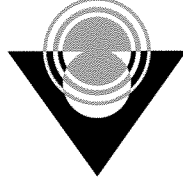


2007-215



TÜBİTAK

TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNOLOJİK ARAŞTIRMA KURUMU
THE SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

Temel Bilimler Araştırma Grubu
Basic Sciences Research Grant Group

90584

**SİTOKİNİNLERLE AKTİVE EDİLMİŞ İNSAN
ASTROGLİAL KÜLTÜRLERİNDE
ERİTROPOETİNİN NÖROTROFİK FAKTÖRLER
VE İNDÜKLENEBİLİR-NİTRİK OKSİT
SENTAZ (İNOS) ÜRETİMLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

PROJE NO : 104T225

**DOÇ. DR. FİLİZ KURALAY
DR. ERTAN AY
DR. ÖZLEM AY**

**EKİM 2007
İZMİR**

1.ÖZET

SSS'nin hücre popülasyonunun çoğunu oluşturan astrositler, ürettikleri büyüme faktörleri ile nöronlara yaşam desteği sağlamakta ve nöronların yaşam süresini arttırmaktadırlar. Büyüme faktörlerinden bir kısmı nörotrofik etkili olup bu grubun en iyi bilinenleri NGF, GDNF, BDNF'dür. Son zamanlarda hemopoetik bir büyüme faktörü olan EPO ve bakteriel bir antijen olan LPS'in astroglialarda özellikle NGF üretimini arttırdığı ve nöroprotektif ajanlar olarak kullanılabilceği bildirilmektedir. IL-1 β ise hücrelerin farklılaşması ve aktivasyonu ile lokal immün yanıtın gelişiminde önemli inflamatuvar bir sitokindir. AMY β , nörotoksik ve nörodejeneratif etkili bir proteindir. IFN γ ise immün cevapta T lenfositlerden salgılanan ve glial hücreleri uyaran bir sitokindir. EPO'nun *in vivo* ve *in vitro* etkinliği son yıllarda gösterilmiş olmasına rağmen nöroprotektif etkisinin mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte, nörotrofik faktör ve NO'nun salınımlarının düzenlenmesinde katkısı olduğu ileri sürülmektedir.

Çalışmanın amacı, LPS+IFN γ , IL-1 β ve AMY β 'nin astroglial hücrelerin aktivasyonunu sağlayıp sağlamadığını NTF olarak adlandırılan NGF, BDNF, GDNF düzeylerini ölçerek ve NO oluşumu düzeylerini ise nitrit, nitrat, iNOS ve NT düzeylerini saptayarak göstermek ve EPO'nun değişik dozlarının uygulandığı kültürlerde ise LPS+IFN ve AMY β 'nin yarattığı değişikliklerin geri dönüp dönmeyeceğini araştırmaktır.

DeneySEL çalışma her biri 3 astroglial kültür (n=3) içeren 16 gruptan oluşan 48 kültür üzerinde oluşturuldu. Oluşturulan deney grupları:

1. Kontrol,
2. LPS (10 mg/ml) + IFN γ (100 U/ml),
3. AMY (50 μ g/ml),
4. IL-1 β 10 ng/ml,
5. IL-1 β 5 ng/ml,
6. IL-1 β 1 ng/ml,
7. IL-1 β 0.1 ng/ml,
8. EPO 0.1 U/ml,
9. EPO 1 U/ml,
10. EPO 5 U/ml,
11. LPS (10 mg/ml) + IFN γ (100 U/ml)+EPO 0.1 U/ml,
12. LPS (10 mg/ml) + IFN γ (100 U/ml) +EPO 1 IU/ml,
13. LPS (10 mg/ml) + IFN γ (100 U/ml)+EPO 5 U/ml,
14. AMY(50 μ g/ml)+EPO (0.1 U/ml),
15. AMY(50 μ g/ml)+EPO (1 U/ml),
16. AMY(50 μ g/ml)+EPO (5 U/ml).

Nörotrofik faktörler, iNOS ve NT düzeyleri ELİSA yöntemi, NO düzeyleri ise kolorimetrik esasa dayalı kit yöntemleriyle çalışılmıştır.

Çalışmamızın sonucu olarak insan astroglial kültürlerinde 5 U/ml EPO uygulananı, NTF'lerden NGF düzeylerini anlamlı olarak arttırmış; BDNF ve GDNF düzeylerini etkilememiştir. Ayrıca, EPO'nun nitrit, total NO, NT ve iNOS salınımına da etkisi olmamıştır. AMY ve LPS uygulananı NGF ve GDNF düzeylerini anlamlı olarak düşürürken, EPO tedavisi ile bu gruplarda bazalden farksız düzeylere artış olmuştur. Buna karşın, AMY ve LPS uygulananı astroglial nitrit, total NO, iNOS ve NT salınımını anlamlı olarak arttırmış; LPS ve AMY gruplarında EPO tedavisi astroglial nitrit, total NO, iNOS ve NT salınımını bazal düzeylere düşürmüştür. İlginç olarak bir sonuç da, IL-1 β 'nin NGF, BDNF ve GDNF düzeylerini ve NO salınımını etkilememesidir. Sonuçlarımız,

1. AMY ve LPS'nin astroglial hücreler üzerinde inflamatuvar etkilerinin oluşumunda NGF, GDNF ve NO salınımları üzerindeki anlamlı etkileri önemli olabilir. Bununla birlikte, EPO tedavisi bu inflamatuvar etkilerin ortadan kaldırılmasına yardımcı olabilir.

2. İnflamatuvar bir etkenden bağımsız olarak EPO kullanımının, SSS'deki nörotrofik etkisinin oluşum mekanizmasında NGF aracılığının olduğunu; fakat NO aracılığının olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Astroglia, Nerve Growth Factor (NGF), Eritropoietin (EPO), sitokin, Nitrik Oksid (NO), Lipopolisakkarid (LPS)