



www.TurkJBiochem.com

# TÜRK BİYOKİMYA DERGİSİ

## Turkish Journal of Biochemistry

**VIII. Turkey *in vitro*  
Diagnostic (IVD)  
Symposia:  
Preclinical Models  
29 Kasım - 1 Aralık 2023 İzmir**

**VIII. Türkiye *in vitro*  
Diyagnostik (IVD)  
Sempozyumu:  
Preklinik Modeller  
29 Kasım - 1 Aralık 2023 İzmir**

Türk Biyokimya Derneği'nin yayın organıdır.  
[Published by the Turkish Biochemical Society]

2023  
Cilt [Volume] 48  
Ek Sayı [Supplement] 2

YER ALDIĞI  
İNDEKSLER  
[INDEXED  
BY]

SCI Expanded,  
Journal Citation  
Reports/Science  
Edition, Chemical  
Abstracts, Index  
Copernicus,  
Embase, Scopus,  
Ulakbim Türk  
Tıp Dizini,  
Ulrich's Periodical  
Directory, EBSCO,  
Turkey AtifDizini



2023 • VOLUME 48 • SUPPLEMENT ISSUE 2

# TURKISH JOURNAL OF BIOCHEMISTRY TÜRK BİYOKİMYA DERGİSİ

OFFICIAL JOURNAL OF THE TURKISH BIOCHEMICAL SOCIETY

## EDITOR IN CHIEF

### [BAŞ EDİTÖR]

Doğan Yücel, Ankara, TR

## VICE EDITORS

### [YARDIMCI EDİTÖRLER]

Aylin Sepici Dinçel, Ankara, TR  
Merve Sibel Güngören, Ankara, TR  
Oytun Portakal, Ankara, TR  
Muhittin Serdar, Ankara, TR  
Mehmet Şeneş, Ankara, TR

## SUPPLEMENT ISSUE EDITORS

### [EK SAYI EDİTÖRLERİ]

Hilal Koçdor, Izmir, TR  
Ezel Bildik, Izmir, TR

## ASSOCIATE EDITORS

### [BÖLÜM EDİTÖRLERİ]

Sedat Abuoğlu, Konya, TR  
Ebubekir Bakan, Erzurum, TR  
Sreeparna Banerjee, Ankara, TR

Emine Bayraktar, Ankara, TR

Ebru Bodur, Ankara, TR

Murat Bolayırlı, İstanbul, TR

Abdurrahman Coşkun, İstanbul, TR

Özlem Dalmızrak, Nicosia, TRNC

Birsen Can Demirdögen, Ankara, TR

Serenay Elgün Ülkar, Ankara, TR

Suat Erdoğan, Edirne, TR

Uzay Görmüş, Solna, SE

Levent Kayrim, Kyrenia, TRNC

Semra Koçtürk, İzmir, TR

İşıl Aksun Kurnaz, Kocaeli, TR

Melek Özkan, Kocaeli, TR

Yeşim Özkan, Ankara, TR

Ebru Saatçi, Kayseri, TR

Çağdaş Son, Ankara, TR

Alaattin Şen, Denizli, TR

Ajlan Tükün, Ankara, TR

Hamdi Uysal, Ankara, TR

Serenay Elgün Ülkar, Ankara, TR

Süha Yalçın, İstanbul, TR

İlhan Yayılm, İstanbul, TR

Fatma Meriç Yılmaz, Ankara, TR

Meral Yüksel, İstanbul, TR

## STATISTICS EDITORS

### [İSTATİSTİK EDİTÖRLERİ]

Erdal Coşgun, Redmond, WA, USA  
Sevilay Karahan, Ankara, TR  
Jale Karakaya, Ankara, TR

## TECHNICAL EDITORS

### [TEKNİK EDİTÖRLER]

Tülin Bayrak, Ordu, TR  
Birsen Can Demirdögen, Ankara, TR  
Merve Sibel Güngören, Ankara, TR  
Elvan Laleli Şahin, Dallas, USA  
Duygu Şahin, İstanbul, TR  
Oğuzhan Zengi, İstanbul, TR

## CORRESPONDING

### [YAZI İŞLERİ]

Nermin Şahan, Ankara, TR

DE GRUYTER

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models**EDITORIAL BOARD****[EDITÖRLER KURULU]**

**Khosrow Adeli**, Molecular Medicine, Research Institute, The Hospital for Sick Children, University of Toronto, Toronto, Ontario, CANADA

**Diler Aslan**, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Pamukkale University, Denizli, TURKEY

**Cumhur Bilgi**, Department of Medical Biochemistry, University of Yüksek İhtisas, Ankara, TURKEY

**Anyla Bulo-Kasneci**, Laboratory Department, University Hospital Center "Mother Teresa", Tirana, ALBANIA

**Orhan Değer**, Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Karadeniz Technical University, Trabzon, TURKEY

**Elif Demirkan**, Department of Biology, Faculty of Arts & Sciences, Uludağ University, Bursa, TURKEY

**Z. Günnur Dikmen**, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, TURKEY

**Miral Dizdaroglu**, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA

**Mustafa B. A. Djamgoz**, Department of Life Sciences, Faculty of Natural Sciences, Imperial College, London, UNITED KINGDOM

**Figen Erkoç**, Department of Biology Education, Faculty of Gazi Education, Gazi University, Ankara, TURKEY

**Gökhan Hotamışlıgil**, Department of Genetics and Complex Diseases, Harvard School of Public Health, Boston, USA

**Mehmet Kesimer**, Department of Pathology and Laboratory Medicine, Marsico Lung Institute, University of North Carolina at Chapel Hill, NC, USA

**İrfan Küfrevoğlu**, Department of Chemistry, Faculty of Art & Sciences, Atatürk University, Erzurum, TURKEY

**Nada Majkic-Singh**, Institute of Medical Biochemistry, Pharmaceutical Faculty and Clinical Centre of Serbia, Belgrade, SERBIA

**Gülgün Oktay**, Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Dokuz Eylül, Izmir, TURKEY

**I. Hamdi Öğüş**, Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Near East University, Nicosia, TRNC

**Yeşim Özarda**, Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Uludağ University, Bursa, TURKEY

**Tomris Özben**, Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Akdeniz University, Antalya, TURKEY

**Nazmi Özer**, Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Near East University, Nicosia, TRNC

**Israel Pecht**, Department of Immunology, Weizmann Institute of Science, Rehovot, ISRAEL

**Mario Plebani**, Department of Medical Sciences, University of Padova, Padova, ITALY

**Demetrios Rizos**, Hormonal and Biochemical Laboratory, Aretaieio Hospital, University of Athens, Athens, GREECE

**George Russev**, Bulgarian Academy of Sciences, Institute of Molecular Biology, Sofia, BULGARIA

**Fahri Saatçioğlu**, Department of Biosciences, University of Oslo, Oslo, NORWAY

**Ferhan Girgin Sağın**, Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, TURKEY

**Aziz Sancar**, Department of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill, NC, USA

**Praveen Sharma**, All India Institute of Medical Sciences, Jodhpur, INDIA

**Emin Sofic**, Department of Chemistry, Faculty of Science, Sarajevo University, Sarajevo, BOSNIA AND HERZEGOVIA

**Eser Sözmen**, Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Ege, Izmir, TURKEY

**Abdullah Tuli**, Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Çukurova University, Adana, TURKEY

**Ali Ünlü**, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Selçuk University, Konya, TURKEY

**Sedef Yenice**, Department of Clinical Chemistry, Group Florence Nightingale Hospitals, Istanbul, TURKEY

*Turkish Journal of Biochemistry (TJB)*, official journal of Turkish Biochemical Society, is issued electronically every 2 months. Research articles, reviews, short communications, technical reports, case presentations, opinions, and letters to the editor, that have not published elsewhere, on biochemistry, clinical biochemistry, molecular biology, molecular genetics, biotechnology, bioinformatics, bioengineering, and their educational disciplines are published in the journal.

The main aim of the journal is to support the research and publishing culture by ensuring that every published manuscript has an added value and thus providing international acceptance of the "readability" of the manuscripts published in the journal.

e-ISSN 1303-829X

All information regarding notes for contributors, subscriptions, Open access, back volumes and orders is available online at [www.degruyter.com/view/j/tjb](http://www.degruyter.com/view/j/tjb).

**RESPONSIBLE EDITOR** Doğan Yücel, Professor of Biochemistry, Department of Medical Biochemistry, Lokman Hekim University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey,  
Tel: +90 444 8 548, Email: [doyucel@yahoo.com](mailto:doyucel@yahoo.com)

**JOURNAL MANAGER** Alexander Görlt, De Gruyter, Genthiner Straße 13, 10785 Berlin, Germany. Tel.: +49 (0) 30 260 05–234,  
Fax: +49 (0) 30 260 05–250, Email: [alexander.goerlt@degruyter.com](mailto:alexander.goerlt@degruyter.com)

**RESPONSIBLE FOR ADVERTISEMENTS** Claudia Neumann, De Gruyter, Genthiner Straße 13, 10785 Berlin, Germany. Tel.: +49 (0) 30 260 05–226,  
Fax: +49 (0) 30 260 05–264, Email: [anzeigen@degruyter.com](mailto:anzeigen@degruyter.com)

**TYPESETTING** Compuscript Limited, Shannon, Ireland  
© 2022 Walter de Gruyter GmbH, Berlin / Boston



29 Kasım-1 Aralık 2023

EGE MATAL

(Ege Üniv. Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi)

## VIII. Türkiye *in vitro* Diyagnostik Sempozyumu

### "Preklinik Modellemeler"



## CONTENTS

- Boards
- Invitation
- Supporting Organizations
- Scientific Program

29 November 2023, Wednesday

30 November 2023, Thursday

01 December 2023, Friday

- Invited Speaker Abstracts
- Oral Presentation Abstracts
- Poster Presentation Full Text
- Poster Presentation Abstracts
- Index

## İÇİNDEKİLER

- Kurullar
- Davet
- Destekleyen Kuruluşlar
- Bilimsel Program

29 Kasım 2023, Çarşamba

30 Kasım 2023, Perşembe

01 Aralık 2023, Cuma

- Davetli Konuşmacı Özeti
- Sözlü Sunum Özeti
- Poster Sunum Tam Metinleri
- Poster Sunum Özeti
- Dizin

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models
**SYMPORIUM SCIENTIFIC ADVISORY BOARD  
[SEMPOZYUM BİLİMSEL DANIŞMA KURULU]**

**Prof. Dr. Ali Ünlü**, Selçuk Üniversitesi Tip Fakültesi, Tibbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Asuman Argon**, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tip Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Aylin Sepici Dinçel**, Gazi Üniversitesi Tip Fakültesi, Tibbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Aysun Pabuçcuoğlu**, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Ayşegül Demirtaş**, İzmir Biyotıp And Genom Merkezi (İBG), Test Birimi Yöneticisi

**Prof. Dr. Bahar Zengel**, İzmir Medical Point Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Banu İşbilen Başok**, İzmir Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tip Fakültesi, Tibbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Bilge Kara**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Fakültesi, Nörolojik Fizyoterapi - Rehabilitasyon Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Çiğdem İchedef**, Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Dicle Güç**, Hacettepe Üniversitesi, Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Diler Aslan**, Pamukkale Üniversitesi Tip Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Doğan Yücel**, Lokman Hekim Üniversitesi, Tip Fakültesi, Tibbi Biyokimya Bölümü

**Prof. Dr. Durişehvar Ünal**, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Analitik Kimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Ebru Sezer**, Ege Üniversitesi Tip Fakültesi, Tibbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Ekin Özgür Aktaş**, Ege Üniversitesi, Tip Fakültesi, Dahili Tip Bilimleri Bölümü, Adli Tip Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Emin Kansu**, Hacettepe Üniversitesi, Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı (Emekli Öğretim Üyesi)

**Prof. Dr. Eser Yıldırım Sözmen**, Ege Üniversitesi Tip Fakültesi, Temel Tip Bilimleri Bölümü, Tibbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Şerife Esra Erdal Bağrıyanık**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tip Fakültesi, Temel Tip Bilimleri Bölümü, Tibbi Biyoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Fatma Taneli**, Celal Bayar Üniversitesi, Tip Fakültesi, Temel Tip Bilimleri Bölümü, Tibbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Fazilet Zümrüt Biber Müftüler**, Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Ferhan Girgin Sağın**, Ege Üniversitesi Tip Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Figen Zihnioğlu**, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Funda Üstün**, Trakya Üniversitesi, Tip Fakültesi, Nükleer Tip Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Funda Yılmaz Barbet**, Ege Üniversitesi, Tip Fakültesi, Cerrahi Tip Bilimleri Bölümü, Tibbi Patoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Füsun Özmen**, Hacettepe Üniversitesi, Tip Fakültesi, Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Güliz Armağan**, Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Güneş Özhan**, İzmir Yüksek Teknoloji Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

**Prof. Dr. Nur Olgun**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Klinik Onkoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Handan Tuncel**, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tip, Biyofizik Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Hasan Havucoğlu**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tip Fakültesi, Cerrahi Tip Bilimleri Bölümü, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı (Emekli Öğretim Üyesi)

**Prof. Dr. Hilal Koçdor**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Hülya Yazıcı**, İstanbul Arel Üniversitesi, Tip Fakültesi, Tibbi Biyoloji ve Genetik Bölümü

**Prof. Dr. İbrahim Petekkaya**, Tınaztepe Üniversitesi, Tip Fakültesi, Temel Tip Bilimleri Bölümü, Tibbi Onkoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. İlhan Yayılm**, İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tip Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tip Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Koray Atila**, Dokuz Eylül Üniversitesi Tip Fakültesi, Cerrahi Tip Bilimleri Bölümü, Genel Cerrahi Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Lale Doğan**, Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Klinik Onkolojisi Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Mehmet Ali Koçdor**, Dokuz Eylül Üniversitesi Tip Fakültesi, Cerrahi Tip Bilimleri Bölümü, Genel Cerrahi Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Melih Önder Babaoğlu**, Hacettepe Üniversitesi, Tip Fakültesi, Dahili Tip Bilimleri Bölümü, Tibbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Müge Kiray**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tip Fakültesi, Temel Tip Bilimleri Bölümü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Davranış Fizyolojisi Bilim Dalı

**Prof. Dr. Nuray Ulus**, Koç Üniversitesi, Temel Tip Bilimleri, Tibbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Nüket Göçmen Karabekir**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tip Fakültesi, Temel Tip Bilimleri Bölümü, Anatomi Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Mustafa Oktay Tarhan**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Preventif Onkoloji Anabilim Dalı, Genel Dahiliye Bilim Dalı

**Prof. Dr. Osman Yılmaz**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tibbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü Anestezi Programı

**Prof. Dr. Ömer Aras**, Memorial Sloan Kettering Kanser Merkezi

**Prof. Dr. Özlem Göksel**, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**Prof. Dr. Özlem Yeşil Çeliktaş**, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Biyomühendislik Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Pembe Keskinoglu**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tip Fakültesi, Temel Tip Bilimleri Bölümü, Biyoistatistik ve Tibbi Bilişim Anabilim Dalı

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

**Prof. Dr. Perihan Ünak**, Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Sabriye Yuşan**, Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Teknoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Safiye Aktaş**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Samiye Yabanoğlu Çiftçi**, Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Semra Demokan**, İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Sinem Ezgi Turunç Özoglu**, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Süleyman Aydın**, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Tuncay Göksel**, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Yavuz Siliğ**, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Zeliha Günnur Dikmen**, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Zekiye Sultan Altun**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Şaziye Rüçhan Sertöz**, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Prof. Dr. Zeynep Yüce**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

**Doç. Dr. Ayfer Yurt Kılçar**, Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı

**Doç. Dr. Ayşe Caner**, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**Doç. Dr. Begüm Kocatürk**, Hacettepe Üniversitesi Kanser Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı

**Doç. Dr. Fadime Aydın Köse**, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı

**Doç. Dr. Kasım Diril**, İzmir Biyotıp And Genom Merkezi (İBG), Gen Hedefleme ve Transgenik Modeler Platformu

**Doç. Dr. Meriç Senduran**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Fakültesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü, Kardiyopulmoner Fizyoterapi-Rehabilitasyon Anabilim Dalı

**Doç. Dr. Seda Özbal**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**Doç. Dr. Selim Karabekir**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

**Doç. Dr. Tarık Salman**, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı

**Doç. Dr. Yasemin Soysal**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**Dr. Öğr. Üyesi Arzu Uyar**, İzmir Yüksek Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı

**Dr. Öğr. Üyesi Banu Demir**, İzmir Ekonomi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

**Dr. Öğr. Üyesi Ece Yıldız Öztürk**, Yaşar Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü

**Dr. Öğr. Üyesi Ecem Saygılı**, İzmir Demokrasi Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği

**Dr. Öğr. Üyesi Orkun Gürbüz**, İstinye Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü/Radyoterapi Pr.

**Dr. Öğr. Üyesi Rüksan Çehreli**, Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Preventif Onkoloji Anabilim Dalı

**Uzm. Dr. Muammer Yücel**, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Biyokimya Anabilim Dalı

**Dr. Erhan Canbay**, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**Dr. Hadi Rouhrazi**, Ege Üniversitesi, Solunum Araştırmaları Merkezi(EgeSAM), Translasyonel Pulmonoloji Araştırma Grubu

**Dr. Salih Uca**, Archem Sağlık Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi

**Dr. Volkan Tekin**, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Fizyoloji Anabilim

*Bilimsel Kurul, ünvan esaslı isim alfabetik olarak sıralanmıştır.*

### SYMPORIUM ORGANIZING BOARD [SEMPOZYUM DÜZENLEME KURULU]

**Prof. Dr. Doğan Yücel**

**Prof. Dr. Ferhan Girgin Sağın**

**Prof. Dr. Aysun Pabuçcuoğlu**

**Prof. Dr. Figen Zihnioglu**

**Prof. Dr. Hilal Koçdor**

**Prof. Dr. Aylin Sepici Dinçel**

**Prof. Dr. Gülist Armağan**

**Dr. Erhan Canbay**

### SYMPORIUM STUDENT SUPPORT BOARD

#### [SEMPOZYUM ÖĞRENCİ DESTEKLEME KURULU]

Arzu Yıldırım

Ezel Bildik

Kerem Tok

Sude Yılmaz

Yağmur Kaya

*Sempozyum öğrencisi destekleme komitesi, isim alfabetik olarak sıralanmıştır.*



## INVITATION

Dear Colleagues,

We invite you to the 8<sup>th</sup> Turkey *in vitro* Diagnostics (IVD) Symposium with the theme of "PRECLINICAL MODELS", which will take place between 29<sup>th</sup> of November to 1<sup>st</sup> of December 2023, and will be host by the Izmir Branch of the Turkish Biochemical Society.

Türkiye IVD Symposia have been held in all areas of health in recent years; It stands out as an important scientific and networking event that accelerates preclinical and clinical research and translation and provides new partnerships. This year's theme of Preclinical Modeling, is one of the common working areas of all health-related disciplines.

We aim for the selected theme to provide an important opportunity for leading scientists and managers from the academy, as well as technology providers, to exchange ideas and to be the Place Where Preclinical Minds Meet Discovery Technologies. We also want to discuss the details about "Preclinical Modeling" at the symposium; review everything from basic to clinic together, to improve the quality of knowledge and experience of our young colleagues who participate, and to evaluate the latest information and data together with speakers who are competent in their fields, as in previous years.

Dear colleagues, the symposium was attended by research assistants, experts and faculty members from "all disciplines" who conduct scientific studies on "symposium topics", university undergraduate and graduate students in the field of health, and scientists interested in the subject, stakeholders engaged in production and importation related to the subject. We are waiting for our industrialists and companies.

All oral and poster papers that will be accepted to the symposium scientific program as a result of the evaluations of the scientific advisory board will be published in the special supplement of the Turkish Journal of Biochemistry indexed within the scope of SCI-Expanded, and it will be possible to publish the full texts of the selected oral papers in the same journal.

"Research Awards" will be given to the studies to be selected by the referee committee from the oral or poster papers presented at the symposium.

You can follow all the developments regarding the VIII.Turkey *in vitro* Diagnostics Symposium on our page  
<https://www.ivd2023.org/tr/>

We invite you to the symposium with our sincere love and respect.

**Prof. Dr. Dogan YUCEL**

Chairman of the Board

Honorary President of the Symposium

**Prof. Dr. Hilal KOCDOR**

Head of TBD Izmir Branch

Symposium Chair



## DAVET

Değerli Meslektaşlarımız,

Sizleri, Türk Biyokimya Derneği İzmir Şubesi olarak gelenekselleştirdiğimiz, 29 Kasım-1 Aralık 2023 tarihleri arasında gerçekleştireceğimiz “PREKLİNİK MODELLEMELER” temali VIII. Türkiye *in vitro* Diyagnostik (IVD) Sempozyumu’na davet ediyoruz.

Türkiye IVD Sempozyumları son yıllarda sağlığın tüm alanlarında; preklinik, klinik araştırmalar ile translasyonu hızlandıran, yeni ortaklıklar sağlayan önemli bilimsel ve ağ oluşturma etkinliği olarak ön plandadır. Bu yıl ele alacağımız Preklinik Modellemeler teması, *sağlıkla ilgili tüm disiplinlerin ortak çalışma alanlarının başında yer almaktadır*.

*Seçilen temanın*, akademiden onde gelen bilim insanları ve yöneticilerin yanı sıra, teknoloji sağlayıcıları için de fikir alışverişinde bulunma konusunda önemli bir fırsat sunmasını ve Preklinik Akılların Keşif Teknolojileriyle Buluştuğu Yer olmasını hedefliyoruz.

Sempozyumda “Preklinik Modellemeler” ile ilgili ayrıntıları; temelden kliniğe beraberce gözden geçirmeyi, katılım yapan genç meslektaşlarımızın bilgi ve deneyim kalitesini yükseltmeyi, geçtiğimiz yıllarda olduğu gibi en yeni bilgi ve verileri, alanında yetkin konuşmacılarla birlikte değerlendirmeyi amaçlıyoruz.

Değerli meslektaşlarım, sempozyuma, “sempozyum konu başlıklarını” ile ilgili bilimsel çalışmalar yapan “tüm disiplinlerden” araştırma görevlisi, uzman ve öğretim üyesi meslektaşlarımızı, sağlık alanındaki üniversite lisansı, lisansüstü öğrencilerimizi, konuya ilgi duyan bilim insanlarını, konu ile ilgili üretim ve ithalat yapan paydaş sanayici ve firmalarımızı bekliyoruz.

Sempozyum bilimsel danışma kurulunun değerlendirmeleri sonucunda kabul edilecek tüm sözel ve poster bildiriler, SCI-Expanded kapsamında indekslenen Turkish Journal of Biochemistry dergisinin özel ekinde yayımlanacak, yine aynı dergide seçili sözel bildirilerin tam metinlerinin yayınlanması imkânı olacaktır.

Sempozyumda sunulan sözlü ya da poster bildirilerinden hakem kurulu tarafından seçilecek olan çalışmalara “Araştırma Ödülleri” verilecektir.

“PREKLİNİK MODELLEMELER” temali VIII. Türkiye *in vitro* Diyagnostik Sempozyumu ile ilgili tüm gelişmeleri [www.ivd2023.org](http://www.ivd2023.org) sayfamızdan takip edebilirsiniz.

Sizleri en içten sevgi ve saygılarımızla sempozyuma davet ediyoruz.

**Prof. Dr. Doğan YÜCEL**  
TBD Yönetim Kurulu Başkanı  
Sempozyum Onursal Başkanı

**Prof. Dr. Hilal KOÇDOR**  
TBD İzmir Şubesi YK. Başkanı  
Sempozyum Başkanı



SUPPORTING ORGANIZATIONS  
[DESTEKLEYEN KURULUŞLAR]



The symposium was supported by TUBITAK 2223-B Domestic Scientific Event Organization Support Program.

"Sempozyum, TÜBİTAK 2223-B Yurt İçi Bilimsel Etkinlik Düzenleme Desteği Programı'na desteklenmiştir."



## SCIENTIFIC PROGRAM [BİLİMSEL PROGRAM]

### 29 Kasım 2023, Çarşamba

#### 09:30 - 10:00 AÇILIŞ VE AÇILIŞ KONUŞMALARI

Hilal KOÇDOR – Sempozyum Başkanı, TBD İzmir Şb.. YK Başk.  
Doğan YÜCEL – TBD Genel Başkanı

#### 10:00 - 10:30 AÇILIŞ KONFERANSI

**Oturum Başkanı:** Dicle GÜÇ, Funda YILMAZ BARBET

#### 10:00 - 10:30 "Bilimsel Araştırmalarda ve Yayınlarında Etik İlkeler" - Emin KANSU

#### 10:30 - 11:00 1. OTURUM

**Oturum Başkanları:** Dicle GÜÇ, Funda YILMAZ BARBET

#### 10:30 - 11:00 "Preklinik Çalışmalarda Planlama, Organizasyon, Verilerin Analizi ve Değerlendirilmesi" - Pembe KESKİNOĞLU

#### 11:00 - 11:30 Kahve Arası

#### 11:30 - 13:00 2. OTURUM

**Oturum Başkanları:** Asuman ARGON, Ayşe CANER

#### 11:30 - 12:00 "In vivo Yöntemlere Alternatif Gelişen *in vitro* Preklinik Teknolojiler" - Esra ERDAL

#### 12:00 - 12:30 "GLP'de Hücre Temelli Preklinik Çalışmalar ve Mevzuat" - Ayşegül DEMİRTAŞ

#### 12:30 - 13:00 "Preklinik Çalışmalarda Hukuki Önlemler, Fikri Mülkiyet" - Ekin Özgür AKTAŞ

#### 13:00 - 13:50 Öğle Yemeği

#### 13:30 - 13:50 POSTER BAŞI TARTIŞMA SAATİ

**Oturum Başkanları:** Eser YILDIRIM SÖZMEN, Ebru SEZER, Fadime AYDIN KÖSE

#### 13:50 - 14:05 "BOZKIRIN KANATLARI" Uluslararası Ödüllü Kültürel Miras Sunumu - Mutlu KIZILBUGA

#### 14:05 - 15:00 3. OTURUM: Preklinik Araştırmalarda Biyoanalitik Teknikler-I

**Oturum Başkanları:** Figen ZİHNİOĞLU, Fazilet Zümrüt BİBER MÜFTÜLER

#### 14:05 - 14:30 "Preklinik Araştırmalarda Kullanılan Biyoanalitik Tekniklere Genel Bakış" - Durişehvar ÜNAL

#### 14:30 - 15:00 "Biyoanalitik Metod Geliştirilmesi ve Validasyonu" - Durişehvar ÜNAL

#### 15:00 - 15:30 Kahve Arası

#### 14:40 - 16:10 4. OTURUM: Preklinik Araştırmalarda Biyoanalitik Teknikler-II

**Oturum Başkanları:** Sabriye YUŞAN, Çiğdem İÇHEDEF

#### 15:30 - 16:00 "Preklinik Modellemelerde Moleküler Görüntüleme ve Mikroskop Teknikleri" - Funda ÜSTÜN

#### 16:00 - 16:30 "Flow Sitometri, Radio-ve İmmuno Assayler"- Fatma TANELİ

#### 16:30 - 17:00 5. OTURUM: Preklinik Araştırmalarda Hücre Kültürü-I

**Oturum Başkanları:** Handan TUNCEL

#### 16:30 - 17:00 "*in vitro* Çalışmaların Temeli; Primer ve İki Boyutlu Hücre Kültürleri" - Zeynep YÜCE

#### 18:30 - 19:30 SÖZLÜ SUNUM OTURUMU (Çevrim İçi)

**Oturum Başkanları:** Meriç SENDURAN, Seda ÖZBAL, Sinem Ezgi TURUNÇ ÖZOĞLU

SS1-1: "LİPOPOLİSAKKARİT KAYNAKLı NÖROİNFLAMASYON MODELİNDE YETİŞKİN SİÇANLARDA ÖZ BAKIM DAVRANIŞLARI"  
Hasan ÇALIŞKAN, Seda KOÇAK

SS1-2: "MMTV-TGF-A FARELERDE, GENETİK VE DIETLE İNDÜKLENEN OBEZİTENİN MEME TÜMÖROGENEZİNDE LEPTİN ÜZERİNDEN ETKİSİ" - Başak ÇELTİKÇİ

SS1-3 ORGANUM HYPERICIFOLIUM (DELİK MERCAN) EKSTRAKTALARININ FİBROBLAST HÜCRE SERİSİNDE T-BHP İLE İNDÜKLENMİŞ OKSİDATİF HASAR ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI - Ceylan ÖZSOY HEPOKUR, Faruk Kaan ÇELİK, Sema MISİR, Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN, Mehmet Tolghan HAKAN, Ş. Ümit ZEYBEK, Dürdane Serap KURUCA, İlhan YAYLIM

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

SS1-4: "ZUOTİN İLE İLİŞKİLİ FAKTÖR-1 PROTEİNİN MEME KANSERİ METASTAZINDAKİ ROLÜNÜN TÜMÖR MİKROÇEVRESİ AÇISINDAN İNCELENMESİ - Ayşegül KAYMAK ÖZDEMİR

"SS1-5 DOKSORUBİSİNİ DIRENÇLİ MDA-MB-231 MEME KANSERİNE YÖNELİK ÇOK İŞLEVLİ NANO TAŞIYICILARIN GELİŞTİRİLMESİ - Zekiye Sultan ALTUN, Selen KUM ÖZŞENGEZER, Ekrem ÖZDEMİR, Sevgi KILIÇ

SS1-6 RATLarda LAMBDA-KARRAGENAN ile İNDÜKLENMİŞ PLANTAR İNFLAMASYON MODELİNDE İNFLAMATUVAR ALANDA İNTERLÖKİN (IL)-6 ile TROMBOPOİETİN ÜRETİMİNİN İNCELENMESİ - Veysel TAHİROĞLU, Fatih KARA

SS1-7: "İNDOLAMİN 2,3 DİOKSİJENAZ-1 GENİNİN SUSTURULMASI SONRASI AKCİĞER KANSERİ HÜCRE HATLARINDA HÜCRE PROLİFERASYONU, MİGRASYONU, APOPTOZ VE OTOFAJİ SÜREÇLERİNİN İNCELENMESİ - Venhar CİNAR, Dilara SÖNMEZ ZOR, Mehmet TolgaHAN HAKAN, İslim KALELER, Gültekin İSA YEVA, Şerda DEMİRKOŁ, Ceylan ÖZSOY HEPOKUR, Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN, Cem HOROZOĞLU, Akif TURNA, Ş. Ümit ZEYBEK, Dürdane Serap KURUCA, Zuhal HAMURCU, Bülent ÖZPOLAT, İlhan YAYLIM

SS1-8: "DENEY HAYVANINDA IN VIVO KANSER MODELLEME: DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ DENEYİMİ" - Özde GÖKBAYRAK, Tekincan AKTAŞ, Aylin EROL, Efe SERİNAN, Zekiye Sultan ALTUN, Safiye AKTAŞ, Efsun KOLATAN, Osman YILMAZ

SS1-9: "TERANOSTİK İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM: RADYOİŞARETLİ DOSETAKSEL YÜKLÜ MANYETİK LİPİD NANOPARÇACIKLARIN TASARIMI VE İN VIVO TÜMÖR GÖRÜNTÜLEME - Burcu GÜNGÖR, Serap TEKSÖZ, Bedriye Elvan SAYIT BİLGİN, Funda ÜSTÜN, Çiğdem İÇHEDEF, Yasemin PARLAK, Yücel BAŞPINAR, Oğuz ÇETİN

## 30 Kasım 2023, Perşembe

09:00 - 10:30 **6. OTURUM: Preklinik Araştırmalarda Hücre Kültürü-II**  
Oturum Başkanları: Koray ATILA, Aylin SEPİCİ DİNCEL

09:00 - 09:30 "Humanoid Teknikler, Biyoartifisyal Dokuda Gelişmeler, 3D Mikroskopi ve Yapıların Analizi" - Hasan HAVITÇIOĞLU

09:30 - 10:00 "3D Hücre Kültüründe Dünden Bugüne Gelişmeler" - Mehmet Ali KOÇDOR

10:00 - 10:30 "Organoid, Scaffold Tasarım ve Uygulamaları: Hastalık Modelleri" - Özlem YEŞİL ÇELİKTAŞ

10:30 - 11:00 Kahve Arası

11:00 - 12:30 **7. OTURUM: Deneysel Hayvan Modelleri**  
Oturum Başkanları: Zeliha Günnur DİKMEN, Müge KİRAY

11:00 - 11:30 "Deney Hayvanları Uygulamalarında Temel Teknikler ve Etik" - Osman YILMAZ

11:30 - 12:00 "Transgenik Hayvan Modelleri" - Kasım DİRİL

12:00 - 12:30 "Zebra Balığı Uygulamaları" - Güneş ÖZHAN

12:30 - 13:15 **8. OTURUM: Preklinik Çalışmalara Hesapsal Yaklaşımlar**  
Oturum Başkanı: Orkun GÜRBÜZ

12:30 - 13:15 "Preklinik Çalışmalarda Hesapsal Modellemeler, Biyoinformatik ve Büyük Veri Uygulamaları" - Arzu UYAR

13:15 - 14:00 Öğle Yemeği

14:00 - 16:00 **9. OTURUM: Preklinik Çalışmalarda Seçme Konular**  
Oturum Başkanları: Ayfer YURT KILÇAR, Banu İŞBİLEN BAŞOK

14:00 - 14:30 "İlaç Metabolizması Araştırmalarında in vitro Modeller ve Farmakogenetik Bilginin Kullanılışı" - Melih Önder BABAOĞLU

14:30 - 15:00 "Advancing Nanomedicine and Imaging: Bridging the Gap from Research to Clinical Application" - Ömer ARAS

15:00 - 15:30 "Tümör Görüntüleme ve Tedavisinde Radioişaretli Nanopartikülerin Uygulamaları" - Perihan ÜNAK

15:30 - 16:00 "Tumor-self Targeting of Cancer Cells: Key Concepts to Elucidate Cell Homing Through Cell Tracking" - Volkan TEKİN

16:00 - 16:20 Kahve Arası

16:20 - 16:40 **10. OTURUM: Preklinik Çalışmalarda Görüntüleme**  
Oturum Başkanı: Muammer YÜCEL

16:20-16:40 "Tek Hücreden Organoide Hücre Analizi ve Ayırıştırmasında Yeni Ufuklar" - Türker TOKTAY

**18:30 - 19:30 SÖZLÜ SUNUM OTURUMU (Cevrim İçi)****Oturum Başkanları:** Banu DEMİR, İlhan YAYLIM, Samiye YABANOĞLU ÇİFTÇİ

SS2-1: "MAĞARA KÖKENLİ CIPROFLOXACIN'İN ANTIMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN NÜKLEER YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ"- Kadriye Büşra KARATAY, Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR, Batu ÇOLAK, Fazilet Zümrüt BİBER MÜFTÜLER, Ömer ARAS

SS2-2: "NÖROBLASTOMDA RHOB EKSPRESYONUNUN PROGNOSTİK BİR FAKTÖR OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ"- Burçin BARAN, Gamze SANLAV, Selen KUM ÖZŞENGEZER, Deniz KIZMAZOĞLU, Safiye AKTAŞ, Zekiye ALTUN, Nur OLGUN

SS2-3: "KARBONİK ANHİDRAZ IX İNHİBİSYONUNUN ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİNDE HİPOKSİK KOŞULLarda DEĞERLENDİRİLMESİ"- Gizem KAFTAN ÖCAL, M. Alper ERDOĞAN, Özlem AKGÜL, Derviş BİRİM, Fadime AYDIN KÖSE, Gülliz ARMAGAN

SS2-4: "PI3K (FOSFATİDİLİNOSİTOL 3-KİNAZ) İNHİBİTÖRÜ ALPELİSİBİN İRİNOTEKAN İLE KOMBİNASYONUNUN HORMON POZİTİF (MCF-7) MEME KANSERİ HÜCRESİNDE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI" - Ali Furkan KIDİL, Efe Özgür SERİNAN, Özde Elif GÖKBAYRAK, Sefayi Merve ÖZDEMİR, Safiye AKTAŞ

SS2-5: "PREEKLAMPTİK GEBELERDE ANTIHİPERTANSİF TEDAVİNİN TRİMETİLAMİN-N-OKSİT DÜZEYLERİNE ETKİSİ" - Zinnet Sevval AKSOYALP, Betül Rabia ERDOĞAN, Mustafa ŞENGÜL, Saliha AKSU

SS2-6: "ANTICANCER NUCLEOSIDE 6-THIOGUANOSINE DEMONSTRATE HIGH ANTICANCER ACTIVITY AND INDUCES TELOMERE DYSFUNCTION IN HEPATOCELLULAR CANCER MODELS" - Z. Günnur DİKMEN

SS2-7: "KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ HÜCRE HATTINDA DEGUELİN'İN ANTI-METASTATİK POTANSİYELİ VE MİTOKONDİRİYAL FONKSİYON ÜZERİNDEKİ ETKİSİ" - Ezel BİLDİK, Arzu YILDIRIM, Mehmet Ali KOÇDOR, Hilal KOÇDOR

SS2-8: "SS2-8 CİTRUS AURANTIUM'UN PANKREAS, TİROİD VE PROSTAT KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİTÜMÖREJENİK ETKİSİ" - Arzu YILDIRIM, Ezel BİLDİK, Mehmet Ali KOÇDOR, Hilal KOÇDOR

SS2-9: "METOTREKSATİN NEDEN OLDUĞU TESTİS HASARINDA QUERCETİN'İN ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ" - Burcu BARAN, Hilal KOÇDOR, Arzu YILDIRIM, Aslı ÇELİK, Mehmet Ali KOÇDOR, Seda ÖZBAL

**01 Aralık 2023, Cuma****09:00 - 10:40 11. OTURUM: Hastalıklara Özel Modeller *in vivo/in vitro* Analiz Örnekleri-I PANEL: KANSER****Moderatörler:** Nur OLGUN, İbrahim PETEKKAYA

"Kanserde Özel Modellemeler (Karsinogenez, Kanser Kök Hücre, 3D ve Sferoid)" - Füsün ÖZMEN

"Antikanser Etkinliğin *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* Analizi" - Safiye AKTAŞ"İnvazyon ve Metastazın *in vitro* ve *in vivo* Modellemesi ve Analizi" - Begüm KOCATÜRK"Kanserde Yan Etki ve İlaç Direncinin Analizde *in vitro* ve *in vivo* Modeller" - Zekiye Sultan ALTUN**10:40 - 11:00 Kahve Arası****11:00 - 11:30 Inovatif Bir IVD Ürünün AR-GE Planlanmasından Pazara Arzına Kadar Yaşam Döngüsü****Oturum Başkanı:** Diler ASLAN

Salih UCA

**13:30 - 15:00 12. OTURUM: Hastalıklara Özel Modeller *in vivo/in vitro* Analiz Örnekleri-II PANEL****Moderatörler:** Yasemin SOYSAL, Rüksan ÇEHRELİ, Bahar ZENGEL

"Tip 2 Diyabet, Endokrin Bozucular ve ALS Modellemeleri" - Nuray ULUSU

"Beyin ve Spinal Cerrahide Modelleme, Simülasyon Yöntemleri ve Klinik Önemleri" - Selim KARABEKİR

"Anatomik Modelleme, Simülasyon Teknikleri ve Kliniğe Yansımaları" - Nüket GÖÇMEN KARABEKİR

"Nörolojik Hastalıklar ve Fizyoterapide Preklinik Modellemeler" - Bilge KARA

**13:00 - 14:00 Öğle Yemeği****14:00 - 14:50 13. OTURUM: Preklinik Modellerin *in vitro* Diyagnostik Açısından Önemi ve Değerlendirilmesi****Oturum Başkanları:** İlhan YAYLIM, Oktay TARHAN

"In vitro Diyagnostik: Keşiften Tedaviye Preklinik Modellerin Önemi" - Nuray ULUSU

"Kişiye Özel Kanser Tedavisinde Kanser Aşları: Peptit Aşilar" - Hülya YAZICI



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

**15:00 - 16:30      PANEL : Translasyonel Merkezler İlaç Keşfi için Önemli midir?**  
**Moderatörler:** Tuncay GÖKSEL, Tarık SALMAN

**15:00 - 15:20**    “Çevresel Maruziyetlere Yönelik Solunum Epitel-Bariyer Modeli” - Özlem GÖKSEL

**15:20 - 15:40**    “Pulmoner Fibrozise Yönelik in vitro 3D Sferoid Model” - Ecem SAYGILI

**15:40 - 16:10**    “Akciğer Kanserine Yönelik PDX Modeli” - Hadi ROUHRAZI

**16:10 - 16:30**    “Ex-vivo Organotipik Koyun Akciğeri Doku Kültüründe İnfluenza Modellemesi” - Ece Yıldız ÖZTÜRK

**16:30 - 17:00      KAPANIŞ VE ÖDÜL TÖRENİ**



## POSTER PRESENTATION PROGRAM [POSTER BİLDİRİ PROGRAMI]

**PS1:"OMURGALI MODEL ORGANİZMA, ZEBRA BALIKLARINDA LAMBDA-CYHALOTHİN OKSİDATİF DNA HASARI"-** Rabia ŞEMSİ, Burcu ESER, Gülsüm KOÇAK, Göktuğ GÜL, Pınar ARSLAN, Aysel Çağlan GÜNAL, Aylin SEPİCİ DINÇEL

**PS2:"KIKIRDAK DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE 3 BOYUTLU BİYOBASKIDA KULLANIM POTANSİYELİ OLAN YENİLİKÇİ BİYOFOŃSÝYONEL MÜREKKEP GELİŞTİRİLMESİ"-** Cansu İlke KURU, Fulden ULUCAN KARNAK, Özgür SEYDİBEYOĞLU

**PS3:"DÝYABET TEDAVÝSÝNDE ALFA-GLUKOZİDAZ ENZİM İNHÝBITÖRLERÝ: SENTEZ VE BÝYOLOJÝK AKTİVÝTE ÇALIŞMALARI"-** Merve ARI, Zeynep SOYER

**PS4:"AKCÝGER KANSERÝ TEDAVÝSÝNDE BÝYOBELİRTEÇ ADAYLARI OLARAK SÝRKÜLER RNA'LARIN TANIMLANMASI"-** Büşra APAYDIN, Milad ASADÝ, Can MÜFTÜOĞLU, Ufuk MERT, Ayşe CANER

**PS5:" BÝYOINFORMATÝK ANALÝZ ÝLE NÖROBLASTOMDA PROGNOSTÝK BÝR BÝYOBELİRTEÇ OLARAK G6PD"-** Hongling YUAN, Zekiye ALTUN, Selen KUM ÖZŞENGEZER, Nur OLGUN

**PS6:"BORTEZOMÝB VE İMATÍNÝB'İN PANKREAS KANSERÝNDE OLASI SÝNERJÝSTÝK ETKÝSÝNÝN İNCELENMESÝ"-** Gaye PÝŞIREN, Seçil DEMÝRKOL CANLI, Begüm KOCATÜRK

**PS7:"NÖROBLASTOMDA RAS MUTASYONLARI ÝLE BÝRLÝKTE SAPTANAN BRAF MUTASYONU"-** Tekincan Çağrı AKTAŞ, Aylin EROL, Deniz KIZMAZOĞLU, Safiye AKTAŞ, Nur OLGUN

**PS8:"ARUM CONOPHALLOÏDES'İN ANTIOKSIDAN ETKÝLERİNİN İNCELENMESÝ VE MEME KANSERÝ HÜCRE HATTI ÜZERÝNE OLASI ANTÝPROLÝFERATÝF ETKÝLERİNİN İNCELENMESÝ"-** Hajir Moosa Mohammed AL KHAFAJI, İlhan YAYLIM, Ceylan ÖZSOY HEPOKUR, Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN, Sema MISIR

**PS9:"SKUALENÝN SÝSPLATÝN KAYNAKLÝ TOKSÝSÝTEYE ETKÝSÝNÝN KELLY NÖROBLASTOM HÜCRE HATTINDA ARASTIRILMASI"-** Sefayi Merve ÖZDEMÝR, Özde Elif GÖKBAYRAK, Efe Özgür SERİNAN, Safiye AKTAŞ

**PS10:"RESVERATROL, EQUOL VE D VÝTAMÝNÝN KOLON KANSERÝ ÜZERÝNE ETKÝSÝNÝN ARASTIRILMASI"-** Ceylan ÖZSOY HEPOKUR, Sema MISIR, İlhan YAYLIM, Mehmet Tolgahan HAKAN, Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN, Ege Alican TOPÇU, Mediha SÜLEYMANOĞLU ERSEZ

**PS11:"ETKÝLÝ KONFORMASYONEL ÖRNEKLEME ÝLE EKTO-5'-NÜKLEOTÝDAZDAKİ ALLOSTERÝK BAÐLANMA BÖLGELERÝNÝN KEÞÝ"-** Fulden ULUCAN KARNAK, Arzu UYAR, Sevcan ATAY, Ferhan GÝRGÝN SAÑIN

**PS12:"COVÝD-19 ÝLE İLİŞKİLİ MORTALÝTE ÝÇÝN PROGNOSTÝK BÝR BÝYOBELİRTEÇ OLARAK TRÝMETÝLAMÝN-N-OKSÝT"-** Zinnet Sevval AKSOYALP, Betül Rabia ERDOĞAN, Salihah AKSUN, Melih Kaan SÖZMEN, Murat AKSUN, Cüneyt Kemal BUHARALIOĞLU, Nagihan ALTINCI KARAHAN, Nergiz Hacer TURGUT, Tijen KAYA TEMÝZ

**PS13:"KEMÝK METABOLÝZMASI HAYVAN MODELLERÝ"-** Burcu ESER, Sahra Setenay BARAN, Aylin SEPİCİ DINÇEL

**PS14:"KURKUMÝ'NÝ RADYOTERAPÝ/KEMOTERAPÝ NEDENLÝ ORAL MUKOZÝTE ETKÝSÝ: META ANALÝZ"-** Yaðmur KAYA, Arzu UYAR, Hilal KOÇDOR

**PS15:"BOS TOTAL PROTEÝN TESTÝNE YAKLAŞIM: HASTAYA ÖZGÜ REAKSÝYON GRAFÝĞİNÝN ÖNEMÝ"-** Hasan Alp TURGUT, Hacer DOĞAN, Duygu DOĞAN, Mehmet ŞENEŞ

**PS16:"UYUÞTURUCU MADDE TARAMALARINDA ARDIÞIK ÖLÇÜLEN VE POZÝTİF GELEN KANNABINOÝD ÖLÇÜM SONUÇLARI NE ïFADE EDER? YENÝ KULLANIM MI, YOKSA ÖNCEKİ KULLANIMIN ARTIÐI MI?"-** Naz KOÇOĞLU, Mehmet , ŞENEŞ

**PS17:"MADDE KULLANIM ÖYKÜSÜ OLAN HASTALarda PREGABALIN VE GABAPENTÝNÝN KÖTÜYE KULLANIM SIKLIÐI"-** İbrahim YANGIN, Özge YAKAR, Şükran ARMAĞAN BIÇAKÇI, Mehmet ŞENEŞ

**PS18:"DOKSORUBÝSÝN YÜKLÜ MEZENKÝMAL KÖK HÜCRELERÝN ANAPLASTÝK TÝROID KANSERÝ TEDAVÝSÝNDEKİ ROLÜ"-** Ayşe Özlem SÝLÝSTÝRELÝ, Hilal KOÇDOR, Arzu YILDIRIM, Ezel BÝLDÝK, Halil ATEŞ, Erdem Erinç SÝLÝSTÝRELÝ , Mehmet Ali KOÇDOR



## INVITED SPEAKERS ABSTRACTS [DAVETLİ KONUŞMACI ÖZETLERİ]

### IS-01 WINGS OF THE STEPPE

#### [BOZKIRIN KANATLARI]

**Nedim Mutlu KIZILBUGA**

Ege University, Turkish World Research Institute, Turkish Folklore Department, Doctorate program student, 100/2000 YÖK Scholary

The subject of the paper we will present is the observations we made during the field research of our doctoral thesis titled “Eagle in Turkish Culture: Kazakhstan Intangible Cultural Heritage Element, Bürkitşilik Tradition”. The word “Bürkitşilik” means hunting with an eagle in English. In order to observe the tradition in question, which is one of the intangible cultural heritage elements of the Kazakh Turks, in the places where the tradition is kept alive and to carry out the compilation study with the tradition carrier, Kazakhstan between 2 September 2022 and 9 December 2022; We have been to cities such as Astana, Karagandy, Pavlodar, Almaty and Urjar. During this period, thanks to the contacts we established with the universities, museums of the cities we visited and the Kazakhstan Kırın (Hunter Eagle) Federation, we had the opportunity to meet and observe 150 of the approximately 200 people we know who continue the eagle wing tradition in Kazakhstan. By carrying out our compilation study with 31 of these people, we successfully completed the field research part of our thesis. The resource people we chose to compile are Kazakhstan's master eagle hunters who train apprentices and their young apprentices who have achieved success in national and international competitions. During the compilation period, these resource persons answered our questions about the transfer of the eagle-keeping tradition between generations, the stages of catching the eagle, training it, using it in hunting and releasing the eagle back into the wild. In addition, at the ceremony held at the end of the “World Falconry Championship” held in Urjar, we were rewarded by the governor of Urjar with a certificate of appreciation for the work we have done for the culture of Kazakh Turks and a monetary award presented to help us in our work. At the end of our field research, which lasted more than three months, we returned to Izmir and started the deciphering of the information we obtained in the field and then the writing phase of our thesis. During this period, we continue to work on the intangible cultural heritage elements of Kazakh Turks. In addition, we opened a photography exhibition titled “Wings of the Steppe: Kazakhstan Hunting with an Eagle Tradition”, consisting of photographs we took in Kazakhstan, at the Ege University Turkic World Research Institute on March 21, 2022, and presented it to the attention of Turkic World researchers. Sunacağımız bildirinin konusunu hazırlamakta olduğumuz “Türk Kültürü’nde Kartal: Kazakistan Somut Olmayan Kültürel Miras Unsuru Bürkütçülük Geleneği” adlı doktora

teziminin saha araştırması esnasında yapmış olduğumuz gözlemler oluşturmaktadır. Bürkütçülük sözcüğü Türkiye Türkçesi ile kartalcılık/kartal ile avcılık anlamına gelmektedir. Kazak Türklerinin somut olmayan kültürel miras unsurlarından biri olan söz konusu gelenek hakkında geleneğin yaşatıldığı mekanlarda gözlem yapmak ve gelenek taşıyıcıları ile derleme çalışmasını gerçekleştirmek için 2 Eylül 2022 ve 9 Aralık 2022 tarihleri arasında Kazakistan’ın; Astana, Karagandı, Pavlodar, Almatı ve Urjar gibi kentlerinde bulunduk. Bu süre zarfında ziyaret ettiğimiz kentlerin üniversiteleri, müzeleri ve Kazakistan Kırın (Avcı Kartalçı) Federasyonu ile kurduğumuz irtibatlar sayesinde Kazakistan’daki kartalcılık geleneğini sürdürdüğünü bildiğimiz yaklaşık 200 kişiden 150’si kadarı ile tanışma ve gözleme imkanı bulduk. Bu kişilerden 31 tanesi ile derleme çalışmamızı gerçekleştirerek teziminin saha araştırması kısmını başarılı ile tamamlamış olduk. Derleme yapmak için seçtiğimiz kaynak kişiler Kazakistan’ın çırak yetiştiren usta kartalçıları ve onların ulusal ve uluslararası yarışmalarda derece elde eden genç çıraklarından oluşmaktadır. Bu kaynak kişiler bize derleme süresi boyunca kartalcılık geleneğinin kuşaklar arasında aktarılmasından, kartalın yakalanması, eğitilmesi, avcılıkta kullanılması ve kartalın tekrar doğaya bırakılması aşamaları hakkındaki sorularımıza yanıt verdiler. Ayrıca Urjar’da düzenlenen “Dünya Doğancılık Şampiyonası” sonunda düzenlenen törende Urjar valisi tarafından Kazak Türklerinin kültürü için yapmış olduğumuz çalışmalar için bir teşekkür belgesi ve çalışmalarımızda yardımcı olması için takdim edilen para ödüllü ile taltif edildik. Üç ayı aşkın bir süre zarfına sığan saha araştırmamızın sonunda İzmir'e dönerken sahada elde ettiğimiz bilgilerin deşifresine ve ardından tezimin yazım aşamasına başlamış bulunduk. Bu süre içerisinde Kazak Türklerinin somut olmayan kültürel miras unsurları hakkında çalışmalar yapmaya devam ediyoruz. Ayrıca Ege Üniversitesi Türk Dünyası Araştırmaları Enstitüsü'nde, 21 Mart 2022 tarihinde Kazakistan'da çektiğimiz fotoğraflardan oluşan “Bozkırın Kanatları: Kazakistan Kartal ile Avcılık Geleneği” adlı bir fotoğraf sergisi açarak, Türk Dünyası araştırmacılarının ilgisine sunduk.

### IS-02 OVERVIEW OF BIOANALYTICAL TECHNIQUES USED IN PRECLINICAL RESEARCH

#### [PREKLİNİK ARAŞTIRMALARDA KULLANILAN BİYOANALİTİK TEKNİKLERE GENEL BAKIŞ]

**Prof. Dr. Durisehvar UNAL<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Istanbul University, Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry,

<sup>2</sup>Pharmaceutical Research and Application Center

In drug development, preclinical studies, also called preclinical studies or nonclinical studies, are studies that

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

begin before clinical trials with human volunteers and typically collect important drug safety data in laboratory animals. At this stage, analysis of the drug or related compounds in animal experiments and studies at the cell level becomes important. Biological material to be used to develop the analytical method must be provided. The animal plasma or cell line in which the preclinical study will be conducted should be taken as a blank sample and the method should be developed by adding the relevant drug (spiked). It is necessary to determine the drug blood concentration required for the method to be used. The detector of the chromatographic method is selected according to the maximum blood concentration of the drug. For blood concentrations of micrograms or 100 ng/mL, a High pressure liquid chromatography-UV (HPLC\_UV) detector can be selected. For concentrations of 100 ng and lower, the HPLC Tandem mass spectrometry (HPLC\_MSMS) method should be chosen. It is important that the devices in which the analyzes will be performed and the devices used, such as scales, pH meters and centrifuges, are qualified. The aim of laboratories is to provide reliable results; It should be ensured that the analytical methods are valid, that the analysts receive appropriate training, that reliable devices are used, that the correct device is purchased and its performance. Therefore, a qualification program must be implemented to verify the performance of analytical instruments. Qualification is the work done to prove that devices are properly installed, operate correctly, and actually achieve the expected results. It is different from validation. Validation is the work done to prove that a procedure, process or system or method will produce the expected results accurately.

İlaç geliştirmede, klinik öncesi çalışmalar veya klinik dışı çalışmaları olarak da adlandırılır, insan gönüllüler ile yapılan klinik denemelerden önce başlayan ve tipik olarak laboratuvar hayvanlarında önemli ilaç güvenliği verilerinin toplandığı araştırmalar preklinik çalışmalarıdır. Bu aşamada hayvan deneylerinde ve hücre düzeyinde yapılan çalışmalarla ilaçın veya ilgili bileşiklerin analizi önem kazanmaktadır. Analitik yöntemin geliştirilmesi için kullanılacak olan biyolojik materyal sağlanmalıdır. Preklinik çalışmanın yapılabacağı hayvan plazması veya hücre hattı boş örnek olarak alınmalı ve ilgili ilaç katım (spiked) yapılarak yöntem geliştirilmelidir. Kullanılacak yöntem için gerekli olan ilaç kan konsantrasyonunu belirlemektedir. İlaç maksimum kan konsantrasyonuna göre kromatografik yöntemin dedektör seçilir. Mikrogram veya 100 ng/mL düzeyindeki kan konsantrasyonları için Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi-UV (HPLC\_UV) dedektörü seçilebilir. 100 ng ve daha düşük konsantrasyonlar için HPLC Tandem kütle spektrometrisi (HPLC\_MSMS) yöntemi seçilmelidir. Analizlerin yapılacak cihazların ve kullanılan terazi, pH metre, santrifüj gibi cihazların kalifikasyonlarının yapılmış olması önemlidir. Laboratuvarların amacı güvenilir sonuçlar vermektir bunun için; Analitik metodların geçerliliğinden, Analystlerin uygun eğitimi aldığından, Güvenilir cihazlar kullanıldığından, Doğru cihazın alındığından, performansından emin olunmalıdır. Bu yüzden analitik cihazların performansını

doğrulamak için bir kalifikasyon programı uygulanması gereklidir. Kalifikasyon, cihazların uygun olarak kurulduğunu, doğru çalıştığını ve beklenen sonuçlara filen ulaşlığını kanıtlamak için yapılan çalışmalardır. Validasyon dan farklıdır. Validasyon, bir prosedürün, prosesin veya sistemin, yöntemin beklenen sonuçları doğru olarak vereceğinin ispatı için yapılan çalışmalardır.

**IS-03****BIOANALYTICAL METHOD DEVELOPMENT AND VALIDATION****[BİYOANALİTİK METOD GELİŞTİRİLMESİ VE VALİDASYONU]**

**Prof. Dr. Durisehvar UNAL<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Istanbul University, Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry,

<sup>2</sup>Pharmaceutical Research and Application Center

Method validation is the demonstration of the accuracy and reliability of the developed method in the quantitative (quantification) or qualitative (qualitative) analysis of an analytical method of any substance through a matrix. Partial Validation: It is performed to check the validity of the validated method when the device, analyst or laboratory conditions change. For this purpose, inter-day or intraday precision and accuracy studies are carried out. Full validation: initial validation, all validation parameters are performed in full validation. Partial validation is done after a long break or when another device or analyst will apply the method. Validation parameters: Selectivity, specificity, Selectivity: In the bioanalytical method, it is checking whether there is any interference in the matrix environment where the analyte is located. Originality means that the developed method shows that two or more substances are completely separated from each other and that there is no interference. Precision is the measure of the closeness of the results obtained from calculating the analysis results of a series of analysis samples. Accuracy is the measure of how close the results obtained from the test method are to the true value. The limit of detection (LOD) is the lowest amount that can be observed. Signal/noise ratio must be greater than 3. Limit of determination (LOQ) is the lowest satisfactory quantity. It is taken as the first point of the calibration curve. The signal/noise ratio must be greater than 10. Linearity can consist of 5-12 points. 7-9 points are most preferred. Repeat samples should be run to test linearity. 3 or 5 replicate numbers of the calibration curve should be prepared by adding known concentrations of standard analytes to the medium under study. The standards used in the preparation of the calibration curve, "Analysis certificates", must be examined for purity. Recovery means finding the amount added by adding onto the empty matrix. Stability: The drug must preserve all its properties and remain undegraded in its environment until the analysis is completed. A protocol must be written and implemented before bioanalytical method validation is performed.

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

Metot validasyonu, bir analitik yöntemin herhangi bir maddenin bir matriks içinden kantitatif (miktar tayini) veya kalitatif (nitel) analizinde, geliştirilen yöntemin doğru ve güvenilirliğinin gösterilmesidir. Kısmi Validasyon: Cihaz, analist veya laboratuvar koşulları değiştiğinde valide edilen yöntemin geçerliliğinin kontrolü için yapılır. Bunun için günlerarası veya gün içi kesinlik ve doğruluk çalışmaları yapılır. Tam validasyon: ilk validasyon, tüm validasyon parametreleri tam validasyon da yapılır. Kısmi validasyon uzun aradan veya başka bir cihaz veya analist metodu uygulayacağında yapılır. Validasyon parametreleri: Seçicilik/Özgünlük (selectivity, specificity), Seçicilik: Biyoanalitik metodda analitin bulunduğu matriks ortamında girişimin olup olmadığı kontrol edilmesidir. Özgünlük, Geliştirilen metodun iki veya daha fazla maddenin birbirinden tamamen ayrıldığını ve hiçbir girişimin olmadığı gösterilmesidir. Kesinlik (Precision) bir seri analiz örneğinin analiz sonuçlarının hesaplanması elde edilen sonuçların birbirine yakınlığının ölçüsüdür. Doğruluk (accuracy) Test metodundan elde edilen sonuçların gerçek değere yakınlığının ölçüsüdür. Dedeksyon limiti, (LOD), gözlemlenebilen en düşük miktardır. Sinyal/gürültü oranı 3 den büyük olmalıdır. Tayin limiti (LOQ), en düşük tatin edilen miktardır. Kalibrasyon eğrisinin ilk noktası olarak alınır. Sintal/gürültü oranı 10 dan büyük olmalıdır. Doğrusallık (linearity) 5-12 noktadan oluşabilir. En çok 7-9 nokta tercih edilir. Doğrusallığını test etmek için tekrarlı numuneler çalışılmalıdır. 3 veya 5 tekrar num Kalibrasyon eğrisi çalışılan ortama standart analitlerin bilinen konsantrasyonlarda eklenmesi ile hazırlanmalıdır. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında kullanılan standartlar "Analiz sertifikaları" mutlaka saflık açısından incelenmelidir. Geri kazanım (Recovery), Boş matriks üzerine katım yapılarak eklenen miktarın bulunmasıdır. Stabilite, İlaç bulunduğu ortamda, analiz tamamlanıncaya kadar tüm özelliklerini korumalı ve bozunmadan kalmalıdır. Biyoanalitik metod validasyonu yapılmadan önce protokol yazılmalı ve uygulanmalıdır.

**IS-04****MOLECULAR IMAGING AND MICROSCOPY TECHNIQUES IN PRECLINICAL MODELING****[PREKLİNİK MODELLEMELERDE MOLEKÜLER GÖRÜNTÜLEME VE MİKROSKOPİ TEKNİKLERİ]**

**Prof. Dr. Funda USTUN**

Trakya University, Faculty of Medicine, Department of Nuclear Medicine, Edirne, Türkiye

Preclinical studies are studies that aim to develop methods for the diagnosis and treatment of diseases by understanding the mechanisms of health and disease, from the cellular level to the systemic level. The first use of experimental animals in studies dates back to 400 BC. The first experimental applications were made by Galen in the 1st century AD. However, publications and imaging methods regarding small laboratory animals or pre-clinical imaging appeared in the

early 19th century. This situation is parallel to the development of technical infrastructure. Developments in equipment and technical services have been accompanied by developments in experimental models over the years.

The most important stage in preclinical studies is to reveal the disease model; for this, detailed preliminary studies and research are important.

Preclinical studies are used for purposes such as metabolism, tissue viability, dosimetry, existence of vascular continuity, drug development, treatment modalities and schemes, gene therapies, and determining tissue/organ distribution and clearance of newly developed radiopharmaceuticals for diagnosis and treatment. For these purposes, imaging is provided in models of different systems and diseases such as cardiology, neurology and oncology. Thus, in oncology, tumor proliferation, gene expression, tumor angiogenesis, the presence of hypoxia in the tumor tissue and the presence of apoptosis in the tumor are evaluated, and the physiology and metabolism of the heart and other organs are revealed.

Imaging methods used in preclinical studies; It can include many methods such as anatomical, molecular and optical imaging. Basic topics; scintigraphy (planar/SPECT), PET/CT, Ultrasonography, MRI, CT, optical imaging and microscopic imaging. With these methods, the characteristics of the living organism at the cellular or subcellular level are presented in detail. The imaging method should be preferred according to the experimental animal used in preclinical studies, the disease model applied and the targeted purpose. Preclinical studies conducted with molecular imaging methods observe biochemical and physiological processes thanks to their longitudinal features, enable monitoring of disease progression or response to treatment, and thus have the potential to form a bridge to clinical studies.

Preklinik çalışmalar hücresel düzeyden sistemik düzeye dek, sağlık ve hastalık mekanizmalarını anlamayı sağlayarak hastalıkların tanı ve tedavisi için yöntemler geliştirmeyi amaçlayan çalışmalarlardır. Çalışmalarda ilk deney hayvanlarının kullanımı MÖ 400 yila dayanmaktadır. İlk deneyel uygulamalar Galen ile MS 1. yy'dadır. Ancak küçük deney hayatı veya klinik öncesi görüntülemeler ile ilgili yayınlar ve görüntüleme yöntemleri ise 19. yy başlarında karşımıza çıkmıştır. Bu durum teknik alt yapının gelişmesi ile paralellik sergilemektedir. Cihaz ve teknik servislerdeki gelişmelere deneyel modellerdeki yıllar içindeki gelişmeler de eşlik etmiştir.

Preklinik çalışmalarındaki en önemli aşama hastalık modelinin ortaya konmasıdır, bunun için ayrıntılı ön çalışma ve araştırma yapılması önem taşımaktadır.

Preklinik çalışmalar; metabolizma, doku canlılığı, dozimetri, vasküler devamlılığın varlığı, ilaç geliştirme, tedavi modaliteleri ve şemaları, gen tedavileri ve tanı ve tedavi için yeni geliştirilen radyofarmosötklerin doku/organ dağılımı ve klirensini belirlemek gibi amaçlar ile kullanılır. Bu amaçlar doğrultusunda kardiyoloji, nöroloji, onkoloji gibi farklı sistem ve hastalıklara ait modellerde görüntülemeler sağlanır. Böylece örneğin onkolojide tümör proliferasyonu, gen ekspresyonu, tümör anjiogenezi, tümör dokusunda hipoksî



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

varlığı ve tümördeki apoptozis varlığı değerlendirilir. Ya da kalp ve diğer organların fizyolojisi, metabolizması ortaya konulur.

Preklinik çalışmalarla kullanılan görüntüleme yöntemleri; anatomik, moleküler ve optik görüntülemeler gibi pek çok yöntemi içerebilmektedir. Temel başlıklar; sintigrafi (planar/SPECT), PET/BT, Ultrasonografi, MR, BT, optik görüntüleme ve mikroskopik görüntüleme olarak sıralanabilir. Bu yöntemler ile yaşayan canlinin/organizmanın hücresel veya subsellüler seviyede özellikleri ayrıntılı olarak sunulur. Preklinik çalışmalarla kullanılan deney hayvanına, uygulanan hastalık modeline ve hedeflenen amaca göre görüntüleme yöntemi tercih edilmelidir.

Moleküler görüntüleme yöntemleri ile yapılan preklinik çalışmalar, longitudinal özellikleri sayesinde biyokimyasal ve fizyolojik süreci gözlemler, hastalıkların ilerlemesinin veya tedaviye yanıtın izlenmesini sağlar ve böylece klinik çalışmalarla bir köprü oluşturma potansiyeli sergilerler.

#### **IS-05 FLOW CYTOMETRY, RADIO-AND IMMUNO ASSAYS**

#### **[FLOW SİTOMETRİ, RADIÖ-VE İMMUNO ASSAYLER]**

**Prof. Dr. Fatma TANELİ**

Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Department of Clinical Biochemistry, Manisa, Türkiye

Flow cytometry is one of the indispensable techniques of both clinical and research laboratories in current practices. Method, fluorescence principles, data analysis, controls in flow cytometry, optimization of experiments, multicolor panel preparation and flow cytometry usage areas are important of flow cytometry technique.

The components of the flow cytometry system consist of 3 basic systems: liquid fluidic system, optical system and electronic system. The main feature of flow cytometry is that it can measure the properties of particles as they pass in front of the laser light. The cells entering the flow cytometer device are arranged in a single row by hydrodynamic focusing.

Cell Sorting is a special flow cytometry system that often allows cell populations to be separated according to their scatter or fluorescence properties of each cell. Fluorescence-activated cell sorting (FACS) is used for obtaining a single cell type, DNA, RNA analysis, protein analysis, cell functions, purification of hematopoietic cells based on CD34 or viability, and cell selection for further analysis or cell culture. It is also used in immunological research, physiological research, protein and cell engineering fields. Full Spectrum Flow Cytometry (=spectral cytometry); Many detectors do not use filters for the light coming out of the laser, instead the full spectral profile of the fluorescent dye can be measured.

Flow Cytometry technique is widely used in hematological

malignancies, bone marrow transplantation, immunophenotyping, lymphomas, leukemias, Multiple Myeloma, primary immunodeficiency diagnostic algorithms, Stem cell count, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH), platelet function analysis, reticulocyte count, HIV infection CD4/CD8 rate, HLAB 27 analysis, Lymphocyte subgroups and functions, Intracellular cytokine determination, Viability, Cell cycle, Cross match tests in organ transplants, Maternal Hemoglobin, apoptosis annexin staining, Caspase-1 analysis.

Minimal residual disease (MRD) analysis is performed to evaluate treatment effectiveness, compare drugs or treatment strategies, detect early relapse after treatment, and evaluate prognosis.

Mass cytometry (cytometry by time of flight [CyTOF]); It offers new areas of research in cytometry. In this technique, analysis is performed by marking samples with antibodies bound to metal isotopes and measuring the time each isotope moves towards the detector in the electrical field. Imaging Mass cytometry technique uses thin tissue sections that are stained and analyzed. A 1 Mm laser beam focuses on the sample and collects antibodies labeled with metals, directing them to be detected with CyTOF technology.

Günümüzde flow sitometri analizleri hem klinik hem araştırma laboratuvarlarının vazgeçilmez tekniklerinden birisidir ve kullanım alanları büyük bir hızla yaygınlaşmaktadır. Flow sitometride floresans ilkeleri, veri analizi, flow sitometride kalite kontrol uygulamaları, deneylerin optimizasyonu, multicolor panel hazırlama evreleri önem taşımaktadır.

Flow sitometri sisteminin bileşenleri sıvı fluidik sistem, optik sistem ve elektronik sistem olmak üzere 3 temel sistemden oluşmaktadır. Flow sitometrinin temel özelliği partiküllerin laser ışığının önünden geçenken özelliklerini ölçebilmesidir. Flow sitometre cihazına giren hücrelerin hücreler tek sıra halinde dizilmesi hidrodinamik fokuslama tarafından sağlanır.

Cell Sorting, sıklıkla hücre popülasyonlarının her hücrenin floresans özelliklerine göre ayrıştırılması sağlayan özel bir flow sitometri sistemidir. Fluorescence-activated cell sorting (FACS) kullanım alanları tek hücre tipinin elde edilmesiyle DNA, RNA analizi, protein analizi, hücre fonksyonları, hematopetik hücrelerde CD34 dayalı yada viabilite (canlılık) sıklıkla kullanılarak saflaştırılması ve daha ileri analizlerde veya hücre kültürü için hücre seçimi amacıyla kullanılır. Ayrıca immünolojik araştırmalar, fizyolojik araştırmalar, protein ve hücre mühendisliği alanlarında kullanılır. Full Spektrum flow Sitometri (=spectral cytometry); Laserden çıkan ışık için filtre yerine bir çok detektör floresan boyanın full spektral profili ölçülebilir.

Flow Sitometrinin kullanım alanları, hematolojik maligniteler, kemik iliği nakili, immunfenotipleme, lenfomalar, lösemiler, Multiple Miyelom, primer immun yetmezlik tanı algoritmaları, Kök hücre sayımı, paroksismal nokturnal Hemoglobintürü (PNH), trombosit fonksiyonu analizi, retikülosit sayımı, HIV enfeksiyonu CD4/CD8 oranı,

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

HLAB 27 analizi, Lenfosit alt grupları ve fonksiyonları, Hücre içi sitokin tayini, Canlılık, Hücre döngüsü, Organ nakillerinde Cross match testleri, Maternal Hemoglobin, apoptozis annexin boyama, Caspaz-1 analizi sayılabilir. Minimal residual disease (MRD), analizi tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi, ilaç veya tedavi stratejilerinin karşılaştırılabilmesi, tedavi sonrası erken relapsın tespit edilebilmesi ve прогнозun değerlendirilmesi amacıyla yapılmaktadır.

Mass cytometri (=cytometry by time of flight [CyTOF]); Sitometride yeni araştırma alanları sunar. Bu teknikte örnekleri metal izotoplara bağlı antikorlarla işaretleyerek, her izotopun elektriksel alanda detektöre doğru ilerlediği zamanı ölçerek analiz yapılır. Imaging Mass cytometry; İnce doku kesitleri boyanarak analiz edilir. 1 Mm lazer ışını örnek fokuslanarak metallerle işaretli antikorları toplayarak onları CyTOF teknolojisile saptanmasına yönlendirir.

**IS-06****THE BASIS OF IN VITRO STUDIES; PRIMARY TWO DIMENSIONAL CELL CULTURES****[IN VİTRO ÇALIŞMALARIN TEMELİ; PRİMER İKİ BOYUTLU HÜCRE KÜLTÜRLERİ]**

**Prof. Dr. Zeynep YUCE**

Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Izmir, Türkiye

Cell culture stands as a pivotal in vitro research model, offering researchers a controlled environment to explore biological processes. Scientists are able to manipulate and observe cellular processes, unlocking insights into fundamental aspects of cell biology, molecular interactions, and disease mechanisms. This methodological approach provides a platform for investigating the effects of various factors, such as drugs or environmental stimuli, on cellular behavior. Moreover, cell culture has become indispensable in drug discovery, enabling the screening of potential therapeutics and contributing to advancements in medical research. Its versatility is underscored by applications ranging from basic science to disease modeling, toxicology studies, and the exploration of innovative technologies like 3D cell culture and organoids. The ability to standardize protocols ensures reproducibility. Some key aspects of using cell culture as an in vitro model for research are:

**Controlled Environment:** Researchers can manipulate and control various aspects of the cell culture environment such as temperature, pH, nutrient levels and oxygen concentration.

**Reproducibility:** Ensures reproducibility of experiments and allows researchers to validate their findings.

**Ethical Considerations:** The use of cell culture reduces the need for animal experiments and addresses ethical concerns about animal testing.

**Basic Research:** Cell culture is a fundamental in vitro model most commonly used to understand basic cellular processes such as cell cycle regulation, signal transduction and gene

expression.

**Drug Discovery:** The effects of potential drug molecules are first tested in cell cultures. It is used to evaluate the toxicity of chemicals, drugs and environmental factors.

**Suitability for In Vivo Systems:** Although it is very valuable, it cannot fully replicate the complexity of living organisms. Attention should be paid to this issue. 3D Cell cultures mimic the three-dimensional structure of tissues more closely than monolayer cultures. Organoids allow even more realistic modelling.

Hücre kültürü, araştırmacılara sayısız biyolojik olgun keşfetmeleri için kontrollü bir ortam sunan önemli bir *in vitro* araştırma modelidir. Hücre biyolojisi, moleküler biyoloji, farmakoloji, toksikoloji ve tip dahil olmak üzere bir çok alandaki araştırmalarda yaygın olarak kullanılır. Bilim insanları, hücreleri canlı bir organizmanın dışında üreterek hücresel süreçleri manipüle edebilir ve farklı koşullar altında gözlemlayabilir. Hücre biyolojisi, moleküler etkileşimler ve hastalık mekanizmalarının temellerine yönelik deney kurgularını oluşturabilir ve araştırmalarını gerçekleştirebilir. Hücre kültürü özellikle, farklı molekül, ilaçlar veya çevresel uyaranlar gibi faktörlerin hücre davranışının üzerindeki etkilerini araştırmak için bir uygun ve geçerli bir platform sağlar. Son 20 yılda hücre kültür teknikleri, potansiyel terapötiklerin taraması ile ilgili tıbbi araştırmalara katkıda bulunarak ilaç keşfinde vazgeçilmez bir yöntem haline gelmiştir. Çok yönlü kullanım alanları, temel bilimden hastalık modellemesine, toksikoloji çalışmalarına ve 3D hücre kültürü ve organoidler gibi yenilikçi teknolojilerin keşfine kadar uzanan uygulamalarla anlaşılabılır. Bu metodolojinin bazı temel özellikleri aşağıda başlıklar halinde verilmiştir:

**Kontrollü Ortam:** Araştırmacılar hücre kültürü ortamının sıcaklık, pH, besin seviyeleri ve oksijen konsantrasyonu gibi çeşitli yönlerini manipüle ve kontrol edebilirler.

**Tekrarlanabilirlik:** Deneylerin tekrarlanabilirliğini sağlar ve araştırmacıların bulgularını doğrulamasına olanak tanır.

**Etik Hususlar:** Hücre kültürünün kullanılması hayvan deneylerine olan ihtiyacı azaltarak hayvan testleriyle ilgili etik kaygıları giderir.

**Temel Araştırmalardaki Kullanımı:** Hücre kültür, hücre döngüsü düzenlemesi, sinyal iletimi ve gen ifadesi gibi temel hücresel süreçleri anlamak için en çok kullanılan temel bir *in vitro* modeldir.

**İlaç Keşfi:** İlaç olabilecek potansiyel moleküllerin etkileri öncelikle hücre kültürlerinde test edilir. Kimyasalların, ilaçların ve çevresel faktörlerin toksisitesini değerlendirmek için kullanılır.

**In Vivo Sistemlere Uygunluk:** Çok değerli olmakla birlikte, canlı organizmaların karmaşıklığını tam olarak kopyalayamaz. Bu hususa dikkat edilmesi gereklidir. 3D Hücre kültürleri dokuların üç boyutlu yapısını monolayer kültürlerde göre daha yakından taklit eder. Organoidler ise daha da gerçekçi modellemeye olanak tanır.

**IS-07****EVOLUTION OF THREE DIMENTIONAL CELL CULTURE****[3 BOYUTLU HÜCRE KÜLTÜRÜNDE DÜNDEN BUGÜNE GELİŞMELER]****Prof. Dr. Mehmet Ali KOCDOR**

Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Izmir, Türkiye

Over the course of a century, a number of cell based laboratory activities including isolation of the cells from normal, embryonic, and neoplastic tissues, maintenance of their survival, cellular reproduction; freezing, storage, dissolving and analyzing the cells have become possible. This process has resulted in an enormous accumulation of data. Biological systems have been analysed using cells that reproduce uniformly on a flat plate two dimensionally. Within past four decades, uniform cells have been found to develop intriguing collective structures in three-dimensional private settings, which exhibit more variable behavior with environmental change and distinct cell groups. Two distinct activity sets played essential roles in the creation of a three-dimensional cell culture. The first was NASA's "Microgravity" and space bioreactor project, which was developed in the 1980s. Cells are thus cultured in a cylinder that rotates in a gravity-free environment, in a media that is constantly refreshed. Initial experiments have provided amazing new information. Artificial tissue, functional tissue, and cartilagenous cell culture are now thought to be possible in controlled conditions. The acquisition of the matrigel is the second crucial development. Initially, a mouse chondrosarcoma known as the Engelbreth Holm Swarm (EHS tumor) generated an abundant extracellular matrix. In the 1980s, a group of researchers at the American National Institute of Health (NIH) created the matrix by isolating the EHS matrix from the cells and organelles. Tumor cells have been shown to form various spheroid formations in this environment. Many modeling methodologies, such as cancer cell invasiveness, angiogenesis, and treatment effectiveness measures, have been developed using this technology. Many important advances have been made in evolutionary biology. These two procedures resulted in generation of humanized tissues. On the other hand creation of new tissues by combining decellularization and subsequently recellularization procedures have become possible. Scaffold based studies and biomaterial science have taken on a new level. These technologies recognize the possibility of bioartificial tissue and organs.

Neoplastik dokuyu temsili ettiği düşünülen hücrelerin, normal doku bileşini olan hücrelerin, embriyonik hücrelerin ve kök hücrelerinin laboratuvar ortamında izolasyonu, canlılığını sürdürmesi, çoğaltılması, dondurulup saklanması, çözdirülüp analizi şeklindeki bir dizi sürecin gelişimi ortalama 1 asırlık zamanda gerçekleşmiştir. Bu süreçte bu konuya ilgili olağanüstü bilgi birikimi ortaya çıkmıştır. Biyolojik

sistemler, düz bir satır üzerinde uniform bir çoğalma davranışını gösteren hücreler üzerinden değerlendirilmiştir. Son 4 dekada, uniform görülen hücrelerin 3 boyutlu özel ortamda ilginç kollektif yapılar oluşturduğu; bu yapıların ortam değişikliği ve farklı hücre grupları ile birlikte daha farklı davranışlar sergilediği gözlemlendi. İki farklı aktivite seti üç boyutlu hücre kültürünün gelişiminde kritik rol aldı. İlk Amerikan Uzay Havacılık Dairesi NASA'nın 1980'lerde geliştirdiği "Microgravity" ve uzay biyoreaktör projeleridir. Buna göre hücreler, yerçekimsiz bir ortamda dönen bir silindirde, sürekli yenilenen bir medyum içerisinde kültüre edilmektedir. İlk denemeler, olağanüstü yeni bilgiler ortaya çıkarmıştır. Yapay doku, fonksiyonel doku ve kök hücre kültürünün kontrollü ortamlarda artık mümkün olduğu anlaşılmıştır. İkinci kritik gelişme ise matrijel i edilmesidir. Buna göre Engelbreth Holm Swarm (EHS tümörü) adı verilen bir fare kondrosarkomun aşırı ekstrasellüler matrix ürettiği saptandı. Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) kapsamında bir dizi araştıracı, 1980'lerde EHS matriksini hücre ve organellerinden ayırtarak matrijeli geliştirdi. Bu ortamda tümör hücrelerinin farklı sferoid yapıları oluşturduğu gözlemlendi. Bu yöntemle kanser hücrelerinin invazyon kapasitesi, anjiogenez, ilaç etkinlik ölçümü gibi birçok model teknigi ortaya çıktı. Gelişim biyolojisi alanında birçok kritik ilerlemenin yolu açıldı. Bu iki yöntemle humanize dokular elde edildi. Dokuların desellülarize ve resellülarize edilerek yeni doku inşası mümkün hale geldi. Biyomateryal, biyolojik çatı üzerindeki çalışmalar yeni bir boyut kazandı. Biyoartifisyal, canlıya özel doku inşasının mümkün olduğu bu teknikle anlaşıldı.

**IS-08****ORGANOID, SCAFFOLD DESIGN AND APPLICATIONS: DISEASE MODELING****[ORGANOİD, SCAFFOLD TASARIM VE UYGULAMALARI: HASTALIK MODELLERİ]****Prof. Dr. Ozlem YESİL CELIKTAS**

Ege University, Faculty of Engineering, Department of Bioengineering, Izmir, Türkiye

Disease modeling is imperative for translation of reliable data to the clinical studies in order to accelerate drug development processes. The traditional cell cultures have limitations in mimicking the complexity of human organs. Therefore, the ability of animals, particularly mice, to be genetically engineered to mimic human disease states has been the basis of research for the past 40 years, particularly in studies focusing on the discovery of new therapeutics to alleviate human suffering. Although genetically engineered mice mimic human disease phenotypes, the underlying molecular, cellular, and physiological mechanisms are distinct. Human microphysiological systems, so-called organ-on-chips seek to address these challenges by providing a more accurate recapitulation of various pathologies spanning from cancer modeling to infectious and neurological disease modeling.

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

Organ-on-chips are microfabricated devices that contain living cells arranged in a way that mimics the structure and function of a specific organ or tissue. These devices typically consist of microfluidic channels, where cells, spheroids, organoids are cultured in a 3D environment and are exposed to fluid flow, mimicking the dynamic conditions of the human body. Organ-on-chip models are invaluable for drug testing and development by providing a platform to assess the efficacy and toxicity of drugs more accurately, potentially reducing the failure rate of drugs in clinical trials. In spite of the great promise that the technology holds, challenges remain, such as achieving full organ complexity and integrating multiple organ systems. Researchers are actively working on improving the fidelity and scalability of these models. In conclusion, disease modeling using organ-on-chips represents a cutting-edge approach in the field of biomedical research, offering more accurate and human-relevant insights into disease mechanisms, drug responses, and potential therapeutic strategies.

**Keywords:** Disease modeling; organ-on-chip; spheroid; organoid

**Acknowledgement:** This study is supported by TÜBİTAK through the 120N422

Hastalık modellemesi güvenilir verilerin klinik çalışmalara aktarılması, ilaç geliştirme süreçlerini hızlandırmak açısından son derece önemlidir. Geleneksel hücre kültürlerinin insan organlarının karmaşıklığını taklit etme konusunda sınırlamaları vardır. Bu nedenle, hayvanların, özellikle de farelerin, insan hastalık durumlarını taklit edecek şekilde genetik olarak değiştirilme yeteneği, son 40 yıldır, özellikle de insanların acısını hafifletecek yeni terapötiklerin keşfine odaklanan çalışmalarında, araştırmaların temelini oluşturmıştır. Genetigi değiştirilmiş fareler insan hastalık fenotiplerini taklit etse de, alitta yatan moleküller, hücresel ve fizyolojik mekanizmalar farklıdır. Çip-üstü-organ olarak adlandırılan insan mikrofizyolojik sistemler, kanser modellemesinden bulaşıcı ve nörolojik hastalıkların modellemesine kadar çeşitli patolojilerin daha doğru bir şekilde betimlenmesini olanak sağlamaktadır. Çip-üstü-organ, belirli bir organ veya dokunun yapısını ve işlevini taklit edecek şekilde düzenlenmiş canlı hücreleri içeren mikrofabrik cihazlardır. Bu cihazlar tipik olarak hücrelerin, sferoidlerin veya organoidlerin 3 boyutlu (3B) bir ortamda kültürlediği ve insan vücudunun dinamik koşullarını taklit ederek sıvı akışına maruz bırakıldığı mikroakışkan kanallardan oluşmaktadır. Çip-üstü-organ modelleri, ilaçların etkinliğini ve toksitesini daha doğru bir şekilde değerlendirmek için özellikle klinik deneylerde ilaçların başarısızlık oranını azaltan bir platform sağlayarak, ilaç geliştirme için çok değerlidir. Diğer yandan teknolojinin sunduğu büyük umutlara rağmen, hedef organın kompleksitesine ulaşmak ve çoklu organ sistemlerinin entegrasyonu gibi zorluklar devam etmektedir. Araştırmacılar bu modellerin doğruluğunu ve ölçülebilirliğini geliştirmek için aktif olarak çalışmalara

devam etmektedirler. Sonuç olarak, çip-üstü-organ platformları kullanılarak yapılan hastalık modellemeleri, biyomedikal araştırma alanında en ileri yaklaşımı temsil etmekte ve hastalık mekanizmaları, ilaç tepkileri ve potansiyel tedavi stratejileri hakkında daha doğru bilgiler sunmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Hastalık modellemesi; çip-üstü-organ; sferoid; organoid

**Teşekkür:** Bu çalışma 120N422 no'lu proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir.

**IS-09****BASIC TECHNIQUES AND ETHICS IN EXPERIMENTAL ANIMAL PRACTICES****[DENEY HAYVANLARI UYGULAMALARINDA TEMEL TEKNİKLER VE ETİK]**

**Prof. Dr. Osman YILMAZ**

Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Experimental Animals Laboratory, Izmir, Türkiye

The knowledge and technology we have today started with curiosity about the unknown and has evolved into what it is today. Scientists use different research and examination methods to test their questions and hypotheses. One of these research methods is the preclinical experimental research method. Experimental research is the controlled re-examination of events that have occurred or are likely to occur in nature under laboratory conditions. *In vivo* and *in vitro* models are used as experimental research methods. Vaccines, drugs, and surgical techniques used today in modern medicine have always been tested on an animal before being used in humans. Therefore, animal experiments are indispensable. *In vivo* models are divided into two groups: model animals (mouse, rat, and hamster) and model organisms (yeast, nematode). *In vitro* models are models such as cell culture, tissue culture, computer models and artificial organs. All over the world, animal experiments are subject to ethics committee approval. To conduct experiments on animals, it is necessary to comply with the 3R+R ethical rules. Before deciding on the research method, the validity and applicability of the research results should be discussed. The most appropriate experimental method and the most appropriate animal model should be selected according to the scientific research question. Depending on the research question, the most suitable animal life period that mimics the human life period should also be considered. When choosing an animal model, because the model success of induced models is low in some studies, the use of transgenic and spontaneously generated models has been increasing in recent years and research is being conducted using fewer animals. Today, laboratory animals are frequently used in experimental animal studies. Laboratory animals are animals that are raised under standard laboratory conditions and studied under laboratory conditions. The defined genetic structure, standard microbiological characteristics, standard



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

nutrition and housing characteristics of laboratory animals affect the reproducibility and reliability of the experimental results. In addition to standard genetic and microbiological features, laboratory animals provide the opportunity to repeat experiments with standard cages, standard nutritional diets, standard room temperature, ventilation, humidity and lighting. Experimental animal research and animal experiments are carried out with the permission and supervision of local ethics committees. If it is decided to do animal experiments, the ethical rules of animal experiments must be followed. The basis of animal experimentation ethical rules is based on the 3R +R principle. The 3R+R rule symbolizes the initials of the English words Replacement, Reduction, Refinement and Responsibility. Replacement; It is the rule that alternative methods are given priority over animals in experiments (computer models, cell and tissue cultures, protozoans, invertebrates and others). Reduction; if you have to use animals in experiments, the rule is to use at least one animal. Refinement; In animal experiments, the rule of thumb is to choose the method that causes the least pain and discomfort to the animal. Responsibility; It is a rule that animal testers fulfill their responsibilities. These four rules constitute the basic ethical rules of animal experiments.

**Keywords:** Experimental Animal Research, Experimental Animal Ethical Guidelines

Bugün sahip olduğumuz bilgi ve teknoloji bilinmeyeni merakla başlamış ve bugünkü duruma gelmiştir. Bilim insanlarının merak ettiğleri sorularını ve hipotezlerini test etmek için farklı araştırma ve inceleme yöntemleri kullanmaktadır. Bu araştırma yöntemlerinde biraside preklinik deneysel araştırma yöntemidir. Deneysel araştırma, tabiatta olmuş ya da olması muhtemel olayları laboratuvar şartlarında kontrollü olarak tekrar ortaya koyulmasıdır.

Deneysel araştırma yöntemleri olarak *in vivo* ve *in vitro* modeller kullanılır. Modern tipta bugün kullanılan aşilar, ilaçlar, cerrahi tekniklerin insanlarda kullanılmasında mutlaka bir hayvan üzerinde teste edilmiştir. Bu nedenle hayvan deneysel vazgeçilmezdir. *In vivo* modeller model hayvanlar ( fare, sıçan, hamster ) ve model organizmalar ( maya, nematod ) olmak üzere iki grupta toplanır. *In vitro* modeller ise hücre kültürü, doku kültürü, bilgisayar modelleri, yapay organlar gibi modellerdir. Tüm dünyada hayvanlar üzerinde deney yapmak için hayvan deneysel etik kurul iznine tabidir. Hayvan üzerinde deney yapmak için 3R+R etik kurallara uymak gereklidir. Araştırma yöntemine karar verilmeden önce araştırma sonuçlarının geçerliliği ve uygulanabilirliğini tartışılmalıdır. Bilimsel araştırma sorusuna göre en uygun deneysel yöntem ve en uygun hayvan modeli seçilmelidir. Araştırma sorusuna göre insan yaşam dönemini taklit eden en uygun hayvan yaşam dönemi de göz önüne alınmalıdır. Hayvan modeli seçilirken indüklenmiş modellerin bazı çalışmalarda model başarısı düşük olduğu için trangenik ve spontan oluşturulmuş modeller son yıllarda kullanımı gittikçe artmaktadır ve daha az hayvan

kullanılarak araştırmalar yürütülmektedir. Bugün deneysel hayvan çalışmalarında sıkılıkla laboratuvar hayvan kullanılmaktadır. Laboratuvar hayvanı, standart laboratuvar koşullarında yetiştirilen ve laboratuvar koşullarında üzerinde çalışma yapılan hayvanlardır. Laboratuvar hayvanlarını tanımlanmış genetik yapısı, standart mikrobiyolojik özelliği, standart beslenmesi ve barındırılma özellikleri deneysel sonuçlarının tekrar edilebilir ve güvenliğini etkilemektedir. Laboratuvar hayvanı standart genetik ve mikrobiyolojik özellikleri yanında standart kafesleme, standart beslenme diyetleri, standart oda ısısı, havalandırma, nem ve aydınlatma ile deneyle tekrar edilebilme imkânı sağlamaktadır. Deney hayvanı araştırmaları hayvan deneysel yerel etik kurullarının izni ve denetiminde yürütülmektedir. Hayvan deneyine karar verilirse hayvan deneysel etik kurallarına uyulmalıdır. Hayvan deneyi etik kurallarının temeli 3R +R ilkesine dayanır. 3R+R kuralı, İngilizcede Replacement, Reduction, Refinement ve Responsibility kelimelerinin baş harflerinin simgelemektedir. Replacement; deneylete hayvan yerine alternatif yöntemlerin öncelik verilmesi kuralıdır ( bilgisayar modelleri, hücre ve doku kültürleri, tek hücreller, omurgasızlar ve diğerleri). Reduction; Deneylerde hayvan kullanmak zorunda iseniz en az hayvan kullanma kuralıdır. Refinement; Hayvan deneysel uygulamaların hayvana en az ağrı ve rahatsız eden yöntemin seçilmesi kuralıdır. Responsibility; Hayvan deneyi yapıcıların sorumluluklarını yerine getirmesi kuralıdır. Bu dört kural hayvan deneylerinin temel etik kurallarını oluşturmaktadır.

**Anahtar Kelime:** Deneysel Hayvan Araştırma, Deneysel Hayvan Etik Kuralları

### IS-10 TRANSGENIC ANIMAL MODELS

#### [TRANSGENİK HAYVAN MODELLERİ]

**Assoc. Prof. Kasım DIRİL**

Izmir Biomedicine and Genome Center, Gene Targeting and Transgenic Models Platform, Izmir, Türkiye

Our platform develops genetically engineered, or with the common use of the term, “transgenic”, mouse models by CRISPR genome editing in mouse embryos. We have developed a multitude of knockin and knockout mouse models to study especially rare genetic diseases. In my presentation, I will explain the common uses of genetically modified mouse models in basic biomedical research. Such mouse models can be used in identifying pathological mechanisms of human diseases, especially rare genetic diseases. Additionally, they play a significant role in development of novel therapeutic strategies by serving as an *in vivo* platform for testing.

I will discuss the experimental protocols that have been conventionally used for development of genetically modified mouse models, and novel methodologies that gained prevalence after the advent of the CRISPR genome editing

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

technologies. The methods that we routinely apply in our platform will be explained by presenting some of the mouse models we have developed over time as case studies. Finally, I will give an introduction to Cre/LoxP technology and how it is used in *in vivo* mouse studies for generation of conditional gene deletion or expression.

Platformumuz, embriyolarda CRISPR genom düzenleme tekniğini kullanarak genetiği değiştirilmiş, ya da yaygın kullanımıyla “transgenik”, fare modelleri geliştirmektedir. Protokollerimizi uygulayarak, özellikle nadir genetik hastalıklar alanındaki çalışmalarında kullanılmak üzere çok sayıda knockout ve knockin fare hattı geliştirdik. Sunumumda, genetiği değiştirilmiş fare modellerinin temel biyomedikal araştırmalarda yaygın kullanım alanlarını açıklayacağım. İnsan hastalıklarının, özellikle nadir genetik hastalıkların patolojik mekanizmalarının belirlenmesinde ve potansiyel terapi stratejilerinin test edildiği preklinik *in vivo* araştırmalarda oynadıkları önemli rollerden bahsedeceğim.

Genetiği değiştirilmiş fare modellerinin geliştirilmesinde konvansiyonel olarak kullanılmakta olan ve CRISPR genom düzenleme teknolojisinin geliştirilmesinden sonra yaygın kazanan deney protokollerini özetleyeceğim. Platformumuzda aktif olarak uyguladığımız metodları, ve bu metodları kullanarak güncel olarak üretmiş olduğumuz fare hatlarının bazılarını örnek olarak sunarak açıklayacağım. Ayrıca, koşullu olarak gen delesyonu/ekspreşyonu yapılım üzere tasarlanmış fare modelleri ve özellikle Cre/LoxP teknolojisinin *in vivo* çalışmalarda kullanımı hakkında bilgilendirme yapacağım.

**IS-11****ZEBRA FISH APPLICATIONS****[ZEBRA BALIĞI UYGULAMALARI]**

**Prof. Dr. Gunes OZHAN**

Izmir Biomedicine and Genome Center (IBG), OZHAN Lab., Izmir, Türkiye

Zebrafish (*Danio rerio*), a model organism widely used in the scientific research, represents a very suitable option in many research areas, including vertebrate developmental genetics, cell biology, toxicology, and high-throughput drug screening. The reputation of zebrafish is based on various advantages such as high genetic and amino acid similarity with mammals, a fully sequenced genome, easy and economical production, high reproductive capacity and rapid and transparent embryonic development. Studies conducted with zebrafish also effectively benefit from a number of technological advantages such as the ability to effectively apply transgenic tools, live cell imaging, cell lineage tracing, forward and reverse genetic approaches, and micromanipulation techniques. Zebrafish also attracts attention with its high regeneration capacity in various tissues, including the heart, pancreas, liver, muscle, skin,

blood and pigment cells, fins and the central nervous system. Additionally, zebrafish can develop cancer in response to mutagen exposure or through transgenesis, and the resulting cancers have characteristics similar to cancers seen in humans at the histological, genetic, and transcriptional levels. This makes zebrafish an ideal system to study the growth and metastasis of tumor cells and tumor angiogenesis in many types of cancer and to perform anticancer drug screens. As a result, zebrafish stands out as a valuable model organism for understanding the mechanisms occurring in biological processes such as development, genetic diseases, cancer, tissue/organ regeneration at the cellular and molecular level, and for identifying and testing potential therapeutic targets against various diseases.

Zebrabalığı (*Danio rerio*), bilim dünyasında yaygın olarak kullanılan bir model organizmadır. Bu organizma, omurgalı gelişim genetigi, hücre biyolojisi, toksikoloji ve yüksek verimli ilaç taraması gibi birçok araştırma alanında son derece uygun bir seçenekdir. Zebrabalığının bu popülerliği, memelilerle yüksek derecede genetik ve amino asit benzerliği göstermesi, tamamen dizilenmiş bir genomunun olması, kolay ve ekonomik bir şekilde üretilmesi, yüksek üreme kapasitesi ile hızlı ve şeffaf embriyonik gelişim gibi çeşitli avantajlara dayanmaktadır. Bu organizma ile yapılab çalışmalar, transgenik araçları etkili bir şekilde uygulayabilme, canlı hücre görüntüleme, hücre soyu izleme, ileri-yönlü ve geri-yönlü genetik yaklaşımlar, mikromanipülasyon teknikleri gibi bir dizi teknolojik avantajdan da etkin şekilde yararlanmaktadır. Zebrabalığı aynı zamanda kalp, pankreas, karaciğer, kas, cilt, kan ve pigment hücreleri, yüzgeçler ve merkezi sinir sistemi dahil olmak üzere çeşitli dokularında gösterdiği yüksek rejenerasyon yeteneği ile dikkat çekmektedir.

Ayrıca zebrabalığı, mutajen maruziyetine yanıt olarak veya transenez yoluyla kanser geliştirebilmektedir ve ortaya çıkan kanserler histolojik, genetik ve transkripsiyonel düzeylerde insanlarda görülen kanserlere benzer özelliklere sahiptir. Bu durum, zebrabalığını birçok kanser türünde tümör hücrelerinin büyümesi ve metastazi ile tümör anjiyogenenezini incelemek ve antikanser ilaç taramaları yapmak için ideal bir sistem haline getirmektedir. Sonuç olarak zebrabalığı, gelişim, genetik hastalıklar, kanser, doku/organ rejenerasyonu gibi biyolojik süreçlerde meydana gelen mekanizmaların hücresel ve moleküler düzeyde anlaşılması ve çeşitli hastalıklara karşı potansiyel terapötik hedeflerin belirlenebilmesi ve test edilmesi için değerli bir model organizma olarak önem çıkar.

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models**IS-12****IN VITRO MODELS IN DRUG METABOLISM RESEARCH AND APPLICATION OF PHARMACOGENETIC INFORMATION****[ILAÇ METABOLİZMASI ARAŞTIRMALARINDA IN VITRO MODELLER VE FARMAKOGENETİK BİLGİNİN KULLANILIŞI]****Prof. Dr. Melih Onder BABAOGLU**

Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Ankara, Türkiye

Liver, intestines, and other tissues participate in the metabolism and detoxification of most drugs. New drug development processes involve certain *in vitro* models to predict *in vivo* metabolism in animals and in humans. Advantages of *in vitro* modelling include minimization of animal testing, reduction of human risks in clinical trials and savings in time and financial expenditures. Ideally, an *in vitro* model should mimic *in vivo* biotransformation of drug molecules. Human liver microsomes, recombinant enzymes, supersomes, cytosolic and S9 fractions, cell and transgenic cell lines, primary hepatocytes, liver slices and liver perfusion systems may be commonly applied in drug biotransformation studies. More recently, three-dimensional (3D) cell cultures and organotypic/microphysiologic tissue models have been utilized to improve predictability of *in vivo* behavior of drug molecules during metabolism. These 3D methods may enable cells to interact with single or multiple components of extracellular matrix, other cells, and with each other in order to mimic the *in vivo* physiologic milieu.

The activity of enzymes responsible for biotransformation in human may present inter-individual variability due to certain genetic polymorphisms, which may lead to decreased or increased enzymatic function. The effects of genetic polymorphisms can be assessed *in vitro* by pharmacogenomic studies through expressing genetic variations in the experimental methods mentioned above.

Karaciğer, barsaklar ve diğer bazı dokular ilaçların metabolizması ve detoksifikasyonunda görev alırlar. Yeni ilaçların geliştirilmesinde preklinik çalışmalarla, *in vitro* modeller kullanılarak ilaç moleküllerinin *in vivo* metabolizması öngörlümeye çalışılır. *In vitro* çalışmaların sağladığı yararlar arasında, hayvanlar üzerindeki preklinik deneylerin azaltılması, zaman ve bütçeden tasarruf sağlanması ve yeni moleküllerin insan üzerinde denenmesi sırasında oluşabilecek risklerin azaltılması bulunur. Ideal bir *in vitro* biyotransformasyon modelinde, ilaç molekülünün *in vivo* davranışları ve metabolizma kalığı iyi bir biçimde taklit edilebilmelidir. Bu amaçla, mikrozomlar, rekombinan enzimler, süperzomlar, sitozol, S9 fraksiyonları, hücre hatları, transgenik hücre hatları, primer hepatositler, karaciğer kesitleri ve perfüze karaciğer sistemleri, v.b yöntemler kullanılabilir. Son yıllarda büyük gelişme gösteren

üç-boyutlu hücre kültürleri ve organotipik/mikrofiziolojik doku modelleri geniş uygulama alanı bulmaktadır. Üç-boyutlu kültür yöntemleri, hücrelerin birbirileyle ve ekstrasellüler matriks ile etkileşmesine olanak vererek *in vivo* fizyolojik özelliklerin daha iyi taklit edilmesini sağlayabilir.

İnsanda genetik polimorfizmler nedeniyle, ilaç metabolizmasından sorumlu enzimlerin fonksiyonlarında normal aktiviteye göre azalma ya da artma gözlenebilir. Preklinik farmakogenomik çalışmalarla, *in vitro* yöntemler kullanılarak genetik polimorfizmlerin *in vivo* etkileri öngörülebilir. Bu sunumda, ilaçların preklinik farmakolojik değerlendirilmesinde *in vitro* metabolizma çalışmalarının önemi örneklerle açıklanacaktır.

**IS-13****TUMOR-SELF TARGETING OF CANCER CELLS: KEY CONCEPTS TO ELUCIDATE CELL HOMING THROUGH CELL TRACKING****[KANSER HÜCRELERİNDE TÜMÖR-KENDİNİ HEDEFLEMESİ: HÜCRE TAKİBİ YOLUYLA HÜCRE YERLEŞİMİNİ AYDINLATMAK İÇİN ANAHTAR KAVRAMLAR]****Dr. Volkan TEKİN**

Health Sciences University, Faculty of Medicine Gulhane, Department of Medical Physiology, Ankara, Türkiye

Radiopharmaceutical therapy is a treatment modality that involves the use of tumor-targeting vehicles and radionuclides. Targeting may occur actively or passively. A novel approach to targeting, known as tumor-self targeting, occurs owing to the agglomeration tendency of cancer cells with strong adhesion, which facilitates the delivery of radionuclides for therapeutic purposes.

The objective of this study is to assess the tumor-self targeting potential of PC3 and 4T1 cancer cells using a direct cell labeling technique, with a focus on evaluating cellular labeling efficiency, cell viability, cellular efflux, and tumor-self targeting capability using *in vivo* tumor models.

To achieve this objective, a high radiochemical yield of [89Zr]Zr-oxine was prepared and utilized for the labeling of PC3 and 4T1 cells. Following the assessment of cell labeling efficacy, viability, and efflux, PET/CT imaging and biodistribution studies were conducted with [89Zr]Zr-oxine labeled PC3 and 4T1 cells in various combinations of PC3 and 4T1 tumor-bearing mice models.

The results from the *in vivo* experiments suggest that PC3 cells exhibit superior labeling efficacy, *in vitro/in vivo* stability, and targeting features compared to 4T1 cells. Notably, we were able to achieve tumor accumulation in PC3 tumors using the [89Zr]Zr-oxine-PC3 targeting approach. It was observed that both cells followed the general pattern of labeled cell biodistribution but PC3 cells demonstrated lower blood retention and reduced risk at non-target organs such as

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

lungs and heart. Consequently, we argue that this study has the potential to enhance the evaluation of radiolabeled cancer cells for cell tracking and tumor targeting, which currently remains inadequate.

**IS-14****NEW HORIZONS IN CELL ANALYSIS AND SEPARATION FROM SINGLE CELL TO ORGANOID****[TEK HÜCREDEN ORGANOİDE HÜCRE ANALİZİ VE AYRIŞTIRMASINDA YENİ UFUKLAR]****Turker TOKTAY**Cell Culture and Analysis Department Manager,  
MEDSANTEK, Izmir, Türkiye

Three-dimensional cell culture and single cell omics studies stand out as the two most striking areas of cell biology in recent years. EVOS cell imaging systems and Cellinsight High Content Analysis systems stand out in the examination of spheroids, organoids and tumoroids obtained in three-dimensional cell culture. These systems include special software that analyzes images obtained from bright field and fluorescence microscopy, and various kits and antibodies used for cell viability, proliferation, apoptosis, senescence, drug discovery studies, cellular immunotherapy development studies. It is used in prominent research areas such as immunology, cancer biology, neuroscience, stem cell biology. Additionally, the SpheroOne separation device allows the use of three-dimensional cell models in drug screening and toxicology studies by isolating a single organoid or spheroid.

On the single cell analysis side, there is Attune Cytpix, which incorporates a high-speed camera and artificial intelligence-based image analysis system into flow cytometry analysis. This device brought the data obtained from PMT detectors and the image obtained with a high-speed camera into a single analysis, allowing cells to be analyzed one by one according to size, singlet-doublet discrimination and morphological changes depending on cell health. On the cell sorting side, the Bigfoot Spectral Cell separation system, which allows spectral and conventional separation, stands out with its feature of analyzing and separating up to 60 parameters. On the single cell separation side, the CellenONE separation device allows cells to be moved one by one into microplate wells or onto chips specific for genomic, transcriptomic and proteomic studies, based on the captured images.

Developing imaging or flow cytometer-based systems developed to analyze or differentiate cells have been greatly improved in recent years with analysis software equipped with artificial intelligence and machine learning technologies, various innovative touches provided in optical, electronic and mechanical components, is offered by Medsanek to researchers studying preclinical modeling in our country.

Üç boyutlu hücre kültürü "3D Cell Culture" ve tek hücre

omik "single cell omics" çalışmaları hücre biyolojisinin son yıllarda en dikkat çekici iki alanı olarak göze çarpmaktadır. Üç boyutlu hücre kültüründe elde edilen Sferoid, organoid ve tümörroidlerin incelenmesinde EVOS hücre görüntüleme sistemleri ve Cellinsight Yüksek İçerik Analiz sistemleri göze çarpmaktadır. Bu sistemler aydınlık saha ve floresans mikroskopi elde edilen görüntülerini analiz eden özel yazılımlar ve hücre canlılığı, proliferasyonu, apoptozu, yaşlanması, ilaç doz çalışmaları, hücresel immünoterapi geliştirme çalışmaları için kullanılan çeşitli kit ve antikorlar ile beraber immüโนloji, kanser biyolojisi, sinirbilim, kök hücre biyolojisi gibi öne çıkan araştırma alanlarında kullanılmaktadır. Ayrıca SpheroOne ayırtırma cihazı tek bir organoid veya sferoidi izole ederek ilaç tarama ve toksikoloji çalışmalarında üç boyutlu hücre modellerinin kullanımına olanak sağlamaktadır.

Tek hücre analizi tarafında ise akan hücre ölçer analizine yüksek hızlı kamera ve yapay zeka tabanlı görüntü analiz sistemini dahil eden Attune Cytpix yer almaktadır. Bu cihaz PMT dedektörlerden elde edilen veri ile yüksek hızlı kamera ile elde edilen görüntüyü tek bir analize taşıyarak hücrelerin büyülüklük, singlet-doublet ayrimı ve hücre sağlığını bağlı olarak gerçekleşen morfolojik değişimlere göre tek tek analiz edilmesine olanak tanımlıtır. Hücre ayırtırma tarafında spektral ve konvansiyonel ayırtırmaya olanak sağlayan Bigfoot Spektral Hücre ayırtırma sistemi ise 60 parametreye kadar analiz etme ve ayırtırma özelliği ile göze çarpmaktadır. Tek hücre ayırtırma tarafında ise CellenONE ayırtırma cihazı çekilen görüntülerini baz alarak hücrelerin tek tek mikroplaka kuyucuklarına veya genomik, transkriptomik ve proteomik çalışmalarına özel ciplere taşınmasını sağlamaktadır.

Hücrelerin analiz edilmesi veya ayırtırılması için geliştirilen görüntüleme veya akan hücre ölçer tabanlı sistemler son yıllarda yapay zeka ve makine öğrenme teknolojileri ile donatılan analiz yazılımları, optik, elektronik ve mekanik bileşenlerde sağlanan çeşitli inovatif dokunuşlar ile büyük ölçüde geliştirilmekte ve preklinik modelleme çalışmaları gerçekleştirilecek ülkemizdeki araştırmacılara Medsanek tarafından sunulmaktadır.



## IS-15 PRECLINICAL MODELING IN CANCER

### [KANSERDE PREKLİNİK MODELLEMELER]

**Prof. Dr. Fusun OZMEN**

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

For preclinical research to be translational, it is essential that cell culture modeling is as close to reality as possible and that it can be monitored, influenced and the response measured. Developments in the field of biotechnology have allowed the acquisition of materials that will provide tissue characterization, and three-dimensional (3D) cell cultures have begun to be used. In tumor tissue, the mechanical effect of the microenvironment on cancer cells and the level of tissue stiffness affect the growth, proliferation, differentiation, and migration of cancer cells. 3D cultures simulate the microenvironment better than two-dimensional cultures. For that reason, 3D cultures are preferred, especially in cancer research. Unlike 2D culture, 3D cell culture allows cell polarization, spontaneous interaction with cellular and soluble factors, functional angiogenesis can be monitored, tumor heterogeneity can be investigated, and the relationship between cell function and tissue can be better evaluated due to its suitability for mathematical modeling. The disadvantages include variable reproducibility, good results in co-culture but complex evaluation when the number of cells is increased, and higher cost. Cancer cells are isolated from human cancer tissue, and a primary culture is performed. Afterward, 3D culture can be made using different techniques. These techniques: 1) Hanging Drop Method 2) Spontaneous Spheroid Formation 3) Suspension Culture a) spinner flask b) bioreactor 4) Scaffold Models a) hydrogel scaffold b) polymer scaffold c) hydrophilic glass fiber-based scaffold 5) Magnetic Levitation culture. Bioprinters and microfluidic platforms are used to realize these cultures. As a result of these methods, spheroid formation is crucial as it indicates that cancer cell modeling is done in the closest way to reality. In addition, organotypic modeling made from tumor cells isolated from tumor tissue is preferred because it reflects cancer heterogeneity by showing the tumor's genotype, phenotype, and functional characteristics. Given all this information, researchers should start their studies by deciding which preclinical modeling to use in which cancer type.

**Key words:** Preclinical Modeling, cancer research, Three-dimensional (3D) cell culture

Preklinik araştırmaların translasyonel olabilmesi açısından, hücre kültürü modellemelerinin mümkün olduğunda gerçekle yakın olması, izlenebilmesi, etki edilebilmesi ve tepkisinin ölçülebilmesi çok büyük önem taşımaktadır. İki boyutlu (2B) hücre kültürleri uzunca bir süre önemini korumakla birlikte bazı özellikleri nedeni ile gerçekle yakın bir modelleme yapılmadığı düşüncesi hakim oldu. Biyoteknoloji alanındaki

gelişmeler, doku özelliklerini verecek materyellerin elde edilmesi olanak tanımı ve üç boyutlu (3B) hücre kültürleri kullanılmaya başlandı. Tümör dokusunda mikroçevrenin kanser hücrelerine uyguladığı mekanik etki ve doku yoğunluk düzeyi (sertlik), kanser hücrelerinin büyümeyi, proliferasyonunu, diferansiyasyonunu ve migrasyonunu etkiler. Bu nedenle 3D kültürlerin mikroçevreyi iki boyutlu kültürlerden daha iyi modelleyebilmesi, kanser araştırmalarında da tercih edilmesini sağladı. 3B hücre kültürü ,2B kültürden farklı olarak hücre polarizasyonuna olanak tanımakta, hücresel ve solubl faktörlerle hücrenin kendiliğinden etkileşimi sağlanmakta, fonksiyonel anjiojeniz izlenebilmekte, tümör heterojenitesi değerlendirilebilmekte, matematiksel modellemeye uygunluğu nedeni ile hücre fonksiyonun doku ile ilişkisi daha iyi değerlendirilebilmektedir. Tekrarlanabilirliğinin değişken olması, ko-kültürde iyi sonuçlar alınırken hücre sayısı artırıldığında değerlendirmenin zorlaşması, daha pahalı olması ise dezavantajları arasındadır. İnsan kanser dokusundan, kanser hücreleri ayrılarak primer kültür yapılır. Sonrasında farklı teknikler kullanılarak 3B kültür yapılabilir. Bu teknikler: 1) Damla içerisinde asılı tutma Metodu (*Hanging Drop Method*) 2) Spontan Sferoid Formasyonu 3) Süspansiyon Kültür a- spinner flask b- biyoreaktör 4) İskele (*scaffold*) Temelli Modeller a- Hidrojel iskele b- polimer iskele c- hidrofilik cam fiber iskele 5) Manyetik Çekim (*levitation*) Kültürü. Bu kültürlerin gerçekleşmesinde kullanımına başlanan biyo- yazıcılar (*bioprinter*)lar ve mikro fulidik platformlarda kullanılan sistemler içerisindeştir. Bu yöntemlerin sonucunda sferoid oluşumu, kanser hücre modellemesinin gerçekle en yakın şekilde yapıldığının göstergesi olması açısından büyük önem taşımaktadır. Ayrıca tümör dokusundan izole edilen tümör hücrelerinden yapılan organotipik modelleme, tümörün genotip, fenotip ve fonksiyonel özelliklerini göstermesi ile kanser heterojenitesini iyi bir şekilde yansıtğından tercih edilmektedir. Bütün bu bilgiler ışığında araştırmacının hangi kanser tipinde hangi preklinik modellemeyi kullanacağına karar vererek çalışmalarına başlaması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Preklinik Modellemeler, Kanser Araştırmaları, Üç Boyutlu (3B) Hücre Kültürü

## IS-16

### IN VITRO AND IN VIVO MODELING AND ANALYSIS OF METASTASIS

### [İNVAZYON VE METASTAZIN IN VİTRO VE IN VİVO MODELLEMESİ VE ANALİZİ]

**Assoc. Prof. Dr. Begum KOCATURK**

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

Metastasis is described as the detachment of cancer cells from their primary site followed by homing to the secondary tissue. It is considered to be responsible for the 90% of cancer-

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

related deaths. The metastasis is a multi-step process consisting of extracellular matrix degradation, invasion, migration, intravasation, survival in circulation, extravasation, micrometastasis formation and colonization. Upon survival of cancer cells under these harsh conditions, they gain many different aspects and become resistant to treatment thus understanding the mechanisms lying behind metastatic process and developing new therapy options are valuable. To do so, several *in vivo* and *in vitro* approaches have been developed. Analysis of RNA and protein expression profiles of molecules involved in epithelial–mesenchymal transition and extracellular matrix degradation plays a critical part in understanding metastatic process. In addition, scratch assay and transwell insert assays are widely used to understand the migration and invasion capacity of cancer cells. Extravasation step is analyzed by the quantification of molecules involved in cancer cell–endothelial cell binding and also the adhesion capacity of these cells. When it comes to *in vivo* analysis, the background of experimental animal and injection route of cells needs to be taken into consideration. The tracing of fluorescently or bioluminescently tagged cancer cells with IVIS *in vivo* imaging system as well as quantification of foci in lungs are commonly used *in vivo* methods for metastasis evaluation.

Metastaz kanser hücrelerinin köken aldığı primer alandan ayrılarak ikincil bir alana yerleşmesi olarak tanımlanmaktadır ve kanser ilişkili ölümlerin %90'ından sorumludur. Bu süreç içerisinde ekstraselüler matriks degradasyonu, invazyon, migrasyon, intravazasyon, dolaşım yoluyla taşınma, ekstravazasyon, mikrometastaz oluşumu ve kolonizasyon gibi birçok adımı barındırır. Bu zorlu süreçleri tamamlayıp sekonder alana ulaşan kanser hücreleri belirli değişimlere uğrar ve tedaviye de daha dirençli bir hal alır, dolayısıyla metastazi tetikleyen mekanizmaların anlaşılması ve bunlara karşı terapilerin geliştirilmesi önemlidir. Bu amaç doğrultusunda belirli *in vivo* ve *in vitro* teknikler geliştirilmiştir. Epitel-mezenkimal geçişte ve ekstraselüler matriks parçalanmasında rol oynayan moleküllerin RNA ve protein seviyesinde belirlenmesi metastatik oluşum açısından önem taşır. Buna ek olarak yara iyileşme metodu ve transwell hücre göçü ve hücre işgali deneyleri hücrelerin migrasyon ve invazyon kapasitesini anlamak adına sıkılıkla kullanılır. Ekstravazasyon aşaması ise kanser hücrelerinin endotel hücrelerle bağlanması sağlayan moleküllerin miktar tespiti ve bağlanma kapasitesinin ölçümü ile değerlendirilebilir. *In vivo* modellerde enjeksiyon yapılan hayvan ve enjeksiyon bölgisinin seçimi sonuçları değerlendirirken göz önünde bulundurulmalıdır. *In vivo* analizlerde biyoluminesans veya floresans ışına veren hücrelerin IVIS görüntüleme cihazı yardımıyla takibine ek olarak özellikle ikincil doku akciğer olduğunda odak sayımı yöntemine başvurulabilir.

## IS-17

## IN-VITRO AND IN-VIVO MODELS FOR THE ANALYSIS OF SIDE EFFECTS AND DRUG RESISTANCE IN CANCER

## [KANSERDE YAN ETKİ VE İLAÇ DİRENÇİ ANALİZİNDE IN-VİTRO VE IN-VİVO MODELLELER]

**Prof. Dr. Zekiye Sultan ALTUN**

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

Surgery, chemotherapy, radiotherapy and immunotherapy are the main anti-cancer treatment approaches. Toxicities related to cancer treatment can occur in vital organs such as the heart, liver, kidneys and brain. Preclinical models are being developed and mechanistic studies are being carried out for toxicities that may occur due to anti-cancer therapy. In toxicity/adverse effect related studies in cancer, toxicities should be determined at both tissue and functional levels and should be established in a traceable manner.

Resistance to anti-cancer therapies may develop over time. In order to eliminate treatment resistance and to understand the mechanisms of resistance, it is necessary to study it in preclinical models. Drug-induced resistance studies can be performed at the cellular level in accordance with the chemotherapy agents commonly used in anti-cancer treatment and the specific cancer type.

Both toxicity and resistance mechanisms related to anti-cancer treatment can be investigated *in-vitro*, mainly on the basis of cell culture in 2D and 3D. In addition, organoid studies can be carried out. Clinically, obtaining omics-level information on possible mechanisms in different biological patient samples and developing *in-vitro* and *in-vivo* preclinical models in the light of this information provides a more realistic approach.

In order to understand the mechanisms of anti-cancer therapy and reversal of resistance, *in-vivo* preclinical models are required. The most preferred preclinical *in-vivo* model is the creation of tumor models in immunocompromised mice. Especially patient-derived xenograft mouse models provide important information to understand and overcome both toxicity and resistance mechanisms. Syngeneic mouse models should be used for immune-mediated therapies. In the near future, with the use of computational methods and artificial intelligence approaches for analyzing big data, it will be possible to predict and prevent toxicity/side effects and resistance of anti-cancer therapies in new preclinical models more rapidly.

Cerrahi, kemoterapi, radyoterapi ve immünoterapi başlıca anti-kanser tedavi yaklaşımlarıdır. Kanser tedavisine bağlı toksisiteler kalp, karaciğer, böbrek ve beyin gibi hayatı organlarda ortaya çıkabilmektedir. Anti-kanser tedaviye bağlı

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

olarak ortaya çıkabilecek toksisitelere yönelik gerek preklinik modellerin oluşturulmakta ve mekanistik çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Kanserde toksisite/yan etki ilişkili çalışmalarında toksisitelerin gerek doku gerekse fonksiyonel düzeyde belirlenerek takip edilebilir şekilde oluşturulması gereklidir.

Anti-kanser tedavilere karşı zaman içinde direnç gelişebilmektedir. Gerek tedavi direncinin ortadan kaldırılması gerekse direnç mekanizmalarının anlaşılması için de preklinik modellerde incelenmesi gereklidir. İlaç bağılı direnç çalışmalarının antikanser tedavide sık kullanılan kemoterapi ajanlarına ve spesifik kanser çeşidine uygun şekilde hücre düzeyinde oluşturulması mümkündür.

Gerek anti-kanser tedaviye bağlı toksisite ve direnç mekanizmaları başlıca in-vitro olarak hücre kültürü temelinde 2 boyutlu ve 3 boyutlu olarak araştırılabilmektedir. Bunun yanında organoid çalışmaları gerçekleştirilebilmektedir. Klinik olarak değişik biyolojik hasta örneklerinde olası mekanizmalara yönelik omik düzeyinde bilgi eldesi ve bu bilgiler ışığında in-vitro ve in-vivo preklinik modellerin geliştirilmesi daha gerçekçi bir yaklaşım sağlamaktadır.

Anti-kanser tedavi mekanizmalarının anlaşılması ve direncin geri çevrimi adına daha sonra in-vivo preklinik modellere geçilmesi gerekmektedir. Preklinik olarak in-vivo'da en çok tercih edilen iseimmün sistemi baskılanmış farelerde tümör modellerinin oluşturulmasıdır. Özellikle hasta kökenli ksenograft fare modelleri gerek toksisite, gerekse direnç mekanizmalarının anlaşılması ve üstesinden gelinmesi için önemli bilgi sağlamaktadır. İmmün aracılı tedavilere yönelik singenik fare modeller kullanılmalıdır. Yakın gelecekte ise büyük verilerin analizine yönelik hesaplamalı yöntemler ve yapay zekâ yaklaşımlarının kullanılması sayesinde, yeni preklinik modellerde anti-kanser tedavilerin toksisitelerini/yan etkilerini ve direnci daha hızlı öngörmek ve engellemek mümkün olabilecektir.

**IS-18****TYPE 2 DIABETES, ENDOCRINE DISRUPTORS, AND ALS MODELING****[TİP 2 DİYABET, ENDOKRİN BOZUCULAR VE ALS MODELLEMELERİ]**

**Prof. Dr. N.Nuray ULUSU<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Koc University, School of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Istanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Koc University Research Center for Translational Medicine (KUTTAM), Istanbul, Türkiye

In preclinical animal research models rats, rabbits, mice, sheep, pigs, monkeys, etc. can be experimentally used after obtaining ethical committee consent. The types of experimental disease design can be classified as naturally occurring disease models or induced disease models. The

induction of the disease mechanisms can differ according to the organisms. The pathological and pathogenic progressions must be compared with normal physiological conditions when creating novel animal models. In general, induced experimental animal models can be classified as; surgical, genetic, or chemical-modified animal models. In the process of developing animal models, a chemical can be used for developing disease models such as diabetes. Streptozotocin has been widely used to induce diabetes. High-fructose feeding with streptozotocin-diabetic rat models is also recommended in experimental diabetic animal models. This chemical is a  $\beta$ -cell-specific toxic chemical that causes irreversible damage to pancreatic islets. In developing different types of diabetes, for instance, for type I (50mg/kg) and for type II (25 mg/kg) streptozotocin can induce diabetes. Endocrine disruptors such as phthalates, bisphenols, etc have been used in different doses and different exposure times to show the adverse effects of these chemicals on living organisms. In drug development and neuroscience research, human mutation animal models have been chosen to understand the disease's molecular mechanisms. SOD1, G93A rat animals have been chosen for studying Amyotrophic lateral sclerosis disease.

**Keywords:** Diabetes animal models, Endocrine disruptor animal models, ALS Modeling

Klinik öncesi hayvan araştırma modellerinde, etik kurul izni alınından sonra sıçan, tavşan, fare, koyun, domuz, maymun vb. hayvanlar deneysel olarak kullanılabilir. Deneysel hastalık tasarımlı modelleri, doğal olarak oluşan hastalık modelleri veya indüklenmiş hastalık modelleri olarak sınıflandırılabilir. Hastalık mekanizmalarının tetiklenmesi organizmalara göre farklılık gösterebilmektedir. Hayvanlarda yeni hastalık modeli oluştururken patolojik ve patojenik ilerlemeler normal fizyolojik durumlarla karşılaşmalıdır. Genel olarak indüklenmiş deney hayvanları modelleri; cerrahi, genetik veya kimyasal olarak değiştirilmiş hayvan modelleri olarak sınıflandırılabilirler. Hayvan modellerinin geliştirilmesi sürecinde diyabet gibi hastalık modellerinin geliştirilmesi için bir kimyasal kullanılabilir. Streptozotosin diyabeti tetiklemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Deneysel diyabetik hayvan modellerinde streptozotosin-diyabetik sıçan modelleriyle yüksek fruktozu beslenme de önerilmektedir. Bu kimyasal, pankreas adacıklarında  $\beta$  hücrelerine özgü toksik bir kimyasaldır ve geri dönüsü olmayan hasara neden olur. Farklı diyabet tiplerinin geliştirilmesinde, örneğin tip I (50 mg/kg) ve tip II (25 mg/kg) için streptozotosin diyabeti tetikleyebilir. Fitalatlar, bisfenoller vb. endokrin bozucular, bu kimyasalların canlı organizmalar üzerindeki olumsuz etkilerini göstermek için farklı dozlar ve farklı maruz kalma süreleri kullanılmıştır. İlaç geliştirme ve sinirbilim araştırmalarında, hastlığın moleküler mekanizmalarını anlamak için insan mutasyonlu hayvan modelleri seçilmiştir. Amyotrofik lateral skleroz hastlığını incelemek için SOD1, G93A sıçan hayvanları seçilmiştir.

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

**Anahtar Kelimeler:** Diyabet hayvan modelleri, Endokrin bozucu hayvan modelleri, ALS Modellemesi

**IS-19**

**MODELING AND SIMULATION METHODS AND CLINICAL IMPORTANCE IN BRAIN AND SPINAL SURGERY**

**[BEYİN VE SPİNAL CERRAHİDE MODELLEME, SİMÜLASYON YÖNTEMLERİ VE KLINİK ÖNEMİ]**

**Assoc. Prof. Selim KARABEKIR**

Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of Brain and Neurosurgery, Izmir, Türkiye

The field of science under the “neuroscience” includes a wide range of different approaches and methods applied by researchers, from molecular and cellular studies of neurons to neuroimaging of sensory, motor and cognitive tasks in the brain, and even from neuronavigation devices used in surgical practice to robotic surgery applications.

Comprehensive knowledge of anatomy in the field of brain and neurosurgery is required for the ability to perform brain and spinal surgery and for the correct diagnosis and treatment of diseases. It is of great benefit to interact with perspectives of brain and spinal cord structures in different planes through a three-dimensional view and to develop spatial and practical skills that are very significant for understanding topographic neuroanatomy. Modeling and simulation techniques have begun to be used in education fields by overlapping complex anatomical information with the location and topographic information of the pathological structure, making the subjects more understandable and facilitating learning.

In the field of brain and neurosurgery, evaluating the radiological images of the cases with their topographic coordinates by accurately superimposing the existing anatomical structures and the approaches to these structures, and reflecting these data to the patient during open surgery or endoscopic intervention requires great knowledge and experience. With this information and experience, every surgeon encounters conditions where this knowledge and experience are not sufficient during the decision-making process that extends from the surgical position of the patient and the operating room to skin incision and even surgical maneuvers. At this stage, it is clear that three-dimensional models and the chance to manipulate these models with computer-aided simulation method are instructive and informative for the training of medical students and surgical assistants during the practice of brain and neurosurgery, and especially before the practice.

In addition to highly technological tools such as computer imaging methods, neuronavigation systems, microscopes and endoscopes, the use of augmented reality and virtual reality applications and three-dimensional models has become more frequent recently. Microscope images and augmented reality images can be viewed simultaneously for educational purposes or during surgery. Three-dimensional images can

also be displayed on the patient using various glasses or a screen, or with augmented or virtual reality visualization techniques such as projecting the image onto the environment as a hologram. On the verge of technological development and change, rapidly developing research and technological advances cause virtual reality simulators to come to the fore, but the high cost continues to be the most important obstacle to the widespread use of virtual reality simulators.

While the cadaver training approach in the field of brain and neurosurgery continues to be the most common and most instructive classical approach before hands-on training on the patient during the operation in the operating room, training and modeling methods are also used due to the difficulties in the supply and storage conditions and access of fixed or fresh frozen cadavers. It has paved the way for surgical experience.

**Key words:** Brain and neurosurgery, modeling, simulation, surgical training and surgical practice

**IS-20**

**ANATOMICAL MODELING AND SIMULATION TECHNIQUES AND THEIR REFLECTIONS ON THE CLINIC**

**[ANATOMİK MODELLEME, SİMÜLASYON TEKNİKLERİ VE KLINİĞE YANSIMALARI]**

**Prof. Dr. Nuket GOCMEN KARABEKIR**

Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Izmir, Türkiye

In the field of health, especially in medical education, students traditionally practice on cadavers. It is very important to gain this experience in order to treat patients successfully. In addition, due to the patient-oriented approach to health delivery in modern medicine, the use of advanced new methods in diagnostic technologies, modeling and simulation-based information technologies with a multidisciplinary approach in the training and application stages increases the importance in the field of health. Anatomical modeling is the method of creating a three-dimensional representation of the anatomical features of the human body in suitable environments through morphometric studies, and it is increasingly becoming an interdisciplinary field of study as branches of science under the subheading of translational medicine such as medicine, biophysics, bioengineering, tissue engineering, computer engineering, informatics, software engineering, mathematics and physics. In recent years, there has been an increase in studies on evidence-based practices in all fields of health, especially in medical education and the practice of the art of medicine, training with simulation methods to transform knowledge into skills, and standardization and prevention of complications in patient diagnosis and treatment. Each of these developments facilitates innovation efforts by increasing the critical thinking and decision-making skills of physicians and medical students. By using three-dimensional modeling and simulation technology, a pathological three-

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

dimensional biomodel can be created based on real image data of the patient. These models allow surgeons to learn the neuroendoscopic procedure or open surgical procedure under conditions closest to reality, thus allowing them to perform it more successfully and avoiding complications.

In addition, radiological imaging techniques such as MR/CT or cross-sectional microscopic examination methods, which create a two-dimensional data source, can be used to calculate length, volume, total number of cells in a histological section or surface area/volume in consecutive MR/CT sections with computer-aided software programs by adding the section thickness component. It can play an important role in the diagnosis, treatment and follow-up of the disease by providing information. While some methods are very complicated as they require advanced knowledge and skills, some computer-based software programs are high cost. Simulation programs using anatomical models and new technology also have similar disadvantages.

As a result, anatomical mathematical models and computer-aided simulation models are new technological tools that enable the physician/student to gain knowledge and skills through three-dimensional visual and even contact, that is, tactile stimuli, in addition to the possibility of application with cadavers in ensuring manual dexterity. In addition to its use for educational purposes, it makes a great contribution to diagnosis and treatment by developing software programs for the calculation of physiopathological parameters based on patient-specific anatomical models.

**Key words:** Anatomical modeling, simulation, medical education, anatomy education, surgery and clinical practice

Sağlık alanında özellikle de tıp eğitiminde öğrenciler, geleneksel olarak kadavra üzerinde uygulama yapmaktadır. Hastaların başarıyla tedavi edilebilmesi için bu tecrübe kazanılması oldukça önemlidir. Yanı sıra modern tipta hasta odaklı sağlık sunumu anlayışı nedeniyle, tanı koyma teknolojilerinde gelişmiş yeni yöntemlerin de kullanılması, eğitim ve uygulama aşamalarında multi disipliner yaklaşımla modelleme ve simülasyon temelli bilişim teknolojilerinin sağlık alanında önemini artırmaktadır. Anatomik modelleme, morfometrik çalışmalarla insan vücudunun anatomik özelliklerinin uygun ortamlarda üç boyutlu temsilinin oluşturulması yöntemi olup tıp, biyofizik, biyomühendislik, doku mühendisliği, bilgisayar mühendisliği, enformatik, yazılım mühendisliği, matematik ve fizik gibi translasyonel tıp alt başlığındaki bilim dallarının disiplinler arası çalışma alanı bulmasıyla giderek yaygınlaşmıştır.

Son yıllarda tüm sağlık alanlarında özellikle de tıp eğitimi ve hekimlik sanatının içrasında uygulamaların kanıt dayalı olması, bilginin beceriye dönüştürülebilmesi için simülasyon yöntemleriyle eğitim verilmesi ve hasta tanı ve tedavisinde standartizasyon ve komplikasyonların önlenmesi çalışmalarında artış olmuştur. Bu gelişmelerin her biri hekimlerin ve tıp öğrencilerinin eleştirel düşünme ve karar verme becerilerini artıracak inovasyon çalışmalarını kolaylaştırmaktadır. Üç boyutlu modellemeler ve simülasyon

teknolojisi kullanılarak, hastaya ait gerçek görüntü verilerine dayanarak patolojik üç boyutlu biyomodel oluşturulabilmektedir. Bu modeller, cerrahların nöroendoskopik işlem ya da açık cerrahi işlemi gerçeğe en yakın koşullarda öğrenmelerini böylece daha başarılı ve komplikasyondan kaçınarak uygulama olanağı tanımaktadır. Ek olarak iki boyutlu veri kaynağı oluşturan MR/BT gibi radyolojik görüntüleme teknikleri ya da kesitsel mikroskopik inceleme metotları kesit kalınlığı bileşeninin eklenmesiyle bilgisayar destekli yazılım programlarıyla uzunluk, hacim, histolojik bir kesitteki toplam hücre sayısı ya da ardışık MR/BT kesitlerinde yüzey alanı/hacmi gibi bilgiler sağlayarak hastalığın tanı, tedavi ve takiplerinde önemli rol oynayabilmektedir. Bazı metotlar ileri bilgi ve beceri gerektirdiğinden çok komplike iken, bazı bilgisayar temelli yazılım programları ise yüksek mal yet taşımaktadır. Anatomik modeller ve yeni teknoloji içerek simülasyon programları da benzer dezavantajları barındırmaktadır.

Sonuç olarak hekimin/öğrencinin el becerisinin sağlanmasıında kadavra ile uygulama imkanı yanı sıra üç boyutlu görsel ve hatta temas yoluyla yanı taktil uyarımı da içeren bilgi ve beceri kazanmayı sağlayan anatomik matematiksel modeller ve bilgisayar destekli simülasyon modeller yeni teknolojik araçlardır. Eğitim amaçlı kullanımlarının yanı sıra hastaya özgü tasarlanan anatomik modeller temel alarak, fizyopatolojik parametrelerin hesaplamasına ilişkin yazılım programları geliştirilerek tanı ve tedaviye büyük katkı oluşturmaktadır.

**Anahtar sözcükler:** Anatomik modelleme, simülasyon, tıp eğitimi, anatomi eğitimi, cerrahi ve klinik uygulama

## IS-21

## PRECLINICAL MODELLING IN NEUROLOGICAL DISEASES AND PHYSIOTHERAPY

## [NÖROLOJİK HASTALIKLAR VE FİZYOTERAPİDE PREKLİNİK MODELLEMELER]

**Prof. Dr. Bilge KARA**

Dokuz Eylül University, Physical Therapy and Rehabilitation Faculty, Izmir, Türkiye

Functional disorders occur in neurological diseases and motor function, sensorimotor control and movement perception are impaired. Functional neurological disorders consist of neurology and psychiatry and often involve perceptual and cognitive changes along with movement disorders.

Neurological physiotherapy is a scientific field that has developed significantly in recent years. It includes the concepts of motor control, motor learning and neuroplasticity. Exercise practices in neurological physiotherapy include neuroplasticity and muscle plasticity. Exercise changes and improves synaptic structure and functions in different brain regions, modulating glial activation and neuro-inflammation. Exercises are effective on quality of life, cognition and depressive symptoms, attention,

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

memory, executive functions and psychomotor speed. No complications related to exercises were reported in any of the meta-analysis studies.

In combination with exercise and appropriate diet, it increases neuroplasticity substrates, flow to the brain, and cognitive functions. Skeletal muscle has a very good capacity to adapt to external stimuli, including physical activity, oxygen levels, ambient temperature, nutrient availability and composition. In chronic and neurodegenerative diseases, these processes and skeletal muscles are disrupted and muscle plasticity is affected. Neurological physiotherapy supports individualized interventions and patients and their caregivers should be involved in the treatment decision-making process. Treatment of movement dysfunction is the main subject of neurological rehabilitation. Comprehensive analysis of patients' functional activities should be performed. In preclinical modelling in evaluation in neurological physiotherapy; approach to the evaluation and treatment of movement disorders is valid. It is influenced by the 'ICF' model, which is the international classification of functionality, disability and health. Functioning and disability are viewed as the interaction between body functions and structures, activities and participation, personal factors, and environmental factors. As a result of functional evaluation; It is important to determine which functional activities patients can do, which ones are difficult to do, and which ones cannot be done at all. Neurorehabilitation is included in the treatment of neurological physiotherapy in preclinical models. In the neurorehabilitation model; there should be motor learning and neuroplasticity with activities that fit daily life and sensory stimuli. There are special exercise practices in physiotherapy that use sensory and environmental stimulation. By improving functional activities; the participation of patients with neurological problems in daily life and social activities can be increased.

Nörolojik hastalıklarda fonksiyonel bozukluklar ortaya çıkmaktadır ve motor fonksiyon, sensorimotor kontrol ve hareket algısı bozulmaktadır. Fonksiyonel nörolojik bozukluklar nöroloji ve psikiatri alanlarını içerir ve çoğunlukla hareket bozuklukları ile birlikte algısal, kognitif değişiklikler görülür. Nörolojik fizyoterapi son yıllarda önemli ölçüde gelişen bilimsel bir alandır. İçeriğinde motor kontrol, motor öğrenme ve nöroplastisite kavramları vardır. Nörolojik fizyoterapide yer alan egzersiz uygulamalarında nöroplastisite ve kas plastisitesi bulunmaktadır. Egzersiz farklı beyin bölgelerinde sinaptik yapı ve fonksiyonları değiştirerek iyileştirir, glial aktivasyon ve nöro-inflamasyonu modüle eder. Egzersizler yaşam kalitesi, kognisyon ve depresif semptomlar, dikkat, bellek, executive fonksiyonlar, psikomotor hız üzerine etlidir. Meta analiz çalışmalarının hiçbirinde egzersizlerle ilgili komplikasyon belirtilmemiştir. Egzersiz ve uygun diyetle birlikte; nöroplastisite substraktlarını, beyine olan akışını, kognitif fonksiyonları arttırmır. İskelet kası, fiziksel aktivite, oksijen seviyeleri, ortam sıcaklığı, besin varlığı ve bileşimi dahil olmak üzere dış uyaranlara uyum sağlama konusunda çok iyi bir kapasiteye

sahiptir. Kronik ve nörodejeneratif hastalıklarda bu süreçler ve iskelet kasları bozulmaktadır ve kas plastisitesi etkilendirmektedir. Nörolojik Fizyoterapi bireyselleştirilmiş müdahaleleri desteklemektedir ve hasta ve onların bakım verenleri tedaviye karar verme sürecinde yer almıştır. Hareket disfonksiyonun tedavisi nörolojik rehabilitasyonun temel konusudur. Hastaların fonksiyonel aktivitelerinin kapsamlı analizi yapılmalıdır. Nörolojik fizyoterapide değerlendirmede preklinik modellemelerde; hareket bozukluklarının değerlendirilmesi ve tedavisine yönelik yaklaşım geçerlidir. Uluslararası fonksiyonellik, engellilik ve sağlık sınıflandırması olan 'ICF' modelinden etkilendirmektedir. Fonksiyonellik ve engellilik vücut İşlevleri ve yapıları, aktiviteler ve katılım, kişisel faktörler ve çevresel faktörler arasındaki etkileşim olarak görülmektedir. Fonksiyonel değerlendirme sonucunda; hastaların hangi fonksiyonel aktivitelerin yapılabileceği, hangilerinin zor yapıldığı ve hangilerinin hiç yapılamadığı önemlidir. Nörolojik fizyoterapide tedavide preklinik modellemelerde nörorehabilitasyon yer almaktadır. Nörorehabilitasyon modelinde; günlük yaşantıya uygun aktivitelerle, duyusal uyarılarla birlikte motor öğrenme ve nöroplastisite olmalıdır. Fizyoterapide duyusal ve çevresel uyariların kullanıldığı özel egzersiz uygulamaları bulunmaktadır. Fonksiyonel aktivitelerin iyileştirilmesiyle; nörolojik sorunu olan hastaların günlük yaşama ve sosyal aktivitelere katılımlarının artması sağlanabilir.

## IS-22

**IN VITRO DIAGNOSTICS: THE IMPORTANCE OF PRECLINICAL MODELING FROM DISCOVERY TO TREATMENT****[IN VİTRO DİYAGNOSTİK: KEŞİFTEN TEDAVİYE PREKLİNİK MODELLEMENİN ÖNMESİ]**

**Prof. Dr. N.Nuray ULUSU<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Koc University, School of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Istanbul, Türkiye

<sup>2</sup> Koc University Research Center for Translational Medicine (KUTTAM), Istanbul, Türkiye

Animal models (rats, mice, zebrafish, rabbits, etc.,) have been using for a better understanding of the pathophysiology of the disease, and to screen the potential drugs and novel therapies for diseases in basic and clinical research. Using animal models would solve and evaluate the underlying molecular mechanisms, for instance, metabolic and epigenetic variations, post-translational modifications, enzymatic activity changes, inflammation-related changes, hematological parameters, physiological, pathological, histological, microbiota, changes in the blood-brain barrier permeability, effects on organs, effects of drugs on cellular metabolism, and other measurable biological processes during the progression and therapy of the disease. There is no single animal model for a disease. The first step of clinical

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

studies is to create the appropriate animal model. The more human-like animal model is accepted the more successful the model. It is critically important to evaluate biochemical and physiological processes during creating the specific disease animal model and/or during the therapy. The species, gender, age, cost, availability, laboratory conditions, biological properties, and ethical implications are the key parameters that need attention. The animal models can be classified as; transgenic, knockout, chemical, genetic, inflammation-induced, trauma animal model, or surgical-induced disease or pathologic conditions induced. On the other hand, a group of scientists are indicating the importance of usage of artificial intelligence (AI) instead of experimental animals. The future preclinic experimental animal model protocols will be changed according to the needs of the century.

**Keywords:** Preclinic animal models, human-like animal model, artificial intelligence

Temel ve klinik araştırmalarda hastalığın patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve hastalıklara yönelik potansiyel ilaçların ve yeni tedavilerin taranması amacıyla hayvan modelleri (sığan, fare, zebra balığı, tavşan vb.) kullanılmaktadır. Hayvan modellerini kullanmak, alitta yatan moleküler mekanizmaları çözücektir metabolik ve epigenetik değişiklikler, translasyon sonrası modifikasiyon, enzimatik aktivite değişiklikleri, inflamasyonla ilişkili değişiklikler, hematolojik değişiklikleri, fizyolojik değişiklikleri, patolojik değişiklikleri, histolojik değişiklikler, mikrobiyotada değişiklikleri, kan-beyin bariyeri geçişgenliğindeki değişiklikleri, organlar üstündeki etkisini, ilaçların hücre metabolizmasındaki etkilerini, ve hastalığın ilerlemesi ve tedavisi sırasında oluşan bütün biyolojik süreçlerin değerlendirilmesini sağlayacaktır. Bir hastalık için tek bir hayvan modeli yoktur. Klinik çalışmaların ilk adımı uygun hayvan modelinin oluşturulmasıdır. Oluşturulan hayvan modeli insana ne kadar çok benzerse hayvan modeli o kadar başarılı olarak kabul edilir. Spesifik hastalıklı hayvan modelinin oluşturulması sırasında ve/veya tedavi sırasında biyokimyasal ve fizyolojik süreçlerin değerlendirilmesi kritik önem taşımaktadır. Tür, cinsiyet, yaş, maliyet, bulunabilirlik, laboratuvar koşulları, biyolojik özellikler ve etik çıkarımlar dikkat edilmesi gereken temel parametrelerdir. Hayvan modelleri şu şekilde sınıflandırılabilir; transgenik, nakavt, kimyasal, genetik, iltihaplanma kaynaklı, travma hayvan modeli veya cerrahi kaynaklı hastalık veya patolojik durumların tetiklediği hayvan modeli olarak gruplandırılır. Öte yandan bir grup bilim insanı da deney hayvanları yerine yapay zeka (AI) kullanımının önemine işaret ediyor. Geleceğin preklinik deneysel hayvan modeli protokollerini yüzeylin ihtiyaçlarına göre değiştirecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Klinik öncesi hayvan hastalık modelleri, insana benzer hayvan modeli, yapay zeka, klinik öncesi hayvan hatalık tedavi modelleri

## IS-23

## CANCER VACCINES IN PERSONALIZED CANCER TREATMENT: "PEPTIDE VACCINES"

## [KİSİYE ÖZEL KANSER TEDAVİSİNDE KANSER AŞILARI: "PEPTİT AŞILAR"]

**Prof. Dr. Hulya YAZICI**

Istanbul Arel University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, İstanbul, Türkiye

Cancer is a complex disease characterized by the presence of thousands of numerical and qualitative genetic mechanisms within a tumor, organized within a complex tumor microenvironment. The ability of cancer cells to rapidly adapt to environmental conditions and subsequently develop resistance to drugs significantly reduces the success of contemporary cancer treatments. Conventional treatment methods exhibit disadvantages such as low specificity and notable side effects. Immunotherapy has emerged as a novel approach to cancer treatment, albeit its application is currently limited to a few cancer types and a small subset of patients. One recent advancement in tumor immunotherapy involves the administration of peptide vaccines developed against the tumor. Neoantigens, abnormal proteins produced by cancer cells, are molecules created exclusively through "non-synonymous" specific mutations present only in cancer cells and absent in normal cells. Tumor neoantigens possess high immunogenicity and are entirely personalized to an individual's tumor. Recognized as non-self entities in the body, neoantigens trigger an immune response not subject to central and peripheral tolerance. Treatments involving neoantigens, particularly those utilizing immunotherapeutic approaches, enhance the immune system's responsiveness. Neoantigenic peptide vaccines, developed in the present era, offer advantages such as personalization, multitargeting, safety, and a broad spectrum of action. These vaccines can be employed for understanding and monitoring tumor survival and immune checkpoint blockade responses. Additionally, therapies bolstered by immunotherapy, particularly those inducing T-cell responses against neoantigens, hold promise for establishing and sustaining post-treatment immunological memory, ensuring long-term treatment effects. The preparation of peptide vaccines remains expensive and time-consuming, and their ultimate therapeutic effectiveness is limited by the challenge of achieving desired distribution to lymphoid organs. There is currently no consensus or standardized method for the administration of peptide vaccines. Further development is essential to enhance the long-term efficacy of peptide vaccines by promoting memory formation post-treatment and preventing recurrence. In the coming decade, advancements and the creation of new algorithms used in the design and prediction of cancer vaccines will aid in the identification of cancer peptide vaccines. Additionally, rapid platform development in pharmacology is crucial for the swift generation of these vaccines.



**Key words:** Cancer vaccines, Neoantigens, Peptide vaccines, Immunotherapy.

Kanser kompleks bir hastalıktır. Tümörün binlerce sayı ve çeşitte genetik mekanizmalar barındırması, kompleks bir tümör mikroçevresi içinde organize olması, kanserli hücrelerin, kendilerini çevresel koşullara hızlıca adapte etmeleri ve buna bağlı olarak ilaçlara direnç geliştirmeleri günümüzde kanser tedavilerinin başarısını azaltmaktadır. Konvansiyonel tedavi yöntemlerinin düşük özgüllük ve belirgin yan etkiler gibi dezavantajları bulunmaktadır. Günümüzde kanser tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak immünoterapi kullanılmaktadır. Ancak immünoterapi çok az tip kanserde ve çok az sayıdaki kanser hastasında kullanılabilirliktedir. Tümör immünoterapisinde yeni ortaya çıkan yöntemlerden biri tümöre karşı geliştirilen peptit aşısı uygulamalarıdır. Neoantijenler, kanser hücreleri tarafından üretilen anomal proteinlerdir. Bu anomal proteinler, normal hücrelerde bulunmayan sadece kanser hücrelerindeki "non-synonymous" spesifik mutasyonlar tarafından oluşturulan moleküllerdir. Tümör neoantijenleri yüksek derecede immunojeniteye sahiptir ve tamamen kişinin tümörüne özgüdür. Neoantijenler vücutta kendinden olmayanlar olarak tanınlırlar ve merkezi ve periferik toleransa tabi olmayan bir bağışıklık tepkisini tetiklerler. Özellikle neoantigen ile yapılan tedaviler, bağışıklık sistemini daha iyi harekete getirmektedir. Kişiye özel, çok hedefli, güvenli ve geniş spektrumlu olma gibi avantajlara sahiptir. Peptit aşılar tümörün hayatı kalması veimmün kontrol noktası blokajına cevabın anlaşılması ve takibinde kullanılabilirler. Ayrıca, immünoterapiyle güçlendirilmiş neoantijene spesifik T-hücreleri tepkilerinin, tedavi sonrası immünolojik hafızayı sağlaması ve sürdürme kapasitesi, tedavinin uzun süreli etkisi için umut vadettmektedir. Peptit aşılarının hazırlanması hala çok pahalı ve zaman alıcıdır. Peptit aşılarının nihai terapötik etkinliği, lenfoid organlara istenilen uygunlukta dağıtılamadığından sınırlıdır. Peptit aşılarının hastaya verilme yolları hakkında hala bir ortak görüş ve yöntem yoktur. Peptit aşılarının tedaviden sonra hafıza oluşturularak uzun süreli etkili olması ve nüksü önlemesi yönünden de geliştirilmesi gerekmektedir. Önümüzdeki on yılda kanser aşılarının dizaynı ve tahmininde kullanılan algoritmaların daha da geliştirilmesi ve yenilerinin oluşturulması kanser peptit aşılarının tanımlanmasında yardımcı olacaktır. Bunun yanında farmakolojide de bu aşıların hızla oluşturulacağı platformların geliştirilmesi gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Kanser aşıları, Neoantijenler, Peptit aşılar, İmmünoterapi.

#### IS-24

#### RESPIRATORY EPITHELIAL-BARRIER MODEL FOR ENVIRONMENTAL EXPOSURES

#### [ÇEVRESEL MARUZİYETLERE YÖNELİK SOLUNUM EPİTEL-BARIYER MODELİ]

**Assoc. Prof. Dr. Ozlem GOKSEL (KESKIN)**

Ege University, Faculty of Medicine, Pulmonary, Immunology and Allergy, Laboratory of Occupational/Environmental Respiratory Diseases and Asthma, Ege University Translational Pulmonary Research Center(EGESAM), Izmir, Türkiye

The lungs can be exposed to various harmful environmental substances, and these exposures can have adverse effects on respiratory health. Fine Particulate Matter (PM2.5) and Coarse Particulate Matter (PM10) are tiny particles suspended in the air, originating from sources such as vehicle emissions, industrial processes, and combustion. Exposure to particulate matter (PM), especially fine particulate matter (PM2.5) and coarse particulate matter (PM10), can have various harmful effects on the lungs. Inhalation of PM can lead to immediate respiratory irritation, causing symptoms such as coughing, throat irritation, and shortness of breath. PM exposure triggers inflammation in the respiratory system, affecting the airways and lung tissues. Persistent inflammation can contribute to chronic respiratory diseases. Individuals with pre-existing respiratory conditions, such as asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD), may experience exacerbation of their symptoms due to PM exposure. Long-term exposure to PM has been linked to decreased lung function, particularly in children and the elderly. This reduction in lung function may persist over time. Epithelial barrier models are used to study the impact of environmental exposures on the lung epithelium and respiratory health. Although animal models are utilized to assess the risks associated with these particles, human relevant preclinical models are required to obtain tissue level responses, especially considering the differences in species. Herein, the cell-mediated immune response and epithelial barrier integrity disruption effect of respirable PM2.5 and smaller-sized inorganic silica dust exposures were simultaneously evaluated within two relevant models; The standardized biomimetic microfluidic chip platforms based a human airway epithelial barrier AEB-on-a-chip model, and immune cells included human bronchoscopial ex vivo airway model. Computational fluid dynamics simulations were performed by in silico COMSOL Multiphysics Program for examination of diffusion of silica particles and shear stress profiles under different flow conditions in the platform. The fluorescent dye tracked Calu-3 cell examination and WST-1, LDH, SEM, ELISA, IF and qRT-PCR analysis were carried out to evaluate cell survivability, morphology, barrier integrity and inflammation. Such platforms allow precise control of exposure and provide a more biologically relevant AEB model than traditional *in vitro* models.

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

Akciğerler çeşitli zararlı çevresel maddelere maruz kalmaktadır ve bu maruziyetler solunum sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olabilirler. İnce Partikül Madde (PM2.5) ve Kalın Partikül Madde (PM10), doğada doğal olarak bulunan, yani sıra araç emisyonları, endüstriyel süreçler ve yanma gibi kaynaklardan kaynaklanan havada süzülen minik parçacıklardır. PM'lerin solunması akut ya da kronik solunum sistemi hastalıklarına, öksürük, boğaz tahrışı ve nefes darlığı gibi belirtilere neden olabilir. Astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi önceden var olan solunum sorunlarına sahip bireyler, PM'ye maruz kaldıklarında artan kronik inflamasyon semptomlarını tetikleyebilir. PM'ye uzun vadeli maruziyet, özellikle çocuklar ve yaşlıarda, azalmış akciğer fonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu akciğer fonksiyonundaki azalma zaman içinde maruziyet azalsa bile devam edebilir.

Epitelial bariyer modelleri, PM2.5 dahil çevresel maruziyetlerin akciğer epitel dokusu ve solunum sağlığı üzerindeki etkilerini incelemek için kullanılırlar. Bu partiküllerle ilişkilendirilen riskleri değerlendirmek için hayvan modelleri kullanılsa da, özellikle türler arasındaki farkları düşündüğümüzde, insanla ilişkilendirilebilir güvenilir invitro klinik modellere ihtiyaç vardır. Bugün sizlere solunabilir PM2.5 ve daha küçük boyuttaki inorganik silika tozlarına maruziyetin epithelial bariyer üzerindeki etkisini bir insan hava yolu epitel bariyer-AEB-on-a-chip modeline dayalı standartlaşdırılmış biomimetik mikrofluidik çip platformu ve insan bronkoskopik ex vivo hava yolu modelinin toza yanıtını eş zamanlı olarak birlikte değerlendiren çalışmamızdan bahsetmek istiyorum. Geliştirilen platformdaki farklı akış koşulları altında silika partiküllerinin difüzyonu ve kayma stresi profillerinin incelenmesi için in silico COMSOL Multiphysics Programı tarafından hesaplamalı akışkanlar dinamiği simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Floresan boyalı işaretli Calu-3 hücreleri WST-1, LDH, SEM, ELISA, IF ve qRT-PCR analizleri ile hücrenin canlılığı, morfolojis, bariyer bütünlüğü ve inflamasyonu açısından incelenmiştir. Bu tür platformlar, geleneksel *in vitro* modellere göre daha biyolojik yeni modeller oluşturmamızı ve çevresel maruziyetleri hassas bir şekilde kontrol etmemizi sağlayabilecek yenilikçi platformlar olarak iş görme potansiyeline sahiptirler.

IS-25

**PDX MODEL FOR LUNG CANCER****[AKCIĞER KANSERİNE YÖNELİK PDX MODELİ]****Hadi ROUHRAZI**

Ege University Respiratory Research Center (EgeSAM)

Lung cancer, a global health challenge and one of a leading cause of cancer-related deaths presents a multifaceted impact. Beyond its physical toll, the economic and emotional burdens on individuals and healthcare systems underscore the need for

a comprehensive approach. In this landscape, traditional cancer models face limitations, prompting a call for innovative models that closely mimic human tumors.

Patient-derived xenografts (PDX), is a transformative approach involving the implantation of patient-derived tumor tissues into immunocompromised mice. This presentation navigates the significance of PDX models in lung cancer research, addressing challenges posed by tumor heterogeneity, late-stage diagnoses, and treatment resistance. The discussion delves into the necessity for sophisticated models, emphasizing the importance of accurately replicating the complexity of human tumors. PDX models, by preserving genetic and histological characteristics, provide a reliable preclinical testing platform.

Further exploration focuses on the relevance of PDX models in lung cancer, highlighting their applications in drug development, personalized medicine, and understanding tumor biology. Their ability to recapitulate the complexity and heterogeneity of lung cancer tumors is emphasized.

The establishment of PDX models is detailed, emphasizing the maintenance of the tumor microenvironment. Challenges, including engraftment success rates and long engraftment times, are addressed. Continuing, it focuses on validating PDX models, employing methods like genomic analysis and histopathological examination. The presentation then unfolds the pivotal role of PDX models in drug development, showcasing successful discoveries like Osimertinib and Crizotinib. The limitations of PDX models are then discussed, encompassing factors such as engraftment efficiency, immune system mismatch, and high cost. Future directions, presented in Continue, suggest advancements like humanized mouse models and co-implantation of stromal cells.

In essence, this comprehensive overview positions PDX models as a powerful tool, revolutionizing the development of personalized treatment plans and fostering a targeted approach to lung cancer therapy.

Küresel bir sağlık sorunu olan ve kansere bağlı ölümlerin onde gelen nedenlerinden biri olan akciğer kanseri, çok yönlü bir etki sunmaktadır. Fiziksel maliyetinin ötesinde, bireyler ve sağlık sistemleri üzerindeki ekonomik ve duygusal yükler, kapsamlı bir yaklaşım olan ihtiyacın altını çiziyor. Bu ortamda geleneksel kanser modelleri sınırlamalarla karşı karşıya kalıyor ve bu da insan tümörlerini direkt taklit eden yenilikçi modeller için çağrıya yol açıyor.

Hastadan türetilmiş ksenogreftlər (PDX), hastadan türetilmiş tümör dokularının bağılılığı baskılanmış farelere implantasyonunu içeren dönüştürücü bir yaklaşımdır. Bu sunum, akciğer kanseri araştırmalarında PDX modellerinin önemine deðinerek tümör heterojenliğinin, geç evre tanıların ve tedavi direncinin yarattığı zorlukları ele almaktadır.

Sunum, insan tümörlerinin karmaşıklığının doğru bir şekilde kopyalanmasının önemini vurgulayarak karmaşık modellerin gerekliliğini araştırıyor. PDX modelleri genetik ve histolojik özellikleri koruyarak güvenilir bir klinik öncesi test platformu sağlar.

Daha ileri araştırmalar, PDX modellerinin akciğer kanserindeki önemine odaklanarak ilaç geliştirme,

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

kişiselleştirilmiş tip ve tümör biyolojisinin anlaşılmasındaki uygulamalarını vurgulamaktadır. Akciğer kanseri tümörlerinin karmaşıklığını ve heterojenliğini özetleme yetenekleri vurgulanmaktadır.

PDX modellerinin kurulması, tümör mikroçevresinin korunmasını vurgulayarak ayrıntılıdır. İmplantasyon başarı oranları ve uzun aşılama süreleri gibi zorluklar ele alınmaktadır.

Devamında, genomik analiz ve histopatolojik inceleme gibi yöntemleri kullanarak PDX modellerini doğrulamaya odaklanıyor. Sunum daha sonra Osimertinib ve Crizotinib gibi başarılı keşifleri sergileyerek PDX modellerinin ilaç geliştirmedeki önemli rolünü ortaya koyuyor.

Daha sonra implantasyon verimliliği, bağışıklık sistemi uyumsuzluğu ve yüksek maliyet gibi faktörleri kapsayan PDX modellerinin sınırlamaları tartışılmaktadır. Devamında sunulan gelecekteki talimatlar, insanlaştırılmış fare modelleri ve stromal hücrelerin birlikte implantasyonu gibi ilerlemeler önermektedir.

Temelde bu kapsamlı genel bakış, PDX modellerini güçlü bir araç olarak konumlandırıyor, kişiselleştirilmiş tedavi planlarının geliştirilmesinde devrim yaratıyor ve akciğer kanseri tedavisine hedefe yönelik bir yaklaşımı teşvik ediyor.

**IS-26****INFLUENZA MODELING IN EX VIVO ORGANOTYPIC SHEEP LUNG TISSUE CULTURE****EX-VIVO ORGANOTİPİK KOYUN AKÇİĞERİ DOKU KÜLTÜRÜNDE İNFLUENZA MODELLEMESİ**

**Ece YILDIZ OZTURK<sup>1,2,†</sup>, Pelin SAGLAM METINER<sup>3,†</sup>, Aslı TETIK VARDARLI<sup>1,4</sup>, Candan CICEK<sup>5</sup>, Ozlem GOKSEL<sup>1,6</sup>, Tuncay GOKSEL<sup>1,6</sup>, Ozlem YESIL CELIKTAS<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>Ege University, Translational Pulmonology Research Center (EgeSAM), Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Yasar University, Department of Food Processing, Food Technology Program, Izmir, Türkiye

<sup>3</sup>Ege University, Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Izmir, Türkiye

<sup>4</sup>Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Izmir, Türkiye

<sup>5</sup>Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Izmir, Türkiye

<sup>6</sup>Ege University, Faculty of Medicine, Department of Pulmonary Diseases, Department of Allergy and Immunology, Izmir, Türkiye

†Ece Yıldız-Öztürk and Pelin Sağlam-Metiner contributed equally as first authors.

Antiviral strategies targeting host systems in viral infections have both therapeutic and prophylactic potential and may help reduce the development of virus resistance. Nafamostat Mesylate (NM) is a synthetic serine protease inhibitor used in

the treatment of acute inflammatory diseases such as intravascular coagulation, shock and pancreatitis. In addition to its various therapeutic effects, NM has been shown to have suppressive effects on SARS-CoV-2 and other seasonal influenza infections through its ability to inhibit serine protease, which causes the development of airway inflammation. In drug discovery and safety studies, the organotypic lung tissue culture model, which preserves in vivo microenvironmental conditions, lung physiology, functionality and cellular relationships, has been shown to be a reliable, convenient and cost-effective method for the evaluation of antiviral agent<sup>4</sup>. This model is a potential solution for translational models as it provides the opportunity to examine more than one region of the lung in studies aimed at evaluating diseases in preclinical infection treatments. It also eliminates disadvantages such as high costs in in vivo cultures and ethical concerns in animal experiments. Infection models prepared with ex vivo lung tissue sections are critical for identifying potential therapeutics that can suppress viral replication and accelerating their transition to the clinic in preventing or mitigating viral infections that cause recurrent epidemics and global pandemics<sup>6</sup>. Within the scope of the study, ex vivo organotypic lung tissue culture and in vitro Calu-3 human lung airway epithelial cell culture were compared and evaluated. In this context, characterization tests were performed to evaluate the therapeutic and antiviral activities of NM. Safety doses of NM, which reduces virus infectivity while preserving cell/tissue viability and total protein content, were determined as 10 µM for in vitro culture and 22 µM for the ex vivo PCLS model. It has been shown that cell death and proinflammatory responses due to virus infectivity are reduced. The inflammatory response to viral infection and NM treatment has been shown to support the ex vivo organotypic infection model established with H1N1-infected tissue sections. It is concluded that the effect of NM in reducing virus penetration is promising and that the use of ex vivo organotypic lung tissue culture as a preclinical model is very suitable for screening candidate therapeutics in viral infections.

Viral enfeksiyonlarda konakçı sistemleri hedef alan antiviral stratejiler hem terapötik hem de profilaktik potansiyeli sahiptir ve virus direnci gelişiminin azaltılmasına yardımcı olabilmektedir. Nafamostat Mesilat (NM), intravasküler pihtilaşma, şok ve pankreatit gibi akut inflamatuar hastalıkların tedavisinde kullanılan sentetik serin proteaz inhibitöridür. NM'nin çeşitli terapötik etkilerinin yanısıra, hava yolu inflamasyonunun gelişmesine neden olan serin proteazi inhibe etme yeteneği ile SARS-CoV-2 ve diğer mevsimsel grip enfeksiyonları üzerinde baskılıyıcı etkileri olduğunu gösterilmiştir. İlaç keşfi ve güvenlik çalışmalarında, *in vivo* mikroçevre koşullarını, akciğer fizyolojisini, işlevselliliğini ve hücresel ilişkileri koruyan organotipik akciğer doku kültür modelinin, antiviral ajanların değerlendirilmesinde güvenilir, kullanışlı ve uygun maliyetli bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Preklinik enfeksiyon tedavilerinde hastalıkların değerlendirilmesine yönelik

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

çalışmalarda bu model akciğerin birden fazla bölgesini inceleme fırsatı sağladığı için translasyonel modeller için potansiyel bir çözüm olmaktadır. Ayrıca *in vivo* kültürlerde yüksek maliyet ve hayvan deneylerinde etik kaygılar gibi dezavantajları da ortadan kaldırmaktadır. *ex vivo* akciğer doku kesitleri ile hazırlanan enfeksiyon modelleri, tekrarlayan salgınlara ve küresel pandemilere neden olan viral enfeksiyonların önlenmesinde veya hafifletilmesinde viral replikasyonu baskılayabilen potansiyel terapötiklerin belirlenmesinde ve kliniğe geçişini hızlandırmak için kritik öneme sahiptir<sup>6</sup>. Çalışma kapsamında *ex vivo* organotipik akciğer doku kültürü ve *in vitro* Calu-3 insan akciğer hava yolu epitel hücre kültürü karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bu bağlamda NM'nin terapötik ve antiviral aktivitelerini değerlendirmek için karakterizasyon testleri yapılmıştır. Hücre/doku canlılığını ve toplam protein içeriğini korurken virus enfektivitesini azaltan NM'nin güvenlik dozları *in vitro* kültür için 10 µM ve *ex vivo* PCLS modeli için 22 µM olarak belirlenmiştir. Virüs enfektivitesine bağlı hücre ölümü ve proinflamatuar yanıtların azaldığı gösterilmiştir. Viral enfeksiyona ve NM tedavisine karşı oluşan inflamatuar yanıtın, H1N1 ile enfekte doku kesitleriyle oluşturulan *ex vivo* organotipik enfeksiyon modelini desteklediği gösterilmiştir. NM'nin virus penetrasyonunu azaltmadaki etkisinin umit verici olduğu ve *ex vivo* organotipik akciğer doku kültürünün preklinik model olarak kullanılmasının viral enfeksiyonlarda aday terapötiklerin taranması için çok uygun olduğu sonucuna varılmıştır.



## ORAL PRESENTATION ABSTRACT [SÖZLÜ SUNUM ÖZETLERİ]

### OP1-1: SELF-CARE BEHAVIORS IN ADULT RATS IN THE LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED NEUROINFLAMMATION MODEL

#### [LİPOPOLİSAKKARİT KAYNAKLı NÖROİNFLAMASYON MODELİNDE YETİŞKİN SİÇANLarda ÖZ BAKIM DAVRANIŞLARI]

**Hasan CALISKAN<sup>1</sup>, Seda KOCAK<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Balıkesir University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, Balıkesir, Türkiye

<sup>2</sup>Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, Kırşehir, Türkiye

**Objective:** The behaviors performed by the living being to maintain its health and life are within the scope of self-care. The aim of this study was to investigate self-care behaviors in a lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation model.

**Materials-Methods:** Adult male 20 Wistar albino rats were divided into two groups ( $n=10$ ), (Control; LPS). Neuroinflammation was induced with 2 mg/kg LPS. Behavioral tests were performed 6 hours after LPS administration. Open field test was performed to evaluate locomotor activity and anxiety-like behaviors for 5 minutes. Anhedonia table was analyzed by sucrose preference test. Self-care behaviours were evaluated with 5 minutes spray test. Behaviors were recorded on video and analyzed. Student t-test and Shapiro Wilk test were used as statistical tests.

**Results:** In the neuroinflammation group, piloerection of the hairs was observed in the first 30 minutes and the prostration behavior was observed in the first 50 minutes. In the open field test, the time spent in the central area, rearing, and the total distance traveled decreased ( $p<0.001$ ). In the splash test, grooming duration and frequency were significantly decreased in the neuroinflammation group ( $p<0.001$ ). Grooming latency was prolonged ( $p<0.001$ ). In the 24-hour sucrose preference test, the total amount of sucrose water consumed decreased below 65% in the LPS group.

**Conclusions:** In the present study, grooming behavior, which is a self-care behavior, was negatively affected in subjects with the neuroinflammation model. Self-grooming-cleaning behavior triggered by splashing sugar water was severely decreased. In addition, locomotor activity decreased and anxiety-like behaviors increased. Anhedonia-like behaviours increased in the subjects. This preclinical study will pave the way for new studies.

**Keywords:** Neuroinflammation, self-care behavior, splash test

\*Project Name: The role of artemin in the pathophysiology of depression in a lipopolysaccharide-induced neuroinflammation model, Balıkesir University BAP, Project No: 2023/129

**Amaç:** Canlinin sağlığını ve yaşamını sürdürmek için gerçekleştirdiği davranışlar öz bakım kapsamındadır. Bu çalışmanın amacı lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulmuş nöroinflamasyon modelinde öz bakım davranışlarını incelemektir.

**Gereç-Yöntem:** Yetişkin erkek 20 adet Wistar albino sıçan iki gruba ayrıldı ( $n=10$ ), (Kontrol; LPS). 2 mg/kg LPS ile nöroinflamasyon oluşturuldu. LPS uygulamasından 6 saat sonra davranış testleri yapıldı. Anksiyete benzeri davranışlar ve lokomotor aktiviteyi değerlendirmek için 5 dakika açık alan testi yapıldı. Anhedoni tablosu şeker seçim testi ile analiz edildi. Öz bakım davranışları 5 dakika püskürme testi ile değerlendirildi. Davranışlar videoya kaydedildi ve analiz edildi. İstatistik testi olarak student t testi ve Shapiro Wilk testi kullanıldı.

**Bulgular:** Nöroinflamasyon grubunda ilk 30 dakika içinde tüylerde piloereksiyon, başını aşağıya doğru taşıma davranışları ise ise ilk 50 daikada görüldü. Açık alan testinde merkez bölgede geçen süre, iki ayağı üzerine kalkma davranışları ve toplam katedilen mesafe azaldı ( $p<0.001$ ). Püskürme testinde kaçınma süresi ve frekansı nöroinflamasyon grubunda anlamlı düzeyde azaldı ( $p<0.001$ ). İlk kaçınmaya kadar geçen süre ise uzadı ( $p<0.001$ ). 24 saatlik şeker seçim testinde toplam tüketilen şekerli su miktarı LPS grubunda %65 altına düştü.

**Sonuç:** Sunulan çalışmada nöroinflamasyon modeli oluşturulmuş deneklerde öz bakım davranışı olan kaçınma davranış olumsuz etkilenmiştir. Şekerli su püskürtülererek tetiklenen kendini timar etme-temizleme davranışı ciddi biçimde azalmıştır. Ayrıca lokomotor aktivite azalmış, anksiyete benzeri davranışlar artmıştır. Deneklerde anhedoni benzeri davranışlarda artmıştır. Sunulan klinik öncesi bu çalışma yeni çalışmaların öünü açacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Nöroinflamasyon, öz bakım davranışları, püskürme testi

\*Proje İsmi: Lipopolisakkarit ile oluşturulmuş nöroinflamasyon modelinde, arteminin depresyon patofiziolojisindeki rölu, Balıkesir Üniversitesi BAP, Proje No:2023/129

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models**OP1-2: EFFECTS OF GENETIC AND DIET-INDUCED OBESITY ON MAMMARY TUMORIGENESIS VIA LEPTIN IN MMTV-TGF-A MICE****[MMTV-TGF-A FARELERDE, GENETİK VE DİETLE İNDÜKLENEN OBEZİTENİN MEME TÜMÖROGENEZİNDE LEPTİN ÜZERİNDEN ETKİSİ]****Basak CELTIKCI****Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara, Türkiye**

**Objective:** Breast cancer is the most common cancer in women all over the world. Due to increasing obesity (correlated with poor prognosis), there is an urgent need to identify biological mediators that can link immune surveillance and breast cancer development. Our aim is to elucidate the mechanisms of pathogenesis associated with obesity that mediate the progression and metastasis of breast cancer.

**Materials-Methods:** MMTV-TGF- $\alpha$  mice overexpress human TGF- $\alpha$  and develop mammary tumors. As a genetic mouse model of obesity, the ob/ob mouse (Lep) has leptin deficiency and the db/db mouse (Lepr) has a leptin receptor defect. In my post-doc study, these two mouse models were crossed, and TGF- $\alpha$  Lep and Lepr mice (wild-type, heterozygous and obese) were followed until the age of 2 years. Breast tumor latency, incidence, and tumor burden as well as pathology of tumors and other organs were determined. MMTV-TGF- $\alpha$  mice were fed high (HF) and low fat (LF) diets. In all groups, serum leptin levels were measured by using ELISA and breast tumor leptin receptor (R) levels were measured by using Western Blot.

**Results:** While no mammary tumors were observed in Lep<sup>ob</sup>Lep<sup>ob</sup> (n=59) and Lepr<sup>db</sup>Lepr<sup>db</sup> (n=42) mice, mammary tumors were observed in 44 of 74 lean wild-type mice. Lean tumor-bearing mice tended to be heavier than those without tumors, even when body weight was corrected for tumor weight. After crossing, heterozygous mice were heavier and had a higher incidence of mammary tumors and shorter latency compared with wild-type mice, suggesting an effect of body weight. In HF-fed mice, mammary tumor latency was inversely proportional to body weight. In those with obesity resistant (OR), latency was shorter and their body fat was higher than in LFs with the same body weight. Mammary tumors were observed in MMTV-TGF- $\alpha$  mice, at least LF (36/72), then OR (59/82), obese (65/81), most prone to obesity (OP) (76/76), were correlated with serum leptin and R levels.

**Conclusion:** MMTV-TGF- $\alpha$  mice with diet-induced obesity developed mammary tumors, which is correlated with serum leptin and R levels. Tumor development is related to body fat, as OR mice with increased body fat have shorter tumor latency than LF mice.

**Keywords:** Obesity, breast cancer, mouse, leptin, leptin receptor

**Amaç:** Meme kanseri, tüm dünyada kadınlarda en sık görülen kanserdir. Artan obezite nedeniyle (kötü прогнозlu korele), immün gözetim ve meme kanseri gelişimi arasında bağlantı kurabilen biyolojik araçlar tanımlamaya acil bir ihtiyaç vardır. Amacımız, obezite ile ilişkili, meme kanserinin ilerlemesine ve metastazına aracılık eden patogenezdeki mekanizmları aydınlatmaktır.

**Gereç-Yöntem:** MMTV-TGF- $\alpha$  fareleri, insan TGF- $\alpha$ 'sini aşırı ekspres eder ve meme tümörleri geliştirir. Genetik obezite fare modeli olarak, ob/ob faresinde (Lep) leptin eksikliği vardır ve db/db faresinde (Lepr), leptin reseptör defektleri vardır. Post-doc çalışmamda, bu iki fare modeli çiftleştirilerek, TGF- $\alpha$  Lep ve Lepr fareleri (wild-type, heterozigot ve obez) 2 yaşına kadar takip edildi. Meme tümörünün latentlığı, insidansı ve tümör yükünün yanı sıra tümörlerin ve diğer organların patolojisi belirlendi. MMTV-TGF- $\alpha$  farelerinden yüksek (YY) ve düşük yağlı (DY) diyetle beslendi. Tüm grupta, ELISA ile serum leptin ve Western Blot ile meme tümörü leptin reseptör (R) düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Lep<sup>ob</sup>Lep<sup>ob</sup> (n=59) ve Lepr<sup>db</sup>Lepr<sup>db</sup> (n=42) farelerde hiç meme tümörü gözlenmedi, zayıf wild-type 74 farenin 44'ünde meme tümörü gözlandı. Tümör taşıyan zayıf fareler, vücut ağırlığı tümör ağırlığına göre düzelttilse bile, tümör olmayanlara göre daha ağır olma eğilimindeydi. Çiftleştirilme sonrası, heterozigot fareler daha ağırdı ve wild-type farelerle karşılaştırıldığında daha yüksek meme tümörü insidansına ve daha kısa latentliğe sahipti, bu da vücut ağırlığının bir etkisi olduğunu gösterdi. YY beslenen farelerde, meme tümörü latentlığı, vücut ağırlığıyla ters orantılıydı. Obezite resistent (OR) olanlarda, latentlik, aynı vücut ağırlığına sahip DY'lara göre daha kısaydı ve vücut yağları daha fazlaydı. En az DY (36/72), sonra OR (59/82), şişman (65/81), en çok obeziteye yatkın (OY)(76/76) MMTV-TGF- $\alpha$  farelerde, meme tümörü gözlandı, serum leptin ve R seviyeleri ile korele idi.

**Sonuç:** Diyetin neden olduğu obeziteye sahip MMTV-TGF- $\alpha$  farelerinde, serum leptin/R seviyeleri ile korele, meme tümörleri gelişti. Vücut yağı artan OR farelerin, DY'lere göre tümör latentliği daha kısa olduğundan, tümör gelişimi vücut yağıyla ilişkilidir.

**Anahtar Kelimeler:** Obezite, meme kanseri, fare, leptin, leptin reseptör

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models**OP1-3: INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF ORIGANUM HYPERICIFOLIUM EXTRACTS ON T-BHP-INDUCED OXIDATIVE DAMAGE IN FIBROBLAST CELL LINE****[ORIGANUM HYPERICIFOLIUM (DELİK MERCAN) EKSTRAKLARININ FİBROBLAST HÜCRE SERİSİNDE T-BHP İLE İNDÜKLENMİŞ OKSİDATİF HASAR ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI]**

Ceylan OZSOY HEPOKUR<sup>1</sup>, **Faruk Kaan CELİK**<sup>2</sup>, Sema MISİR<sup>1</sup>, Ozlem KUCUKHUSEYİN<sup>3</sup>, Mehmet Tolgahan HAKAN<sup>3</sup>, S. Umit ZEYBEK<sup>3</sup>, Durdane Serap KURUCA<sup>4</sup>, İlhan YAYLIM<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cumhuriyet University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Sivas, Türkiye

<sup>2</sup>Yıldız Technical University, Faculty of Arts and Sciences, Molecular Biology and Genetics, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Istanbul University, Institute of Aziz Sancar Experimental Medicine, Department of Molecular Medicine, İstanbul, Türkiye

<sup>4</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Physiology, İstanbul, Türkiye

**Objective:** In this study, the protective effect of the endemic species *Origanum hypericifolium* on t-BHP damaged fibroblast cells was investigated.

**Materials-Methods:** *Origanum hypericifolium* plant material was collected and extracted with ethanol. The extract was filtered and stored at -20°C. Total Polyphenolic Content (TPC) and Total Flavonoid Content (TFC) were determined spectrophotometrically using Folin-Ciocalteu and aluminum chloride colorimetric methods. Iron reducing power and DPPH radical scavenging activity were also measured. In cell culture, the number, viability and oxidative stress parameters of primary fibroblast cells were determined. Total antioxidant and oxidant status were determined with commercial kits, while MDA, SOD, CAT, GPx antioxidant enzymes and 8-oxoguanine levels were measured and analyzed to examine the oxidative damage caused by t-BHP. Apoptosis measurements were performed by flow cytometry using Annexin V and PI.

**Results:** At the end of the 4-hour recovery period the ethanol extract of *Origanum hypericifolium* decreased the amount of MDA and 8-oxo-guanine formed in fibroblast cells damaged by t-BHP (300µM). In addition, CAT, GPx, SOD enzyme activities were not significantly increased. According to Annexin V analysis results; it was observed that ethanol extract of *Origanum hypericifolium* significantly increased the amount of intact fibroblast cells and significantly decreased the amount of necrosed cells compared to 300 µM t-BHP group.

**Conclusion:** In conclusion, this study demonstrated for the first time the protective activity of ethanol extract of

*Origanum hypericifolium* against t-BHP-induced oxidative damage in fibroblast cells under in vitro conditions. The findings are the pioneer of various in vitro and in vivo studies

**Keywords:** *Origanum hypericifolium*, t-BHP, Antioxidant, Fibroblast cell line(L929)

**Acknowledgment:** We would like to thank the IU BAP Unit for the realization and completion of the project supported by the IU BAP Unit with the project number BYP-2016-20893.

**Amaç:** Bu çalışmada Endemik bir tür olan *Origanum hypericifolium* (Delik Mercan)'un t-BHP ile hasar verildikten sonra fibroblast hücrelerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** *Origanum hypericifolium* (Delik Mercan) bitkisi toplandı ve etanol ile 72 saat 150 rpm de 420°C'de ekstrakte edildi. İnkübasyonun sonunda ekstrakt süzüldü,filtrelenip -20°C'de saklandı. Toplam Polifenolik İçerik (TPC) ve Toplam Flavonoid İçeriği (TFC), spektrofotometrik yöntemlerle Folin-Ciocalteu ve alüminyum klorür kolorimetrik metodları kullanılarak belirlendi. Ayrıca, demir indirgeyici güç ve DPPH radikal süpürücü aktivite de ölçüldü. Hücre kültüründe, primer fibroblast hücrelerinin sayımı, canlılığı ve oksidatif stres parametreleri belirlendi. Total antioksidan ve oksidan statülerini ticari kitlerle tespit edilirken, MDA, SOD, CAT, GPx antioksidan enzimleri ile 8-oksoguanin seviyeleri ölçüldü. Ayrıca, t-BHP'nin neden olduğu oksidatif hasarın incelenmesi için MDA, antioksidan enzimler ve 8-oksoguanin düzeyleri incelendi. Apoptoz ölçümü ise flow sitometri ile Anneksin V/ PI kullanılarak yapıldı.

**Bulgular:** t-BHP (300µM) ile hasarlanmış fibroblast hücrelerinde 4 saatlik iyileşme süresi sonunda 100, 300, 500 µg/mL etanolü *Origanum hypericifolium* ekstraktının t-BHP grubuna göre oluşan MDA ve 8-oko-guanin miktarını azalttığı gözlandı. Ayrıca t-BHP grubuna göre oluşan CAT, GPx, SOD enzim aktivilerini anlamlı olarak artırdığı gözlenmemiştir. Anneksin V analiz sonuçlarına göre; etanolü *Origanum hypericifolium* ekstraktının, 300 µM t-BHP grubuna göre sağlam fibroblast hücre miktarını anlamlı olarak artttığı ve nekroza giden hücre miktarını anlamlı olarak azalttığı gözlandı.

**Sonuç:** Sonuç olarak bu çalışmada ilk defa etanolü *Origanum hypericifolium* ekstraktının in vitro şartlarda fibroblast hücrelerinde t-BHP ile induklenmiş oksidatif hasara karşı koruyucu etkinliği ortaya konuldu. Elde edilen bulgular çeşitli in vitro ve in vivo çalışmaların öncüsü niteligidendir.

**Anahtar Kelimeler:** *Origanum hypericifolium*, t-BHP, Antioksidan, Fibroblast hücre hattı (L929)

**Teşekkür:** İ.Ü BAP Birimi tarafından BYP-2016-20893 nolu proje ile desteklenen projenin gerçekleştirilerek sonuca ulaşılması adına İ.Ü BAP Birimine teşekkürlerinizi sunarız.



## **OP1-4: INVESTIGATION OF THE ROLE OF ZUOTIN-RELATED FACTOR-1 PROTEIN IN BREAST CANCER METASTASIS IN TERMS OF TUMOR MICROENVIRONMENT**

### **[ZUOTİN İLE İLİŞKİLİ FAKTÖR-1 PROTEİNİN MEME KANSERİ METASTAZINDAKİ ROLÜNÜN TÜMÖR MİKROÇEVRESİ AÇISINDAN İNCELENMESİ]**

**Aysegul KAYMAK OZDEMİR**

Ege University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Izmir, Türkiye

**Objectives:** ZRF1 (DNAJC2) is identified as a chromatin associated protein which plays a crucial role in the epigenetic regulation of gene transcription in stem cells and cancer. The aim of this study is to examine the role of ZRF1 in breast cancer metastasis particularly in the tumor microenvironment (TME).

**Materials-Methods:** RNA-sequencing was carried out on 3D spheroids which were obtained from control and ZRF1-depleted MCF-7 breast cancer cells. Biological processes for most differentially expressed genes were identified according to GO analysis. Correlation matrix and gene signature analysis were performed by TNM Plot program. mRNA levels of target genes were confirmed by qRT-PCR, and secreted protein levels were determined by ELISA. Association between our gene of interests (GOI) and immune infiltrates was examined by TIMER program. The effects of GOI on refractory free survival (RFS) were investigated by KM Plotter program.

**Results:** Genes that are upregulated upon ZRF1 knockdown are highly enriched in biological processes including innate immune response, inflammatory response, and cytokine production and release. Among them, S100A8 and S100A9 have the higher correlation score in breast tumors and are found to be related with neutrophil infiltration.

**Conclusion:** Tumour-associated neutrophils (TAN) in TME have recently gained a lot of attention with their role in the metastatic cascade. Our data indicate that expression of S100A8 and S100A9 are increased in the primary breast tumour in the absence of ZRF1. As a result, these proteins may act as chemoattractant for TANs and contribute to refractory breast cancer.

**Keywords:** breast cancer, tumor microenvironment, tumor associated neutrophils, ZRF1

The project numbered 221Z294 and titled "Investigation of the effects of ZRF1 on the interaction between S100 proteins and tumor-associated neutrophils and the influences of this interaction on breast cancer metastasis" is supported by TUBITAK 3501.

**Amaç:** ZRF1 (DNAJC2), kök hücrede ve kanserde gen transkripsiyonun epigenetik olarak düzenlenmesinde kritik

rol oynayan kromatin ile ilişkili bir proteindir. Bu çalışmanın amacı ZRF1'nın meme kanseri metastazındaki rolünün tümör mikroçevresi (TME) özelinde incelenmesidir.

**Gereç-Yöntem:** ZRF1'nın susturulmasını takiben MCF-7 meme kanseri hücrelerinden 3D sferoidler elde edilmiş ve bu sferoidlerde RNA sekanslama yapılmıştır. Kontrole kıyasla ekspresyonları en çok artan genlerin zenginleştirilmiş Gen Ontolojisi'ne (GO) göre dağılım gösterdikleri biyolojik süreçler tanımlanmış; TNM Plot programı ile korelasyon matriks ve gen imza analizleri yapılmıştır. Hedef genlerin mRNA seviyeleri qRT-PCR, sekrete protein seviyeleri ELISA ile tespit edilmiştir. Bahsi geçen genlerin farklı immün hücre alt tiplerinin meme tümörüne infiltrasyonları TIMER programı ile meme kanseri özelinde RFS'ye (Refractory Free Survival) olan etkisi KM Plotter programı ile incelenmiştir.

**Bulgular:** ZRF1'nın susturulmasını takiben ekspresyonları en çok artan genler doğal immün yanıt, inflamatuvar yanıt, sitokin üretimi ve salınımı gibi biyolojik süreçlerde zenginleşmiş olarak bulunmuştur. Ekspresyonu en çok artan 100 genin daha çok metastatik dokularda gözleendiği, meme tümöründe en yüksek korelasyon gösteren S100A8 ve S100A9 genlerinin aynı zamanda TME'ye infiltre nötrofil ile ilişkili olduğu bulunmuştur. S100A8 ve S100A9'un yüksek ekspresyon seviyelerinin refrakter meme kanseri için bir risk oluşturduğu tespit edilmiştir.

**Sonuç:** TME'de bulunan tümör ilişkili nötrofiller (TAN) metastatik kaskaddaki rolleri ile son yıllarda önem kazanmış hücreler olup, tümör hücrelerinin kendileri tarafından üretilen ve ekstraselüler ortama salınan kemokinlerin de yardımıyla TME'ye çağrılmaktadırlar. Elde ettigimiz ön veriler ZRF1'nın yokluğunda S100A8 ve S100A9'un primer meme tümöründe arttığını, bu proteinlerin bir yandan TAN'lar açısından kemoattractant rol üstlenebilirken diğer yandan refrakter kansere katkıda bulunuyor olabileceği işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** meme kanseri, tümör mikroçevresi, tümör ilişkili nötrofil, ZRF1

221Z294 no'lu ve "ZRF1'nın S100 Proteinleri ve Tümör-İlişkili Nötrofiller Arasındaki Etkileşime ve Bu Etkileşimin Meme Kanseri Metastazına Olan Etkilerinin Araştırılması" başlıklı proje TÜBİTAK 3501 tarafından desteklenmektedir.



## **OP1-5: DEVELOPMENT OF MULTIFUNCTIONAL NANOCARRIERS FOR DOXORUBICIN-RESISTANT MDA-MB-231 BREAST CANCER**

### **[DOKSORUBİSİNİ DİRENÇLİ MDA-MB-231 MEME KANSERİNE YÖNELİK ÇOK İŞLEVLİ NANO TAŞIYICILARIN GELİŞTİRİLMESİ]**

Zekiye Sultan ALTUN<sup>1</sup>, Selen KUM OZSENGEZER<sup>1</sup>, Ekrem OZDEMİR<sup>2</sup>, Sevgi KILIC OZDEMİR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Izmir Institute of Technology, Department of Chemical Engineering, Izmir, Türkiye

**Introduction:** The most commonly used chemotherapy agent in the treatment of triple negative (estrogen, progesterone and HER2) metastatic breast cancer is Doxorubicin (DOX) from the anthracycline family. Fucoidan (FUC), produced from brown algae, has anti-tumor effects. In this study, it was aimed to develop multifunctional nanocarriers containing fucoidan for the treatment of metastatic breast cancer and to demonstrate their effectiveness in vitro.

**Materials-Methods:** MDA-MB-231 breast cancer cells were grown in DMEM with 10% FBS in an incubator at 37°C. DOX-containing liposomes were produced and coated with FUC. Cells were treated with DOX and FUC and their liposomal forms for 24, 48, and 72 h. Cell viability was measured using the MTT assay. IC50 was calculated and cells were treated with DOX to induce resistance for 6-8 months. Resistance formation was evaluated by RT-PCR by expression changes of P-gp and MRP-1 resistance genes. R software was used in statistical analysis.

**Results:** MDA-MB-231 cells developed resistance to DOX at increasing concentrations based on the IC50 dose. As a result of cell viability experiments, 25uM resistance dose was determined and the development of resistance in cells was demonstrated through the change in P-gp and MRP1 expressions.

**Conclusion:** In order to conduct Doxorubicin resistance studies for triple negative breast cancer, a multifunctional nanocarrier was developed and its in-vitro effectiveness was demonstrated.

This study is financially supported by TUBITAK 1001 (Grant No: 121M625).

**Keywords:** Breast cancer, Doxorubicine, drug resistance

**Giriş:** Üçlü negatif (Östrojen, progesteron ve HER2) metastatik meme kanseri tedavisinde en çok uygulanan kemoterapi ajansı antrasiklin ailesinden Doktorubisin (DOX)'dır. Kahverengi alglerden üretilen Fukoidan (FUC)'nın anti-tümör etkileri vardır. Bu çalışmada metastatik meme kanseri tedavisine yönelik fukoidan içeren çok işlevli nano taşıyıcıların geliştirilmesi ve etkinliğinin in-vitro olarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

**Metod:** MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri 10% FBSli DMEM içinde 37°C de inkübatorde üretilmiştir. DOX içeren lipozomlar üretilip, FUC ile kaplanmıştır. Hücreler 24, 48 ve 72 saat boyunca DOX ve FUC ve bunların lipozomal formları ile tedavi edilmiştir. Hücre canlılığı, MTT testi kullanılarak ölçüldü. IC50 hesaplanıp, hücreler 6-8 ay boyunca direnç oluşturmak üzere DOX ile muamele edildi. Direnç oluşumu, P-gp ve MRP-1 direnç genlerinin ekspresyon değişimleriyle RT-PCR da değerlendirildi. İstatistiksel analizinde R yazılımı kullanıldı.

**Bulgular:** MDA-MB-231 hücrelerinde IC50 dozu temel alınarak artan konsantrasyonlarda DOX'a karşı direnç gelişimi sağlandı. Hücre canlılık deneyleri sonucunda 25uM direnç dozu olarak belirlendi ve hücrelerde direnç gelişimi P-gp ve MRP1 ekspresyonlarındaki değişim aracılığıyla gösterildi.

**Sonuç:** Üçlü negatif meme kanserine yönelik Doktorubisin direnç çalışmalarının yapılabilmesi amacıyla çok işlevli nanotaşıyıcı geliştirilerek in-vitro etkinliği gösterilmiştir.

Bu çalışma TÜBİTAK 1001 (Grant No:121M625) tarafından finansal olarak desteklenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Meme kanseri, Doktorubisin, ilaç direnci

## **OP1-6: INVESTIGATION OF INTERLUKIN (IL)-6 AND THROMBOPOIETIN PRODUCTION IN THE INFLAMMATION AREA IN THE LAMBDA-CARRAGENAN-INDUCED PLANTAR INFLAMMATION MODEL IN RAT**

### **[RATLARDA LAMBDA-KARRAGENAN İLE İNDÜKLENMİŞ PLANTAR İNFLAMASYON MODELİNDE İNFLAMATUVAR ALANDA INTERLÖKİN (IL)-6 İLE TROMBOPOİETİN ÜRETİMİNİN İNCELENMESİ]**

Veysel TAHIROGLU<sup>1</sup>, Fatih KARA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sırnak University, Faculty of Health Sciences, Nursing, Sırnak, Türkiye

<sup>2</sup>Kafkas University, Faculty of Medicine, Medical Biochemistry, Kars, Türkiye

**Objectives:** This study aimed to investigate whether there is interleukin-6 (IL-6) and thrombopoietin (TPO) production in the inflammatory field in the lambda-carrageenan-induced plantar inflammation model in rats.

**Materials-Methods:** This study was ethically approved by Kafkas University Animal Experiments Local Ethics Committee (2019/10-144). A total of 10 rats were used in the study, 5 rats in each group. Physiological saline was applied subcutaneously to the right hind paw of the rats in the control group and lambda-carrageenan in the inflammation group. Six hours after the application, blood samples were taken from the femoral arteries and femoral veins and IL-6

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

and TPO levels were analyzed by ELISA method. Additionally, plantar tissue samples from the control and inflammation groups were obtained and evaluated histopathologically.

**Results:** No significant difference was observed in IL-6 ( $5.85 \pm 6.74$ ,  $7.87 \pm 16.57$ ) and TPO ( $2827 \pm 1167$ ,  $2003 \pm 745$ ) levels between the control and inflammation groups. In histopathological examination, while no pathological conditions were observed in the control group, there were changes compatible with acute inflammation in the inflammation group.

**Conclusions:** In the inflammation model created with lambda-carrageenan, we could not detect IL-6 or TPO production sufficient to create a statistically significant difference in the inflammatory area. More advanced and comprehensive experimental studies with different chemical agents or microorganisms and longer-term inflammatory models, or large-scale clinical studies in which the inflammatory process is followed step by step, may be useful in clarifying this issue. This study was carried out as a doctoral thesis and supported by the Scientific Research Projects Coordinatorship of Kafkas University with project number 2020-TS-02.

**Keywords:** Rat, Lambda-karragenan, IL-6, TPO

**Amaç:** Bu çalışmada ratlarda lambda-karragenan ile indüklenmiş plantar inflamasyon modelinde, inflamasyonun inflamatuvar sahada interlokin-6 (IL-6) ve trombopoietin (TPO) üretiminin olup olmadığıının araştırılması amaçlanmıştır

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından etik açıdan onaylanmıştır (2019/10-144). Çalışmada her grupta 5 rat olacak şekilde toplam 10 rat kullanıldı. Ratların sağ arka pençesine deri altı yolla kontrol grubunda serum fizyolojik, inflamasyon grubunda ise lambda-karragenan uygulandı. Uygulamadan altı saat sonra, femoral arterlerden ve femoral venlerden kan örnekleri alındı ve ELISA yöntemiyle IL-6 ve TPO seviyeleri analiz edildi. Ayrıca, kontrol ve inflamasyon grubuna ait plantar doku örnekleri elde edilerek histopatolojik açıdan değerlendirildi.

**Bulgular:** Kontrol ve inflamasyon grubu arasında IL-6 ( $5.85 \pm 6.74$ ,  $7.87 \pm 16.57$ ) ve TPO ( $2827 \pm 1167$ ,  $2003 \pm 745$ ) seviyeleri açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi. Histopatolojik incelemede, kontrol grubunda herhangi bir patolojik durum görülmekken inflamasyon grubunda akut inflamasyonla uyumlu değişiklikler vardı.

**Sonuç:** lambda-karragenan ile oluşturulan inflamasyon modelinde, inflamatuvar alanda istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık oluşturacak kadar bir IL-6 veya TPO üretimi tespit edemedik. Farklı kimyasal ajanlarla veya mikroorganizmalarla oluşturulacak ve daha uzun süreli inflamatuvar modellerle gerçekleştirilecek daha ileri ve kapsamlı deneySEL çalışmalar ya da inflamatuvar sürecin

aşama aşama takip edildiği geniş ölçekli klinik araştırmalar bu meselenin aydınlığa kavuşturulması açısından faydalı olabilir. Bu çalışma doktora tezi olarak gerçekleştirilmiş olup Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2020-TS-02 proje numarası ile desteklenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Sıçan, Lambda-karragenan, IL-6, TPO

#### OP1-7: INVESTIGATION OF CELL PROLIFERATION, MIGRATION, APOPTOSIS AND AUTOPHAGY PROCESSES IN LUNG CANCER CELL LINES AFTER SILENCE OF THE INDOLAMIN 2,3 DIOXYGENASE-1 GENE

#### [İNDOLAMİN 2,3 DİOKSİJENAZ-1 GENİNİN SUSTURULMASI SONRASI AKCİĞER KANSERİ HÜCRE HATLARINDA HÜCRE PROLİFERASYONU, MİGRASYONU, APOPTOZ VE OTOFAJİ SÜREÇLERİNİN İNCELENMESİ]

**Venhar CINAR**<sup>1</sup>, Dilara SONMEZ ZOR<sup>2</sup>, Mehmet Tolgahan HAKAN<sup>2</sup>, Islım KALELER<sup>2</sup>, Gultekin ISAYEVA<sup>2</sup>, Serda DEMIRKOL<sup>2</sup>, Ceylan OZSOY HEPOKUR<sup>3</sup>, Ozlem KUÇUKHUSEYİN<sup>2</sup>, Cem HOROZOGLU<sup>4</sup>, Akif TURNA<sup>5</sup>, S. Umit ZEYBEK<sup>2</sup>, Durdane Serap KURUCA<sup>6</sup>, Zuhal HAMURCU<sup>1</sup>, Bulent OZPOLAT<sup>7</sup>, İlhan YAYLIM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>GENKÖK, Erciyes University, Faculty of Medicine, Medical Biology, Kayseri, Türkiye

<sup>2</sup>Experimental Medicine Research Institute, Faculty of Medicine, Molecular Medicine, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Cumhuriyet University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Sivas, Türkiye

<sup>4</sup>Halic University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, İstanbul, Türkiye

<sup>5</sup>Istanbul University, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Thoracic Surgery, İstanbul, Turkey

<sup>6</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Physiology, İstanbul, Türkiye

<sup>7</sup>Houston Methodist Research Institute and Neil Cancer Center, Department of Nanomedicine, Department of Nanomedicine, TEXAS, United States

**Objectives:** It was aimed to investigate the effect of the indoleamine2,3,dioxygenase-1 enzyme (IDO-1) pathway, which is the enzyme involved in tryptophan metabolism during the progression of small cell lung cancers (SCLC), on the carcinogenic properties of SCLC.

**Materials-Methods:** HCC-827 cells were used in our study. These cells were transfected with two different IDO-1 siRNAs specific to the IDO-1 gene, and the expression of the IDO-1 gene in the cells was silenced. IDO-1 expression level was measured by western blot analysis. Then, the proliferation/viability rate, MTS, clonogenic clone formation, migration, wound healing, apoptosis and autophagy rates

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

were analyzed by annexin-V and acridine orange methods.

**Results:** A significant decrease in IDO-1 protein expression level was found by western blot analysis in HCC-827 cells. It was found that viability/proliferation, clone formation and cell migration were significantly suppressed in cells transfected with two different IDO-1 siRNAs compared to cells transfected with control siRNA ( $p<0.001$ ). Additionally, an increase in the number of autophagic vesicles and the rate of apoptosis was found in cells transfected with two different IDO-1 siRNAs, compared to cells transfected with control siRNA ( $p<0.001$ ).

**Conclusion:** Our findings showed that IDO-1 gene was silenced by IDO-1 siRNA and this lead to an increase in autophagy and apoptosis/necroptosis and a significant decrease in proliferation, colony formation and migration properties. To sum up, IDO-1 siRNA is a new molecule that can be used as a therapeutic agent in the treatment strategy of lung cancer patients.

**Keywords:** Lung Cancer, IDO, siRNA, autophagy, migration

\*This study was supported by Istanbul University Research Fund Project Number: TUA-2020-34163 "Investigation of Intermolecular Relationships Involved in Tryptophan Metabolism and Related Signaling Pathways in Non-Small Cell Lung Cancers". International Research Collaboration Project

**Amaç:** Küçük hücreli akciğer kanserlerinin (KHAKH) progresyon sürecinde triptofan metabolizmasında görevli enzim olan indolamin2,3,dioksijenaz-1 enzim (IDO-1) yolağının KHAKH'de kanserojenik (proliferasyon, klon oluşumu, apoptoz ve migrasyon) özellikleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmamızda KHAK hücre hattı olan HCC-827 hücreleri kullanıldı. Bu hücreler IDO-1 genine spesifik iki farklı IDO-1 siRNA ile transfekte edilerek, hücrelerde IDO-1 genin ekspresyonu susturuldu. Sonra bu hücrelerin IDO-1 siRNA transfekte olduğunu doğrulamak için western blot analizi ile IDO-1 ekspresyon seviyesi ölçüldü. Daha sonra iki farklı IDO-1 siRNA transfekte edilen HCC-827 hücrelerinin proliferasyon/canlılık oranı MTS, klon oluşumu klonojenik, migrasyon yara iyileşme, apoptoz ve otofajı oranı sırasıyla annexin-v ve acridine orange yöntemleri ile analiz edildi.

**Bulgular:** IDO-1 siRNA ile transfekte edilen HCC-827 hücrelerinde western blot analizi ile IDO-1 protein ekspresyon seviyesinde anlamlı bir azalma olduğu bulundu. Kontrol siRNA ile transfekte edilen hücrelere göre iki farklı IDO-1 siRNA ile transfekte edilen hücrelerde canlılığının/proliferasyonun, klon oluşumunun, hücre göçünün önemli oranda baskılantı bulundu ( $p<0.001$ ). Ayrıca, kontrol siRNA ile transfekte edilen hücrelere göre, iki farklı IDO-1 siRNA ile transfekte edilen hücrelerde otofajik vezikül sayısında ve apoptoz oranında artış bulundu ( $p<0.001$ ).

**Sonuç:** Bulgularımız, IDO-1 siRNA transfekte edilerek IDO-1 geni susturulan hücrelerde otofaj ve apoptoz/nekroptozis artışı ile proliferasyon, koloni oluşumu ve hücrelerin göç etme özelliklerinde önemli oranda azalmanın bulunması; IDO-1 yolağının KHAK'lerinin progresyonunda önemli rolü olabileceğini açığa çıkarttı. Bu durum akciğer kanser hastalarının tedavi stratejisinde terapötik olarak hedeflenebilecek yeni molekül olduğu ve IDO-1 siRNA'nın terapötik ajan olarak kullanılabilceğini ortaya koydu.

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer Kanseri, IDO, siRNA, otofaj, migrasyon

\*Çalışmamız, İ.Ü BAP Birimi tarafından TUA-2020-34163 nolu proje ile desteklenmiştir "Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserlerinde Triptofan Metabolizması ve İlgili Sinyal Yolaklarında Görevli Moleküller Arası İlişkinin İncelenmesi". Uluslararası Araştırma İşbirliği Projesi

#### OP1-8: IN VIVO CANCER MODELING IN EXPERIMENTAL ANIMALS: DOKUZ EYLÜL UNIVERSITY INSTITUTE OF ONCOLOGY, BASIC ONCOLOGY EXPERIENCE

#### [DENEY HAYVANINDA IN VIVO KANSER MODELLEME: DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ TEMEL ONKOLOJİ DENEYİMİ]

Ozde GOKBAYRAK<sup>1</sup>, Tekincan AKTAS<sup>1</sup>, Aylin EROL<sup>1</sup>, Efe SERINAN<sup>1</sup>, Zekiye Sultan ALTUN<sup>1</sup>, Safiye AKTAS<sup>1</sup>, Efsun KOLATAN<sup>2</sup>, Osman YILMAZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Turkey

<sup>2</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Health Sciences, Department of Laboratory Animals, Izmir, Turkey

**Objectives:** Animal modeling in cancer is important in understanding the in vivo biology of the tumor and developing treatments. In this study, the tumor formation characteristics of the cancer models created in our different studies between 2013 and 2023 were evaluated retrospectively.

**Materials-Methods:** Tumor formation characteristics of tumors created with 9 cell lines used in 16 studies were evaluated from our records. Pancreatic (AsPc-1), neuroblastoma (Kelly, C1300), lung (LLC), breast (4T1), ovary (SKOV-3) and osteosarcoma (K7M2) cells were cultured and propagated. It was given subcutaneously in  $1\times10^6$  numbers, 200  $\mu\text{L}$  volume. For renal cell carcinoma, RenCa cells were administered subcutaneously to nude mice and C57/BL6 black mice at  $1\times10^6$  numbers and 300  $\mu\text{L}$  volume, mixed with 100  $\mu\text{L}$  matrigel. In the glioblastoma (U251, U87) model, 100  $\mu\text{L}$  of  $10^6$  and  $2\times10^7$  cells with and without matrigel were mixed and given subcutaneously to nude mice in a volume of 200  $\mu\text{L}$ . In peritoneal carcinomatosis (CC531),  $5\times10^6$  cells were administered intraperitoneally in 200  $\mu\text{L}$  to nude mice. Follow-up was done for 28 days.

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

**Results:** Kelly cells formed the fastest tumor in Nude mice on the 7th day. In C1300 and 4T1, 9-10. Tumors were observed on day 14 in K7M2, but no tumor was observed in Balb/c mice given K7M2. LLC formed a tumor in the nude mouse on the 10th day, AsPc-1 on the 19th day, and RenCa on the 45th day. In C57/BL6, a tumor was formed on the 20th day after the third injection into the cells with 100 µL matrigel at an average of 107 numbers. Tumor was observed in CC531 on the 10th day. It did not form tumors in U87 nude mice. U251 formed a tumor on the 9th day in the presence of  $2 \times 10^7$  matrigel and on the 11th day without matrigel.

**Conclusion:** In our laboratory conditions, xenograft modeling varies in each cell line. In order for the tumor to develop, the number of injections and the amount of cells must be optimized in terms of tumor formation time.

**Keywords:** Experimental Animals, Tumor Models, Atimic Nude Mice, Xenograft Model

**Amaç:** Kanserde hayvan modellemeleri, tümörün *in vivo* biyolojisini anlamada ve tedavi geliştirmede önemlidir. Bu çalışmada 2013-2023 yılları arasındaki farklı çalışmalarımızda oluşturulan kanser modellerinin tümör oluşma özellikleri retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

**Gereç ve Yöntem:** 16 çalışmada kullanılan 9 hücre hattı ile oluşturulan tümörlerin tümör oluşum özellikleri kayıtlarımızdan değerlendirilmiştir. Pankreas (AsPc-1), nöroblastom (Kelly, C1300), akciğer (LLC), meme (4T1), over (SKOV-3) ve osteosarkom (K7M2) hücreleri kültüre edilip çoğaltıldı.  $1 \times 10^6$  sayıda, 200 µL volümde ve subkutan olarak verildi. Böbrek hücreli karsinom için RenCa hücreleri nude fare ve C57/BL6 siyah fareye subkutan olarak 100 µL matrigel ile karıştırılarak  $1 \times 10^6$  sayıda ve 300 µL volümde verildi. Glioblastom (U251, U87) modelinde 100 µL matrigel ile ve matrijelsiz  $10^6$  ve  $2 \times 10^7$  sayıda ve 200 µL volümde hücre karıştırılarak nude fareye subkutan verildi. Peritoneal karsinomatoz (CC531) ‘da nude farelere  $5 \times 10^6$  sayıda hücre 200 µL olacak şekilde intraperitoneal olarak verildi. 28 gün takip yapıldı.

**Bulgular:** Nude farelerde en hızlı tümörü 7.günde Kelly hücresi oluşturdu. C1300 ve 4T1’de, 9-10. günde, K7M2’de ise 14.günde tümör gözlandı ancak, K7M2 verilen Balb/c farelerde tümör gözlenmedi. LLC 10.gün, AsPc-1 19.günde, RenCa ise 45 günde nude farede tümör oluşturdu. C57/BL6’da 100 µL matrigel ile hücrelere 10-7 sayıda ortalama üçüncü enjeksiyonдан sonra 20. günde tümör oluşturdu. CC531’de 10.günde tümör gözlandı. U87 nude farede tümör oluşturmadı. U251,  $2 \times 10^7$  sayıda matrigel varlığında 9.günde, matrigel olmadan 11.günde tümör oluşturdu.

**Sonuç:** Laboratuvar koşullarımızda ksenograft modellemeleri her hücre hattında değişiklik göstermektedir. Tümörün gelişmesi için enjeksiyon sayısı ve hücre miktarı, tümör oluşum süresi açısından optimize edilmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Deney Hayvanları, Tümör Modelleri, Atimik Nude Fare, Ksenograft Model

### OP1-9: THERANOSTIC DRUG CARRIER SYSTEM: DESIGN OF RADIOLABELED DOCETAXEL LOADED MAGNETIC LIPID NANOPARTICLES AND IN VIVO TUMOR IMAGING

[TERANOSTİK İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM: RADYOİŞARETLİ DOSETAKSEL YÜKLÜ MANYETİK LİPİD NANOPARÇACIKLARIN TASARIMI VE İN VIVO TÜMÖR GÖRÜNTÜLEME]

**Burcu GUNGOR**<sup>1</sup>, Serap TEKSOZ<sup>1</sup>, Bedriye Elvan SAYIT BILGIN<sup>2</sup>, Funda USTUN<sup>3</sup>, Cigdem ICHEDEF<sup>1</sup>, Yasemin PARLAK<sup>2</sup>, Yucel BASPINAR<sup>4</sup>, Oğuz CETIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege University, Faculty of Science, Nuclear Applications, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Celal Bayar University, Faculty of Medicine, Nuclear Medicine, Manisa, Türkiye

<sup>3</sup>Trakya University, Faculty of Medicine, Nuclear Medicine, Edirne, Türkiye

<sup>4</sup>Ege University, Pharmacy, Pharmaceutical Biotechnology, Izmir, Türkiye

Theranostics approaches have an important place, advanced treatment and diagnostic techniques, in the development and personalized medicine. Nanoparticle systems perform the cancer theranostics by carrying a wide variety of chemotherapeutic and diagnostic agents to tumor cells.

For this purpose, firstly, SLMNP was synthesized by hot homogenization method and the surface of the particles was modified with a folate derivative to transport them to tissues with folate receptors. After the structural characteristics of these nanoparticles confirmed DTX was loaded to SLMNP, and then the prepared system was radiolabeled with technetium-99m.

Folate receptor positive SKOV-3 and folate receptor negative A549 cancer cell lines were studied to investigate the cellular level activities of  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled DTX-loaded folate receptor-targeted solid lipid magnetic nanoparticles ( $^{99m}\text{Tc}$ -DTX-SLMNP). The IC<sub>50</sub> values of DTX-SLMNP in SKOV-3 and A549 cells at 24 hours were  $126.2 \mu\text{M}$  and  $232.23 \mu\text{M}$ , respectively, and  $50.21 \mu\text{M}$  and  $172.27 \mu\text{M}$  at 48 hours, respectively.

$^{99m}\text{Tc}$ -DTX-SLMNP and  $^{99m}\text{Tc}$ -MA-DTX-SLMNP had the highest binding efficiency in both cell lines at the 240th minute, but the binding efficiency in the cell was higher when external magnetic field was applied.

The biological behaviors of  $^{99m}\text{Tc}$ -DTX-SLMNP and magnetically applied  $^{99m}\text{Tc}$ -DTX-SLMNP compounds were determined *in vivo* from gamma camera imaging studies on SKOV3 and A549 cells and tumor-formed CD-1 Nude mice.

It was understood that the uptake in the tumor region formed by SKOV-3 cell lines was higher than the uptake in the tumor region formed by A549 cell lines.

**Keywords:** theranostic, radiolabelled nanoparticles, molecular imaging, taxan

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

İleri tedavi ve teşhis tekniklerinde teranostik yaklaşımalar kanser tedavisinin geliştirilmesinde ve kişiselleştirilmesinde önemli bir yere sahiptir. Nanoparçacık sistemler geniş bir çeşitliliği olan kemoterapötik ve teşhis ajanlarını tümör hücrelerine taşıyacak şekilde tasarlanarak kanser teranostığını sağlamış olurlar. En önemli antikanser ilaçlarından birisi olan taksanların hidrofobik özelliği göz önüne alındığında lipid bazlı nanoparçacıkların alternatif taşıyıcı sistemi olarak uygun özelliklere sahiptirler.

Bu çalışmada taksan sınıfı bir antikanser ilaç olan dosetaksiel(DTX) radyo işaretli manyetik katı lipid nanoparçacıklara(SLMNP) hapsedilerek manyetik alan etkisi ile tümörlü bölgeye ulaşmasını sağlayacak prototip bir ürün tasarlanmıştır.

Bu amaçla ilk olarak SLMNP sıcak homojenizasyon yöntemi ile sentezlenerek parçacıkların yüzeyi folat reseptörlü dokulara taşınması için bir folat türevi ile modifiye edilmiştir. Bu nanoparçacıkların yapısal karakteristik özellikleri belirlenmiştir. Sonrasında sentezlenen nanoparçacıklara DTX yüklenerek, teknesyum-99m ile radyo işaretlenmiştir.

<sup>99m</sup>Tc ile işaretli DTX yüklü folat reseptörü hedefli katı lipid manyetik nanoparçacıkların (<sup>99m</sup>Tc- DTX-SLMNP) hücre düzeyinde etkinliklerinin incelenmesi için folat reseptörü pozitif SKOV-3, ile folat reseptörü negatif A549 kanserli hücre hatları ile çalışılmıştır. DTX-SLMNP'nin 24. saatte SKOV-3 ve A549 hücrelerinde IC50 değeri sırasıyla 126,2  $\mu\text{M}$  ve 232,23  $\mu\text{M}$  48. saatte ise sırasıyla 50,21  $\mu\text{M}$  ve 172,27  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur.

<sup>99m</sup>Tc-DTX-SLMNP ve <sup>99m</sup>Tc-MA-DTX-SLMNP en yüksek bağlanma verimi her iki hücre hattında 240. Dakikada gerçekleştiği ancak harici manyetik alan uygulandığında hücredeki bağlanma veriminin daha yüksek olmaktadır.

<sup>99m</sup>Tc-DTX-SLMNP ve manyetik alan uygulanmış <sup>99m</sup>Tc-DTX-SLMNP bileşiklerinin SKOV3 ve A549 hücreleri ile tümör oluşturulan CD-1 Nude fareler üzerinde yapılan gama kamera ile görüntüleme çalışmalarından biyolojik davranışları *in vivo* olarak belirlenmiştir.

SKOV-3 hücreleriyle oluşturulan tümörlü bölgelerdeki tutulumun A549 hücreleriyle oluşturulan tümörlü bölgelerdeki tutulumdan yüksek olduğu anlaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** radyo işaretli nanoparçacıklar, teranostik, moleküler görüntüleme, taksan

## OP2-1: RADIOLABELING OF CAVE-DERIVED CIPROFLOXACIN AND INVESTIGATION OF ITS ANTIMICROBIAL ACTIVITY

### [MAĞARA KÖKENLİ CIPROFLOXACIN'İN ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN NÜKLEER YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ]

**Kadriye Busra KARATAY<sup>1</sup>, Nihal DOGRUOZ GUNGOR<sup>2</sup>, Batu COLAK<sup>2</sup>, Fazilet Zumrut BIBER MUFTULER<sup>3</sup>, Omer ARAS<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Ege University, Institute of Natural and Applied Sciences, Nuclear Sciences, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Istanbul University, Faculty of Science, Department of Biology, Istanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Ege University, Institute of Natural and Applied Sciences, Nuclear Sciences, Izmir, Türkiye

<sup>4</sup>Memorial Sloan Kettering Cancer Center, -, Radiology, New York, United States

**Objectives:** As a result of the widespread use of wrong and unnecessary antibiotics in the world and in our country, there is a rapid increase in antibiotic resistance and innovative approaches are needed. One of these innovative approaches is "isolation of organic antibiotics from cave bacteria and investigation of their antimicrobial activities by nuclear methods".

**Materials-Methods:** Bacterial samples were collected from the "Yarık Sinkhole" cave in Anamur-Mersin and organic Ciprofloxacin (o-CIP) produced from cave bacteria was isolated. CIP is an antibiotic used in the treatment of infection. In this study, o-CIP was purified by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and the results were compared with its synthetic derivative (s-CIP). The antimicrobial activity of isolated o-CIP was determined on pathogenic microorganisms. Radiolabeled derivatives of o-CIP and s-CIP compounds were prepared with Technetium-99m (<sup>99m</sup>Tc), which is widely used in Nuclear Medicine (<sup>99m</sup>Tc-o-CIP and <sup>99m</sup>Tc-s-CIP) and their antimicrobial activities were determined on pathogenic microorganisms.

**Results:** Antimicrobial activities of o-CIP and s-CIP were determined. The binding percentages of <sup>99m</sup>Tc-o-CIP, <sup>99m</sup>Tc-s-CIP and <sup>99m</sup>Tc on pathogenic microorganisms were calculated. At 240 minutes, the binding efficiency of <sup>99m</sup>Tc-o-CIP was approximately 4 times higher than <sup>99m</sup>Tc-s-CIP's on *Pseudomonas aeruginosa* ( $7.08 \pm 0.81$ ;  $1.89 \pm 0.49$ ) and vancomycin-resistant enterococci, ( $7.78 \pm 0.81$ ;  $1.84 \pm 0.53\%$ ) and approximately 2 times higher on *Escherichia coli* ( $8.12 \pm 1.01$ ;  $3.68 \pm 0.54\%$ ).

**Conclusions:** Caves have been shown to be habitats rich in microorganisms that produce as yet unknown substances that could potentially be used in the treatment of various infection diseases.

**Keywords:** Cave bacteria, Ciprofloxacin (CIP), Technetium-99m (<sup>99m</sup>Tc), Infectious diseases.



**Amaç:** Dünyada ve ülkemizde yanlış ve gereksiz antibiyotik kullanımının yaygınlaşması sonucunda antibiyotik direncinde hızlı bir artış görülmekte olup, yenilikçi yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yenilikçi yaklaşımlardan biri de "mağara bakterilerinden organik antibiyotiklerin izolasyonu, antimikrobiyal aktivitelerinin nükleer yöntemlerle araştırılmasıdır".

**Gereç- Yontem:** Anamur-Mersin'de bulunan "Yarık Düzeni" mağarasından bakteri örnekleri toplanmış ve mağara bakterilerinden üretilen organik Ciprofloxacin (o-CIP) izole edilmiştir. CIP enfeksiyonun tedavisinde kullanılan bir antibiyotiktir. Bu çalışmada, o-CIP Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi ile saflaştırılmış, sonuçlar sentetik türevi (s-CIP) ile kıyaslanmıştır. İzole edilen o-CIP'in antimikrobiyal aktivitesi patojenik mikroorganizmalar üzerinde belirlenmiştir. o-CIP ve s-CIP bileşiklerinin radyoişareti türevleri ise Nükleer tipta yaygın olarak kullanılan Teknesyum-99m (<sup>99m</sup>Tc) ile hazırlanmış olup (<sup>99m</sup>Tc-o-CIP ve <sup>99m</sup>Tc-s-CIP), patojen bakteriler üzerindeki bağlanma oranı tespit edilerek antimikrobiyal etkinlikleri belirlenmiştir.

**Bulgular:** Antimikrobiyal aktivite çalışmaları sonucunda o-CIP ve s-CIP'in antimikrobiyal etkinlikleri tespit edilmiştir. <sup>99m</sup>Tc-o-CIP, <sup>99m</sup>Tc-s-CIP ve <sup>99m</sup>Tc'nin patojen mikroorganizmalar üzerindeki tutulum yüzdeleri hesaplanmıştır. 240. dakikada <sup>99m</sup>Tc-o-CIP'in bağlanma etkinliği <sup>99m</sup>Tc-s-CIP ile karşılaştırıldığında *Pseudomonas aeruginosa* (P. aeruginosa) ve vancomycin-resistant enterococci (VRE) üzerinde yaklaşık 4 kat (P. aeruginosa: 7,08 ± 0,81; 1,89 ± 0,49), (VRE: 7,78 ± 0,81; %1,84 ± 0,53) ve *Escherichia coli* (E.coli) üzerinde ise yaklaşık 2 kat (8,12 ± 1,01; %3,68 ± 0,54) daha yüksektir.

**Sonuç:** Mağaraların, çeşitli enfeksiyonların türlerinin tedavisinde potansiyel olarak kullanılabilcek henüz bilinmeyen maddeler üreten mikroorganizmalar açısından zengin habitatlar olduğu gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Mağara bakterileri, Ciprofloxacin (CIP), Teknesyum-99m (<sup>99m</sup>Tc), Enfeksiyon hastalıkları.

## OP2-2: ANTI-METASTATIC POTENTIAL OF DEGUELIN AND ITS EFFECT ON MITOCHONDRIAL FUNCTION IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER CELL LINE

### [KÜÇÜK HÜCRELİ DİŞİ AKCİĞER KANSERİ HÜCRE HATTINDA DEGUELİN'İN ANTI-METASTATİK POTANSİYELİ VE MİTOKONDİRİYAL FONKSİYON ÜZERİNDEKİ ETKİSİ]

Ezel BİLDİK<sup>1</sup>, Arzu YILDIRIM<sup>1</sup>, Mehmet Ali KOCDOR<sup>2</sup>, Hilal KOCDOR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Turkey

<sup>2</sup>Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Izmir, Turkey

**Objective:** The aim of this study was to compare the efficacy of Docetaxel (Doce), which is used as a standard chemotherapeutic in the treatment of Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC), with Deguelin (Deg), a potential chemopreventive agent candidate, and to evaluate its effects on invasion and migration responses and mitochondrial functions.

**Materials-Methods:** IC<sub>25</sub> and IC<sub>50</sub> concentrations of Deg and Doce were determined by MTT method in H1299 (Non-Small Cell Lung Carcinoma) cell line. After obtaining cell lysate, crude mitochondria pellet was obtained by centrifugation steps at increasing speed (10.000x g). The pellet was suspended with PBS for analysis. To examine the effects of the determined concentrations on migration and metastasis, 'Wound Healing' assays were conducted. 'NADP/IDH, MDH, and GDH' analyses were performed to evaluate mitochondrial differences. 'SOD and BCA' measurements were assessed to obtain 'Normalized SOD' values (SOD/BCA). 'Oxidative Stress Index' (OSI) was calculated by looking at Total Oxidant (TOS) and Total Antioxidant Status (TAS) values.

**Results:** In the 'Wound Healing' analysis conducted on the H1299 cell line, at the time when the wound closure of the Control group was complete, the percentage of wound closure for the following groups was calculated as follows: Combination (Deg<sub>50/2</sub> + Doce<sub>50/2</sub>) - 77.2%, Deg<sub>50</sub> - 68.3%, Deg<sub>25</sub> - 58.51%, Doce<sub>50</sub> - 65.86%, and Doce<sub>25</sub> - 68.32%. In the enzyme analyses, a statistically significant difference was found in MDH values between the Control group and the other groups ( $p < 0.004$ ). No significant statistical difference was found in NADP/IDH and GDH values. Statistically significant differences were found between the groups in the SOD and BCA analyses ( $p < 0.004$ ). Significant differences were observed in the calculated 'Normalized SOD' values between the Doce<sub>25</sub> and Doce<sub>50</sub> groups compared to the other groups ( $p < 0.005$ ). In TOS analysis, a statistically significant difference was found between Doce<sub>25</sub> and Control,

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

Combination and Deg<sub>50</sub> ( $p<0.004$ ). No significant statistical difference was found in TAS and OSİ.

**Discussion:** The effect of Deguelin on mitochondrial function in Non-Small Cell Lung Cancer cell line was examined for the first time in the literature using these analyses. Our findings showed that the Combination group was effective in preventing invasion and migration. We hypothesize that MDH activity decreased in the treatment groups (Deg<sub>50</sub> and Deg<sub>25</sub>), thus preventing the oxidation of NADH to NAD<sup>+</sup>. We believe that further studies using advanced cell culture techniques and *in vivo* models are necessary to support the synergistic anti-metastatic activity of Deguelin and Docetaxel. These additional studies would provide a more comprehensive understanding of the potential benefits and mechanisms underlying the combination treatment.

**Keywords:** Deguelin, Mitochondria, Migration, Krebs Cycle, Oxidative Stress

**Amaç:** Bu çalışmada, Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) tedavisinde standart kemoterapötik olarak kullanılan Doceksel (Doce) ile potansiyel bir kemopreventif ajan adayı olan Deguelin'in (Deg) etkinliğinin KHDAK hücre hattında karşılaştırılması, invazyon, migrasyon yanıtlarının ve mitokondriyal fonksiyonlar üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** H1299 (Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomu) hücre hattında MTT yöntemi ile Deg ve Doce'nin, IC<sub>25</sub> ve IC<sub>50</sub> konsantrasyonları belirlendi. Hücre lizati eldesinden sonra artan hızda santrifüj ile 'ham mitokondri peleti'(10.000xg) elde edildi. Analizler için pelet, PBS ile süspansı edildi. Belirlenen konsantrasyonların migrasyon ve metastaz üzerindeki etkisini incelemek için 'Yara iyileşmesi', mitokondriyal farklılıkların değerlendirilmesi için 'NADP/IDH, MDH ve GDH' analizleri gerçekleştirildi. SOD ve BCA ölçümleri değerlendirilerek Normalize SOD değeri (SOD/BCA) elde edildi. Total Oksidan (TOS) ve Total Antioksidan Seviyeleri (TAS) değerleri ile Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı.

**Bulgular:** H1299 hücre hattında yapılan 'Yara iyileşmesi' analizinde Kontrol grubunun yara açıklığının kapandığı saatte, Kombin (Deg<sub>50/2</sub>+Doce<sub>50/2</sub>), Deg<sub>50</sub>, Deg<sub>25</sub>, Doce<sub>50</sub>, Doce<sub>25</sub>'te yara açıklığı yüzdesi sırasıyla 77.2, 68.3, 58.51, 65.86, 68.32 olarak hesaplandı. MDH değerlerinde Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu ( $p<0.004$ ). SOD ve BCA analizlerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark gözlandı ( $p<0.004$ ). Normalize SOD değerlerinde Doce<sub>25</sub>-Doce<sub>50</sub> ile diğer gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlandı ( $p<0.005$ ). TOS analizinde Doce<sub>25</sub> ile diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu ( $p<0.004$ ). NADP/IDH, GDH, TAS ve OSİ de anlamlı istatistiksel fark bulunamadı.

**Tartışma:** Deguelin'in KHDAK hücre hattında mitokondriyal fonksiyon üzerindeki etkisi bu analizler kullanılarak literatürde ilk kez incelendi. Bulgularımız Kombin grubunun, invazyon ve migrasyonu önlemede etkili olduğunu gösterdi. Tedavi gruplarında(Deg<sub>50</sub>,Deg<sub>25</sub>) MDH aktivitesinin azaldığını bu sebeple NADH'nin NAD<sup>+</sup>'ye yükseltgenmesini engellediği öngörüsündeyiz. Deguelin ile Docetaxel'in sinerjizm oluşturduğu anti-metastatik aktivitesinin 3D hücre kültürü ve *in vivo* çalışmalarla desteklemeyi hedefliyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Deguelin, Mitokondri, Migrasyon, Krebs Döngüsü, Oksidatif Stres

### OP2-3: EVALUATION OF RHOB EXPRESSION AS A PROGNOSTIC FACTOR IN NEUROBLASTOMA

#### [NÖROBLASTOMDA RHOB EKSPRESYONUNUN PROGNOSTİK BİR FAKTOR OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ]

**Burcin BARAN<sup>1</sup>**, Gamze SANLAV<sup>1</sup>, Selen KUM OZSENGEZER<sup>1</sup>, Deniz KIZMAZOGLU<sup>2</sup>, Safiye AKTAS<sup>1</sup>, Zekiye Sultan ALTUN<sup>1</sup>, Nur OLGUN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Pediatric Oncology, Izmir, Türkiye

**Objectives:** RhoB is a member of the Rho GTPase family consisting of G proteins., involving cytoskeletal organization, cell polarization. Rho GTPases have different functions such as regulation of cytoskeletal organization, cell polarization and cell migration. RhoB expression has been shown to be a good prognostic factor in different tumor types. However, RhoB expression has not been evaluated in Neuroblastoma (NB), one of the most common solid childhood cancers. The aim of the study was to examine RhoB expression in NB patient tissue samples and compare it with the survival and clinicopathological characteristics of the patients.

**Materials-Methods:** Paraffin tissue samples of 56 patients diagnosed with NB between 2018 and 2023 were included in the study. Patients were classified as low, intermediate and high risk according to the classification of the Turkish Pediatric Oncology Group. The patients' tumor samples were examined for RhoB expression by immunohistochemistry staining. Patient survival analyzes and correlation analyzes were performed using SPSS program v22.0.

**Results:** While RhoB expression was positive in 45.3% of the patients, RhoB expression was negative in 54.7%. RhoB-positive patients showed higher survival per month compared to RhoB-negative patients. However, overall survival and event-free survival rates did not differ significantly between RhoB-negative and RhoB-positive NB patients in both the low-risk and high-risk groups.

**Conclusion:** RhoB expression was studied on NB samples for



the first time. RhoB expression was not found to be a prognostic factor for NB patients. No correlation was detected between RhoB expression and the examined clinicopathological features of the patient.

**Keywords:** pediatric cancer, neuroblastoma, RhoB, prognostic factor

**Amaç:** RhoB, G proteinlerden oluşan Rho GTPaz ailesinin bir üyesidir. Rho GTPazların hücre iskeleti organizasyonunu, hücre polarizasyonunun ve hücre göçünün düzenlenmesi gibi farklı işlevleri vardır. RhoB ekspresyonu farklı tümör tiplerinde iyi prognostik faktör olarak gösterilmiştir. Ancak en sık görülen solid çocukluk çagi kanserlerinden biri olan Nöroblastom(NB)'da RhoB ekspresyonu değerlendirilmemiştir. Bu çalışmada NB hasta doku örneklerinde RhoB ekspresyonunun incelenip, hastaların sağ kalımları ve klinikopatolojik özellikleriyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** 2018-2023 yılları arasında NB tanısı konulan 56 hastanın parafin doku örneği çalışmaya alınmıştır. Hastalar Türk Pediatrik Onkoloji Grubunun sınıflandırmasına göre düşük, orta ve yüksek risk olarak sınıflandırılmışlardır. Hastaların tümör doku örnekleri immunohistokimya boyaması yapılarak RhoB ekspresyonu yönünden incelenmiştir. Hasta sağ kalım analizleri ve korrelasyon analizlerinde SPSS programı v22.0 kullanılmıştır.

**Bulgular:** Hastaların %45.3'ünde RhoB ekspresyonu pozitif iken, %54.7'sinde RhoB ekspresyonu negatiftir. RhoB pozitif hastalar, RhoB negatif hastalara kıyasla ay bazında daha yüksek sağ kalım göstermiştir. Ancak genel sağ kalım ve olaysız sağ kalım oranları hem düşük risk hem de yüksek risk grubundaki RhoB negatif ve RhoB pozitif NB hastaları arasında anlamlı farklılık göstermemiştir.

**Sonuç:** RhoB ekspresyonu ilk defa NB örnekleri üzerinde çalışılmıştır. RhoB ekspresyonu, NB hastaları için prognostik bir faktör olarak bulunmamıştır. RhoB ekspresyonu ile NB hastalarının incelenen klinikopatolojik özellikleri arasında bir korelasyon saptanmamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** nöroblastom, pediatrik kanser, RhoB, prognostik faktör

#### OP2-4: EVALUATION OF CARBONIC ANHYDRASE IX INHIBITION IN TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER UNDER HYPOXIC CONDITIONS

#### [KARBONİK ANHİDRAZ IX İNHİBİSYONUNUN ÜÇLU NEGATİF MEME KANSERİNDE HİPOKSİK KOŞULLarda DEĞERLENDİRİLMESİ]

**Gizem KAFTAN OCAL**<sup>1</sup>, M. Alper ERDOGAN<sup>2</sup>, Ozlem AKGUL<sup>3</sup>, Dervis BIRIM<sup>4</sup>, Fadime AYDIN KOSE<sup>5</sup>, Guliz ARMAGAN<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Afyonkarahisar Health Sciences University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Afyonkarahisar, Türkiye

<sup>2</sup>Izmir Katip Çelebi University, Faculty of Medicine, Department of Basic Medical Sciences, Izmir, Türkiye

<sup>3</sup>Ege University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Izmir, Türkiye

<sup>4</sup>Ege University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Izmir, Türkiye

<sup>5</sup>Izmir Katip Çelebi University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Izmir, Türkiye

**Objectives:** The expression of carbonic anhydrase (CA) IX increased in hypoxic tumors. It is reported that the inhibition of CAIX regulates cell proliferation and represses metastasis. Our study aims to investigate the anticancer and CAIX inhibitor activity of a newly synthesized 4-taurinamidobenzenesulfonamide-derived compound in triple-negative breast cancer under hypoxic conditions.

**Materials-Methods:** Human and mouse triple-negative breast cancer cell lines (MDA-MB-231 and 4T1) were used in the study. CAIX mRNA and protein levels were determined by Real-Time PCR and Western Blot, respectively, under normoxic and hypoxic conditions (1% O<sub>2</sub>) at 24 and 48 hours. Compound A10 (4-(tert-butyl)-N-(2-(N-(4-sulfamoylphenyl)sulfamoyl)ethyl)benzamide) (0.1-100μM) was applied for 48 hours under hypoxic conditions. Cell viability was measured by the MTS method. The effect of compound A10 (IC<sub>50</sub>) on CAIX levels was measured by ELISA kit. U-104 (100μM) was used as a selective CAIX/CAXII inhibitor.

**Results:** CAIX mRNA levels increased 6.63-fold and 6.82-fold in MDA-MB-231 cells; 2.43-fold and 2.11-fold in 4T1 cells by 24 and 48 hours, respectively, under hypoxic conditions. The IC<sub>50</sub> values of compound A10 were calculated as 6.75μM (MDA-MB-231) and 9.17μM (4T1). Hypoxia induced CAIX levels in both cells, however A10 treatment was significantly decreased CAIX levels in cells ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** The microenvironment is of critical importance in many types of cancer. The synthesized compound was able to inhibit CAIX enzyme in triple-negative breast cancer cells under hypoxic conditions. Comprehensive studies on taurinamidobenzenesulfonamide-derived compounds as

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

therapeutic alternatives are going on. This study is supported by TÜBİTAK 1001-Scientific and Technological Research Projects Support Program (Project No. 122S667). G.K.O would like to thank TÜBİTAK 2211-C Priority Areas Doctoral Scholarship Program.

**Keywords:** carbonic anhydrase, microenvironment, cancer

**Amaç:** Karbonik anhidraz (KA) IX, hipoksik tümörlerde ifadesi artan bir izoenzimdir. KAIX inhibisyonu ile tümör hücre büyümesinin sonlandığı, metastazın inhibe olduğu kanıtlanmıştır. Çalışmamızın amacı yeni sentezlenen 4-taurinamidobenzensülfonamit türevi bir bileşigin üçlü negatif meme kanserinde antikanser ve KAIX inhibitör etkinliğini hipoksik koşullarda araştırmaktır.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmada insan ve fare üçlü negatif meme kanseri hücre hatları (MDA-MB-231 ve 4T1) kullanıldı. Normoksik ve hipoksik koşullarda (%1 O<sub>2</sub>) 37°C'de 24 ve 48 saat bekletilen hücrelerdeki KAIX mRNA ve protein düzeyleri Real-Time PCR ve Western Blot teknigi kullanılarak tayin edildi. Bileşik A10 (4-(ter-butil)-N-(2-(N-(4-sulfamoilfenil)sulfamoil)etil)benzamit) altı farklı konsantrasyonda (0,1-100μM) 48 saat boyunca hipoksik koşullarda hücrelere uygulandı. MTS yöntemi ile hücre canlılığındaki değişim ölçüldü ve bileşigin IC<sub>50</sub> değeri hesaplandı. Ardından, bileşigin (IC<sub>50</sub>) hücrelerdeki KAIX düzeyine etkisi ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. Selektif KAIX/KAXII inhibitörü U-104 (100μM) ile seçilen bileşigin etkinliği karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Hipoksik koşullarda KAIX gen düzeyi MDA-MB-231 hücrelerinde 24.saatte 6,63 kat, 48.saatte 6,82 kat; 4T1 hücrelerinde ise 24.saatte 2,43 kat, 48.saatte 2,11 kat artmıştır. A10 bileşiginin IC<sub>50</sub> değeri MDA-MB-231 hücrelerinde 6,75μM, 4T1 hücrelerinde 9,17μM olarak belirlenmiştir. Hipoksik koşullar KAIX düzeyini her iki hücrede artırırken bileşik uygulaması sonrası KAIX protein düzeyi anlamlı düzeyde azalmıştır ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Mikroçevre birçok kanser tipinde kritik öneme sahiptir. Sentezlenen bileşigin hipoksik koşullarda üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde KAIX inhibisyonu gösterilmiştir. Taurinamidobenzensülfonamit türevi bileşiklerin terapötik alternatif olarak değerlendirilmesi amacıyla çalışmalar sürdürülmektedir.

Bu çalışma TÜBİTAK 1001-Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı kapsamında desteklenmektedir (Proje No. 122S667). G.K.Ö. TÜBİTAK 2211-C Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı'na teşekkür etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** karbonik anhidraz, mikroçevre, kanser

## OP2-5: INVESTIGATION OF THE EFFECTIVENESS OF THE PI3K (PHOSPHATIDYLINOSYTOL 3-KINASE) INHIBITOR ALPELICIBINE COMBINATION WITH IRINOTECAN ON HORMONE POSITIVE (MCF-7) BREAST CANCER CELL

[PI3K (FOSFATİDİLİNOSİTOL 3-KİNAZ) İNHİBİTÖRÜ ALPELİSİBİN İRİNÖTEKAN İLE KOMBİNASYONUNUN HORMON POZİTİF (MCF-7) MEME KANSERİ HÜCRESİNDE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI]

**Ali Furkan KİDİL**, Efe Ozgur SERİNAN, Ozde Elif GOKBAYRAK, Sefayi Merve OZDEMİR, Safiye AKTAS

Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Turkey

**Objectives:** Breast cancer is the most frequently diagnosed cancer type among women and the second most common cancer-related death. Phosphatidylinositol-3-kinase-α (PI3Kα) enzyme; It plays a role in intracellular signaling and proliferation steps. Mutation of the gene encoding the PI3Kα enzyme is common in hormone positive (HR+) breast cancer. Although PI3K inhibitors are frequently used in treatment, combined therapy of Topoisomerase-I inhibitor with PI3K inhibitors in HR+ breast cancer is still being investigated. In this study, the effect of the combined therapy of Alpelisib (ALP), a PI3K inhibitor, and the Topoisomerase-I inhibitor Irinotecan (IRO) on HR(+) MCF-7 cells was investigated.

**Materials-Methods:** Different doses of ALP (2.5-25 μM) and IRO (10-200 μg) were applied to HR(+) breast cancer MCF-7 cells for 24, 48 and 72 hours. The cytotoxic effect of both agents on cells was evaluated by the MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) test. After IC<sub>50</sub> doses and duration of effect were determined, different doses of combination of ALP and IRO were applied to MCF-7 cells. Their effects on apoptosis were evaluated by flow cytometric analyses.

**Results:** After 24 hours, 10 μM dose of ALP alone showed a cytotoxic effect on MCF-7. IRO showed the lowest viability at 100 μM at the 24 hours. 100 μM IRO + 10 μM ALP and 100 μM IRO + 12.5 μM ALP were compared in combined therapy, the viability rate decreased as the dose of ALP increased. The 12.5 μM dose of ALP was effective in causing cells to undergo apoptosis within 24 hours. Similarly, in combination with 100 μM IRO, its effect on apoptosis increased statistically significantly compared to the control. Conclusion: ALP showed a dose-dependent cytotoxic effect on MCF-7 cells. It is thought that it may be effective in combined treatment in terms of causing cells to undergo apoptosis in combination with IRO.

**Keywords:** Alpelisib, Breast Cancer, Irinotecan, Cell Cycle, Apoptosis



**Amaç:** Meme kanseri, kadınlar arasında en sık teşhis edilen kanser türü ve kansere bağlı ölümlerde en yaygın ikinci kanser türüdür. Fosfatidilinositol-3-kinaz- $\alpha$ (PI3K $\alpha$ ) enzimi; hücre içi sinyalleşme ve proliferasyon basamaklarında rol oynar. Hormon pozitif (HR+) meme kanserinde PI3K $\alpha$  enzimini kodlayan genin mutasyonuna sık rastlanır. Tedavide, PI3K inhibitörleri sıkılıkla kullanılmakla beraber, Topoizomeraz- I inhibitörünün HR+ meme kanserinde PI3K inhibitörleri ile kombine terapisi halen araştırılmaktadır. Bu çalışmada bir PI3K inhibitörü olan Alpelisib (ALP) ile Topoizomeraz- I inhibitörü İronotekan (IRO)'nun kombinasyonunun HR(+) MCF-7 hücreleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

**Gereç-Yöntem:** ALP (2,5-25 uM) ve IRO'nun (10-200 ug)'nun farklı dozları, HR(+) meme kanseri MCF-7 hücrelerine 24, 48 ve 72 saat süre ile uygulandı. Her iki ajanın da hücreler üzerine sitotoksik etkisi MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) testi ile değerlendirildi. IC50 dozları ve etki süresi belirlendikten sonra MCF-7 hücrelerine ALP ve İRO'nun farklı dozlardaki kombinasyonu uygulandı. Apoptoza olan etkileri, akış sitometrik analizler ile değerlendirildi.

**Bulgular:** 24 saatin sonunda ALP'nin 10  $\mu$ M dozu, tek başına MCF-7 üzerine sitotoksik etki gösterdi. İRO, ise aynı etki süresinde 100  $\mu$ M'da en düşük canlılığı gösterdi. Kombine terapide 100  $\mu$ M İRO+ 10  $\mu$ M ALP ve 100  $\mu$ M İRO+ 12,5  $\mu$ M ALP dozları karşılaştırıldığında ALP'nin dozu arttıkça canlılık oranı azaldı. ALP'nin 12,5  $\mu$ M dozu, hücreleri apoptoza sürüklemede 24 saatte etki gösterdi. Benzer şekilde 100  $\mu$ M İRO ile kombinasyonunda apoptoza etkisi kontrole kiyasla istatistiksel anlamlı derecede arttı.

**Sonuç:** ALP, MCF-7 hücreleri üzerinde doz bağımlı olarak sitotoksik etki gösterdi. İRO ile kombinasyonunda hücreleri apoptoza sürüklemesi açısından kombine tedavide etkin olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Alpelisib, Meme Kanseri, İrinotekan, Hücre Döngüsü, Apoptoz

## OP2-6: EFFECT OF ANTIHYPERTENSIVE TREATMENT ON TRIMETHYLAMINE-N-OXIDE LEVELS IN PREECLAMPSIA

### [PREEKLAMPTİK GEBELERDE ANTİHİPERTANSİF TEDAVİNİN TRİMETİLAMİN-N-OKSİT DÜZEYLERİNÉ ETKİSİ]

Zinnet Sevval AKSOYALP<sup>1</sup>, Betul Rabia ERDOGAN<sup>1</sup>, Mustafa SENGUL<sup>2</sup>, Salihha AKSUN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Izmir Katip Celebi University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Izmir Katip Celebi University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Izmir, Türkiye

<sup>3</sup>Izmir Katip Celebi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Izmir, Türkiye

**Objectives:** Our aim was to determine levels of trimethylamine N-oxide (TMAO), a gut microbial metabolite associated with cardiovascular risk, in venous and cord plasma of pregnant women with preeclampsia and to assess effects of antihypertensive treatment on TMAO levels.

**Materials-Methods:** Pregnant women were divided into 3 groups: Control (C, n=14), preeclamptic pregnant women not receiving antihypertensive treatment (NTP, n=10) and preeclamptic pregnant women receiving antihypertensive treatment (TP, n=7), according to the diagnostic criteria of the American College of Obstetricians and Gynecologists. The levels of TMAO in maternal plasma and umbilical cord plasma were determined by ELISA. Statistical analysis was performed using Student's t-test and Pearson correlation test.

**Results:** Maternal TMAO levels, although significantly higher in preeclamptic women, were similar between the NTP and TP groups. TMAO levels in the umbilical cord were found to be moderately higher in the NTP group than in the control group and lower in the TP group than in the NTP group. In the C and NTP groups, but not in the NT group, umbilical cord plasma TMAO levels were significantly higher than maternal plasma TMAO levels. There was a strong positive correlation between cord plasma TMAO levels and maternal systolic and diastolic blood pressure in the TP group.

**Conclusions:** Antihypertensive treatment may prevent high levels of TMAO in umbilical cord plasma and reduce the infant's cardiovascular risk by reducing its exposure to TMAO.

**Keywords:** ELISA, plasma, preeclampsia, trimethylamine-N-oxide, umbilical cord

**Amaç:** Çalışmamızın amacı preeklampsi tanısı alan gebelerin venöz plazması ve umbilikal kord plazmasındaki kardiyovasküler riskle ilişkili bir bağırsak mikrobiyota metaboliti olan trimetilamin-N-oksit (TMAO) düzeylerini belirlemek ve antihipertansif tedavinin TMAO düzeylerine etkisini değerlendirmektir.

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

**Gereç-Yöntem:** Gebeler American College of Obstetricians and Gynecologists'in tanı kriterlerine göre kontrol (C, n=14), antihipertansif tedavi almayan preeklamptik (NTP, n=10) ve antihipertansif tedavi alan preeklamptik (TP, n=7) gebeler olarak 3 gruba ayrılmıştır. Maternal ve umbilikal kord plazmasında TMAO düzeyleri ELISA yöntemiyle değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler Student's t testi ve Pearson korelasyon testi kullanılarak yapılmıştır.

**Bulgular:** Maternal TMAO düzeyleri preeklamptik kadınlarında anlamlı derecede daha yüksek iken NTP ve TP grupları arasında benzer bulunmuştur. Umbilikal kord TMAO seviyeleri NTP'de kontrol grubuna göre orta derecede yüksek ve TP'de NTP'ye göre daha düşük saptanmıştır. Umbilikal kord plazmasında TMAO seviyeleri C ve NTP gruplarında maternal plazmadaki TMAO seviyelerinden anlamlı derecede yüksek bulunurken, NT grubunda bu durum gözlemlenmemiştir. TP grubunda umbilikal kord plazmasındaki TMAO düzeyleri ile maternal sistolik ve diyalistik kan basıncı değerleri arasında güçlü ve pozitif bir korelasyon saptanmıştır.

**Sonuç:** Antihipertansif tedavi umbilikal kord plazmasındaki yüksek TMAO düzeyini önleyebilir ve bebeğin TMAO'ya maruziyetini azaltarak bebekte kardiyovasküler riski azaltabilir.

**Anahtar Kelimeler:** ELISA, plazma, preeklampsi, trimetilamin-N-oksit, umbilikal kord

#### OP2-7: ANTICANCER NUCLEOSIDE 6-THIOGUANOSINE DEMONSTRATE HIGH ANTICANCER ACTIVITY AND INDUCES TELOMERE DYSFUNCTION IN HEPATOCELLULAR CANCER MODELS

[ANTİ KANSER NÜKLEOSİT 6-TİOGUANOSİN YÜKSEK ANTİKANSER AKTİVİTE GÖSTERİR VE HEPATOSELLÜLER KANSER MODELLERİNDE TELOMER BOZUKLUĞUNA NEDEN OLUR]

**Z. Gunnur DIKMEN<sup>1</sup>, İlgen MENDER<sup>2</sup>, Merve YILMAZ<sup>1</sup>, Sefik Evren ERDENER<sup>3</sup>, Ates Kutay TENEKECI<sup>1</sup>, Sergei M.GRYAZNOV<sup>2</sup>, Jerry W. SHAY<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Hacettepe University, Faculty of Medicine, Medical Biochemistry, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>MAIA Biotechnology, Inc., Biology Research, Chicago, IL, United States

<sup>3</sup>Hacettepe University Faculty of Medicine, Neurological and Psychiatric Research and Application Center, Neurological and Psychiatric Research and Application Center, Ankara, Türkiye

<sup>4</sup>UT Southwestern Medical Center, Cell Biology, Cell Biology, Dallas, Texas, United States

**Objectives:** Targeting telomerase-positive cancer cells by inducing telomeric DNA damage represents a novel therapeutic strategy. 6-thioguanosine (ribo-THIO) is a prodrug of telomere-targeting anticancer 6-thio-2'-deoxyribonucleoside and its triphosphate. Our aim was to investigate ribo-THIO's potential to induce telomeric DNA damage *in vitro* and its anticancer activity in syngeneic *in vivo* models.

**Materials-Methods:** For MTT assay, human (A549, HT29, HeLa) and murine (Hep55-1C) cancer cell lines were incubated with ribo-THIO for 96 hrs. Telomeric DNA damage was assessed using TIF (Telomeric Induced Foci) assay. TIF images were captured using a confocal microscope and analyzed by DiAna plugin. For *in vivo* experiments, Hep55-1C cells were inoculated into C57BL/6 mice. Tumor-bearing mice were treated with Ribo-THIO (3 mg/kg on days 10, 11, 12, 19, 20, 21). Tumor free mice were rechallenged with murine liver cancer cell lines Hep55-1C, RIL 175 and murine non-small cell lung cancer cell line LLC on days 122, 208 and 312, respectively.

**Results:** EC50 values for ribo-THIO were 0.14, 0.19, 2.5 uM for HT-29, HeLa, Hep55-1C telomerase positive cells and >100 uM for human telomerase negative fibroblasts, respectively. Ribo-THIO significantly induced telomeric DNA damage in HT-29 cells following 72hr of treatment. In a syngeneic model, all mice (5/5) remained tumor-free following ribo-THIO treatment. Upon rechallenge with Hep55-1C on day 122, 80% (4/5) maintained tumor-free status indicating tumor immune memory. When tumor-free mice rechallenged with RIL 175 and LLC cells on days 208 and 312, they all remained tumor-free.

**Conclusions:** This is the first study showing the efficacy of ribo-THIO with complete tumor regression for 1 year follow-up. Subsequent rechallenge experiments indicate induction of durable antitumor immunity which highlights ribo-THIO's potential as a selective therapeutic strategy for telomerase-positive cancers.

**Keywords:** cancer, telomere, telomerase, ribo-THIO

**Amaç:** Telomerik DNA hasarı oluşturarak telomeras pozitif kanser hücrelerini hedeflemek yeni bir tedavi yaklaşımıdır. Ribo-THIO, telomerlerde DNA hasarı oluşturabilen yeni bir anti-kanser etkili bileşiktir. Bu çalışmadaki amacımız ribo-THIO'nun telomerik DNA hasarı oluşturma etkisini *in vitro* inceleme ve singeneik fare modellerinde anti-kanser etkisini test etmektir.

**Materiyal-Metod:** MTT deneyleri için insan (A549, HT29, HeLa) ve fare (Hep55-1C) kanser hücreleri, ribo-THIO ile 96st inkübe edilmiştir. Telomerik DNA hasarı, TIF (Telomeric Induced Foci) yöntemi ile gösterilmiştir. Konfokal mikroskopla elde edilen görüntüler, DiAna plugin ile analiz edilmiştir. *In vivo* deneyler için, Hep55-1C hücreleri (hepatosellüler kanser) C57BL/6 farelere enjekte edilmiştir. Tümör oluşumunu takiben fareler, Ribo-THIO (3 mg/kg) ile tedavi edilmiştir (10, 11, 12, 19, 20, 21.günler).



Tümörü kaybolan farelere 122.günde Hep55-1C, 208.günde RIL 175 (hepatosellüler kanser) ve 312.günde LLC (küçük hücre dışı akciğer kanseri) hücreleri yeniden enjekte edilmiştir.

**Sonuçlar:** Riboflavin-THIO için EC50 değerleri HT-29, HeLa, Hep55-1C hücreleri için 0.14, 0.19, 2.5 ve fibroblastlar için >100 uM bulunmuştur. Riboflavin-THIO, HT-29 hücrelerinde 72 saatlik inkübasyonu takiben telomerik DNA hasarını anlamlı şekilde artırmıştır. Singeneik modelde, Riboflavin-THIO tedavisi sonrası tüm farelerde (5%) tümör kaybolmuştur. Takip altında tutulan farelere 122.günde yeniden Hep55-1C enjekte edilmiş ve farelerin %80'inde (4/5) tümör gelişimi gözlenmemiştir. Tümör gelişimi saptanmayan bu farelere 208.günde RIL 175 hücreleri, 312.günde LLC hücreleri enjekte edilmiş olmasına rağmen yeni tümör gelişimi olmamıştır.

**Tartışma:** Bu çalışma Riboflavin-THIO'nun 1 yıl süreyle takip edilen farelerde tam bir tümör regresyonu sağladığını gösteren ilk çalışmadır. Gelişen anti-tümör immünite sayesinde, tekrar edilen kanser hücre enjeksiyonlarına rağmen farelerde tümör oluşmamıştır. Riboflavin-THIO, telomeras pozitif kanser hücreleri için selektif bir tedavi yaklaşımı olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kanser, telomer, telomeras, riboflavin-THIO

#### OP2-8: INVESTIGATION OF THE ANTITUMORIGENIC EFFECT OF CITRUS AURANTIUM ON PANCREAS, THYROID AND PROSTATE CANCER CELLS

#### [CİTRUS AURANTİUM'UN PANKREAS, TİROİD VE PROSTAT KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİTÜMÖREJENİK ETKİSİ]

**Arzu YILDIRIM<sup>1</sup>**, Ezel BILDIK<sup>1</sup>, Mehmet Ali KOCDOR<sup>2</sup>, Hilal KOCDOR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Izmir, Türkiye

**Objectives:** Three different extracts(Methanol/water, Ethylacetate/water; water phase, Ethylacetate/water; Ethylacetate phase)obtained from the peel of *Citrus aurantium* (*C. aurantium*-CA); It was aimed to determine its anti-tumorogenic effect on PANC-1 (pancreatic ductal adenocarcinoma), CAL-62 (Thyroid anaplastic carcinoma), PC-3 (Prostate adenocarcinoma) cell lines alone and in combination with standard chemotherapeutic agents used in the clinic.

**Materials-Methods:** IC<sub>25</sub> and IC<sub>50</sub> concentrations of three different extracts of CA and standard chemotherapeutic agents used in the clinic were determined by the MTT method. Wound Healing Analysis was performed to examine

the effect on migration and metastasis, and Soft Agar Colony Analysis (3D Spheroid Model) was performed to evaluate tumorigenesis capacity. Oxidative Stress Index (OSI) was calculated by evaluating Total Oxidant Status (TOS) and Total Antioxidant Status (TAS) levels.

**Results:** In MTT Analysis, CA's EA/Water; The water phase was found to be effective at the lowest concentration in all cell lines. In Wound Healing Analysis, PANC-1, CAL-62, PC-3 cell lines, respectively; The wound patency percentage between the control group and the CA<sub>50</sub> group was determined as 70.8, 63.8, 65.8. In the 3D Spheroid Model Analysis, a statistical difference was observed between the CA groups and the control group in PANC-1 and PC-3 cell lines ( $p<0.004$ ,  $p<0.003$ , respectively). When OSI was evaluated, a statistically significant difference was observed between CA<sub>50</sub> and control and DOCE groups in the CAL-62 cell line ( $p<0.004$ ).

**Conclusions:** The effect of CA on thyroid and pancreatic cancer cell lines has been examined for the first time in the literature. Our findings showed that the CA<sub>50</sub> group was effective in preventing invasion and migration in all cell lines. We think that the antitumorigenic activity of CA should be supported by further cell culture and *in vivo* studies.

**Keywords:** *C. aurantium*, invasion, migration, metastasis

**Amaç:** *Citrus aurantium*'un (*C. aurantium*) kabuğundan elde edilen üç farklı ekstrenin (Metanol/su, Etilasetat/su; su fazı, Etilasetat/su; Etilasetat fazı); PANC-1 (pankreas duktal adenokarsinomu), CAL-62 (Tİroid anaplastik karsinoma), PC-3 (Prostat adenokarsinoma) hücre hatlarında tek başına ve klinikte kullanılan standart kemoterapötik ajanlar ile kombine edilerek anti-tümörojenik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** PANC-1, CAL-62, PC-3 hücre hatlarında *C. aurantium*'un (*C. aurantium*) üç farklı ekstresinin ve klinikte kullanılan standart kemoterapötik ajanların IC<sub>25</sub> ve IC<sub>50</sub> konsantrasyonları MTT yöntemi ile belirlendi. Migrasyon ve metastaz üzerindeki etkisinin incelenmesi için Yara İyileşme Analizi, tümörogenez kapasitesinin değerlendirilmesi için Soft Agar Koloni Analizi (3D Sferoid Model) gerçekleştirildi. Total Oksidan Seviyesi (TOS) ve Total Antioksidan Seviyesi (TAS) seviyeleri değerlendirilerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı.

**Bulgular:** MTT Analizinde CA'nın EA/Su; Su fazı tüm hücre hatlarında en düşük konsantrasyonda etkili bulunmuştur. Yara İyileşme Analizinde PANC-1, CAL-62, PC-3 hücre hatlarında sırasıyla; kontrol grubu ile CA<sub>50</sub> grubu arasında yara açılığının yüzdesi 70.8, 63.8, 65.8 olarak belirlenmiştir. 3D Sferoid Model Analizinde PANC-1 ve PC-3 hücre hatlarında CA grupları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark gözlenmiştir (sırasıyla  $p<0.004$ ,  $p<0.003$ ). CAL-62 hücre hattında OSİ değerlendirildiğinde, CA<sub>50</sub> ile kontrol ve DOCE grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmiştir ( $p<0.004$ ).



**Tartışma:** CA'nın, tiroid ve pankreas kanseri hücre hatları üzerindeki etkisi literatürde ilk kez incelenmiştir. Elde etiğimiz bulgular CA<sub>50</sub> grubunun tüm hücre hatlarında invazyon ve migrasyonu engellemeye etkili olduğu görülmüştür. CA'nın antitümörejenik aktivitesinin ileri hücre kültürü ve *in vivo* çalışmalar ile desteklenmesi gerektiğini düşünüyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** C. aurantium, invazyon, migrasyon, metastaz

#### OP2-9: HISTOLOGICAL INVESTIGATION OF THE EFFECT OF QUERCETIN ON TESTICULAR DAMAGE CAUSED BY METHOTREXATE

#### [METOTREKSATIN NEDEN OLDUĞU TESTİS HASARINDA QUERCETİN'İN ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ]

**Burcu BARAN**<sup>1</sup>, Hilal KOCDOR<sup>2</sup>, Arzu YILDIRIM<sup>2</sup>, Aslı CELİK<sup>3</sup>, Mehmet Ali KOCDOR<sup>4</sup>, Seda OZBAL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Histology and Embryology, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of Basic Oncology, Izmir, Türkiye

<sup>3</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Health Sciences, Department of Laboratory Animals, Izmir, Turkey

<sup>4</sup>Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Izmir, Türkiye

**Objectives:** Methotrexate (MTX), folic acid antagonist, is an immunosuppressive and cytotoxic chemotherapeutic agent. However, it has toxic effects on tissues. Its tissue damage is known to be associated with oxidative stress. ROS increase causes cell damage and apoptosis. In this study, the efficacy of QE, a powerful antioxidant, on MTX-induced testicular toxicity was investigated.

**Materials-Methods:** 35 Wistar-albino male rats were divided into 5 groups: control, sham, QE, MTX and MTX+QE groups. MTX was administered single dose 20 mg/kg/i.p. on day 1. QE was given 50 mg/kg/oral gavage for 9 days, 30 minutes before MTX administration. Rats were sacrificed on 10th day. Testicular cell damage was evaluated with Hematoxylin-Eosin, Periodic Acid Schiff, Masson-Trichrome staining, Johnsen's score, histomorphometric measurements and Occludin, ZO-1 immunohistochemistry. Apoptosis was evaluated by TUNEL and caspase-3 staining. Total Antioxidant Level (TAS), Total Oxidant Level (TOS) and Superoxide Dismutase (SOD) levels were measured in testicular tissues and serum.

**Results:** Histological evaluation showed QE administration reduced testicular cell damage. TUNEL, caspase-3, occludin and ZO-1 positive cell numbers were decreased compared to control group. In biochemical analyzes, when TAS, TOS and SOD levels were examined in tissue and serum, it was determined that QE helped tissue stabilization by providing

free radical balance.

**Conclusions:** It was concluded that QE application reduced testicular tissue damage caused by MTX with its suppressive effect on oxidative stress and apoptosis. Therefore, QE could be a potentially useful agent in the treatment of MTX-induced testicular injury.

This study was supported by TÜBİTAK 1002-B Emergency Support Module (122S966).

**Keywords:** Quercetin, Methotrexate, Testis, Oxidative stress, Apoptosis

**Amaç:** Metotreksat (MTX), folik asit antagonisti olup immünsupresif ve sitotoksik bir kemoterapötik ajandır. Ancak dokularda istenmeyen toksik etkileri bulunmaktadır. MTX'in neden olduğu doku hasarının, oksidatif stres ile ilişkili olduğu bilinmektedir. ROS artışı, hücre hasarına ve apoptoza yol açar. Bu çalışmada, MTX ile indüklenen testiküler toksisitede, güçlü bir antioksidan olan QE'nin etkinliği araştırıldı.

**Gereç-Yöntem:** 35 Wistar-albino erkek sıçan 5 gruba ayrıldı: kontrol, sham, QE, MTX ve MTX+QE grupları. MTX 1. gün tek doz 20 mg/kg/i.p uygulandı. QE, MTX uygulamasından 30 dk önce başlanarak 9 gün 50 mg/kg/oral gavaj verildi. Ratlar 10. günde sakrifiye edildi. Testiküler hücre hasarı Hematoksilen-Eozin, Periyodik Asit Schiff, Masson-Trikrom boyaları, Johnsen's skoru, histomorfometrik ölçümlerle ve Occludin, ZO-1 immunohistokimyası ile değerlendirildi. Apoptoz değerlendirme TUNEL ve kaspaz-3 boyamaları ile yapıldı. Testis dokularında ve serumda Total Antioksidan Seviyesi (TAS), Total Oksidan Seviyesi (TOS) ve Süperoksit Dismutaz (SOD) düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Histolojik değerlendirme, QE uygulamasının testiküler hücre hasarını azalttığı gösterdi. Ayrıca kontrol grubuna kıyasla TUNEL, kaspaz-3, occludin ve ZO-1 pozitif hücre sayılarının azaldığı görüldü. Biyokimyasal analizlerde ise, doku ve serumda TAS, TOS ve SOD seviyeleri incelendiğinde, QE'in serbest radikal dengesini sağlayarak doku stabilizasyonuna yardımcı olduğu saptandı.

**Sonuç:** QE uygulamasının, oksidatif stres ve apoptoz üzerindeki baskılıyıcı etkisiyle MTX'in oluşturduğu testiküler doku hasarını azalttığı sonucuna varıldı. Bu nedenle QE, MTX kaynaklı testis hasarının tedavisinde potansiyel olarak yararlı bir ajan olabilir.

Bu çalışma TÜBİTAK 1002-B Acil Destek Modülü tarafından desteklenmiştir (122S966).

**Anahtar Kelimeler:** Quercetin, Metotreksat, Testis, Oksidatif stres, Apoptoz



## POSTER PRESENTATION FULL TEXT [POSTER SUNUMU TAM METİNLERİ]

### PP2: DEVELOPMENT OF INNOVATIVE BIOFUNCTIONAL INK WITH POTENTIAL USAGE IN 3D BIOPRINTING IN CARTILAGE TISSUE ENGINEERING

**[KİKIRDAK DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE 3 BOYUTLU BİYOBASKIDA KULLANIM POTANSİYEL OLAN YENİLİKÇİ BİYOFONKSİYONEL MÜREKKEP GELİŞTİRİLMESİ]**

**Cansu İlke KURU** <sup>1,2†</sup>, Fulden ULUCAN KARNAK <sup>2†</sup>,  
Mehmet Ozgür SEYDIBEYOGLU <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ege University-Buca Municipality Buca Science and Art Center, Institute of Science and Technology, Biotechnology, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Ege University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Biochemistry, Izmir, Türkiye

<sup>3</sup>İzmir Katip Çelebi University, Faculty of Engineering, Department of Materials Science and Engineering, İzmir, Türkiye

ORCHIDs of Authors: Cansu İlke Kuru: 0000-0003-4290-6823, Fulden Ulucan Karnak: 0000-0001-5567-0261, Mehmet Özgür Seydibeyoğlu: 0000-0002-2584-7043

#### ABSTRACT

**Objectives:** Tissue engineering is the practice of regenerative medicine that involves the production of new biomaterials to regenerate damaged tissues and restore biological functionality. Meniscal injury in the knee joints is likely to cause a permanent change in the biomechanical and biological environment of the knee joint due to morphological incompatibility and loss of meniscus tissues. The allograft approach, which includes the methods of applying cadaver or human cartilage pieces to patients in meniscus regeneration, is used with long-term follow-up in the clinic. However, the use of meniscal allografts is limited due to insufficient tissue supply, incompatibility, immunoreactivity, and risk of disease transmission. In recent years, 3D bioprinting technology within the scope of tissue engineering makes it possible to prepare patient-specific meniscus structures using biomaterials.

**Materials-Methods:** In this study, it was aimed to develop low cost, easy to prepare, easy to use, halloysite mineral added alginate, nanocellulose and gelatin based hydrogel materials for use as bioinks in the production of meniscus with 3D bioprinting. In this context, bioink materials with different contents were prepared and characterized by advanced characterization methods. A prototype was prepared by examining its usability in the preparation of artificial cartilage meniscus structure.

**Results:** It was determined that the chemical composition and

morphological structure of these natural materials with different contents were porous, hydrophilic and high water holding capacity in accordance with the artificial cartilage tissue structure.

**Conclusions:** Within the scope of the study, alternative materials with high printability in 3D bioprinting, easy and inexpensive to large-scale production, were developed for use as meniscus cartilage tissue material in knee joints.

**Keywords:** artificial cartilage, bioprinting, bioink, nanocellulose, halloysite

**Amaç:** Doku mühendisliği, hasar gören dokuları yeniden oluşturmak ve biyolojik işlevsellik kazandırmak için yeni biyomaterialerinin üretimini içeren rejeneratif tip uygulamasıdır. Diz eklemlerinde yaşanan menisküs yaralanmasının, morfolojik uyumsuzluk ve menisküs dokularının kaybı nedeniyle, diz ekleminin biyomekanik ve biyolojik ortamında kalıcı bir değişikliğe neden olma olasılığı yüksektir. Menisküs yenilenmesinde kadavradan veya insandan alınan kıkırdak parçalarını hastalara uygulama yöntemlerini içeren allograft yaklaşımı klinikte uzun vadeli takip ile kullanılmaktadır. Ancak menisküs allograftlerinin yetersiz doku kaynağı, uyumsuzluk, immünoreaktivite ve hastalık bulaşma riski nedeniyle kullanımı sınırlıdır. Son yıllarda, doku mühendisliği kapsamında 3 boyutlu biyobaskı teknolojisi, biyomaterialerini kullanarak hastaya özel menisküs yapılarının hazırlanmasını mümkün kılmaktadır.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmada, 3 boyutlu biyobaskı ile menisküs üretiminde biyomürekkep olarak kullanıma yönelik, düşük maliyetli, hazırlanması, kullanımı kolay, ülkemizde önemli kaynağı olan halloysite minerali katkıları aljinat, nanoselüloz ve jelatin temelli hidrojel malzemelerin geliştirilmesi amaçlandı. Bu kapsamında farklı içeriklere sahip biyomürekkep malzemeleri sentezlendi, ileri karakterizasyon yöntemleri ile karakterize edildi. Yapay kıkırdak menisküs yapısı hazırlanmasında kullanılabilirliği incelenerek prototip hazırlandı.

**Bulğular:** Farklı içeriklere sahip bu doğal malzemelerin, kimyasal bileşiminin ve morfolojik yapısının, yapay kıkırdak doku yapısına uygun şekilde, gözenekli, hidrofilik, su tutma kapasitesi yüksek olduğu belirlendi.

**Sonuç:** Çalışma kapsamında, diz eklemlerinde menisküs kıkırdak dokusu materyali olarak kullanıma yönelik, büyük ölçüde üretimi kolay ve ucuz, 3 boyutlu biyobaskıda basılabilirliği yüksek alternatif malzemeler geliştirildi.

**Anahtar Kelimeler:** yapay kıkırdak, biyobaskı, biyomürekkep, nanoselüloz, halloysite

#### 1. INTRODUCTION

Tissue/organ shortage is an important medical problem due to donor shortage and patient immune rejection. Furthermore, it is difficult to predict or mimic human disease status in animal models during preclinical studies because the disease phenotype differs between humans and animals. The field of tissue engineering and regenerative medicine has been developing rapidly in recent years to create functional tissue structures that mimic natural tissue for repair and/or



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

replacement of damaged tissues or entire organs. However, traditional tissue engineering approaches consisting of scaffolds, growth factors, and cells have had limited success in fabricating complex 3D shapes and *in vivo* organ regeneration, making them unsuitable for clinical applications from a logistical and economic point of view. In this context, 3D bioprinting, an extended application of additive manufacturing, is heavily studied for tissue engineering and regenerative medicine, as it includes an approach to build complex tissue layer by layer [1]. Three-dimensional bioprinting (3BBB) is evolving into a unique multidisciplinary technology for three-dimensional (3D) biological tissue engineering with complex architecture and composition. Technology has emerged as a key driver, with the precision combining of biomaterials with patient donor cells. This progress has assisted the successful fabrication of *in vitro* models, preclinical implants, and tissue/organ-like structures [2,3].

Bioprinting is an emerging technology with various applications in the construction of functional tissue structures to replace injured or diseased tissues. It is a new approach that provides high reproducibility, precise control over fabricated structures and potentially enables highly efficient production. During the bioprinting process, a biomaterial solution or a mixture of several biomaterials, often in hydrogel form, often called bioink, is used to create tissue structures. This bioink can be crosslinked or stabilized during or immediately after bioprinting to create the final shape, structure and architecture of the designed structure. Bioinks can be made from natural or synthetic biomaterials alone or a combination of the two as hybrid materials. In some cases, cell clusters without any additional biomaterials can also be adapted to be used as a bioink for bioprinting processes [4]. Some important properties of an ideal bioink material are bioprintability, high mechanical integrity and stability, insolubility in cell culture medium, biodegradability at a rate suitable for regenerating tissue, non-toxicity and non-immunogenicity, and the ability to promote cell adhesion. In addition, bio-ink materials should be easily manufactured and processed, affordable and commercially available [5].

Within the scope of the study, it was aimed to develop and characterize halloysite added gelatin, alginate and nanocellulose bioink materials for 3D bioprinting, especially for the use of knee joint cartilage tissue as meniscus.

## 2. MATERIAL AND METHODS:

### 2.1. Chemicals and devices

Bovine gelatine (ZAG chemical), Halloysite (ESAN), Alginate (Aromel Kimya), Nanocellulose, Hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and Glycidyl methacrylate (GMA) (Sigma) were obtained from the company. Magnetic stirrer (FAITHFUL) and thermometer were used in the preparations.

### 2.2. Preparation of Bioinks

#### 2.2.1. Preparation of gelatin-based bioinks

##### a. Preparation of Gelatin-Hydroxyethyl methacrylate (HEMA)/ glycidyl methacrylate (GMA) bioinks

10g of gelatin was weighed on a precision balance. Then 100 mL of 0.1 M pH=7.4 phosphate buffer was added. The mixture was placed on a magnetic stirrer and stirred with

heating until gelatinous. When the temperature of the solution reached 60°C and became homogeneous, 8 mL of HEMA/GMA monomer was added at 1 mL per minute while stirring. After mixing for 4 hours, it was stored at +4°C [6].

##### b. Preparation of halloysite-doped gelatin-based bioinks

To add Halloysite to the prepared Gelatin-HEMA and Gelatin-GMA bioinks, 10 g of Halloysite was dissolved in 100 mL of distilled water and stirred for 1 hour by slightly heating in a magnetic stirrer until it reached a semi-fluid consistency. 10% Halloysite was added to the prepared Gelatin-HEMA and Gelatin-GMA bioinks, mixed for 2 hours, then stored at +4°C [7].

##### 2.2.3. Preparation of alginate-based bioinks

##### a. Preparation of sodium alginate-nanocellulose bioinks

50 g of sodium alginate was weighed on a precision balance and 500 mL of 0.1 M pH=7.4 PBS buffer solution was added. The resulting mixture was placed on a magnetic stirrer and mixed by slightly heating. When the mixture became semi-fluid, 4% nanocellulose was added to the solution and mixed for 4 hours [8].

##### b. Preparation of halloysite-doped sodium alginate-nanocellulose bioinks

To add Halloysite to the prepared sodium alginate-nanocellulose bioinks, 10 g of Halloysite was dissolved in 100 mL of distilled water and mixed for 1 hour by slightly heating in a magnetic stirrer until it reached a semi-fluid consistency. 10% Halloysite was added to sodium alginate-nanocellulose bioinks and mixed for 2 hours, then stored at +4°C.

## 2.3. Characterization of Bioinks

Prepared bioink materials were characterized by advanced characterization method as Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Water retention analysis, Contact Angle Measurements and Viscosity Analysis. For SEM analysis, samples were prepared in dry form. The samples to be analyzed were prepared with the help of QUORUM Q150 RES Coating and Drying devices, and then the analysis was performed with the Carl Zeiss 300VP SEM Device. For contact angle analysis, samples were prepared in dry form and Attension Theta device was used for analysis. For FTIR analysis, samples were prepared in dry form and Bruker Alpha II FTIR device (wavelength range of 400-4000 cm<sup>-1</sup>) was used for analysis. For viscosity analysis, samples were prepared in liquid form and the analysis was performed with the Hybrid Rheometer Discovery HR-2 Device.

The swelling behaviour of the bioinks to be 3D printed was evaluated using a traditional gravimetric method. For this, the initial dry weight (W<sub>d</sub>) of the constructs was noted, followed by their immersion in PBS (pH 7.4) at 37 °C.

At predefined time points, wet structures were removed, excess surface fluid was removed using filter paper, and the swollen weight (W<sub>s</sub>) was recorded. The study was performed in triplicate under the same conditions and the swelling ratio (SR) was obtained using Equation 1 [9].

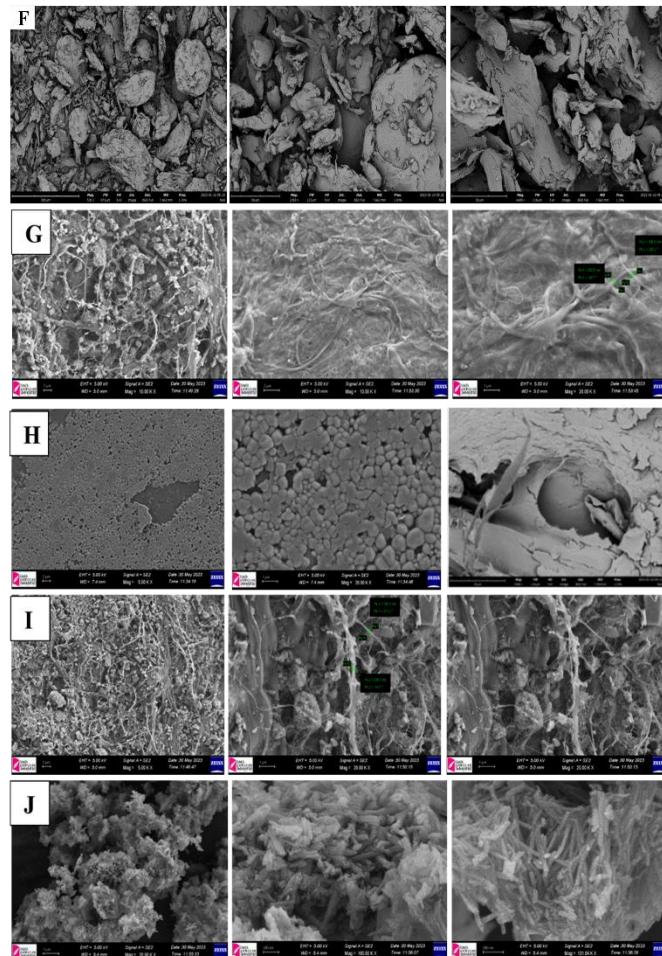
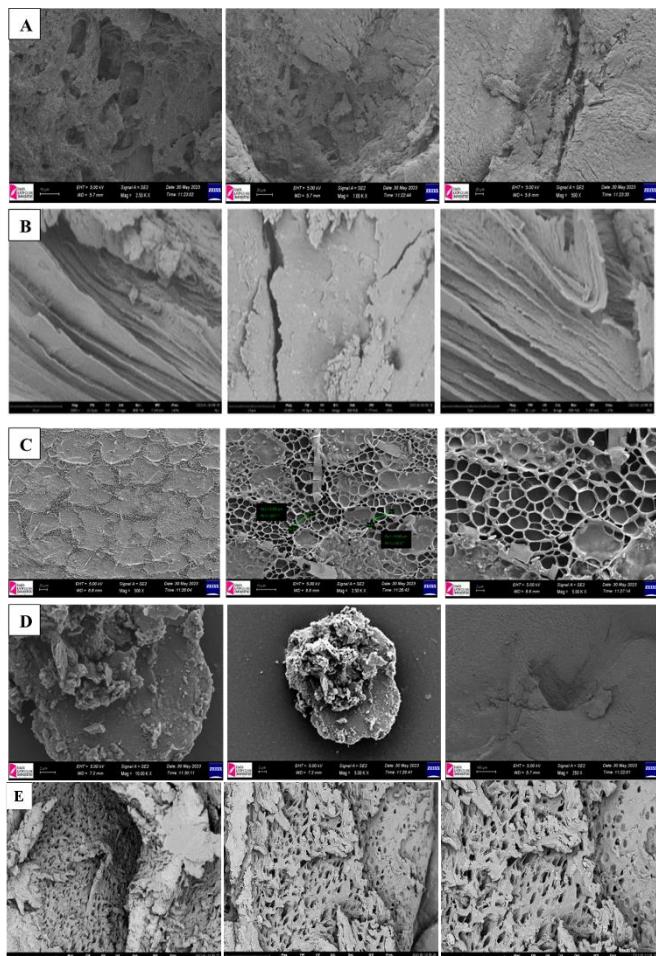
$$SR = \left( \frac{W_s - W_d}{W_d} \right) \quad \text{Equation (1)}$$



### 2.3. Preparation of 3D bioprinting prototypes of bioinks

CELLINK INKREDIBLE+ device was used to perform 3D bioprinting studies of the developed bioink materials. During printing, the temperature was set as 30°C and Fill Rate (Fr): 100%. Bioink materials were filled into the syringe in the cartridge compartment of the device, the meniscus format converted from STL format to G-code format was defined to

the device and bioprinting was started. After bioprinting, 505 LED UV was applied by dropping 2-3 drops of calcium chloride (CELLINK Crosslinking agent CaCl<sub>2</sub> solution) onto the printing material. At the end of the application, a bioprinting prototype was prepared from the developed bioinks.



**Figure 1.** SEM images of bioinks and materials A) Gelatin (2500 x, 1000x, 5000x); B) Gelatin-HEMA bioinks (7400x, 8300x, 14000x); C) Halloysite doped Gelatin-HEMA bioinks (500x, 2500x, 5000x); D) Gelatin-GMA bioinks (10000x, 5000x, 250x); E) Halloysite doped Gelatin-GMA bioinks (2350x, 3600x, 4900x); F) Alginates (530x, 2350x, 4400x); G) Nanocellulose (10000x, 10000, 20000x); H) Alginate-nanocellulose bioinks (5000x, 20000x, 9200x); I) Halloysite-doped Alginate-nanocellulose bioinks (5000x, 20000x, 20000x); J) Halloysite (20000x, 100000, 131040x)

It is seen that Halloysite added Gelatin-HEMA/GMA bioinks have a porous morphological structure. Its porous structure is suitable for the settlement and growth of cells in case of use in the body, and it provides an advantage in use as a tissue scaffold. It is thought that the remains seen in this general porous structure belong to the contribution of halloysite. The changes in the morphological structure as the gelatin is added

indicates that the preparation has been carried out successfully. When the images of alginate and nanocellulose-based biomaterials are examined, the fact that the new product contains similar morphological structures from both main materials shows that the preparation has been carried out successfully, at the same time it is seen that the halloysite contribution is also included in the structure.



### 3.1.2. Contact Angle Analysis

Bioinks	Contact angle	Average Angle Value (°)
Gelatine		70,66
Gelatine - HEMA		78,13
Halloysite doped Gelatine -HEMA		50,75
Gelatine -GMA		71,23
Halloysite doped Gelatine -GMA		47,87
Alginate		46,59
Alginate- Nanocellulose		35,66
Halloysite doped Alginate- Nanocellulose		33,08
Nanocellulose		19,09
Halloysite		81,43

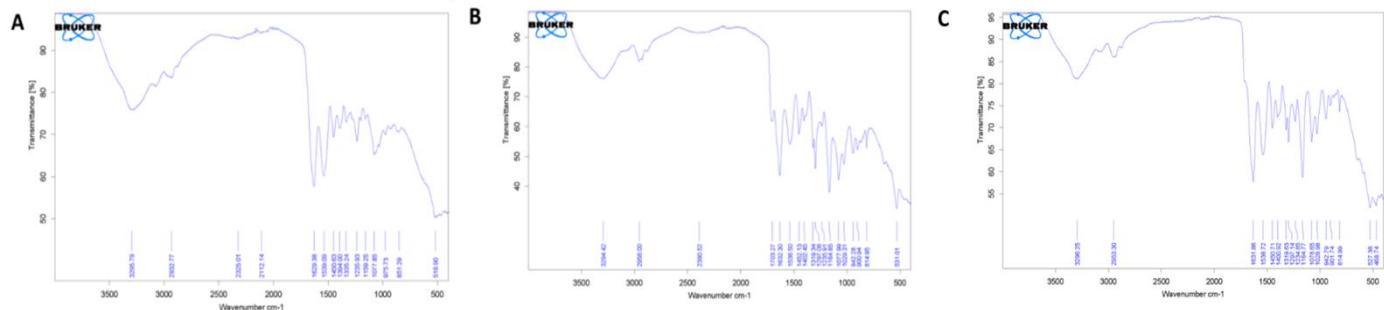
An increase in the contact angle indicates that the substance is more hydrophobic. If  $\theta < 90^\circ$  it is hydrophilic, if  $\theta > 90^\circ$  it is hydrophobic. Looking at the results of the contact angle analysis (Table 1), the average contact angle value of gelatin alone was measured as  $70.66^\circ$ , and when HEMA was added to the mixture as a monomer, the contact angle increased to  $78.13^\circ$ . It can be interpreted that the HEMA monomer additive increased the hydrophobicity of the material. The contact angle with halloysite added to the gelatin-HEMA structure has decreased to  $50.75^\circ$ , and it can be said that the material has begun to gain hydrophilic properties. This may have been due to the hydrophilic properties of halloysite. While the average contact angle value of gelatin was  $70.66^\circ$  alone, when GMA was added to the mixture as a monomer, the contact angle increased to  $71.23^\circ$ . The variation here is less than the mixture with HEMA. In other words, -OH groups from GMA monomer increased the hydrophobicity of the material less than HEMA. The contact angle with halloysite added to the gelatin-GMA structure decreased to  $47.87^\circ$ , and it can be said that the material gained hydrophilic properties. The ability of halloysite to impart hydrophilic properties is consistent with the studies in the literature. In the study of Chen et al., halloysite nanotube additive added to the polyethersulfone matrix improved the membrane hydrophilicity and reduced the contact angle from  $84.9^\circ$  to  $69.8^\circ$  [10]. A similar result was found by Wang et al. observed in their work. Halloysite nanotubes grafted into the polyethersulfone matrix reduced the contact angle from  $83.50^\circ$  to  $58.3^\circ$  [11].

Considering the contact angle analysis of alginate-based bioinks, the average contact angle value for alginate alone was  $46.59^\circ$ . With the addition of nanocellulose, the contact angle decreased to  $35.66^\circ$ , and with the addition of halloysite, the contact angle decreased to  $33.08^\circ$ . In other words, it can be said that the hydrophilic property of the material has increased due to the additions. The hydrophilic feature of the structure with the addition of nanocellulose also overlaps with the literature data. Lee et al. In his study, it was observed that the contact angles decreased with the addition of different cellulose types to the carbon structures. In the study, it is said that the hydrophobic properties of carbon turn into hydrophilic with the addition of cellulose [12]. Yang et al. In another study, the hydrophilic property of the membrane increased with the addition of nanocellulose to polysulfone membranes and the membrane was obtained with algae-free properties [13].

**Table 1.** Contact angle analysis results

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

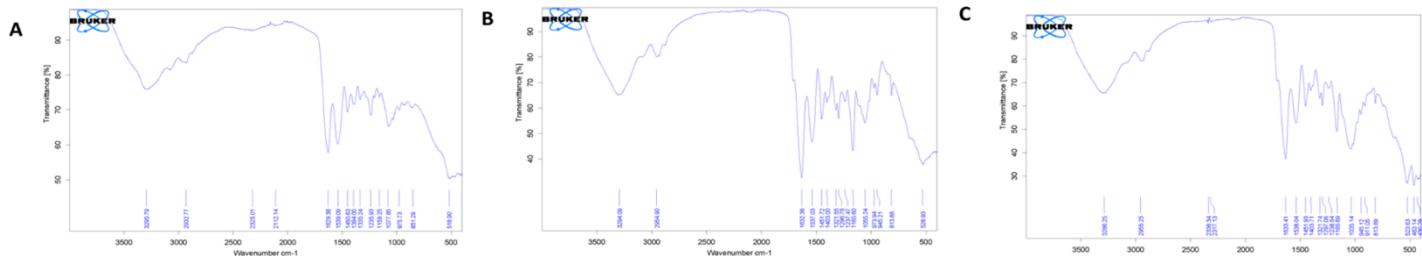
### 3.1.3. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) Analysis



**Figure 2.** FTIR analysis of A) Gelatin, B) Gelatin+HEMA C) Gelatin+HEMA+ Halloysite materials

Absorption peaks at 1629, 1539 and 1235  $\text{cm}^{-1}$  in gelatin are attributed to the presence of  $-\text{C=O}$  (carbonyl),  $-\text{N-H}$  (amide) and  $-\text{C-N}$  (amide III), respectively. The appearance of the broad absorption peak at 3295  $\text{cm}^{-1}$  in gelatin indicates the presence of  $-\text{OH}$  (hydroxyl) and  $-\text{NH}_2$  (amine) groups in their structure [14, 15] (Fig. 2-A). With the addition of HEMA monomer to the structure, a change is observed in the peaks

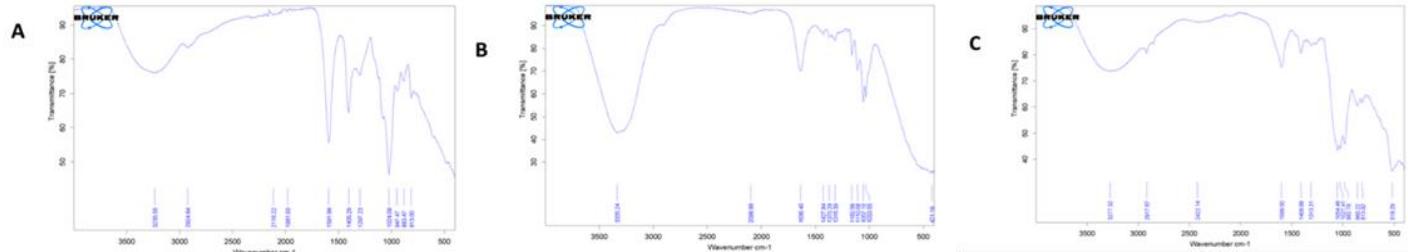
of the  $-\text{OH}$  groups around 3294  $\text{cm}^{-1}$ . Characteristic with HEMA,  $-\text{C=O}$  (1719  $\text{cm}^{-1}$ ),  $-\text{C-O-C}$  (1321–1032  $\text{cm}^{-1}$ ),  $-\text{CH}_2$  (1404–1379  $\text{cm}^{-1}$ ) peaks are observed in Figure 2-B [16] (Fig. 12-B). With the incorporation of halloysite into the structure, the presence of 1297  $\text{cm}^{-1}$ , 1235  $\text{cm}^{-1}$  C-N amide II band and 1070  $\text{cm}^{-1}$  Si-O-Si groups are observed (Figure 2-C).



**Figure 3.** FTIR analysis of A) Gelatin, B) Gelatin+GMA C) Gelatin+GMA+ Halloysite materials

Similarly, with the inclusion of GMA in its structure, a peak is observed in gelatin peaks, especially in the 945  $\text{cm}^{-1}$  part, originating from the epoxy groups of GMA [17]. Moreover, the intensity of the band assigned to carbon-oxygen (C-O)

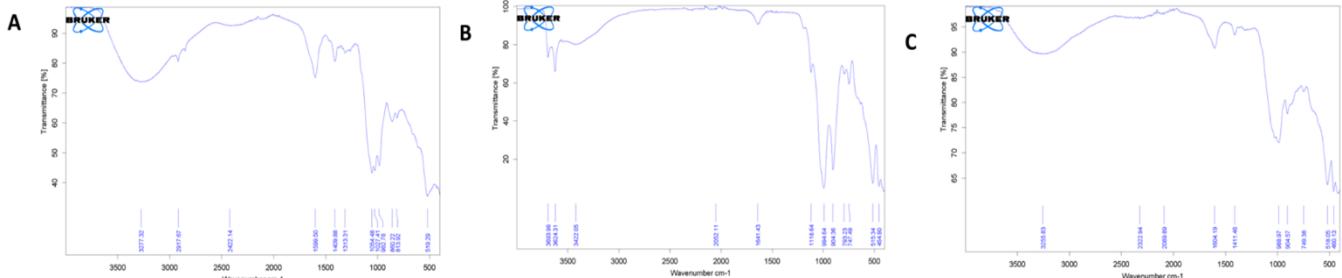
stretch (approximately 1165  $\text{cm}^{-1}$ ) increased due to the presence of the GMA fragment (Fig. 3-B). With the incorporation of halloysite into the structure, changes in the 1297  $\text{cm}^{-1}$ , 1238  $\text{cm}^{-1}$  C-N amide II band and the presence of 1035  $\text{cm}^{-1}$  Si-O-Si groups are observed (Figure 3-C)



**Figure 4.** FTIR analysis of A) Alginate, B) Nanocellulose, C) Alginate+Nanocellulose

Alginate exhibits absorption peaks at 3235 and 1591  $\text{cm}^{-1}$ , which are respectively in their structure. It shows the presence of  $-\text{OH}$  (hydroxyl) and  $-\text{C=O}$  (carbonyl) groups [14, 15] (Figure 4-A). The peak of C-H and C-O vibrations in the polysaccharide rings of cellulose is around 1370  $\text{cm}^{-1}$ . The vibration of C-O-C in the pyranose ring is indicated by the absorption peak at 1057  $\text{cm}^{-1}$ . It appears that the

nanocellulose showed a strong band typical cellulose II structure at 3335  $\text{cm}^{-1}$ . These bands are characteristic of cellulose II allomorphs [24] (Fig. 4-B). With the incorporation of nanocellulose into the alginate structure, vibrational bands of C-H groups are observed at 2917  $\text{cm}^{-1}$  and deformation of methyl groups ( $\text{CH}_2$ ) at around 1427  $\text{cm}^{-1}$ ; The absorption bands at 1313 and 982  $\text{cm}^{-1}$  belong to the polysaccharide structure of cellulose [18] (Figure 4-C).



**Figure 5.** FTIR analysis of A) Alginate+Nanocellulose B) Halloysite C) Alginate+Nanocellulose+Halloysite materials

From the halloysite spectra, the band at  $515\text{ cm}^{-1}$  indicates the deformation vibration of Al–O–Si and the absorption peak at  $3422\text{ cm}^{-1}$  is attributed to the O–H stretching of water. While  $904\text{ cm}^{-1}$  can be assigned to Al–O–OH vibration, the peaks at  $3693$  and  $3624\text{ cm}^{-1}$  are due to stretching vibrations of the inner surface Al–OH groups. A very strong O–Si–O absorption peak was observed at approximately  $994\text{ cm}^{-1}$  and peaks at  $747$ ,  $793$ ,  $1118\text{ cm}^{-1}$  were assigned to the stretching

mode of the apical Si–O. The interlayer water can be identified by the bending vibration reflected as a peak at  $1641\text{ cm}^{-1}$  [19] (Figure 5-B). With the incorporation of halloysite into the structure, a change is observed in the vibrational bands of the C–H groups at  $2917\text{ cm}^{-1}$  in the spectrum of the alginate+nano-cellulose structure. With halloysite, the peak of  $904\text{ cm}^{-1}$  of characteristic Al–O–OH vibration and  $749\text{ cm}^{-1}$  of apical Si–O tension appears (Figure 5-C).

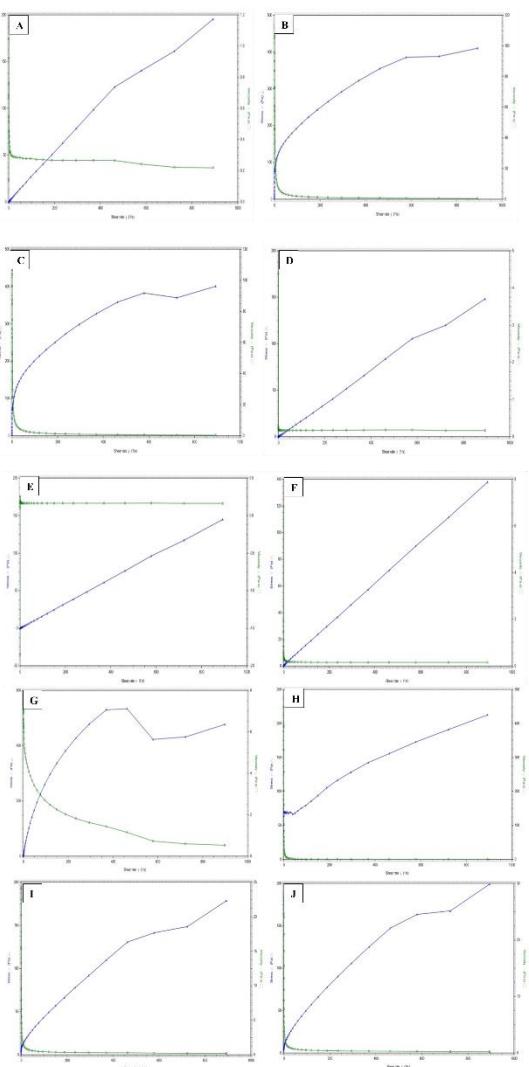
### 3.1.4. Viscometer Analysis

Bioinks	Viscosity Values (Pa.s)
Gelatine	0,38
Gelatin+HEMA	29,29
Gelatin+HEMA+Halloysite	28,93
Gelatin+GMA	0,28
Gelatin+GMA+Halloysite	0,12
alginate	4,46
Alginate+Nanocellulose	5,50
Alginate+Nanocellulose+Halloysite	5,97
Nanocellulose	68,54
Halloysite	0,51

**Table 2.** Viscometer analysis

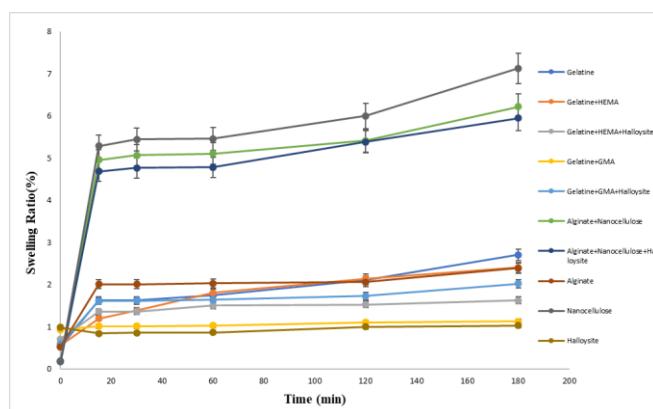
As a result of viscometer analysis, an increase in viscosity was observed with the addition of HEMA and halloysite to gelatin, while a decrease was observed when GMA and halloysite were added. For alginate, the addition of nanocellulose and halloysite increased the viscosity. Nanocellulose appears to be a highly viscous material on its own. However, among the generally obtained bioinks, gelatin-based ones are more viscous than alginate-based ones (Table 2). Viscosity analysis is critical for printing prepared bioinks. The bioprinting techniques to be used require bioinks

with the desired viscosity to achieve high print resolution, shape accuracy. For example, droplet-based bioprinting is compatible with low-viscosity bio-inks. However, a wider range of bioinks can be used in extrusion-based bioprinting, from low viscosity to high viscosity. During a typical printing process, bio-ink is subjected to different cutting speeds. Accordingly, characterizing viscosity over a wide range of shear rates associated with the printing process is crucial for the successful design and development of bioinks. For example, when extruded from a small nozzle, it is subjected to relatively high shear speeds and must exhibit shear thinning. However, upon deposition, the shape must regain accuracy and mechanical integrity. High-viscosity hydrogels with poor fluidity are easy to clog the printing nozzle, and only a fiber-based structure can be created from high-viscosity bioink instead of microspheres [20,21]. When the shear rate-stress graphs of the viscosity are examined (Figure 6), it is seen that the structures respond much more homogeneously to stress and become structurally stable after each additive. The gelatin-GMA structure produced a more linear stress response graph after the halloysite addition.

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

**Figure 6.** Viscosity analysis of A) Gelatin, B) Gelatin-HEMA, C) Gelatin-HEMA-Halloysite, D) Gelatin-GMA, E) Gelatin-GMA-Halloysite, F) Halloysite, G) Alginate, H) Nanocellulose, I) Alginate-Nanocellulose, J) Alginate-Nanocellulose-Halloysite bioinks

### 3.1.5. Swelling Analysis



**Figure 7.** Results of swelling behaviour analysis of bioinks

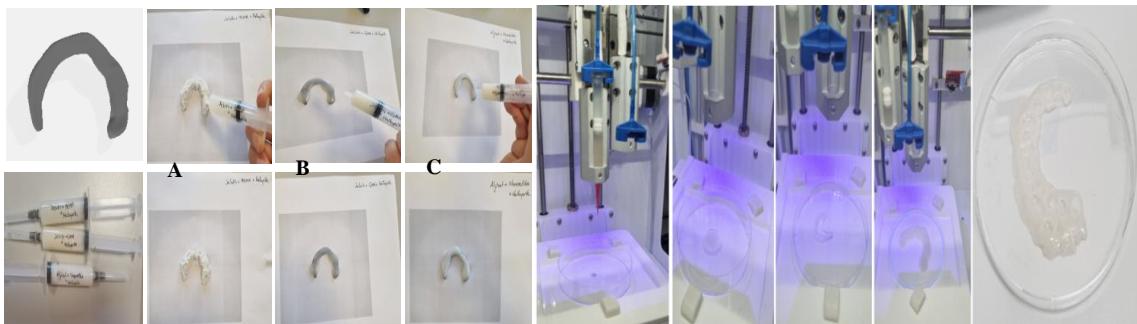
According to the data obtained from the graph in Figure 7, the water retention rates of the materials can be listed as follows: nanocellulose, alginate-nanocellulose, alginate-nanocellulose-halloysite, gelatin, gelatin-HEMA, alginate, gelatin-GMA-halloysite, gelatin-HEMA-halloysite, gelatin-GMA, halloysite. Alginate-containing composite materials are seen to exhibit higher swelling potential than gelatin-containing materials. It is well known that the swelling potential of scaffolds is profoundly affected by the presence of hydroxyl groups, amorphous regions, degree of crosslinking, and crystallinity. The lower swelling potential of gelatin-based materials is associated with improved cross-linking abilities in the presence of monomers such as HEMA and GMA, which inhibit their water-holding potential. The higher cross-linking ability of gelatin-based composite materials can be explained by the change in the expansion rate of the scaffolds. In alginate-based composite materials, a decrease in the expansion rate was observed with nanocellulose additives, causing a decrease in the swelling potential by showing a semi-solid behavior. Whereas, only alginate or gelatin scaffold exhibits a higher expansion rate, exhibiting minimal solid properties and leading to greater water uptake [15,22]. It has been observed that adding halloysite to the material reduces the water holding capacity, which is in line with the studies in the literature [23]. Since halloysite increases the cross-linking density, it causes a decrease in water holding ability.

### 3.2. 3D bioprinting prototypes of bioinks

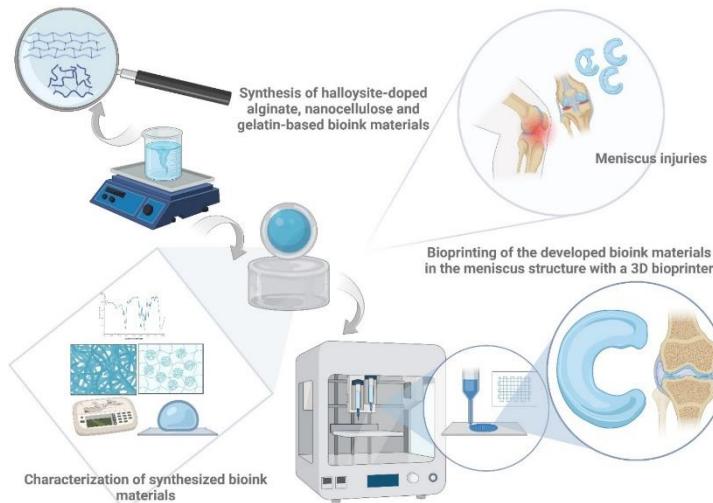
With this preliminary study, the bioprintability of the bioink materials developed in the project was demonstrated. In particular, it was determined that the bioprintability of halloysite-doped alginate-nanocellulose bioinks was higher. It was observed that Halloysite-added Gelatin-HEMA bioinks were in a rigid structure and Halloysite-added alginate-nanocellulose bioinks were more flexible in printings performed with a syringe in the laboratory environment for prototype development (Figure 8).

## 4.DISCUSSION

Within the scope of the study, biomaterials with the potential to be used as bioinks in 3D bioprinters have been developed, especially against meniscus deformations within the scope of cartilage tissue injuries. All the characterization results and the physical structure of the structures printed as prototypes support the printability of biomaterials developed as bioinks in 3D bioprinting. In the study, the bioinks were developed to give a different perspective to cartilage tissue engineering are easy to obtain, very easy to prepare, fast and low cost. Bioinks in the production of artificial cartilage tissue with 3D bioprinting in cartilage tissue injuries, will benefit the biomimicry approach, cartilage tissue engineering, literature and the health sector.

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

**Figure 8.** 3D bioprinting prototypes of bioinks A) Halloysite added Gelatin-HEMA bioinks B) Halloysite added Gelatin-GMA bioinks C) Halloysite added Alginate-Nanocellulose inks



**Figure 9.** Graphical Abstract

## 5. REFERENCES

- Agarwal, S., Saha, S., Balla, V. K., Pal, A., Barui, A., & Bodhak, S. Current developments in 3D bioprinting for tissue and organ regeneration. *Frontiers in Mechanical Engineering*, 2020; 6, 589171.
- Jain, P., Kathuria, H., & Dubey, N. Advances in 3D bioprinting of tissues/organs for regenerative medicine and in-vitro models. *Biomaterials*, 2022; 287, 121639.
- Tan, B., Gan, S., Wang, X., Liu, W., & Li, X. Applications of 3D bioprinting in tissue engineering: advantages, deficiencies, improvements, and future perspectives. *Journal of Materials Chemistry B*, 2021; 9(27), 5385-5413.
- Gungor-Ozkerim PS, Inci I, Zhang YS, Khademhosseini A, Dokmeci MR . Bioinks for 3D bioprinting: an overview. *Biomater Sci*. 2018;6(5):915-946. PMID: 29492503; PMCID: PMC6439477.
- Hospodiuk, M., Dey, M., Sosnoski, D., & Ozbolat, I. T. The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials. *Biotechnology Advances*, 2017; 35(2), 217–239.
- Anirudhan, T. S., & Mohan, A. M. Novel pH sensitive dual drug loaded-gelatin methacrylate/methacrylic acid hydrogel for the controlled release of antibiotics. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 110, 167-178.
- Sánchez Rodríguez, V. H. On the improvement of the process of synthesis of gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels and development of a hybrid nanoparticle-GelMA-based bioink for tissue engineering. 2019.
- Zineh, B. R. An experimental study on the mechanical and biological properties of bio-printed alginate/halloysite nanotube/methylcellulose/Russian olive-based scaffolds. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2018; 8(4), 643.
- Singh, Y. P., Bandyopadhyay, A., & Mandal, B. B. 3D bioprinting using cross-linker-free silk–gelatin bioink for cartilage tissue engineering. *ACS applied materials&interfaces*, 2019, 11(37), 684-696.
- Chen, Y., Zhang, Y., Liu, J., Zhang, H., & Wang, K. Preparation and antibacterial property of polyethersulfone ultrafiltration hybrid membrane containing halloysite nanotubes loaded with copper ions. *Chemical Engineering Journal*, 2012, 210, 298-308.
- Wang, Y., Zhu, J., Dong, G., Zhang, Y., Guo, N., & Liu, J. Sulfonated halloysite nanotubes/polyethersulfone nanocomposite membrane for efficient dye purification. *Separation and Purification Technology*, 2015, 150, 243-251.
- Lee, A., Baek, S., Lee, S., Shin, Y., Sung, Y., Park, T., & Jeong, H. Preparation and characterization of carbon material with cellulose types as an additive in aqueous media. *Diamond and Related Materials*, 2022, 129, 109347.
- Yang, X., Liu, L., & Jiang, S. Enhancement of hydrophilicity and anti-fouling property of polysulfone membrane using amphiphilic nanocellulose as hydrophilic modifier. *Membrane and Water Treatment*, 2019, 10(6), 461-469.
- Shi, L., Xiong, L., Hu, Y., Li, W., Chen, Z., Liu, K., & Zhang, X. Three-dimensional printing alginate/gelatin scaffolds as dermal substitutes for skin tissue engineering. *Polymer Engineering & Science*, 2018, 58(10), 1782-1790.
- Dutta, S. D., Hexiu, J., Patel, D. K., Ganguly, K., & Lim, K. T. 3D-printed bioactive and biodegradable hydrogel scaffolds of alginate/gelatin/cellulose nanocrystals for tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 167, 644-658.
- Vargün, E., & Usanmaz, A. Degradation of poly (2-hydroxyethyl methacrylate) obtained by radiation in aqueous solution. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 2010, 47(9), 882-891.

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

17. Zhao, J., Wang, S., Zhang, L., Wang, C., & Zhang, B. Kinetic, isotherm, and thermodynamic studies for Ag (I) adsorption using carboxymethyl functionalized poly(glycidyl methacrylate). *Polymers*, 2018, 10(10), 1090.
18. Siqueira, P., Siqueira, É., De Lima, A. E., Siqueira, G., Pinzón-García, A. D., Lopes, A. P., ... & Botaro, V. R. Three-dimensional stable alginate-nanocellulose gels for biomedical applications: Towards tunable mechanical properties and cell growing. *Nanomaterials*, 2019, 9(1), 78.
19. Liu, Y., Tang, Y., Wang, P., & Zeng, H. Carbonaceous halloysite nanotubes for the stabilization of Co, Ni, Cu and Zn in river sediments. *Environmental Science: Nano*, 2019, 6(8), 2420-2428.
20. Li, H., Tan, C., & Li, L. Review of 3D printable hydrogels and constructs. *Materials & Design*, 2018, 159, 20-38.
21. Zhang, S., Li, G., Man, J., Zhang, S., Li, J., Li, J., & Li, D. Fabrication of microspheres from high-viscosity bioink using a novel microfluidic-based 3d bioprinting nozzle. *Micromachines*, 2020, 11(7), 681.
22. Patel, D. K., Dutta, S. D., Shin, W. C., Ganguly, K., & Lim, K. T. Fabrication and characterization of 3D printable nanocellulose-based hydrogels for tissue engineering. *RSC advances*, 2021, 11(13), 7466-7478.
23. Luo, Y., & Mills, D. K. The effect of halloysite addition on the material properties of chitosan–halloysite hydrogel composites. *Gels*, 2019, 5(3), 40.
24. Janićijević, A., Pavlović, V. P., Kovačević, D., Perić, M., Vlahović, B., Pavlović, V. B., & Filipović, S. Structural Characterization of Nanocellulose/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Hybrid Nanomaterials. *Polymers*, 2022, 14(9), 1819.



## PP-7: BRAF MUTATION EXISTING WITH RAS MUTATIONS IN NEUROBLASTOMA

### [NÖROBLASTOMDA RAS MUTASYONLARI İLE BİRLİKTE SAPTANAN BRAF MUTASYONU]

Tekincan Cagri AKTAS<sup>1</sup>, Aylin EROL<sup>1</sup>, Deniz KIZMAZOGLU<sup>2</sup>, Safiye AKTAS<sup>1\*</sup>, Nur OLGUN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylul University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Turkey

<sup>2</sup>Dokuz Eylul University, Institute of Oncology, Department of Pediatric Oncology, Izmir, Türkiye

Tekincan Aktas, ORCID NO: 0000-0002-4960-5225

Aylin Erol, ORCID NO: 0000-0002-1019-0026

Deniz Kizmazoglu, ORCID NO: 0000-0001-6269-187X

Prof.Dr.Safiye Aktas, ORCID NO: 0000-0002-7658-5565

Prof.Dr.Nur Olgun, ORCID NO: 0000-0001-9591-0207

\*Corresponding Author: Safiye Aktas

safiyeaktas@gmail.com

#### ABSTRACT

**Objectives:** BRAF is a proto-oncogene, functioning in mitogen- activated protein kinase signalling pathway. BRAF mutations are classified as class I: V600E mutant type that is observed in melanoma, colorectal cancer, multiple myeloma, but it is very rare in neuroblastoma. New types of mutations (classes II and III) are now defined in cancer, including aberrant transcriptional gene regulation. Class II includes non-V600E mutations in RAS binding domain, ras wild type, ras independent kinase activated. Class III incudes mutations in in kinase domain, RAS dependent, RAS mutant. The aim of this study is to evaluate BRAF mutations in neuroblastoma.

**Materials-Methods:** This study included eight cases with different BRAF mutations other than V600E among 45 relapsed or refractory neuroblastoma cases. DNA was extracted from paraffin embedded tumour tissues and target capture based next generation sequencing was performed.

**Results:** The mean age of the patients is 55 months. Three cases were MYCN amplified. E451G, G460E missense mutations were observed in two cases. E451K, R444G, V459A, T470A (two cases), R462G, R443K, L441P missense benign mutations and W450Ter stop gained mutations were observed. All of the cases had missense multiple HRAS, NRAS, KRAS mutations. No BRAF fusion was observed in any of the cases.

**Conclusions:** We think that these rare BRAF mutations observed in neuroblastoma with one or more RAS mutations might be classified in Class III. The prognostic and therapeutic role of BRAF mutations coexisting with KRAS mutations shall be explored in neuroblastoma. We firstly

describe rare BRAF mutations together with RAS mutations.

**Keywords:** Neuroblastoma, BRAF, RAS, mutation, targeted therapy

**Amaç:** BRAF, mitojenle aktive olan protein kinaz sinyal yolunda çalışan bir proteini kodlayan bir protoonkogendir. BRAF mutasyonları sınıf I: V600E mutant tipi olarak sınıflandırılır ve melanom, kolorektal kanser, multipl miyelomda görülür ancak nöroblastomda çok nadir görülür. Artık kanserde anormal transkripsiyon gen regülasyonu da dahil olmak üzere yeni mutasyon türleri (sınıf II ve III) tanımlanıyor. Sınıf II, ras bağlanma alanındaki V600E olmayan mutasyonları, ras wild tipini, ras bağımsız kinazla etkinleştirilmiş vakaları içerir. Sınıf III, kinaz alanındaki, RAS'a bağımlı, RAS mutant vakalarındaki mutasyonları içerir. Bu çalışmanın amacı nöroblastomda BRAF mutasyonlarını değerlendirmektir.

**Yöntem:** Bu çalışmaya relaps veya refrakter 45 nöroblastom vakası içerisinde V600E dışında farklı BRAF mutasyonları olan 8 vaka dahil edildi. Parafine gömülü tümör dokularından DNA ekstrakte edildi ve hedef yakalamaya dayalı yeni nesil dizileme yapıldı.

**Bulgular:** Hastaların ortalama yaşı 55 aydır. Üç vakada MYCN amplifikasyonu yapıldı. İki vakada E451G, G460E missense olası zarar verici mutasyonlar gözlandı. E451K, R444G, V459A, T470A (iki vaka), R462G, R443K, L441P missense benign mutasyonlar ve W450Ter stop kazanılmış mutasyonlar gözlandı. Vakaların hepsinde missense çoklu HRAS, NRAS, KRAS mutasyonları vardı. Hiçbir olguda BRAF füzyonu görülmeli.

**Sonuç:** Nöroblastoma tümör dokularında nadir görülen ve bir veya daha fazla RAS mutasyonun da bulunduğu bu nadir BRAF mutasyonlarının Sınıf III grupta sınıflandırılabilirliğini düşünüyoruz. Bu mutasyonlar P döngüsüne yakındır (G466). Nöroblastomda KRAS mutasyonlarıyla birlikte bulunan BRAF mutasyonlarının prognostik ve terapötik rolü araştırılacaktır. Bu çalışmada öncelikle nadir görülen Braf mutasyonlarını ras mutasyonlarıyla birlikte tanımladık.

**Anahtar Kelimeler:** Nöroblastom, BRAF, RAS, mutasyon, hedeflenmiş tedavi

#### INTRODUCTION:

Neuroblastoma (NB) is a childhood cancer in which new mutations are needed to be defined for new therapeutic approaches. NBs are classified in risk categories according to International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Staging System using wide range of clinical, pathologic and molecular characteristics [1]. In Turkey, Turkish Paediatric Oncology Group, association has a national NB study that is coordinated by Dokuz Eylul University. The molecular studies of all cases form Turkey is done by our Basic Oncology Department. We perform Next Generation Sequencing (NGS) for selected relapsed or refractory NB



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

cases. NB is a molecular heterogenic disease. Multiple genetic mutations are observed. Amplification of NMYC gene is a worse prognostic factor in NB. Segmental chromosome abnormalities, including deletions of 1p and 11q and gain of 17q, are common in high-risk NB, while whole chromosomal gains are found in low-risk disease. This finding directly takes NB patient to high-risk category. Anaplastic Lymphoma kinase (ALK) mutations is one of the most important genes as a targeted therapy in NB. Its importance is well-defined [2]. It is most frequently mutated gene in NB. However, importance of BRAF mutations in NB is not well understood yet.

BRAF gene is located on 7q34 chromosomal location. Its protein is formed by 766 amino acids. It has the strongest capacity to phosphorylate MEK 1 and MEK2 in MAPK/ERK signalling pathway (the RAS-RAF-MEK-ERK pathway). Some cytokines, growth factors, hormones, and environmental stressors activates this pathway in normal conditions. When BRAF is mutated, a continuous activation occurs. Dysregulation in the MAPK/ERK cascade due to mutations in constituent proteins of this pathway, including RAS (KRAS and NRAS) and RAF (BRAF), is associated with many types of cancer [3]. The V600E mutation (Class I) has been linked to melanoma, colorectal cancer, multiple myeloma, and other types of cancers. Importantly, emerging evidence has recently indicated that new types of mutations (classes II and III) also play a paramount role in the development of cancer [4, 5].

BRAF mutations are rare in childhood solid tumours. It is very rare in NB. 1.7% BRAF mutations was found in embryonal rhabdomyosarcoma and 1.3% of Ewing sarcoma. This mutation does not seem to play role in tumorigenesis. It might play an oncogenic role in a small group of NB and paediatric solid tumours [6, 7]. Instead, its importance is on the subject that it might be a possible target of therapy when found to be mutated in a tumour. BRAF mutations are becoming an agnostic marker like NTRK mutations. When BRAF gene is mutated in codon 600 of exon 15 (V600E), it is caused by hyperactivation of signalling pathway. A missense mutation caused BRAF to cause signalling pathway activation without RAS activating function.

In NB BRAF, mutations are very few identified. Shahid et al found and reported BRAFV600E mutation in two patients [8]. As a series of 192 NB cases, only one BRAFV600E was reported, with an incidence less than 1%. BRAFF595L mutation was reported in one NB patient.

In this study, we aimed to report rare BRAF mutations in association with RAS mutations in NB.

### MATERIALS AND METHOD:

Ethical Approval was taken from Dokuz Eylül University Non-invasive Research Ethics Committee (14.12.2022, No: 2022/40-03) Informed Consent was signed to parents of the patients.

Among 45 relapsed or resistant NB cases, eight cases with different BRAF mutations other than V600E were included in this study. DNA was extracted from paraffin-embedded tumour tissues and next-generation sequencing based on target capture was performed. Pillar ONCO/Reveal Multi-Cancer v4 commercial kit (REF: HRA-HS-1002-24, LOT 23PB0069, Pillar Biosciences, Natick, MA, USA) was used for SNV detection. Pillar Onco/Reveal Multi-Cancer RNA Fusion v2 commercial kit (REF: HRA-HS-1002-24, LOT 23PB0069, Pillar Biosciences, Natick, MA, USA) was used to detect multiple gene rearrangement regions. NGS was performed according to procedures as we previously reported [9].

### Results:

#### Patients:

45 NB cases from a series of 1965 neuroblastic tumours from the Turkish Paediatric Oncology Neuroblastoma Study Group was included in this study. The patients were relapsed or refractory NB cases that are not disease free after salvage therapies. Somatic NGS was applied on solid tumours. Patients were staged and risk-categorized according to the INSR classification. A molecular pathologist and molecular oncologist at a specialist centre in our institute performed molecular tests for NMYC, 11q deletion and DNA ploidy. Trained pathologists carried out Shimada classification. The mean age of the patients is 55 months. Three cases were MYCN amplified.

#### BRAF mutations:

E451G, G460E missense possible damaging mutations were observed in two cases. E451K, R444G, V459A, T470A (two cases), R462G, R443K, L441P missense benign mutations and W450Ter stop gained mutations were observed. All of the cases had missense multiple HRAS, NRAS, KRAS mutations. No BRAF fusion was observed in any of the cases.

### DISCUSSION:

In this study, we report BRAF mutations in eight NB cases. We detected rare BRAF mutations coexisting with RAS mutations. This situation fits to class III BRAF mutations. E451G, G460E missense possible damaging mutations were observed in two cases. E451K, R444G, V459A, T470A (two cases), R462G, R443K, L441P missense benign mutations and W450Ter stop gained mutations were observed. All of the cases with BRAF mutation also had missense multiple HRAS, NRAS, KRAS mutations. No BRAF fusion was observed in any of the cases. When we compare with literature, these findings are a well-defined series on BRAF rare mutations in NB.

BRAF gene coded a oncogenic protein that is a component of mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinases (MAPK/ERK) signalling pathway. This pathway finally activates proliferation related genes in the nucleus. The main function of the MAPK/ERK pathway is to regulate cell growth, migration, and proliferation.

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

When BRAFV600E mutation exists, the signalling pathway is continuously active without external stimulus [4]. Recently BRAF mutations are classified in three categories. In class I, the tumours have V600 related mutation. They are kinase activated. The BRAF proteins are monomers. In addition, this class is RAS-independent. In class II, the tumour DNA has mutations of BRAF other than V600. These tumours are also kinase activated and RAS- independent. However, BRAF proteins form dimers. Class III tumours are non- V600 mutant like class II. However, they are kinase impaired. They are RAS-dependent and the BRAF proteins are in heterodimer configuration with a wild type CRAF protein. When we compare with our cases, our cases seems to fit to class III category [7].

In class III, the most common defined mutations are D287H, V459L, G466V, G466E, G466A, S467L, G469E, N581S, N581I, D594N, D594G, D594A, D594H, F595L, G596D, and G596R. In our study, the new mutations detected not found in this list are, E451G, G460E, E451K, R444G, V459A, T470A, R462G, R443K and L441P. D594 related mutations are found in colorectal cancer, malign melanoma, multiple myeloma, nonsmall cell lung cancer [3].

Recently Toutain reported a letter to the editor of a NB case in which BRAF inhibitor Trametinib for a BRAF G469A Missense Mutation was used. The mutation was detected by blood- driven liquid biopsy. The commercially available Foundation One® Liquid CDx was used. According to lung cancer experience and parents' will, a compassionate treatment with trametinib was introduced. Treatment was well tolerated and after 8 months, it led to a sustained disease stabilization [10]. Our findings might give targeted therapy chance to relapsed, refractory NB cases. In children with low-grade glioma mutation BRAF G469A can be found in 4.5% of the patients.

In conclusion, we think that these rare BRAF mutations observed in neuroblastoma tumour tissues that also had one or more RAS mutations might be classified in Class III group. These mutations are near P loop (G466). The prognostic and therapeutic role of BRAF mutations coexisting with KRAS mutations shall be explored in neuroblastoma. We firstly describe rare BRAF mutations together with RAS mutations that fit to class III. High lightening of mutations that might contribute to tumorigenesis as oncogenic drivers and as a candidate target of therapeutic marker seems to be very important in paediatric tumours and NB.

**Acknowledgement:** The authors declare no conflict of Interest.

## REFERENCES:

- Monclair T, Brodeur GM, Ambros PF, Brisse HJ, Cecchetto G, Holmes K et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) staging system: an INRG Task Force report. *J Clin Oncol* 2009;27:298-303.
- Mossé YP, Laudenslager M, Longo L, Cole KA, Wood A, Attiyeh EF et al. Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. *Nature* 2008;455(7215):930-35.
- Śmiech M, Leszczyński P, Kono H, Wardell C, Taniguchi H. Emerging braf mutations in cancer progression and their possible effects on transcriptional networks. *Genes (Basel)* 2020; 12;11:1342.
- Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417(6892):949-54.
- Loo E, Khalili P, Beuhler K, Siddiqi I, Vasef MA. BRAF V600E mutation across multiple tumor types: correlation between DNAbased sequencing and mutation-specific immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2018;26:709-13.
- Hutchins SC, Ferguson SR, Li G, Beierle EA, Alva E. BRAF mutation in neuroblastoma: A rare finding. *Pediatr Blood Cancer* 2023;70:e29945.
- Shukla N, Ameur N, Yilmaz I, Nafa K, Lau CY, Marchetti A et al. Oncogene mutation profiling of pediatric solid tumors reveals significant subsets of embryonal rhabdomyosarcoma and neuroblastoma with mutated genes in growth signaling pathways. *Clin Cancer Res* 2012;18:748-57.
- Shahid S, Kushner BH, Modak S, Basu EM, Rubin EM, Gundem G, et al. Association of BRAF V600E mutations with vasoactive intestinal peptide syndrome in MYCN-amplified neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2021;68:e29265.
- Aktas T, Kizmazoglu D, Aktas S, Erol A, Serinan E, Gokbayrak O, et al. Unraveling the mystery: next generation sequencing sheds light on neuroblastoma pathogenesis and targeted therapies. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2023;28:171-7.
- Toutain G, Min V, Rome A, Andre N. Trametinib for a BRAF G469A missense mutation in a neuroblastoma unveiled by liquid biopsy. *Pediatr Blood Cancer* 2022;69:e29742.

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models**PP14: EFFECT OF CURCUMIN ON RADIOTHERAPY/CHEMOTHERAPY-INDUCED ORAL MUCOSITIS: META-ANALYSIS****[KURKUMİN'İN RADYOTERAPİ/KEMOTERAPİ NEDENLİ ORAL MUKOZİTE ETKİSİ: META ANALİZ]**

**Yagmur KAYA<sup>1\*</sup>, Arzu UYAR<sup>2</sup>, Hilal KOCDOR<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Institute of Izmir High Technology, Faculty of Engineering, Department of Bioengineering, Izmir, Türkiye

e-mail: yagmur.kaya21@ogr.deu.edu.tr

ORCID: 0000-0002-6448-373X

ORCID: 0000-0003-2357-1941

ORCID: 0000-0002-6935-3993

\*Corresponding Author: Yagmur KAYA

**ABSTRACT**

**Objectives:** Oral mucositis (OM) is characterized by inflammation of the oral mucosa membrane. It is common in patients receiving radiotherapy and/or chemotherapy. Curcumin (Crc) is a polyphenol obtained from *Curcuma Longa*. It has antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, anticarcinogenic effects and radiosensitizer/chemosensitizer properties. The aim is to evaluate clinical studies examining its effectiveness against OM seen in patients receiving radiotherapy and/or chemotherapy.

**Materials-Methods:** To evaluate the current findings, a systematic review and meta-analysis of clinical studies investigating the effect of curcumin on OM was performed. After scanning 2 different databases, defining inclusion and exclusion criteria, and evaluating the suitability of the data, 4 studies were included in the analysis. Meta-analysis was performed using PythonMeta with a 95% confidence interval.  $I^2$  method to evaluate heterogeneity between studies, Funnel Plot was used to analyze publication bias

**Results:** 4 studies with a total of 164 patients were evaluated using 14-day treatment data. Curcumin used in different doses and forms was found to be more effective on OM (Heterogeneity:  $Q(\text{Chisquare}) = 5.11 (p = 0.171)$ ;  $I^2=41.33\%$  Overall effect test:  $z=3.81, p=0.000$ ).

**Conclusion:** In the meta-analysis results examined, it is seen that 14-day curcumin application is effective in the treatment of OM. It appears that there are deficiencies in conducting meta-analyses of clinical studies, sharing various data forms of articles in the literature, and sharing all necessary statistical analysis results. This limitation limits the effectiveness of meta-analysis studies. In presenting clinical study findings that contribute greatly to the literature, there is a need

to systematically and clearly present statistical data (number of weekly recoveries, average and standard deviation, etc.) as well as shared graphs.

**Keywords:** Radiotherapy, Chemotherapy, Oral mucositis, Curcumin

**Amaç:** Oral mukozit (OM), mukozal ve submukozal değişikliklerin eşlik ettiği oral mukoza zarının inflamasyonu ile karakterizedir. Radyoterapi ve/veya kemoterapi uygulanan hastalarda yaygındır, ağrılı lezyonlarla sonuçlanır. Kurkumin (Crc), *Curcuma Longa*'nın rizomlarından elde edilen doğal bir polifenoldür. Antioksidan, antiinflamatuar, antimikrobiyal, antikarsinojenik etkilere ve radiosensitizer/kemosensitizer özelliklere sahiptir. Bu çalışmanın amacı, kurkumin'in radyoterapi ve/veya kemoterapi alan hastalarda görülen OM'ye etkinliğinin incelendiği klinik çalışmaların değerlendirilmesidir.

**Gereç-Yöntem:** Mevcut bulguların değerlendirilmesi amacıyla, kurkumin'in OM üzerine olan etkisini araştıran klinik çalışmaların sistematik bir incelemesi ve meta-analizi gerçekleştirildi. Bu amaçla 2 farklı veri tabanı tarandı. Dahil etme ve dışlama kriterleri tanımlandıktan sonra toplam 10 adet makale seçildi. Makale verilerinin meta analize uygunluğu değerlendirildikten sonra nihai olarak 4 çalışma analize alındı. Meta analiz %95 güven aralığında PythonMeta kullanılarak gerçekleştirildi.  $P<.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Çalışmalar arası heterojenliği değerlendirmek için  $I^2$  yöntemi, yayın yanlışlığının analizi için Funnel Plot kullanıldı.

**Bulgular:** Toplam 164 hastanın bulunduğu 4 çalışma, 14 günlük tedavi dasası kullanılarak değerlendirildi. Farklı dozlarda ve formlarda kullanılan kurkumin, karşılaştırma grupları ile kıyaslandığında OM üzerinde daha etkin bulundu (Heterogeneity:  $Q(\text{Chisquare}) = 5.11 (p=0.171)$ ;  $I^2=41.33\%$  Overall effect test:  $z=3.81, p=0.000$ ).

**Sonuç:** İncelenen meta analiz sonuçlarında 14 günlük kurkumin uygulamasının, OM tedavisinde etkili olduğu görülmektedir. Klinik çalışmaların meta analizlerinin yapılmasında, literatürde bulunan makalelere ait çeşitli veri formlarının ve gerekli tüm istatistiksel analiz Sonuçlarının paylaşılmasında eksiklikler olduğu görülmektedir. Bu kısıtlılık meta analiz çalışmalarının etkinliğini sınırlamaktadır. Literatüre büyük ölçüde katkı sağlayan klinik çalışma bulgularının sunulmasında, paylaşılan grafiklerin yanı sıra istatistiksel verilerinde (haftalık iyileşen sayısı, ortalama ve standart deviasyon vb.) sistematik olarak açık ve net şekilde ortaya konmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Radyoterapi, Kemoterapi, Oral mukozit, Kurkumin

**INTRODUCTION:**

In cancer treatment, radiotherapy and chemotherapy are used either alone or in combination depending on the stage of cancer. While radiation therapy is based on destroying cancer cells using ionizing radiation, chemotherapy primarily



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

involves the use of cytotoxic and antineoplastic agents. However, these treatments can cause short-term or long-term side effects. [1].

Oral mucositis (OM) is a commonly encountered side effect of cancer treatment, particularly radiotherapy and chemotherapy. It is characterized by pain, ulceration, erythema, and white patches on the mucosa. Due to its symptoms, oral mucositis often leads to the interruption of radiotherapy and chemotherapy, which can have a significant impact on the success of cancer treatment [2,3].

In radiation-induced oral mucositis, serious damage to the oral epithelium occurs along with the onset of pain within two weeks following treatment. These damages result from the triggering of different reactions that lead to the release of inflammatory cytokines and reactive oxygen species [ROS], apoptosis of basal cells, and mucosal inflammation [4]. Chemotherapy-induced oral mucositis, on the other hand, is caused by early release of inflammatory cytokines and ROS and activation of transcription factors such as NF-κB [5].

Approximately 30-40% of cancer patients receiving chemotherapy develop oral mucositis, while this rate increases to 90-97% in the case of radiotherapy, especially used in the treatment of head and neck cancers [6].

The pathophysiology of mucositis is highly diverse. Oral mucositis occurs in five stages: initiation, signaling, amplification, ulceration, and healing.

In the initiation stage, the direct cellular effects are observed through the generation of ROS and the occurrence of DNA damage. In the signaling stage, cascades are activated, leading to the production of proinflammatory cytokines. This activation leads to both lesion formation and the induction of apoptosis in basal cells. In the amplification stage, the secretion of proinflammatory cytokines not only contributes to cellular damage but also leads to an increase in existing lesions. Moreover, the continued release of TNF-alpha, activation of NF-KB, and sustained production of ROS further contribute to mucosal damage. The fourth stage is characterized by the presence of lesions that cause pain, increased inflammation, and the occurrence of new tissue damage. In the final stage, the epithelium enters the healing phase through proliferation [7,8].

Various methods (such as antibiotics, antifungal agents, saline gargles, etc.) are used to manage or prevent the occurrence of OM resulting from radiotherapy and/or chemotherapy. However, these methods are often insufficient in effectively treating and preventing OM [9].

Curcumin (Crc) is a yellow-orange colored polyphenolic compound derived from the rhizomes of the *Curcuma Longa* plant. It is commonly consumed both as a natural food colorant and as a spice in the form of turmeric in popular usage [10].

Curcumin possesses antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, anticarcinogenic, antibacterial, and antifungal properties. Moreover, it is generally well-tolerated and does not exhibit significant side effects [11]. Curcumin exhibits its anti-inflammatory effect by inhibiting the NF-KB pathway and blocking the release of cytokines such as IL-8 [12].

The studies available in the literature emphasize that

curcumin exhibits potential therapeutic and/or preventive effects in oral mucositis due to its anti-inflammatory, antibacterial, and antifungal properties. The aim of our study is to evaluate the effectiveness of curcumin in the treatment of oral mucositis (OM) in patients receiving radiotherapy and/or chemotherapy on the degree of mucositis. We aim to evaluate the effectiveness of curcumin on the basis of the analysis of clinical studies conducted in this context.

## MATERIALS AND METHODS:

A systematic review and meta-analysis of clinical studies for evaluating the effect of curcumin on oral mucositis (OM) were conducted for the purpose of assessing the existing findings. The reports generated in the study were compiled considering the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses (PRISMA) guidelines for reporting elements.

### Data Source and Search Criteria

To identify clinical studies investigating the effects of curcumin on oral mucositis in cancer patients receiving radiation therapy and/or chemotherapy, a systematic literature research was conducted using the keywords 'curcumin AND oral AND mucositis'. From the scanned articles, clinical studies were selected where patients were developing oral mucositis due to radiotherapy and chemotherapy received curcumin treatment. The articles were initially screened based on titles and abstracts, and then the articles that met the inclusion criteria were further examined in full text.

### Eligibility Criteria

#### Inclusion Criteria:

- ✓ Cancer patients receiving radiotherapy and/or chemotherapy
- ✓ Clinical studies using turmeric extract and curcumin as potential therapeutic agents,
- ✓ Studies include a placebo group for the purpose of comparing treatments.

#### Exclusion Criteria:

- ✓ Review articles,
- ✓ *in vitro-ex vivo-in vivo* studies,
- ✓ Case reports,
- ✓ Book chapters,
- ✓ Conference presentations,
- ✓ Meta analysis,
- ✓ Articles studying diseases other than cancer and oral mucositis.

### Assessment of Methodological Quality

Four articles were evaluated with QUADAS (Diagnostic PrecisionStudy Quality Assessment Tool) tool [13]. After 10 questions were answered for each article in each domain, the risk levels were evaluated as 'low risk', 'high risk', and 'uncertain risk'. The evaluated domains were patient selection, index test, reference standard, and flow and timing. A risk graph was created based on the obtained data for each study.



### Statistical Analysis

The meta-analysis was performed using the PythonMeta v1.26 package [14]. The mean and standard deviation values belong to the treatment results using curcumin (experimental group) and placebo/an other compound (control group) were used as input values in the meta-analysis.

The Fixed- and Random-effect models were applied to the data set. Inverse variance algorithm was chosen and the effect size was set as the weighted mean difference. The statistical analysis was performed within 95% confidence interval. The results that have a  $P < .05$  was considered as statistically significant.  $I^2$  was used for the heterogeneity analysis where  $<25$ : low,  $>25-75$ : moderate, and  $>75$ : high heterogeneity.

Both Fixed-effect and Random-effect models were used for the effect size (ES) calculation. The meta-analysis results were reported as Forest and Funnel plots for both Fixed-effect and Random-effect models.

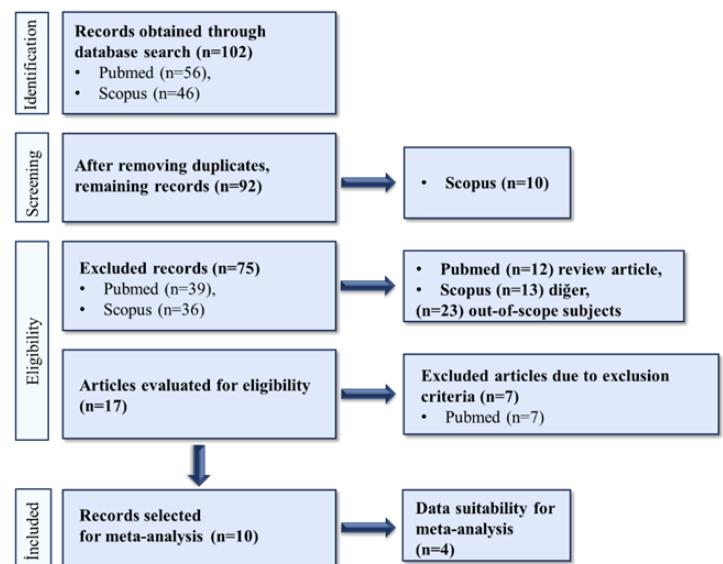
## RESULTS:

### Selection Criteria

A total of 102 articles were screened, with 56 articles from PubMed and 46 articles from Scopus, obtained from two different databases. When the articles that were obtained from PubMed database were examined, 39 articles were excluded from the evaluation as they were non-clinical studies. The remaining 17 articles were selected for full-text review.

When the articles obtained from the Scopus database were examined, 13 articles were not included in the evaluation due to not being clinical studies. When the 33 articles were examined in full text, 23 articles were found to be outside the scope of the subject and therefore not included in the study. Additionally, 10 articles were excluded from the study as they were obtained from PubMed database.

In the end, 10 articles were selected for the meta-analysis. However, after assessing the suitability of the article data for meta-analysis, a final selection of 4 studies were included in the analysis (Figure 1). The selected articles provided data on patient count, age range of patients, types of oncological treatment received by patients, administered potential therapeutic agents, dosage administered, and treatment duration. These data were collected and summarized in Table 1.



**Figure 1.** The representation of the sources included in the meta-analysis in the PRISMA flow diagram.

### Participant Characteristics

The number of participants in the studies ranged from 10 to 31. A total of 164 patients who received radiotherapy and/or chemotherapy were included in the meta-analysis, and the patients were selected regardless of gender. In one article, patients received chemotherapy and chemotherapy plus radiotherapy (Seyed Javad Kia et al. 2021), while in two articles, patients received radiotherapy alone (Delavarian et al., 2019 ve Arun vd., 2020). In one article, both radiotherapy and chemotherapy were administered to the patients (Andrade et al., 2022).

In the 2 selected articles for the meta-analysis, the age ranges were reported as  $55.96 \pm 1.10$  (Seyed Javad Kia et al. 2021) and 30-90 (Arun et al., 2020), respectively. Additionally, it was mentioned that the patients in the 2 articles were 18 years of age or older (Delavarian et al., 2019 and Andrade et al., 2022).

### Treatment Characteristics

In the selected articles for the meta-analysis, one article was used nanomicellar curcumin capsules (Seyed Javad Kia et al., 2021), one article was used a solution in spray form (Andrade et al., 2022), one article was used nanocurcumin (Delavarian et al., 2019), and the last article was used turmeric extract (BCM95).

The treatment dosages were determined as follows: 80 mg of nanomicellar curcumin capsules twice daily for 42 days (Seyed Javad Kia et al., 2021), 10 ml of curcumin spray three times per week for 30 days (Andrade et al., 2022), 80 mg of nanocurcumin once daily for 42 days during radiotherapy (Delavarian et al., 2019), and 500 mg of turmeric capsules (BCM-95) taken three times daily for 28 days.

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

STUDY	NUMBER OF PATIENTS	AGE RANGE	ONCOLOGICAL TREATMENT TYPE	TREATMENT AGENT	DOSAGE	TREATMENT DURATION
Kia et al. 2021	50. Group 1(n=25), Group 2(n=25)	55,96 ± 1,10	n=37 Chemotherapy, n=13 Chemotherapy+Radiotherapy	Group 1:Curcumin Group 2: Placebo	Group 1: 80 mg nanomicellar curcumin capsule twice a day Group 2: Placebo capsule twice daily	42 days
Andrade et al., 2022	30. Group 1 (n=10), Group 2 (n=10), Group 3 (n=10)	18 years and over	Chemotherapy and Radiotherapy	Group 1: Photobiomodulation (PBM) Group 2: antimicrobial photodynamic therapy (Apdt:curcumin and blue led), Group 3: Control (nystatin)	Group 1: 3 times a week for 30 days, Group 2: Once a week for 30 days, Group 3: standard nystatin therapy.	30 days
Delavarian et al., 2019	32. Group 1 (n=16), Group 2 (n=16)	18 years and over	Radiotherapy	Group 1: 80 mg/day oral nanocurcumin Group 2: Placebo tablet containing lactose	Group 1: Once a day for 42 days during radiotherapy, Group 2: Once a day for 42 days during radiotherapy	42 days
Arun et al.,2020	61. Group 1 (n=30), Group 2 (n=31)	30-90	Radiotherapy	Group 1: 500 mg turmeric extract (BCM-95) 3 times a day Group 2: Placebo	Group 1: 500 mg turmeric capsule 3 times a day during radiotherapy (BCM-95), Group 2: Placebo 3 times a day during radiotherapy	28 days

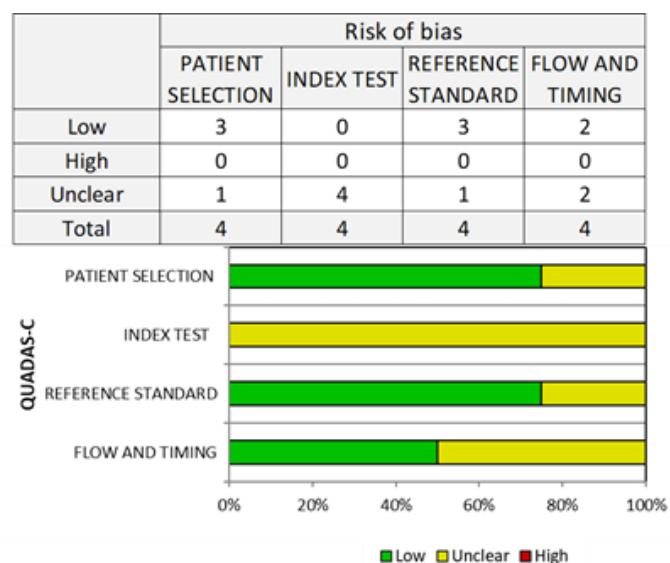
**Table 1:** Characteristics of Included Studies**Clinical Parameters**

In the selected articles for the meta-analysis, WHO scoring system (Seyed Javad Kia et al., 2021, Andrade et al., 2022) and the NCI-CTC scoring system (Delavarian et al., 2019) were used to grade oral mucositis. In one article, both WHO and NCI-CTC scoring systems were used to assess oral mucositis.

**Bias Risk**

In the bias risk analysis were conducted using the QUADAS tool,

- In the patient selection domain, 3 articles were assessed as having a low risk of bias, while 1 article had an uncertain risk of bias,
- In the index test domain, all 4 articles were assessed as having an uncertain risk of bias,
- In the reference standard domain, 3 articles were assessed as having a low risk of bias, while 1 article had an uncertain risk of bias,
- In the flow and timing domain, 2 articles were assessed as having a low risk of bias, while 2 articles had an uncertain risk of bias (Figure 2).

**Figure 2.** Risk graph of the studies included in the meta-analysis

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models**Meta-Analysis Results**

Our meta-analysis were included the Fixed- and Random-effect models where the latter indicates the changes in the effect size in different studies. The Fixed- and Random-effect models were produced very similar results as shown in the Figure 3 that indicate that higher curcumin effect in different doses and forms for the OM treatment compared to other treatment methods in the control groups is statistically significant (Heterogeneity:  $Q(\text{Chisquare})= 5.11$  ( $p=0.171$ );  $I^2=41.33\%$  where Overall effect test:  $z=3.81$  and  $p=0.000$  for the Fixed-effect model; Overall effect test:  $z=2.892$  and  $p=0.004$  for the Random-effect model).

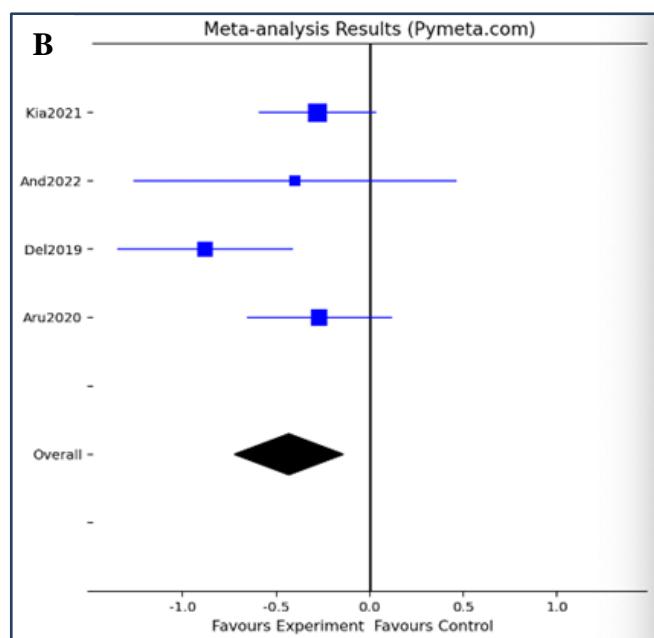
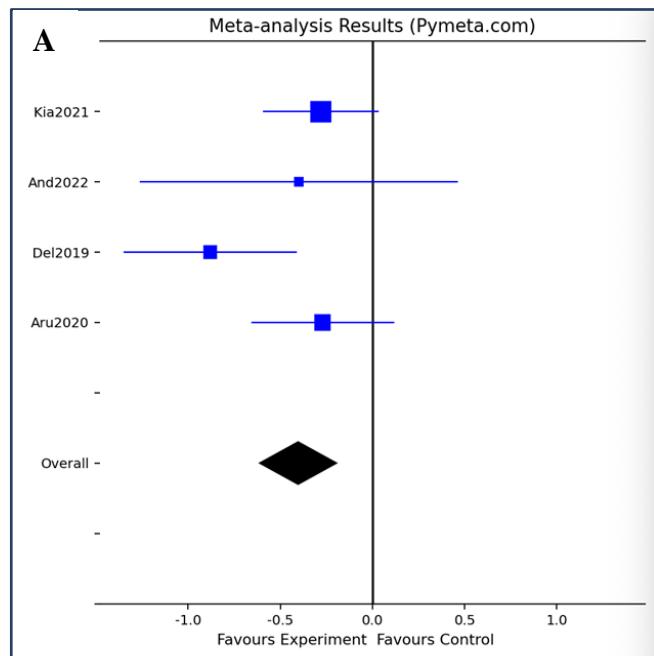
The Figure 4 shows the meta-analysis results as Forest plots. Here the overall treatment effect is represented by a black colored diamond. The overall treatment effects estimated by the Fixed-effect and Random-effect models were quite similar, however, random-effect model has a wider confidence interval compared to that of the Fixed-effect model. Also, the overall estimates were not overlapping with the no-effect point. Heterogeneity results were showed that there is moderate heterogeneity ( $I^2=41.33\%$ ).

(A) Fixed IV MD			
Study ID	n	ES[95% CI]	Weight [%]
Kia2021	50	-0.28[-0.59 0.03]	45.11
And2022	21	-0.40[-1.26 0.46]	5.83
Del2019	32	-0.88[-1.34 -0.42]	19.92
Aru2020	61	-0.27[-0.65 0.11]	29.14
MD	164	-0.40[-0.61 -0.20]	100

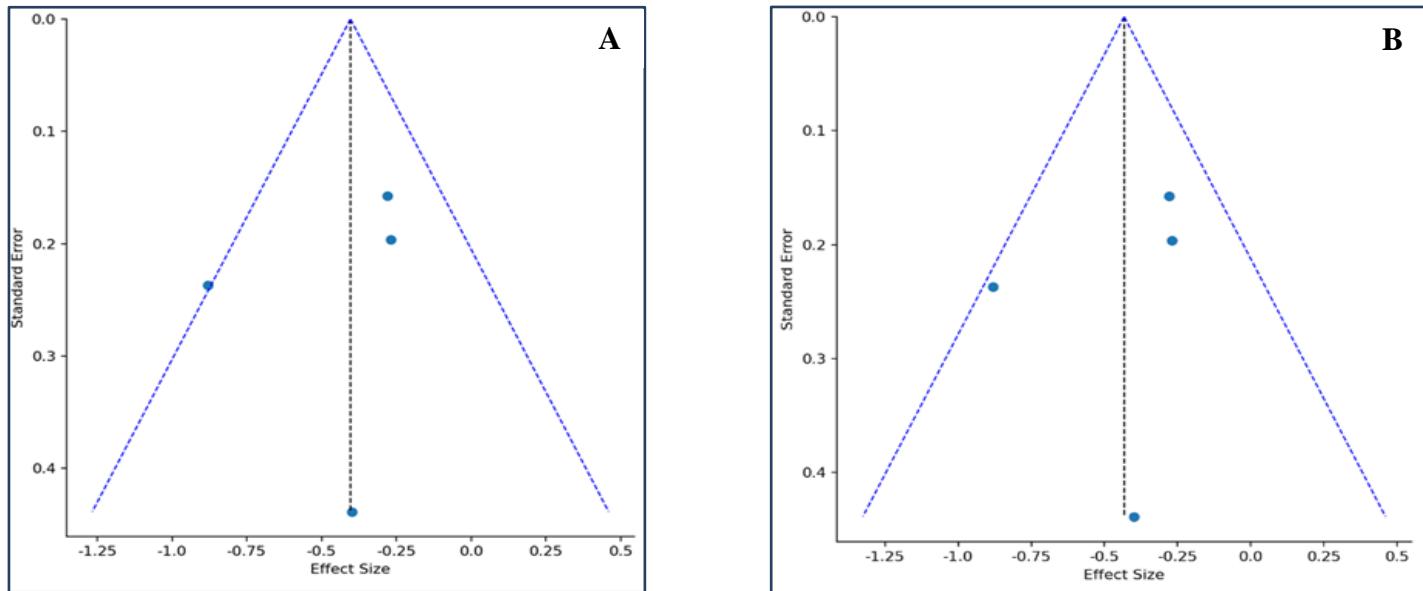
4 studies included (N=164)  
Heterogeneity  $Q$  (Chisquare)= 5.11 ( $p=0.171$ );  $I^2=41.33\%$   
Overall effect test  $z=3.81$ ,  $p= 0.000$

(B) Random IV MD			
Study ID	n	ES[95% CI]	Weight [%]
Kia2021	50	-0.28[-0.59 0.03]	36.53
And2022	21	-0.40[-1.26 0.46]	9.66
Del2019	32	-0.88[-1.34 -0.42]	24.01
Aru2020	61	-0.27[-0.65 0.11]	24.80
MD	164	-0.43[-0.72 -0.14]	100

4 studies included (N=164)  
Heterogeneity  $Tau^2=0.035$   $Q$  (Chisquare)= 5.11 ( $p=0.171$ );  $I^2=41.33\%$   
Overall effect test  $z=2.92$ ,  $p= 0.004$

**Figure 3.** Results for the Fixed-effect (A) and Random-effect models (B)**Figure 4.** Forest plots from the meta-analysis of the curcumin effect on the OM when (A) the Fixed-effect model and (B) Random-effect model was used.**Small-study effect and publication bias**

Asymmetric funnel plot was obtained as shown in the Figure 5 that might indicate the publication bias. Larger studies were clustered near the top of the funnel plot while the smallest study in the meta-analysis was at the bottom of the plot.

**Figure 5.** Funnel plot for (A) the Fixed-effect model and (B) Random-effect model.

## DISCUSSION:

In cancer treatment, surgical resection, radiotherapy, and/or chemotherapy are standard methods [15]. Continuity is important for the effectiveness of cancer treatment. However, the development of oral mucositis, oral pain, eating disorders, and weight loss in patients undergoing radiotherapy/chemotherapy restricts the continuity that should be present in cancer treatment. Additionally, this situation increases the risk of recurrence and mortality in cancer patients [16].

The use of curcumin against oral mucositis that develops during radiotherapy and/or chemotherapy can reduce the severity of oral mucositis and accelerate the healing process [17]. The mechanisms by which curcumin improves the severity of oral mucositis are not yet fully understood. However, it is possible that curcumin achieves its effect by inducing anti-inflammatory mechanisms and inhibiting the production of inflammatory cytokines [18].

A meta-analysis has been conducted that includes four clinical studies in which curcumin was used for the treatment of oral mucositis in patients undergoing radiotherapy and/or chemotherapy. Our study's heterogeneity results indicate a moderate level of heterogeneity ( $I^2=41.33\%$ ). This heterogeneity may be attributed to variations in the application methods and doses of curcumin (such as nanomicell curcumin capsule, oral curcumin spray, nanocurcumin, turmeric capsule) as well as differences in the types of oncological treatments. Another reason for the moderate level of heterogeneity could be the inclusion of a small number of studies in the analysis. Indeed, having a small sample size can decrease the quality of evidence in a study. With a small sample size, the findings may be less

reliable and have limited generalizability. Despite the moderate level of heterogeneity, our findings are consistent with the literature. It has been observed that curcumin is effective in reducing the severity of oral mucositis in patients undergoing radiotherapy and/or chemotherapy.

It is observed that there are deficiencies in the reporting of various forms of existing data and all statistical analysis results in the conduct of meta-analyses of clinical studies that greatly contribute to the literature. This limitation leads to a small number of articles being examined for meta-analysis as it creates a lack of data from which we can draw conclusions. The second major issue encountered in data sharing is the sharing of graphs instead of providing the actual values of test results. In recent years, evaluating the effective dose and form of Curcumin, which is used to alleviate oral mucositis occurring during cancer treatment and whose treatment efficacy we analyzed through 'meta-analysis,' could be possible through more standardized clinical trials. When the research is being submitted for publication, requesting detailed and standardized data from the authors by journal authorities representing the field of statistics would enable the assessment of large sample sizes in the literature.

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

## REFERENCES:

- 1.de Cássia Dias Viana Andrade, R., Azevedo Reis, T., Rosa, L. P., de Oliveira Santos, G. P., & da CristinaSilva, F. Comparative randomized trial study about the efficacy of photobiomodulation and curcumin antimicrobial photodynamic therapy as a coadjvant treatment of oral mucositis in oncologic patients: antimicrobial, analgesic, and degree alteration effect. *Supportive Care in Cancer*, (2022), 30(9), 7365-7371.
- 2.Liu, Y. C., Wu, C. R., & Huang, T. W. Preventive effect of probiotics on oral mucositis induced by cancer treatment: a systematic review and meta-analysis. *International journal of molecular sciences*, (2022). 23(21), 13268.
- 3.Shah, S., Rath, H., Sharma, G., Senapati, S. N., & Mishra, E. Effectiveness of curcumin mouthwash on radiation-induced oral mucositis among head and neck cancer patients: A triple-blind, pilot randomised controlled trial. *Indian Journal of Dental Research*, (2020). 31(5), 718-727.
- 4.Zecha JAEM, Raber-Durlacher JE, Nair RG, Epstein JB, Elad S, Hamblin MR, et al. Low-level laser therapy/photobiomodulation in the management of side effects of chemoradiation therapy in head and neck cancer: part 2: proposed applications and treatment protocols. 2016;24(6):2793–805.
- 5.Kia, S. J., Basirat, M., Saedi, H. S., & Arab, S. A. Effects of nanomicelle curcumin capsules on prevention and treatment of oral mucositis in patients under chemotherapy with or without head and neck radiotherapy: A randomized clinical trial. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, (2021). 21(1), 1-11.
- 6.Pinheiro, S. L., Bonadiman, A. C., Borges Lemos, A. L. D. A., Annicchino, B. M., Segatti, B., Pucca, D. S., ... & Leal, F. Photobiomodulation therapy in cancer patients with mucositis: A clinical evaluation. *Photobiomodulation, photomedicine, and laser surgery*, (2019). 37(3), 142-150.
- 7.Singh, V., & Singh, A. K. Oral mucositis. *National journal of maxillofacial surgery*, (2020).11(2), 159–168. [https://doi.org/10.4103/njms.NJMS\\_10\\_20](https://doi.org/10.4103/njms.NJMS_10_20)
- 8.Bell A, Kasi A. Oral Mucositis. (Updated 2023 May 29). In: StatPearls (Internet). Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK565848/>
- 9.Sroussi HY, Epstein JB, Bensadoun RJ, Saunders DP, Lalla RV, Migliorati CA, et al. Common oral complications of head and neck cancer radiation therapy: mucositis, infections, saliva change, fibrosis, sensory dysfunctions, dental caries, periodontal disease, and osteoradionecrosis. *Cancer Med*. 2017;6(12):2918–31
- 10.Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Swelum, A. A., Arif, M., Abo Ghanima, M. M., Shukry, M., Noreldin, A., Taha, A. E., & El-Tarabily, K. A. Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. *Journal of the science of food and agriculture*, (2021), 101(14), 5747–5762. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11372>
- 11.Jennings, M. R., & Parks, R. J. Curcumin as an antiviral agent. *Viruses*, (2020) 12(11), 1242.
- 12.Lüer, S., Troller, R., Jetter, M., Spaniol, V., & Aeby, C. Topical curcumin can inhibit deleterious effects of upper respiratory tract bacteria on human oropharyngeal cells in vitro: potential role for patients with cancer therapy induced mucositis?. *Supportive care in cancer*, (2011), 19, 799-806.
- 13.QUADAS-C | Bristol Medical School: Population Health Sciences | University of Bristol
- 14.Deng H. PythonMeta. <https://pypi.org/project/PythonMeta/>
- 15.Debela, D. T., Muzazu, S. G., Heraro, K. D., Ndalamia, M. T., Mesele, B. W., Haile, D. C., Kitui, S. K., & Manyazewal, T. New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. *SAGE open medicine*, 9, (2021), 20503121211034366. <https://doi.org/10.1177/20503121211034366>
- 16.Araújo, A. A. D., Silva, E. M., Mafra, C. A. D. C. C., Costa, I. D. C. C., Barbalho, A. L. A., Matos, I. A. F. D., ... & Guerra, G. C. B. Curcuma longa extract protects against 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, (2022). 58.
- 17.Pulito, C., Cristaudo, A., Porta, C.L. et al. Oral mucositis: the hidden side of cancer therapy. *J Exp Clin Cancer Res* (2020). 39, 210 <https://doi.org/10.1186/s13046-020-01715-7>
- 18.Ramezani, V., Ghadirian, S., Shabani, M., Boroumand, M. A., Daneshvar, R., & Saghafi, F. Efficacy of curcumin for amelioration of radiotherapy-induced oral mucositis: a preliminary randomized controlled clinical trial. *BMC cancer*, (2023), 23(1), 354. <https://doi.org/10.1186/s12885-023-10730-8>



## POSTER PRESENTATION ABSTRACT [POSTER SUNUM ÖZETLERİ]

### PP1: OXIDATIVE DNA DAMAGE OF LAMBDA-CYHALOTHIN IN MODEL ORGANISM

### [OMURGALI MODEL ORGANİZMA, ZEBRA BALIKLARINDA LAMBDA-CYHALOTHİN OKSİDATİF DNA HASARI]

**Rabia SEMSI**<sup>1</sup>, Burcu ESER<sup>2</sup>, Gülsüm KOCAK<sup>3</sup>, Goktug GUL<sup>4</sup>, Pınar ARSLAN<sup>5</sup>, Aysel Caglan GUNAL<sup>6</sup>, Aylin SEPICI DINCEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>University of Health Sciences, Research and Development Center, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Gazi University, Institute of Natural and Applied Sciences, Department of Environmental Sciences, Ankara, Türkiye

<sup>4</sup>Gazi University, Health Services Vocational School, Department of Medical Services and Techniques, Ankara, Türkiye

<sup>5</sup>Cankırı Karatekin University, Faculty of Science, Department of Biology, Cankırı, Türkiye

<sup>6</sup>Gazi 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  $2.59 \pm 0.21$  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  $\mu\text{g}/\text{L}$  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 ( $9.82 \pm 1.44$  ng/100 g doku) compared to the control group ( $6.60 \pm 1.78$  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 hasere kontrollünde yaygın olarak kullanılan pestisitler genellikle su ortamlarında kirletici olarak bulunur. Pestisitler su kütelerine 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  $2.59 \pm 0.21$  cm boyundaki zebra balıkları, kaynak suyuyla dolu 10 litrelilik 3 adet akvaryuma yerleştirildi ve 15 gün boyunca laboratuvar koşullarına adapte edildi. LCH, 0.1 ve 1  $\mu\text{g}/\text{L}$  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 ( $9.82 \pm 1.44$  ng/100 g doku) tüm vücut dokusunun 8-OHdG değerlerinin kontrol grubuna ( $6.60 \pm 1.78$  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 pestisitin toksik etkilerini değerlendirmek, maddeler arasındaki etkileşimler nedeniyle ekolojik çevreyi korumak için yeterli olmayı bilir. 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 BİYOLOJİK 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 IC<sub>50</sub> values calculated using the GraphPad Prism.

#### **Results**

The structure of KH11 confirmed with IR and <sup>1</sup>H NMR spectroscopic methods. The alpha-glucosidase inhibitory activity of the KH11 determined spectrophotometrically *in-vitro*, its IC<sub>50</sub> 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 ( $r^2=0.98$ ).

#### **Conclusions**

Results of *in-vitro* studies show that the synthesized quinoxaline-hydrazone derivative has significant alpha-glucosidase inhibitory activity. When the IC<sub>50</sub> 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 araştırmada, diyabet hastalığında etkili tedavi yaklaşımlarından biri olan alfa-glukozidaz enzim inhibitörü olabilecek potansiyel aktif bir bileşenin literatür verilerinden hareketle tasarımları, 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 bileşigine ulaşmak üzere o-fenilendiamin, okzalik asit dihidrat ve 4N HCl isıtılarak karıştırıldı. Daha sonra bu ara ürün hidrazin hidrat bileşigiyle reaksiyona sokularak 3-hidrazinilkokinoksalin-2-on elde edildi. Son basamaktaysa, 3-hidrazinilkokinoksalin-2-on ve 4-dimetilaminobenzaldehit bileşikleri KH11 kodlu bileşigi oluşturmak üzere reaksiyona sokuldu.

##### **Biyolojik Aktivite**

Kuyucuklara KH11 kodlu test bileşiginin azalan konsantrasyonlardaki çözeltilerinden (DMSO içerisinde) ve enzim çözeltisinden eklenerken, 37°C'de 5 dakika inkübe edildi. Inkübasyon sonrası substratin tampondaki çözeltisinden eklenerken, 405 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümürları alındı. Standart olarak DMSO, referans bileşik olarak akarboz kullanıldı. Üç tekrar çalışıldı. %İnhibisyon ve IC<sub>50</sub> değerleri GraphPadPrism programıyla hesaplandı.

**Bulgular:** Sentezlenen bileşenin yapısı IR ve <sup>1</sup>H NMR spektroskopik yöntemleri kullanılarak aydınlatıldı. KH11 kodlu bileşenin alfa-glukozidaz inhibitör aktivitesi spektrofotometrik yöntemle *in-vitro* olarak tespit edildi ve IC<sub>50</sub> değeri 0.124 mM olarak bulundu (Akarboz IC<sub>50</sub>=1.211 mM). Ayrıca KH11 kodlu bileşenin alfa-glukozidaz enziminin karışık-tip bir inhibitörü olduğu Lineweaver-Burk eğrisi ile *in-vitro* olarak tayin edildi ( $r^2=0.98$ ).

**Sonuç:** Aktivite sonuçları, sentezlenen kinoksalin-hidrazon türevi KH11 kodlu bileşenin belirgin alfa-glukozidaz inhibisyonu yaptığı ve IC<sub>50</sub> değerleri kıyaslandığında, KH11'in alfa-glukozidaz enzimini referans bileşik akarboz'dan çok daha güçlü inhibe ettiğini göstermektedir. Ayrıca yapılan enzim kinetik çalışmasına göre KH11 bileşigi, karışık-tip bir inhibitör olup alfa-glukozidazın allosterik yoresine bağlanarak substratin 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**

#### **[AKÇİĞER KANSERİ TEDAVİSİNDE BİYOBELİRTEÇ ADAYLARI OLARAK SİRKÜLER RNA'LARIN TANIMLANMASI]**

Busra APAYDIN<sup>1,2</sup>, Milad ASADI<sup>1,2</sup>, Can MUFTUOGLU<sup>1,2</sup>,  
Ufuk MERT<sup>1,2,4</sup>, Ayşe CANER<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Ege University, Institute of Health Sciences, Department of Basic Oncology, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Ege University, Bedir Atasever Respiratory Research Center (EgeSAM), Izmir, Türkiye

<sup>3</sup>Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Parasitology, Izmir, Türkiye

<sup>4</sup>Ege 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 sıvalarında bulunabilirler. Bu nedenle, kanser tanısında, terapötik yanıtın izlenmesinde ve прогнозunda 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 carboplatin ve pemetreksed tedavisi ile veya tedavisiz olarak araştırılmıştır. Öncelikle bu ilaçların sitotoksite 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, çögünün ekspresyonu tespit edilememiştir. Bazı circRNA'lar sadece tedaviden sonra ekspresedilmiş ve birçoğu tedaviye yanıt olarak susturulmuştur.

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

**Anahtar Kelimeler:** circRNA, Biyobelirteç, Akciger kanseri, Tedavi

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

#### **[BİYOİNFORMATİK ANALİZ İLE NÖROBLASTOMDA PROGNOSTİK BİR BİYOBELİRTEÇ OLARAK G6PD]**

Hongling YUAN<sup>1</sup>, Zekije ALTUN<sup>1</sup>, Selen KUM OZSENGEZER<sup>1</sup>, Nur OLGUN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz 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



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 grumlarda 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 öngörüsü 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 gerçekleştirılmıştır. G6PD ko-ekspresyon genlerinin KEGG analizi gerçekleştirılmıştır. 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 korel olduğunu göstermiştir ( $p=0,0019$ ). KEGG analizi, G6PD ko-ekspresyon genlerinin esas olarak mitokondriyal matrikste

yer aldığı, RNA splicing ve karbon metabolizmasına katıldığı göstermiştir. Tek değişkenli ve çok değişkenli analizlere dayanarak, düşük G6PD ekspresyonun 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]

**Gave PISIREN**<sup>1</sup>, Secil DEMIRKOL CANLI<sup>2</sup>, Begum KOCATURK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe University, Cancer Institute, Department of Basic Oncology, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Hacettepe 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 engeleyerek 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 eşinin aşılması gerekmektedir. Bu amaç doğrultusunda kombinasyon olarak ER stresi aktive edici etkisi olduğu bilinen tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib ilaç 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 gözlandı. 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 ilaçın ER stres varlığında aktive olan faktörlerden IRE1 aracılı gerçekteşen 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 bilinemeyen etkileri ortaya koyulmuştur ve ER stres aracılı hücre ölümünün pankreas kanseri tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** pankreas kanseri bortezomib imatinib sineri 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 ANTIPIROLIFERATIVE 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 KHAFAJI**<sup>1</sup>, İlhan YAYLIM<sup>1</sup>, Ceylan OZSOY HEPOKUR<sup>2</sup>, Ozlem KUCUKHUSEYIN<sup>1</sup>, Sema MISIR<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Aziz Sancar Experimental Medicine Research Institute, Molecular medicine, Istanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Sivas Cumhuriyet University, Department of Pharmacy, Biochemistry, Sivas, Türkiye

<sup>3</sup>Sivas 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. IC<sub>50</sub> 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 IC<sub>50</sub> values of Arum conophalloides were  $150.22 \pm 6.86 \mu\text{g/mL}$  for MCF-7 breast cancer cell line,  $215.45 \pm 4.15 \mu\text{g/mL}$  for MDA-MB-231 breast cancer cell line and  $248.25 \pm 3.21 \mu\text{g/mL}$  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  $16.33 \mu\text{g/mL}$  and the total phenolic content was determined as  $347.83 \pm 1.39 \text{ mg GAE/100g}$ .

**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 seçenekleri olarak potansiyelini değerlendirmektedir.

**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 büyuyen 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-7 meme 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'nın DPPH ve Total Polifenolik içeriğine bakılmış ve Arum Conophalloides'in DPPH değeri  $16.33 \mu\text{g/mL}$  olarak bulunurken, toplam fenolik madde miktarı  $347.83 \pm 1.39 \text{ mg GAE}/100\text{g}$  olarak belirlenmiştir.

**Sonuç:** Çalışmamız sonunda, Arum conophalloides'in antiproliferatif ve apoptotik etkilerinin daha detaylı çalışılmasını önermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Arum conophalloides, Antioksidan, Antikanser

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

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

**Sefavi Merve OZDEMİR**, Ozde Elif GOKBAYRAK, Efe Ozgur SERINAN, Safiye AKTAS

Dokuz Eylül 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  $\mu\text{M}$ ) of squalene and the combinations of these doses with 50  $\mu\text{M}$ , 20  $\mu\text{M}$  and 10  $\mu\text{M}$  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  $\mu\text{M}$  squalene - 50  $\mu\text{M}$  cisplatin (CDDP) and 3,12  $\mu\text{M}$  squalene-50  $\mu\text{M}$  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  $\mu\text{M}$  CDDP with 3,12  $\mu\text{M}$  squalene. According to apoptosis results, a statistically significant increase in apoptosis was detected in both the 50  $\mu\text{M}$  CDDP + 200  $\mu\text{M}$  SQ group and the 50  $\mu\text{M}$  CDDP + 3,12  $\mu\text{M}$  SQ group compared to the control group. Although the 50  $\mu\text{M}$  CDDP+200  $\mu\text{M}$  SQ group increased apoptosis compared to the 50  $\mu\text{M}$  CDDP+3,12  $\mu\text{M}$  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 прогнозu temsil eden NMYC (+) hücreler üzerinde denenmemiştir. Bu çalışmanın amacı; Kelly NB hücre hattında SQ'in ve konvansiyonel kemoterapide kullanılan sisplatin (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 HEPOKUR<sup>1</sup>, Sema MISIR<sup>1</sup>, İlhan YAYLIM<sup>2</sup>, Mehmet Tolgahan HAKAN<sup>2</sup>, Ozlem KUCUKHUSEYİN<sup>2</sup>, Ege Alican TOPCU<sup>2</sup>, Mediha SULEYMANOGLU ERSEZ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cumhuriyet University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Sivas, Türkiye

<sup>2</sup>Istanbul University, Institute of Health Sciences, Experimental Medicine Research Institute, Molecular Medicine, Istanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Istanbul 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 antisynthetic effects. Our purpose to determine the cytotoxic and other possible mechanism of resveratrol, equol and vitamin D in human colon cancer

**Materials-Metods:** 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% CO<sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub>'lu 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)-2Htetrazolium-5-karboksanilid) yöntemi kullanıldı. 24 saatlik inkübasyon sonrasında bileşikler farklı konsantrasyonda kolon kanseri hücresına uygulandıktan sonra IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. HT29 ve L929 hücre S-Equol+resveratrol+D vitamini karışımının apoptotik etkilerinin tespiti amacıyla Annexin-V ve propidium iyon (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-equol+D vitamini karışımının akış sitometrisi sonucunda HT29 hücre hattında, apoptoz değerlendirme artışı gözlemlenir iken, nekroz değerlendirme artışı olmamıştır.

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

**Anahtar Kelimeler:** resveratrol, s-equol, 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** <sup>1,2</sup>, Arzu UYAR <sup>2,3</sup>, Sevcan ATAY<sup>1</sup>, Ferhan GIRGIN SAGIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Izmir Institute of Technology, Faculty of Engineering, Department of Bioengineering, Izmir, Türkiye

<sup>3</sup>Izmir Institute of Technology, Computational Science and Engineering Program, Izmir, 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 NTSE 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 ( $\text{RMSD} > 1 \text{ Å}$ ) 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'-nukleotidaz veya CD73 olarak da adlandırılan ekto-5'-nukleotidaz, insanlarda NTSE geni tarafından üretilen homo-dimerik bir enzimdir. CD73'ün işlevi AMP'nin adenozine 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 örnekleme 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 örnekleme yöntemi olan ClustENMD kullanılmıştır. Allosterik bölge araştırması için konformasyonel olarak başlangıç yapılarından farklı ( $\text{RMSD} > 1 \text{ Å}$ ) 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 arası 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* çalışmalarına ışık tutacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** CD73, allosterik bağlanma bölgeleri, konformasyonel örnekleme, kanser

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

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models**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 AKSOYALP<sup>1</sup>; Betul Rabia ERDOGAN<sup>1</sup>; **Saliha AKSUN**<sup>2</sup>; Melih Kaan SOZMEN<sup>3</sup>; Murat AKSUN<sup>4</sup>; Cuneyt Kemal BUHARALIOGLU<sup>1</sup>; Nagihan ALTINCI KARAHAN<sup>5</sup>; Nergiz Hacer TURGUT<sup>1</sup>; Tijen KAYA TEMİZ<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Izmir Katip Celebi University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology, Izmir, Türkiye

<sup>2</sup>Izmir Katip Celebi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Izmir, Türkiye

<sup>3</sup>Izmir Katip Celebi University, Faculty of Medicine, Department of Public Health, Izmir, Türkiye

<sup>4</sup>Izmir Katip Celebi University, Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, Izmir, Türkiye

<sup>5</sup>Izmir Ataturk Training and Research Hospital, Department of Anesthesiology and Reanimation, Izmir, Türkiye

<sup>6</sup>Izmir 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 прогнозunun 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 alanla 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, прогноз, COVID-19

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

**Burcu ESER**<sup>1</sup>, Sahra Setenay BARAN<sup>2</sup>, **Aylin SEPICI DINCEL**<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Gazi 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 patogenez, insan yaşam kalitesindeki dramatik düşüş, finansal maliyet ve yüksek ölüm oranı dikkate alındığında, bu hastalıklarda biyobelirteç ve terapötik ajan çalışmaları için preklinik 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 ayrılmaktadır. Günümüzde yaygın olarak görülmeye sebebiyle osteoporoz modeli sık çalışılmakta, overektoni ve kombinasyonları uygulanan tavşan modeli boyutlarından, insan ile uyumlu haversian yeniden şekillenmesi göstermesinden, epifiz plaqının 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 çalışmalarдан önce hayvan türlerinde preklinik 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 GRAFIĞİNİN ÖNEMLİ]

**Hasan Alp TURGUT**, Hacer DOGAN, Duygu DOGAN, 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 ( $>2000 \text{ mg/L}$ ) were excluded (N=9). The per cent changes between the two measurements of result  $<450 \text{ mg/L}$  (N=7) and  $450\text{-}2000 \text{ mg/L}$  (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  $\geq 90\%$  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



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 numunededen 13’ünde BOS proteini ölçüm sonucundaki değişim > %10 idi. Sonuç değerinde ≥%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 KANNABİNÖİD ÖLÇÜM SONUÇLARI NE İFADE EDER? YENİ KULLANIM MI, YOKSA ÖNCEKİ KULLANIMIN ARTIĞI MI?]

**Naz KOÇOĞLU**, 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 ( $\geq 15 \text{ ng/mL}$ ) in two consecutive urine tests (time interval between tests  $\leq 96$  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 kullanımı 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 ( $\geq 15$  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 sınırlarına 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 sınırlarına 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 kullanımına işaret etmeyeceği, karar sınırları doğrultusunda önceki kullanımdan kalan artık metabolit ihtimalinin olabileceği akılda tutulmalıdır. Zamana özgü karar sınırlarının (iki idrar örneği alımı arasındaki zaman farkı gibi) kullanılmasının artık metabolit tespitinde önemli olabileceği akılda 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  $\geq$ dörtlü 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'tünde (%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  $\geq$ dörtlü 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, büyütünen bir eğilimi temsil ettiğini göstermektedir. Reçeteyi yazanlar, yüksek riskli popülasyonlarda kullanımında 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 TIROİD KANSERİ TEDAVİSİNDEKİ ROLÜ]**

Ozlem SILISTRELI<sup>1</sup>, Hilal KOCDOR<sup>1</sup>, Arzu YILDIRIM<sup>1</sup>, Ezel BİLDİK<sup>1</sup>, Halil ATES<sup>2</sup>, Erdem Erinc SILISTRELI<sup>3</sup>, Mehmet Ali KOCDOR<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül University, Oncology Institute, Department of Basic Oncology, Izmir, Turkey

<sup>2</sup>Dokuz Eylül University, Oncology Institute, Department of Clinical Oncology, Izmir, Turkey

<sup>3</sup>Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of Cardiovascular Surgery, Izmir, Turkey

<sup>4</sup>Dokuz Eylül 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) IC<sub>50</sub> and IC<sub>25</sub> 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<sup>+</sup>, CD90<sup>+</sup> and CD105<sup>+</sup> in the analysis performed by flow cytometry method; In the Wound Healing Analysis, the wound opening percentage of CM<sub>50</sub> and CM<sub>25</sub> according to the closure time in the Control and DOX<sub>50</sub> 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 CM<sub>50</sub> and CM<sub>25</sub> 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 Tedavisi'nde klinikte standart kemoterapötik ajan olarak kullanılan Doksorubisin'in (DOX) yüklenmesi sağlanarak, MSC'lerin ilaç dağıtım vektörleri olarak kullanılabilirliğinin 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-ATC) hücre hattında Doksorubisin (DOX) IC<sub>50</sub> ve IC<sub>25</sub> konsantrasyonları MTT yöntemiyle belirlendi. DOX bu dozlarla MSC'lere yüklenikten 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 yöntemiyle gerçekleştirilen analizde CD73<sup>+</sup>, CD90<sup>+</sup> ve CD105<sup>+</sup> doğrulanarak MSC'lerin kanıtlandığı koşullu ortam kullanılarak yapılan çalışmamızda; Yara İyileşme Analizinde Kontrol ve DOX<sub>50</sub> grupplarında kapanma zamanına göre CM<sub>50</sub> ve CM<sub>25</sub>'in yara açılığı 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 gözlendi ( $p < 0,005$ ). 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. CM<sub>50</sub> ve CM<sub>25</sub> 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 artığı, NADP/IDH değişimlerinin bu artışı sağlamak için MDH üretiminde kullanıldığı düşünüldü. Yapılan analizlerde; MSC'lere ilaç yüklenenbildiği ve daha düşük dozlarda, standart kemoterapötiklerin etkinliğine ulaştığı gözlandı. Çalışmanın sonraki aşamalarında koşullu ortamin tümörogenez kapasitesini değerlendirmek için 3D sferoid model yapılacaktır. Yapılan analizler diğer bir ATK hücre hattı olan 8505C'de de incelemek için karşılaştırılacaktır.

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

VIII.Turkey *in vitro* Diagnostic Symposia: Preclinical Models**INDEX  
[DİZİN]**

- Akif TURNA<sup>11,42</sup>  
 Ali Furkan KIDIL<sup>12,42,49</sup>  
 Ali ÜNLÜ<sup>3,5</sup>  
 Arzu UYAR<sup>6,11,14,66,80</sup>  
 Arzu YILDIRIM<sup>6,12,14,46,52,53,85</sup>  
 Aslı ÇELİK<sup>12,53</sup>  
 Asuman ARGON<sup>5,10</sup>  
 Ayfer YURT KILÇAR<sup>6,11</sup>  
 Aylin EROL<sup>11,14,43,63,65</sup>  
 Aylin SEPİCİ DİNCEL<sup>2,5,11,14,73,81</sup>  
 Ayşe CANER<sup>6,10,14,75</sup>  
 Ayşe Özlem SİLİSTİRELİ<sup>14,85</sup>  
 Ayşegül DEMİRTAŞ<sup>5,10,14</sup>  
 Ayşegül KAYMAK ÖZDEMİR<sup>11,40</sup>  
 Aysel Çağlan GÜNAL<sup>14,73</sup>  
 Aysun PABUÇCUOĞLU<sup>5</sup>  
 Bahar ZENGEL<sup>5,12</sup>  
 Banu DEMİR<sup>6,12</sup>  
 Banu İŞBİLEN BAŞOK<sup>5,11</sup>  
 Başak ÇELTİKCİ<sup>10,38</sup>  
 Batu ÇOLAK<sup>12,45</sup>  
 Bedriye Elvan SAYIT BİLGİN<sup>11,45</sup>  
 Begüm KOCATÜRK<sup>6,12,14,26,76</sup>  
 Betül Rabia ERDOĞAN<sup>12,14,50,81</sup>  
 Bilge KARA<sup>5,12,30</sup>  
 Bülent ÖZPOLAT<sup>11,42</sup>  
 Burçın BARAN<sup>12,47</sup>  
 Burcu BARAN<sup>12,53</sup>  
 Burcu ESER<sup>12,73,81</sup>  
 Burcu GÜNGÖR<sup>11,44</sup>  
 Büşra APAYDIN<sup>14,75</sup>  
 Can MÜFTÜOĞLU<sup>14,75</sup>  
 Cansu İlke KURU<sup>14,54</sup>  
 Cem HOROZOĞLU<sup>11,42</sup>  
 Ceylan ÖZSOY HEPOKUR<sup>11,39,42,77,79</sup>  
 Çiğdem İÇHEDEF<sup>5,10,11,44</sup>  
 Cüneyt Kemal BUHARALIOĞLU<sup>14,81</sup>  
 Deniz KIZMAZOĞLU<sup>14,47,63,65</sup>  
 Derviş BİRİM<sup>12,48</sup>  
 Dicle GÜÇ<sup>5,10</sup>  
 Dilara SÖNMEZ ZOR<sup>11,42</sup>  
 Diler ASLAN<sup>3,5,12</sup>  
 Doğan YÜCEL<sup>2,3,5,8,10</sup>  
 Dürdane Serap KURUCA<sup>10,39,42</sup>  
 Durişhvar ÜNAL<sup>5,10,15,16</sup>  
 Duygu DOĞAN<sup>14,82</sup>  
 Ebru SEZER<sup>5,10</sup>  
 Ece Yıldız ÖZTÜRK<sup>6,13,35</sup>  
 Ecem SAYGILI<sup>6,13</sup>  
 Efe Özgür SERİNAN<sup>12,14,43,49,65,78</sup>  
 Efsun KOLATAN<sup>11,43</sup>  
 Ege Alican TOPÇU<sup>14,79</sup>  
 Ekin Özgür AKTAŞ<sup>5,10</sup>  
 Ekrem ÖZDEMİR<sup>11,41</sup>  
 Emin KANSU<sup>5,10</sup>  
 Erdem Erinç SİLİSTİRELİ<sup>14,85</sup>  
 Eser YILDIRIM SÖZMEN<sup>5,10</sup>  
 Ezel BİLDİK<sup>2,6,12,14,46,52,85</sup>  
 Fadime AYDIN KÖSE<sup>6,10,12,48</sup>  
 Faruk Kaan ÇELİK<sup>10,39</sup>  
 Fatih KARA<sup>11,41</sup>  
 Fatma TANELİ<sup>5,10,18</sup>  
 Fazilet Zümrüt BİBER MÜFTÜLER<sup>5,12,45</sup>  
 Ferhan GİRGİN SAĞIN<sup>3,5,14,80</sup>  
 Figen ZİHNİOĞLU<sup>5,10</sup>  
 Fulden ULUCAN KARNAK<sup>14,54,80</sup>  
 Funda ÜSTÜN<sup>5,10,11,17,44</sup>  
 Funda YILMAZ BARBET<sup>5,10</sup>  
 Füsun ÖZMEN<sup>5,12,26</sup>  
 Gamze SANLAV<sup>12,47</sup>  
 Gaye PiŞİREN<sup>14,76</sup>  
 Gizem KAFTAN ÖCAL<sup>12,48</sup>  
 Göktuğ GÜL<sup>14,73</sup>  
 Gülbiz ARMAGAN<sup>5,12,48,84</sup>  
 Gülsüm KOÇAK<sup>14,73</sup>  
 Gültekin İSAYEVA<sup>11,42</sup>  
 Güneş ÖZHAN<sup>5,11,23</sup>  
 Hacer DOĞAN<sup>14,82</sup>  
 Hadi ROUHRAZI<sup>6,13,34</sup>  
 Hajir Moosa Mohammed AL KHAFAJİ<sup>14,77</sup>  
 Halil ATEŞ<sup>14,85</sup>  
 Handan TUNCEL<sup>5,10</sup>  
 Hasan Alp TURGUT<sup>14,82</sup>  
 Hasan ÇALIŞKAN<sup>10,37</sup>  
 Hasan HAVİTÇİOĞLU<sup>5,11</sup>  
 Hilal KOÇDOR<sup>2,5,7,8,10,12,14,46,53,66,85</sup>  
 Hongling YUAN<sup>14,75</sup>  
 Hülya YAZICI<sup>5,12,32</sup>  
 İbrahim PETEKKAYA<sup>5,12</sup>  
 İbrahim YANGİN<sup>14,84</sup>  
 İlhan YAYLIM<sup>2,5,10,11,12,14,39,42,77,79</sup>  
 İslim KALELER<sup>11,42</sup>  
 Kadriye Büşra KARATAY<sup>12,45</sup>  
 Kasım DIRİL<sup>6,11,22</sup>  
 Kerem TOK<sup>6</sup>  
 Koray ATILA<sup>5,11</sup>  
 Lale DOĞAN<sup>5</sup>  
 M. Alper ERDOĞAN<sup>12,48</sup>  
 M. Oktay TARHAN<sup>5,12</sup>  
 Medha SÜLEYMANOĞLU ERSEZ<sup>14,79</sup>  
 Mehmet Ali KOÇDOR<sup>5,11,12,14,20,46,52,53,85</sup>  
 Mehmet ŞENEŞ<sup>2,14,82,83,84</sup>  
 Mehmet Tolgahan HAKAN<sup>10,11,14,39,42,79</sup>  
 Melih Kaan SÖZMEN<sup>14,81</sup>  
 Melih Önder BABAOĞLU<sup>5,11,24</sup>  
 Meriç SENDURAN<sup>6,10</sup>  
 Merve ARI<sup>14,74</sup>  
 Milad ASADI<sup>14,75</sup>  
 Muammer YÜCEL<sup>6,11</sup>  
 Müge KİRAY<sup>5,11</sup>  
 Murat AKSUN<sup>14,81</sup>  
 Mustafa ŞENGÜL<sup>12,50</sup>  
 Mutlu KIZILBUGA<sup>10,15</sup>  
 Nagihan ALTINCI KARAHAN<sup>14,81</sup>  
 Naz KOÇOĞLU<sup>14,83</sup>  
 Nergiz Hacer TURGUT<sup>14,81</sup>  
 Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR<sup>12,45</sup>  
 Nüket GÖÇMEN KARABEKİR<sup>4,12</sup>  
 Nur OLGUN<sup>5,12,14,47,63,75</sup>  
 Nuray ULUSU<sup>5,12,28,31</sup>  
 Oğuz ÇETİN<sup>11,44</sup>  
 Ömer ARAS<sup>5,11,12,45</sup>  
 Orkun GÜRBÜZ<sup>6,11</sup>  
 Osman YILMAZ<sup>5,11,21,43</sup>  
 Özde Elif GÖKBAYRAK<sup>14,43,49,65,78</sup>  
 Özge YAKAR<sup>14,84</sup>  
 Özgür SEYDİBEYOĞLU<sup>14,54</sup>  
 Özlem AKGÜL<sup>12,48</sup>  
 Özlem GÖKSEL<sup>5,13,33,35</sup>  
 Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN<sup>10,11,14,39,77,79</sup>  
 Özlem YEŞİL ÇELİKTAS<sup>6,11,20,35</sup>  
 Pembe KESKİNOĞLU<sup>6,10</sup>  
 Perihan ÜNAK<sup>6,11</sup>  
 Pınar ARSLAN<sup>14,73</sup>  
 Rabia ŞEMSİ<sup>14,73</sup>  
 Rüksan ÇEHRELİ<sup>6,12</sup>  
 Ş. Ümit ZEYBEK<sup>10,11,39,42</sup>  
 Sabriye YUŞAN<sup>6,10</sup>  
 Safiye AKTAŞ<sup>6,11,12,14,47,49,63,78</sup>  
 Sahra Setenay BARAN<sup>14,81</sup>  
 Salih UCA<sup>6,12</sup>  
 Saliha AKSUN<sup>14,50,81</sup>  
 Samiye YABANOĞLU ÇİFTÇİ<sup>6,12</sup>  
 Şaziye Rüçhan SERTÖZ<sup>6</sup>  
 Seçil DEMİRKOL CANLI<sup>14,76</sup>  
 Seda KOÇAK<sup>10,37</sup>  
 Seda ÖZBAL<sup>6,10,12,53</sup>  
 Sefayi Merve ÖZDEMİR<sup>12,14,49,78</sup>  
 Selen KUM ÖZŞENGEZER<sup>11,12,14,41,47,75</sup>  
 Selim KARABEKİR<sup>6,12,29</sup>  
 Sema MISİR<sup>10,14,39,77,79</sup>  
 Semra DEMOKAN<sup>6</sup>  
 Serap TEKSÖZ<sup>11,44</sup>  
 Şerda DEMİRKOL<sup>11,42</sup>  
 Şerife Esra ERDAL BAĞRIYANIK<sup>5,10</sup>  
 Sevcan ATAY<sup>14,80</sup>  
 Sevgi KILIÇ<sup>11,41</sup>  
 Sinem Ezgi TURUNÇ ÖZOĞLU<sup>6,10</sup>  
 Sude YILMAZ<sup>6</sup>  
 Şükran ARMAĞAN BİÇAKÇI<sup>14,84</sup>  
 Süleyman AYDIN<sup>6</sup>  
 Tarık SALMAN<sup>6,13</sup>  
 Tekincan Çağrı AKTAŞ<sup>11,14,43,63</sup>  
 Tijen KAYA TEMİZ<sup>14,81</sup>  
 Tuncay GÖKSEL<sup>6,13,35</sup>  
 Türker TOKTAY<sup>11,25</sup>  
 Ufuk MERT<sup>14,75</sup>  
 Venhar ÇINAR<sup>11,42</sup>  
 Veysel TAHİROĞLU<sup>11,41</sup>  
 Volkan TEKİN<sup>6,11</sup>  
 Yağmur KAYA<sup>6,14,66</sup>  
 Yasemin PARLAK<sup>11,44</sup>  
 Yasemin SOYSAL<sup>6,12</sup>  
 Yücel BAŞPINAR<sup>11,44</sup>  
 Zekie Sultan ALTUN<sup>6,11,12,27,41,43,47</sup>  
 Zeliha Günnur DİKMEN<sup>3,6,11,12,51</sup>  
 Zeynep SOYER<sup>14,74</sup>  
 Zeynep YÜCE<sup>6,10,19</sup>  
 Zinnet Sevval AKSOYALP<sup>12,14,50,81</sup>  
 Zuhal HAMURCU<sup>11,5</sup>

