

## ORAL PRESENTATION ABSTRACT [SÖZLÜ SUNUM ÖZETLERİ]

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

#### [LİPOLİSAKKARİT KAYNAKLI NÖROİNFLAMASYON MODELİNDE YETİŞKİN SIÇANLARDA 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:** Canlının sağlığını ve yaşamını sürdürmek için gerçekleştirdiği davranışlar öz bakım kapsamındadır. Bu çalışmanın amacı lipopolisakkarit (LPS) ile oluşturulmuş nöroinflamasyon modelinde özbakım 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 püskürtme 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 davranışı ise ilk 50 dakikada görüldü. Açık alan testinde merkez bölgede geçen süre, iki ayağı üzerine kalkma davranışı ve toplam katedilen mesafe azaldı (p<0.001). Püskürtme testinde kaşınma süresi ve frekansı nöroinflamasyon grubunda anlamlı düzeyde azaldı (p<0.001). İlk kaşınmaya 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 özbakım davranışı olan kaşınma davranışı olumsuz etkilenmiştir. Şekerli su püskürtülerek tetiklenen kendini tımar 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 önünü açacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Nöroinflamasyon, özbakım davranışları, püskürtme testi

\*Proje İsmi: Lipopolisakkarit ile oluşturulmuş nöroinflamasyon modelinde, arteminin depresyon patofizyolojisindeki rolü, 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 obob mouse (Lep) has leptin deficiency and the dbdb 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 prognozla 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 patogenezdaki mekanizmaları aydınlatmaktır.

**Gereç-Yöntem:** MMTV-TGF-a fareleri, insan TGF-a'sını aşırı eksprese eder ve meme tümörleri geliştirir. Genetik obezite fare modeli olarak, obob faresinde (Lep) leptin eksikliği vardır ve dbdb faresinde (Lepr), leptin reseptör defekti vardır. Post-doc çalışmamda, bu iki fare modeli çiftleştirilerek, TGF-a Lep ve Lepr fareleri (wild-type, heterozigot ve obez) 2 yaşına kadar takip edildi. Meme tümörünün latentliği, insidansı ve tümör yükünün yanı sıra tümörlerin ve diğer organların patolojisi belirlendi. MMTV-TGF-a farelerinden yüksek (YY) ve düşük yağlı (DY) diyetle beslendi. Tüm gruplarda, ELİSA 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 gözlenmezken, zayıf wild-type 74 farenin 44'ünde meme tümörü gözlemlendi. Tümör taşıyan zayıf fareler, vücut ağırlığı tümör ağırlığına göre düzeltilse bile, tümör olmayanlara göre daha ağır olma eğilimindedir. 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 latentliği, vücut ağırlığıyla ters orantılıydı. Obezite resistant (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-a farelerde, meme tümörü gözlemlendi, serum leptin ve R seviyeleri ile korele idi.

**Sonuç:** Diyetin neden olduğu obeziteye sahip MMTV-TGF-a 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) EKSTRAKTLARININ 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 MISIR<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, Istanbul, Türkiye

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

<sup>4</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Physiology, Istanbul, 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 metotları 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 statüleri 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 ölçümleri ise flow sitometri ile Annexin V/ PI kullanılarak yapıldı.

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

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

**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 ulaştırılması 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 PROTEİNİNİN MEME KANSERİ METASTAZINDAKİ ROLÜNÜN TÜMÖR MİKROÇEVRESİ AÇISINDAN İNCELENMESİ]

**Aysegul KAYMAK OZDEMIR**

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'nin meme kanseri metastazındaki rolünün tümör mikroçevresi (TME) özelinde incelenmesidir.

**Gereç-Yöntem:** ZRF1'nin susturulmasını takiben MCF-7 meme kanseri hücrelerinden 3D sferoidler elde edilmiş ve bu sferoidlerde RNA sekanslama yapılmıştır. Kontrolle kıyasla ekspresyonları en çok artan genlerin zenginleştirilmiş Gen Ontolojisi'ne (GO) göre dağılım gösterdikleri biyolojik süreçler tanımlanmış; TNM Plot programı ile korelasyon matrisi 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'nin 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 gözlemlendiği, 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 kaskadadaki rolleri ile son yıllarda önem kazanmış hücreler olup, tümör hücrelerinin kendileri tarafından üretilen ve ekstraselüler ortama salınan kemokinlerin de yardımıyla TME'ye çağrılmaktadırlar. Elde ettiğimiz ön veriler ZRF1'nin 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 olabileceğine işaret etmektedir.

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

221Z294 no'lu ve "ZRF1'nin 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

#### [DOKSORUBİSİNE DİRENÇLİ MDA-MB-231 MEME KANSERİNE YÖNELİK ÇOK İŞLEVİLİ 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, Doxorubicin, drug resistance

**Giriş:** Üçlü negatif (Östrojen, progesteron ve HER2) metastatik meme kanseri tedavisinde en çok uygulanan kemoterapi ajanı antrasiklin ailesinden Doksorubisin (DOX)'dir. Kahvrenği 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 inkübatörde 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 Doksorubisin 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, Doksorubisin, 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 İNTERLÖKİN (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

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±6.74, 7.87±16.57) and TPO (2827±1167, 2003±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 interlökin-6 (IL-6) ve trombopoietin (TPO) üretiminin olup olmadığının 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±6.74, 7.87±16.57) ve TPO (2827±1167, 2003±745) seviyeleri açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi. Histopatolojik incelemede, kontrol grubunda herhangi bir patolojik durum görülmezken 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 CİNAR**<sup>1</sup>, Dilara SONMEZ ZOR<sup>2</sup>, Mehmet Tolgahan HAKAN<sup>2</sup>, İslim KALELER<sup>2</sup>, Gültekin İSAYEVA<sup>2</sup>, Serda DEMİRKOL<sup>2</sup>, Ceylan OZSOY HEPOKUR<sup>3</sup>, Özlem KUÇUKHUSEYİN<sup>2</sup>, Cem HOROZOĞLU<sup>4</sup>, Akif TURNA<sup>5</sup>, S. Umit ZEYBEK<sup>2</sup>, Durdane Serap KURUCA<sup>6</sup>, Zuhul 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, Istanbul, 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, Istanbul, Türkiye

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

<sup>6</sup>Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Physiology, Istanbul, 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 indoleamine 2,3-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 led 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, migrasyonu yara iyileşme, apoptoz ve otofaji 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/proliferasyonunun, klon oluşumunun, hücre göçünün önemli oranda baskılandığı 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 otofaji ve apoptoz/nekroptosis 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 kullanılabileceğini ortaya koydu.

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

\*Çalışmamız, İ.Ü BAP Birimi tarafından TUA-2020-34163 nolu proje ile desteklenmiştir "Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanselerinde 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 EYLUL 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 Eylul University, Institute of Oncology, Department of Basic Oncology, Izmir, Turkey

<sup>2</sup>Dokuz Eylul 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  $1 \times 10^6$  numbers, 200  $\mu$ L volume. For renal cell carcinoma, RenCa cells were administered subcutaneously to nude mice and C57/BL6 black mice at  $1 \times 10^6$  numbers and 300  $\mu$ L volume, mixed with 100  $\mu$ L matrigel. In the glioblastoma (U251, U87) model, 100  $\mu$ L of  $10^6$  and  $2 \times 10^7$  cells with and without matrigel were mixed and given subcutaneously to nude mice in a volume of 200  $\mu$ L. In peritoneal carcinomatosis (CC531),  $5 \times 10^6$  cells were administered intraperitoneally in 200  $\mu$ 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  $\mu$ L 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  $\mu$ L volümde ve subkutan olarak verildi. Böbrek hücreli karsinom için RenCa hücreleri nude fare ve C57/BL6 siyah fareye subkutan olarak 100  $\mu$ L matrijel ile karıştırılarak  $1 \times 10^6$  sayıda ve 300  $\mu$ L volümde verildi. Glioblastom (U251, U87) modelinde 100  $\mu$ L matrijel ile ve matrijelsiz  $10^6$  ve  $2 \times 10^7$  sayıda ve 200  $\mu$ L volümde hücre karıştırılarak nude fareye subkutan verildi. Peritoneal karsinomatoz (CC531) 'da nude farelere  $5 \times 10^6$  sayıda hücre 200  $\mu$ L 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 gözlemlendi ancak, K7M2 verilen Balb/c farelerde tümör gözlemlenmedi. LLC 10.gün, AsPc-1 19.günde, RenCa ise 45 günde nude farede tümör oluşturdu. C57/BL6'da 100  $\mu$ L matrijel ile hücelere 10 7 sayıda ortalama üçüncü enjeksiyondan sonra 20. günde tümör oluşturdu. CC531'de 10.günde tümör gözlemlendi. U87 nude farede tümör oluşturmadı. U251,  $2 \times 10^7$  sayıda matrijel varlığında 9.günde, matrijel 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 VİVO 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 <sup>99m</sup>Tc-labeled DTX-loaded folate receptor- targeted solid lipid magnetic nanoparticles (<sup>99m</sup>Tc-DTX-SLMNP). The IC50 values of DTX- SLMNP in SKOV-3 and A549 cells at 24 hours were 126.2  $\mu$ M and 232.23  $\mu$ M, respectively, and 50.21  $\mu$ M and 172.27  $\mu$ M at 48 hours, respectively.

<sup>99m</sup>Tc-DTX-SLMNP and <sup>99m</sup>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 <sup>99m</sup>Tc-DTX-SLMNP and magnetically applied <sup>99m</sup>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 yaklaşımlar 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 teranostiğini 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 dosetaksel(DTX) radyoşaretli 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 radyoşaretlenmiştir.

<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 µM ve 232,23 µM 48. saatte ise sırasıyla 50,21 µM ve 172,27 µM 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 bölgedeki tutulumun A549 hücreleriyle oluşturulan tümörlü bölgedeki 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'IN 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 ± 0.81; 1.89 ± 0.49) and vancomycin-resistant enterococci, (7.78 ± 0.81; 1.84 ± 0.53%) and approximately 2 times higher on *Escherichia coli* (8.12 ± 1.01; 3.68 ± 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- Yöntem:** Anamur-Mersin'de bulunan "Yarık Düdeni" mağarasından bakteri örnekleri toplanmış ve mağara bakterilerinden üretilen organik Ciprofloxacın (o-CIP) izole edilmiştir. CIP enfeksiyonun tedavisinde kullanılan bir antibiyotiktir. Bu çalışmada, o-CIP Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi ile saflaştırılıp, sonuçlar sentetik türevi (s-CIP) ile kıyaslanmıştır. İzole edilen o-CIP'in antimikrobiyal aktivitesi patojenik mikroorganizmalar üzerinde belirlenmiştir. o-CIP ve s-CIP bileşiklerinin radyoşaretli türevleri ise Nükleer tıpta 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 kullanılacak henüz bilinmeyen maddeler üreten mikroorganizmalar açısından zengin habitatlar olduğu gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Mağara bakterileri, Ciprofloxacın (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 DIŞI AKCİĞER KANSERİ HÜCRE HATTINDA DEGUELIN'İN ANTI-METASTATİK POTANSİYELİ VE MİTOKONDRİYAL FONKSİYON ÜZERİNDEKİ ETKİSİ]

**Ezel BILDIK**<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 OSI.

**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 Dosetaksel (Doce) ile potansiyel bir kemopreventif ajan adayını 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 lizatı eldesinden sonra artan hızda santrifüj ile 'ham mitokondri peleti'(10.000xg) elde edildi. Analizler için pelet, PBS ile süspansiyon edildi. Belirlenen konsantrasyonların migrasyon ve metastaz üzerindeki etkisini incelemek için 'Yara İyileşmesi', 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 İyileşmesi' 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 gözlemlendi (p<0.004). Normalize SOD değerlerinde Doce<sub>25</sub>-Doce<sub>50</sub> ile diğer gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlemlendi (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 öngörülmektedir. 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 FAKTÖR OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ]

**Burcin BARAN**<sup>1</sup>, Gamze SANLAV<sup>1</sup>, Selen KUM OZSENGEZER<sup>1</sup>, Deniz KIZMAZOĞLU<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, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Department of Pediatric Oncology, İzmir, 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 çağı 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 korelasyon 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 ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİNDE HİPOKSİK KOŞULLARDA DEĞERLENDİRİLMESİ]

**Gizem KAFTAN OCAL**<sup>1</sup>, M. Alper ERDOĞAN<sup>2</sup>, Ozlem AKGUL<sup>3</sup>, Dervis BİRİM<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-taurinamidobenzensülfonamid türevi bir bileşiğin 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 tekniği kullanılarak tayin edildi. Bileşik A10 (4-(ter-bütül)-N-(2-(N-(4-sulfamoilfenil)sulfamoil)etil)benzamid) altı farklı konsantrasyonda (0,1-100µM) 48 saat boyunca hipoksik koşullarda hücrelere uygulandı. MTS yöntemi ile hücre canlılığındaki değişim ölçüldü ve bileşiğin IC<sub>50</sub> değeri hesaplandı. Ardından, bileşiğin (IC<sub>50</sub>) hücrelerdeki KAIX düzeyine etkisi ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. Selektif KAIX/KAXII inhibitörü U-104 (100µM) ile seçilen bileşiğin 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 bileşiğinin 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 bileşiğin hipoksik koşullarda üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde KAIX inhibisyonu gösterilmiştir. Taurinamidobenzensülfonamid 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 (PHOSPHATIDYLINOSYTOLE 3-KINASE) INHIBITOR ALPELICIBINE COMBINATION WITH IRINOTECAN ON HORMONE POSITIVE (MCF-7) BREAST CANCER CELL

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

**Ali Furkan KIDIL,** Efe Ozgur SERINAN, 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- $\alpha$  (PI3K $\alpha$ ) enzyme; It plays a role in intracellular signaling and proliferation steps. Mutation of the gene encoding the PI3K $\alpha$  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

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

**Amaç:** Meme kanseri, kadımlar 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 sıklıkla kullanılmakla beraber, Topoizomerez- I inhibitörünün HR+ meme kanserinde PI3K inhibitörleri ile kombine terapisi halen araştırılmaktadır. Bu çalışmada bir PI3K inhibitörü olan Alpelisib (ALP) ile Topoizomerez- I inhibitörü İronotekan (İRO)'nun kombine terapisinin HR(+) MCF-7 hücreleri üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

**Gereç-Yöntem:** ALP (2,5-25  $\mu$ M) ve İRO'nun (10-200  $\mu$ g)'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 sürüklemeye 24 saatte etki gösterdi. Benzer şekilde 100  $\mu$ M İRO ile kombinasyonunda apoptoza etkisi kontrole kıyasla 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, İronotekan, Hücre Döngüsü, Apoptoz

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

### [PREEKLAMPTİK GEBELERDE ANTIHİPERTANSİF TEDAVİNİN TRİMETİLAMİN-N-OKSİT DÜZEYLERİNE ETKİSİ]

Zinnet Sevval AKSOYALP<sup>1</sup>, Betül Rabia ERDOĞAN<sup>1</sup>, Mustafa SENGUL<sup>2</sup>, **Saliha 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 preeklampitik (NTP, n=10) ve antihipertansif tedavi alan preeklampitik (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 preeklampitik kadınlarda 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 diyastolik 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

[ANTI 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 TENKECI<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'-deoxynucleoside 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  $\mu$ M for HT-29, HeLa, Hep55-1C telomerase positive cells and >100  $\mu$ M 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 telomerez 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*da incelemek ve syngeneik fare modellerinde anti-kanser etkisini test etmektir.

**Materyal-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).

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

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:** Ribo-THIO için EC50 değerleri HT-29, HeLa, Hep55-1C hücreleri için 0.14, 0.19, 2.5 ve fibroblastlar için >100 uM bulunmuştur. Ribo-THIO, HT-29 hücrelerinde 72 saatlik inkübasyonu takiben telomerik DNA hasarını anlamlı şekilde artırmıştır. Singeneik modelde, Ribo-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 Ribo-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. Ribo-THIO, telomeraz pozitif kanser hücreleri için selektif bir tedavi yaklaşımı olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kanser, telomer, telomeraz, ribo-THIO

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

### [CİTRUS AURANTIUM'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, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, İzmir, 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 Sferoid 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 Sferoid 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 antitumorogenic 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 (Tiroid 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 (CA) 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, tümörögenез 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 açıklığı 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 ettiğimiz bulgular CA<sub>50</sub> grubunun tüm hücre hatlarında invazyon ve migrasyonu engellemede 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 QUERCETİNİN 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, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of Basic Oncology, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>Dokuz Eylül University, Institute of Health Sciences, Department of Laboratory Animals, İzmir, Turkey

<sup>4</sup>Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, İzmir, 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 immünosupresif 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 immunohistokimyasal ile değerlendirildi. Apoptoz değerlendirmesi 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 baskılayıcı 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