeleri ELİSA ile ölçüldü. İmmünofloresan boyama ve western blot analizi ile COX-1'in protein seviyeleri belirlendi.

Bulgular: Diklofenak uygulanan gruplarda hücre toksisitesi gözlendi ve TQ tedavisi ile toksisite azaldı. Diklofenak ölçülen tüm PUFA'ları önemli ölçüde arttırırken, TQ ile ön tedavili DCL ile muamele edilen hücrelerde PUFA seviyelerini düşürdü. DCL ile tedavi edilen hücrelerde cPLA2 ve toplam COX aktivitesi önemli ölçüde azaldı. İmmünofloresan boyama ve western blot analizi, DCL ve DCL + TQ ile tedavi edilen gruplarda COX-1 düzeylerinin önemli ölçüde azaldığını doğruladı.

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları, DCL tedavisinin böbrek hücrelerinde PUFA birikimi ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. DCL toksisitesinde PUFA birikiminin hem cPLA2 hem de COX-1 inhibisyonunun bir sonucu olabileceğini düşünüyoruz. DCL tedavisi ile birlikte TQ uygulaması, PUFA'ların birikmesini ve böbrek hücrelerinde DCL'nin neden olduğu hücre ölümünü hafifletti. Bu çalışma TUBİTAK tarafından desteklenmiştir (proje no: 118Z874).

Anahtar Kelimeler: Diklofenak, böbrek hücreleri, timokinon, çoklu doymamış yağ asitleri.

Increased PUFA Levels in Kidney Epithelial Cells in The Course of Diclofenac Toxicity

Çağatay Yılmaz[1], Esma Kırımlıoğlu[2], Ebru Afşar[1], Tuğçe Çeker[1], Mutay Aslan[1]

1 Departments of Medical Biochemistry, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey
2 Departments of Histology and Embryology, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

Objective: This study evaluated polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in human kidney epithelial cells exposed to diclofenac (DCL) toxicity.

Materials and Methods: Kidney cells were treated with DCL to induce cytotoxicity and thymoquinone (TQ) was administered to decrease cytotoxic effects. Levels of arachidonic acid (AA, C20:4n-6), dihomo-gamma-linolenic acid (DGLA, C20:3n-6), eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6n-3) were determined by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Cytosolic phospholipase A2 (cPLA2), cyclooxygenase 1 (COX-1) and prostaglandin E2 (PGE2) were measured to evaluate changes in enzyme activity. Immunofluorescence staining and western blot analysis was performed to determine protein levels of COX- 1.

Results: Renal cell toxicity was accomplished by DCL and was alleviated by TQ treatment. Diclofenac significantly increased all measured PUFAs while pretreatment with TQ decreased PUFA levels in DCL treated cells. Cytosolic PLA2 and total COX activity was significantly decreased in DCL treated cells. Immunofluorescence staining and western blot analysis confirmed significantly decreased COX-1 levels in DCL and DCL+TQ treated groups. The results of this study reveal that DCL treatment is associated with accumulation of PUFAs in kidney cells.

Conclusion: We suggest that PUFA accumulation in DCL toxicity might be a consequence of both cPLA2 and COX-1 inhibition. Thymoquinone administration, along with DCL treatment alleviated the buildup of PUFAs and DCL-induced cell death in kidney cells. This study was supported by a grant (#118Z874) from the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK).

Keywords: Diclofenac, kidney cells, thymoquinone, polyunsaturated fatty acids.

Retinal Pigment Epitel Hücrelerinde ER Stresinin Sfingolipid Seviyeleri ve Apoptotik Yolaklar Üzerine Etkisi

Ebru Afşar[1], Esma Kırımlıoglu[2], Tuğçe Çeker[1], Çağatay Yılmaz[1], Necdet Demir[2],

Mutay Aslan[1,*]

1 Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokmya Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

2 Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Amaç: Endoplazmik retikulum (ER) stresine maruz kalan insan retinal pigment epitel hücrelerinde (ARPE-19) sfingolipid düzeyleri ve apoptotik yolaklar incelendi.

Metotlar: Hücrelerde ER stresi oluşturmak için tunikamisin (TM) uygulandı ve bazı hücre gruplarına sitotoksisiteyi azaltmak için bir ER stres inhibitörü olan tauroursodeoksikolik asit (TUDCA) verildi. Hücre canlılığı MTT testi ile belirlendi. C16- C24 sfingomiyelinlerin (SM) ve C16- C24 seramidlerin (CER) seviyeleri LC-MS/MS ile ölçüldü. Endoplazmik retikulum stresi belirteci olan glukoz-regüle protein 78-kd (GRP78) ve inlamasyon belirteci olan nükleer faktör kappa B1 (NFκB1) gen ekspresyonları kantitatif PCR analizi ile değerlendirilirken, GRP78, NF-κB p65, kesilmiş kaspaz-3 ve kaspaz-12 protein seviyeleri immünofloresan mikroskopi ile belirlendi. Hücre lizatlarında seramid-1-fosfat (C1P) seviyeleri immünoassay ile ölçülürken, kaspaz-3 ve kaspaz-12 aktiviteleri florometrik metod ile belirlendi.

Bulgular: Tunikamisin ile muamele edilen gruplarda ER stresinin indüklenmesi GRP78'in mRNA ve protein seviyelerindeki anlamlı artış ile doğrulanmıştır. Tunikamisin verilen hücrelerde, kontrol grubuna kıyasla hücre canlılığı anlamlı bir şekilde azalmıştır. Tunikamisin ile birlikte TUDCA uygulaması, TM grubuna kıyasla hücre canlılığını anlamlı şekilde arttırmıştır. Kontrollere kıyasla TM ile muamele edilen hücrelerde C22- C24 CER, S1P, kaspaz-3, kaspaz-12, NFκB1 mRNA ve NF-κB p65 protein seviyelerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Tauroursodeoksikolik asit uygulaması, kaspaz-3 ve kaspaz-12 aktivitelerinde bir düşüş ile birlikte, GRP78 ekspresyonunda ve NFκB1 mRNA, NF-κB p65 proteini, C22- C24 CER ve C1P seviyelerinde kısmi bir azalmaya neden olmuştur.

Sonuçlar: Bu çalışmanın sonuçları ER stresine maruz kalan retina hücrelerinde artan uzun zincirli CER, C1P ve apoptotik belirteçlerin varlığını ortaya koymaktadır. Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (TDK-2018-3040).

Anahtar kelimeler: Sfingolipid, tunikamisin, retinal pigment epitelyal hücreler

Effect of ER Stress on Sphingolipid Levels and Apoptotic Pathways in Retinal Pigment Epithelial Cells

Ebru Afşar[1], Esma Kırımlıoglu[2], Tuğçe Çeker[1], Çağatay Yılmaz[1], Necdet Demir[2],

Mutay Aslan[1,*]

1 Department of Medical Biochemistry, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

2 Department of Histology, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

Objectives: We aimed to determine sphingolipid levels and examine apoptotic pathways in human retinal pigment epithelial cells (ARPE-19) undergoing endoplasmic reticulum (ER) stress.

Materials and Methods: Cells were treated with tunicamycin (TM) to induce ER stress and tauroursodeoxycholic acid (TUDCA), an ER stress inhibitor, was administered to decrease cytotoxicity. Cell viability was measured by MTT assay. Levels of C16–C24 sphingomyelins (SM) and C16–C24 ceramides (CERs) were determined by LC-MS/MS. Glucose- regulated protein 78-kd (GRP78) and nuclear factor kappa-b subunit 1 (NFκB1) gene expressions were evaluated by quantitative PCR analysis, while GRP 78, NF-κB p65, cleaved caspase-3 and caspase-12 protein levels were assesed by immunofluorescence. Ceramide-1-phosphate (C1P) levels were determined by immunoassay, while caspase −3 and −12 activity in cell lysates were measured via a fluorometric method.

Results: Induction of ER stress in TM treated groups were confirmed by significantly increased mRNA and protein levels of GRP78. TM significantly decreased cell viability compared to controls. Treatment with TUDCA along with TM significantly increased cell viability compared to the TM group. A significant increase was observed in C22–C24 CERs, C1P, caspase-3, caspase-12, NFκB1 mRNA and NF-κB p65 protein levels in cells treated with TM compared to controls. Administration of TUDCA lead to a partial decrease in GRP78 expression, NFκB1 mRNA, NF-κB p65 protein, C22–C24 CERs and C1P levels along with a decrease in caspase-3 and -12 activity.

Conclusion: The results of this study reveal the presence of increased long chain CERs, C1P and apoptotic markers in retinal cells undergoing ER stress. This work was supported by a grant by Akdeniz University Research Foundation (TDK-2018-3040).

Keywords: Sphingolipid, tunicamycin, retinal pigment epithelial cells

FTO Geni (rs9939609) Polimorfizmi (T/A) ile Adipozite ve Kan Lipid Profili Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi

Duygu Ağagündüz[1], Makbule Gezmen-Karadağ[1]

1 Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Beşevler, Ankara
E-mail:duyguturkozu@gazi.edu.tr

Amaç: Bu çalışma, yetişkin bireylerde yağ kütlesi ve obezite ilişkili gen (FTO) polimorfizmi ile adipozite ve kan lipid profili arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma, farklı beden kütle indeksi (BKI) değerine sahip toplam 200 (100 kadın ve 100 erkek) yetişkin birey (18-65 yıl) üzerinde yürütülmüştür. Bireylerin kan lipid profili ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri analiz edilmiştir. Bireylerin antropometrik ölçümleri alınmış ve Tanita BC 545 N Inner Scan (Tartı^{TM}) ile vücut kompozisyonu ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Karın içi yağlanma (%) derecesinin saptanmasında VISCAN Abdominal Yağ Analiz cihazı (Tartı^{TM}) kullanılmıştır. Vücut adipozite indeksi (BAI) ve lipid birikim ürünleri indeksi (LAP) hesaplanmıştır. İntronik FTO gen rs9939609 (T/A) tek nükleotid polimorfizmi (SNP'si) ABI TaqMan SNP Genotyping Assays (LightCycler 480 System, Roche) kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Bireylerin %19.0'unda AA (homozigot riskli), %42.5'inde AT (heterozigot) ve %38.5'inde TT (yabanıl tip) genotipi bulunmaktadır. AA ve AT genotipinde olan bireylerin total vücut yağ yüzdeleri (sırasıyla; %28.5±9.25 ve %27.0±10.31), TT(%23.7±10.62) genotipinde olanlara kıyasla yüksektir ($p<0.05$). Fakat karın içi yağlanma yüzdeleri arasında (AA:%38.6±11.03, AT:%36.2±10.64, TT: %33.7±10.42) bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). BAI değeri AA, AT ve TT genotiplerine sahip bireylerde sırasıyla; 29.4±6.82, 29.4±7.17, 27.2±7.19 ($p>0.05$); LAP ise sırasıyla 62.0±41.35, 67.2±41.99, 61.7±49.2 olarak belirlenmiştir ($p>0.05$). Bireylerden AA ve AT genotipinde olanların ortalama total kolesterol (199.3±55.36 ve 199.0±41.76 mg/dL) ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol düzeyleri (115.5±47.63 ve 115.5±33.90 mg/dL) TT genotipinde olan bireylere kıyasla (197.0±40.91 ve 112.8±31.56 mg/dL) daha yüksek görünse de bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). Bireylerin genotiplerine göre trigliserit (mg/dL), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol ve CRP (mg/dL) düzeylerinde de istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur ($p>0.05$).

Sonuç: Bu çalışmada, Türk yetişkin bireylerinde FTO geni (rs9939609) polimorfizminin total vücut yağ miktarı (%) ile ilişkili olduğu ancak abdominal yağlanma, adipozitenin (%) tahmininde kullanılan adipozite indeksleri ve kan lipid profili ile ilişkili olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: FTO, rs9939609, adipozite, kan lipid profili

Determination of the Relationship Between FTO (rs9939609) Polymorphism (A/T) and Adiposity&Blood Lipid Profile

Duygu Ağagündüz[1], Makbule Gezmen-Karadağ[1]

1 Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Beşevler, Ankara
E-mail:duyguturkozu@gazi.edu.tr

Objectives: This study aimed to determine the relationship between FTO gene polymorphism and adiposity&blood lipid profile in adults.

Materials and Methods: This study was conducted on a total of 200 (100 female and 100 male) adults (18-65 years) with different body mass indexes (BMI). Blood lipid profiile and C-reactive protein (CRP) levels were analyzed. Anthropometric measurements were performed and body compositions were analyzed with Tanita BC 545 N Inner Scan^{TM}. Infrared analyzer (VISCAN^{TM}) was also used to determine the degree of abdominal fat. Body adiposity index (BAI) and lipid accumulation products (LAP) index were calculated. ABI TaqMan SNP Genotyping Assays (LightCycler 480 System, Roche) was used to determine the intronic FTO gene rs9939609 (T/A) SNPs.

Results: The frequency of the rs9939609 AA genotype was 19.0%, which was 42.5% for the AT genotype and 38.5% for the TT genotype (wild type). The total body fat amount of the individuals with AA genotype was high (28.5 ± 9.25%) compared to AT (27.0±10.31%) and TT (23.7±10.62%) genotype (p<0.05). However, there was no difference in abdominal fat amounts (%) (AA:38.6%, AT:36.2%. TT:33.7%). BAI values in individuals with AA, AT and TT genotypes were respectively; 29.4±6.82, 29.4±7.17, 27.2±7.19 (p>0.05) and LAP values were 62.0±41.35, 67.2±41.99, 61.7±49.2, respectively (p>0.05). Although it seemed that the mean total cholesterol (199.3±55.36 and 199.0±41.76 mg/dL) and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol levels (115.5±47.63 and 115.5±33.90 mg/dL) in individuals with AA and AT genotype were higher compared to TT genotype (197.0±40.91 and 112.8±31.56 mg/dL), this difference was not statistically significant (p> 0.05). There was no statistically significant difference in triglyceride (mg/dL), high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, and CRP (mg/dL) levels according to the genotypes of the individuals (p> 0.05).

Conclusions: In this study, it was determined that the FTO gene (rs9939609) polymorphism in Turkish adults was associated with the total body fat amount (%), but not with the adiposity indexes used in the estimation of the adiposity (%) and blood lipid profile.

Keywords: FTO, rs9939609, adiposity, blood lipid profile

Glutamin Yüklü Lipozomların Üretilmesi ve Eritrositler ile Etkileşiminin İncelenmesi

Gökçe Alp[1], Yeşim Öztaş[2]

1 Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

2 Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada, eritrositlerin deoksijenasyonunu etkin bir şekilde önleyebilen veya orak eritositlerin oksidatif stresini azaltabilen lipit bazlı bir ilaç taşıyıcı sistemin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Metotlar: L-Glutamin (Gln) yüklü lipozomlar, 1,2-Dioleoil-sn-glisero-3-fosfokolin (DOPC) ve 1,2-Dioleoil-sn-glisero-3-fosfo-rac-(1-gliserol) (DPPG) kullanılarak ince film hidrasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan lipozomlar, zeta potansiyel ölçümleri ve boyut analizleri ile karakterize edilmiştir. Ayrıca çalışma kapsamında enkapsüle edilen Gln miktarının eritrositlere etkisi de 3 farklı Gln konsantrasyonu (20 mM, 40 mM ve 60 mM) Gln için incelenmiştir. İlaç enkapsülasyon ve salım çalışmaları, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analiz edilmiş ve eritrositler ve lipozomlar arasındaki etkileşimler, lipozomların eritrositler ile inkübe edilmesinden sonra optik mikroskop ve % hemoliz ölçümleri ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: Farklı miktarlarda L-Gln (20 mM, 40 mM, 60 mM) ile yüklenmiş lipozomlar başarıyla hazırlanmış ve karakterize edilmiştir. Gln yüklenmemiş lipozomların boyutu yaklaşık 180 nm iken enkapsüle edilen Gln miktarı arttıkça oluşan lipozom boyutunun yaklaşık 200 nm'ye ulaştığı belirlenmiştir. Gln'nin enkapsülasyon verimliliği ise 20 mM, 40 mM ve 60 mM Gln için sırasıyla %83.6, %87.1 ve %84.9 olarak belirlenmiştir. İlaç salım çalışmalarında lipozomlardan Gln salınımının 6 saat sonra dengeye ulaştığı görülmüş ve lipozomlardan salınan Gln'nin 40 ve 60 mM Gln çözeltisi yüklü lipozomlar için sırasıyla %42.4 ve %45.7 olduğu belirlenmiştir. 3 saatlik inkübasyondan sonra hemoliz ölçümlerinden ve optik mikroskop görüntülerinden elde edilen veriler lipozomların varlığının eritrositlerin şeklinde herhangi bir yapısal değişikliğe neden olmadığını kanıtlamıştır. L-Gln yüklü lipozomların eritrositler ile 3 saat inkübasyondan sonra,% hemoliz değerleri 20 mM, 40 mM ve 60 mM L-Gln yüklü lipozomlar için sırasıyla %2.8, % 3.3 ve %3.9 olarak belirlenmiştir. Yapılan analizler sonrasında L-Gln yüklü lipozomların eritrositler ile etkileşimlerinin hücreler üzerinde anlamlı bir hasara neden olmadığı ve lipozomların varlığının eritrositlerin yapısını etkilemediği sonucuna varılmıştır.

Sonuçlar: Bu çalışma, orak hücre hastalığı gibi eritrosit bazlı hastalıkların tedavisi için bir ön adım niteliğinde görülmektedir. Bilgilerimize göre, bu çalışma literatürde L-Gln yüklü lipozomların eritrositlerin yapısı ve işlevi üzerindeki etkisini araştıran ilk çalışmadır. Ek araştırmalar ve optimizasyonların uygulanması gerekmesine rağmen, bu çalışmanın sonuçları, polimerizasyon ve oraklaşmaya neden olan eritrositlerin deoksidasyonunu önlemek için yeni bir lipozomal ilaç verme sistemi geliştirme açısından umut vericidir. Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından THD-2019-18441 proje numarası ile desteklenmektedir.

Anahtar kelimeler: Lipozom, L-Glutamin, ilaç taşınımı, eritrositler, orak hücreli anemi

Preparation of L-Glutamine Loaded Liposomes and Investigation of their Interactions with Erythrocytes

Gökçe Alp[1], Yeşim Öztaş[2]

1 Hacettepe University, Faculty of Engineering, Department of Chemical Engineering, Ankara, Turkey
2 Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara, Turkey

Objectives: It was aimed to develop a lipid-based drug carrier system that can effectively prevent deoxygenation of erythrocytes or reduce the oxidative stress of sickle erytrhocytes.

Materials and Methods: L-Glutamine (Gln) loaded liposomes were prepared via the well-known thin film hydration method with 1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) and 1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phospho-rac-(1-glycerol) sodium salt (DPPG). Liposomes were characterized via zeta potential and size measurements. Effect of the encapsulated amount of Gln was investigated by encapsulating Gln in liposomes at different concentrations such as 20 mM, 40 mM and 60 mM. Drug encapsulation and release studies were quantified with high pressure liquid chromatography (HPLC). Interactions between erytrhocytes and liposomes were assesed with optical microscopy and %hemolysis measurements.

Results: Liposomes loaded with different amounts of L-Gln (e.g. 20 mM, 40 mM, 60 mM) were prepared and characterized successfully. Size of the unloaded liposomes were obtained approximately as 180 nm, whereas with increasing Gln concentration sizes of the liposomes were increased upto 200 nm. The encapsulation efficiency of Gln was determined as 83.6%, 87.1% and 84.9% for 20 mM, 40 mM and 60 mM Gln, respectively. To our knowledge, these efficiency values are higher than the ones reported in the literature. It was determined that Gln release from liposomes had reached equilibrium after 6 hours and the released Gln% from liposomes were obtained as 42.4% and 45.7% for liposomes loaded with 40 and 60 mM Gln solutions, respectively. Optical microscopy images of the erythrocytes after 3 hours of incubation and hemolysis measurements proved that presence of liposomes did not cause any structural changes on the erythrocyte shape. After incubation of L-Gln loaded liposomes with erythrocytes for 3 hours, the % hemolysis values were obtained as 2.8%, 3.3% and 3.9% for liposomes containing 20 mM, 40 mM and 60 mM L-Gln solutions, respectively. Therefore, it can be concluded that interactions of L-Gln loaded liposomes with erythrocytes do not cause any significant damage on cells and presence of liposomes do not affect the structure of the erythrocytes.

Conclusion: This study is a preliminary step for treating erythrocyte-based diseases such as sickle cell disease. Although additional investigations and optimizations should be implemented, the results of this study are promising in terms of developing a new liposomal drug delivery system to prevent deoxidation of erythrocytes which induce polymerization and sickling. Overall, it was concluded that L-Gln loaded PC/PG liposomes can be used further for developing a new drug delivery platform. This study is supported by the Hacettepe University, Scientific Research Projects Coordination Unit with the project number THD-2019-18441.

Keywords: Liposomes; L-Glutamine, drug delivery, erythrocytes, sickle cell disease

Lipidomik Yaklaşım Kullanılarak Tüberküloz Hastalığı İçin Lipid Belirlerinin Saptanması

Serkan CAN[1] , Serap SAHİN-BÖLÜKBAŞI[1]

1 Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 58140, Sivas, TÜRKİYE

Amaç; Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis*'in (*Mtb*) neden olduğu bulaşıcı bir hastalıktır ve dünyadaki önde gelen ölüm nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Biyobelirteçler, normal veya patojenik süreçleri gösteren spesifik moleküllerdir. TB için en büyük sorun, aktif hastalığın teşhisi için kan-temelli güçlü biyobelirteçlerin bulunmamasıdır. Lipitler enerji metabolizmasında, membran yapısında ve sinyal iletiminde önemli roller oynamaktadır. Lipidomik, hücresel lipidleri büyük ölçekte inceleyen yeni bir alandır ve biyomedikal bilimlerde yeni lipidomik uygulamalar ortaya çıkmaktadır. Farklı hastalıkların patogenezinde rol oynadığı bilinen lipit türleri kullanılarak yeni tedavi stratejileri geliştirilmektedir. TB hastalığında lipit metabolizmasının daha iyi anlaşılması, TB hastalığı için yeni ve daha iyi tedavilerin geliştirilmesine katkıda bulunabilecektir. Bu çalışmanın amacı, TB tanısı için potansiyel kan-temelli lipit biyobelirteçlerini tanımlamaktır.

Gereç ve Yöntem: TB hastalarının ve kontrollerin lipid profilleri, hedeflenmemiş lipidomik bir yöntemle karşılaştırıldı. Kan örneklerinden (TB hastaları ve kontroller) lipid izolasyonu Bligh-Dyer yöntemi ile yapıldı. Lipid türlerinin bağıl bollukları ESI-MS analizi ile belirlendi. MetaboAnalyst 4.0 (http://www.metaboanalyst.ca/) veri tabanı kullanılarak istatistiksel olarak anlamlı ($p< 0.05$) değişiklik gözlenen lipid türleri araştırıldı ve bu lipid türlerinin yapıları Lipid Maps (http://www.lipidmaps.org/) veri tabanı kullanılarak saptandı.

Bulgular: Çalışma sonucunda TB hastaları ve kontrollerin lipid profillerinin farklı olduğu ve önemli değişiklikler gösterdikleri belirlenmiştir. Yağ asidi (FA), gliserofosfolipid (PG), gliserolipid (GL), sfingolipid (SP), sterol lipit (ST) ve prenol lipit (PR) türünün TB'de farklı şekilde düzenlendiği (artış ve/veya azalış) bulunmuştur.

Sonuç: TB hastaları ve kontroller arasında değişiklik gösteren bu lipid türlerinin, TB için olası biyobelirteçler olabilecekleri önerilmiştir.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz, Lipidomiks, Elektrosprey İyonizasyon Kütle Spektrometresi (ESI-MS), Lipid Maps

Determination Of Lipid Markers For Tuberculosis Disease Using Non-Targeted Shotgun Lipidomic Approach

Serkan CAN[1] , Serap SAHIN-BOLUKBASI[1]

1 Sivas Cumhuriyet University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, 58140, Sivas, TURKEY

Objectives: Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) and remains one of the leading causes of mortality in the world. Biomarkers are specific molecules that indicate a normal or pathogenic processes. The biggest problem for TB is the absence of strong blood-based biomarkers for the diagnosis of active disease. Lipids are playing major roles in energy metabolism, membrane structure, and signal transduction. Lipidomic is a new field that examines cellular lipids on a large scale and novel applications of lipidomics in the biomedical sciences have emerged. New treatment strategies are developing by using known lipid species to play a role in the pathogenesis of different diseases. A better understanding of lipid metabolism in TB disease can contribute to the development of new and better treatments for TB disease. The objective of this study is to identify potential blood-based lipid biomarkers for the diagnosis of TB.

Materials and Methods: Lipid profiles of TB patients and controls were compared with an untargeted-lipidomic method. Lipid isolation from blood samples (TB patients and controls) was done by Bligh-Dyer method. The relative abundances of lipid types were determined by ESI-MS analysis. The lipid types with statistically significant changes ($p < 0.05$) were examined by using MetaboAnalyst 4.0 (http://www.metaboanalyst.ca/) database, and the structures of these lipid types were determined by Lipid Maps (http://www.lipidmaps.org/).

Results: As a result of the study, it was determined that the lipid profiles of TB patients and controls were different and showed significant changes. Fatty acid (FA), glycerophospholipid (PG), glycerolipid (GL), sphingolipid (SP), sterol lipid (ST) and prenol lipid (PR) types were found to be regulated differently (increase and/or decrease) in TB.

Conclusions: It has been suggested that these types of lipids, which vary between TB patients and controls, may be potential biomarkers for TB.

Key words: Tuberculosis, Lipidomics, Electrospray ionization-mass spectrometry (ESI-MS), Lipid Maps