



IV. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRE BİLDİRİSİ

Otofaji İle İlişkili MikroRNA'ların HL-60 Hücre Hattında Açlık Ve İdarubisin Maruziyeti Sonrası Ekspresyon Değişimleri

Yazarlar : Öğrenci Seçil Eroğlu - Öğrenci Seçil Demiral - Öğrenci Murat Korkmaz - Prof. Ecir Ali Çakmak - Prof. Mehmet Yılmaz

Kurum : Gaziantep Üniversitesi

GİRİŞ - AMAÇ

Akut promyelositik lösemi (APL), akut miyeloid lösemi (AML)'nin bir alt grubudur ve AML vakalarının %5-10'unu oluşturur. Farklılaşmaları promyelosit aşamasında bloke edilmiş hematopoietik öncül hücrelerin kemik iliğinde birikimi ile karakterizedir. mikroRNA'lar yaklaşık 19-25 nükleotid uzunluğunda, tek zincirli kodlanmayan RNA'lar olup, hedef mRNA'ları ile etkili bir baz eşleşmesi yaparak o mRNA'ların baskılanmasına neden olurlar. Otofaji, kendi kendini (auto) yeme (phagy) anlamına gelir ve hücrenin açlık, genomik instabilite, oksijen yetersizliği gibi stres koşullarında, hücre içindeki yapıların veziküller içine alınarak, lizozomlara gönderilmesi ile takip eden hücresel bir yıkım sürecini ifade eder. Akut lösemide mevcut kullanılan kemoterapi ilaçları hücre ölümünü teşvik etmektedir, ancak nüks ve ilaç direnci sık görülmektedir. Hücrenin kemoterapi ile maruz kaldığı stresle, otofaji aracılığı ile baş ettiği ve otofajinin tümör hücrelerinin sağ kalımına katkı sağladığı son çalışmalarda gösterilmiştir. Bu yüzden sitotoksik kemoterapi ile birlikte otofaji inhibisyon stratejileri de önerilmeye başlanmıştır. Bu çalışmada otofaji genlerini inhibe eden mikroRNA'ların, idarubisin ve açlığa maruz bırakılmış HL-60 hücre hatlarında ekspresyon seviyelerini göstermeyi amaçladık.

METOD

Otofaji genlerini tahmini hedefleyen mikroRNA'lar targetscan ve mirbase veritabanları kullanılarak bulunmuş ve bu mikroRNA'lardan on tanesi seçilmiştir. Akut promyelositik lösemi hücre hattı olan HL-60 kullanılmıştır. Bir grup HL-60 hücrelerine idarubisin (IC50:0.04µM) verilmiş, bir grup hücre, otofajinin tetiklenmesi için açlığa maruz bırakılmış, kontrol grubu hücreye ise hiçbir şey uygulanmamıştır. Elde edilen mikroRNA'ların ekspresyon seviyelerini ölçmek için qRT-PCR yöntemi kullanılmıştır.

BULGULAR

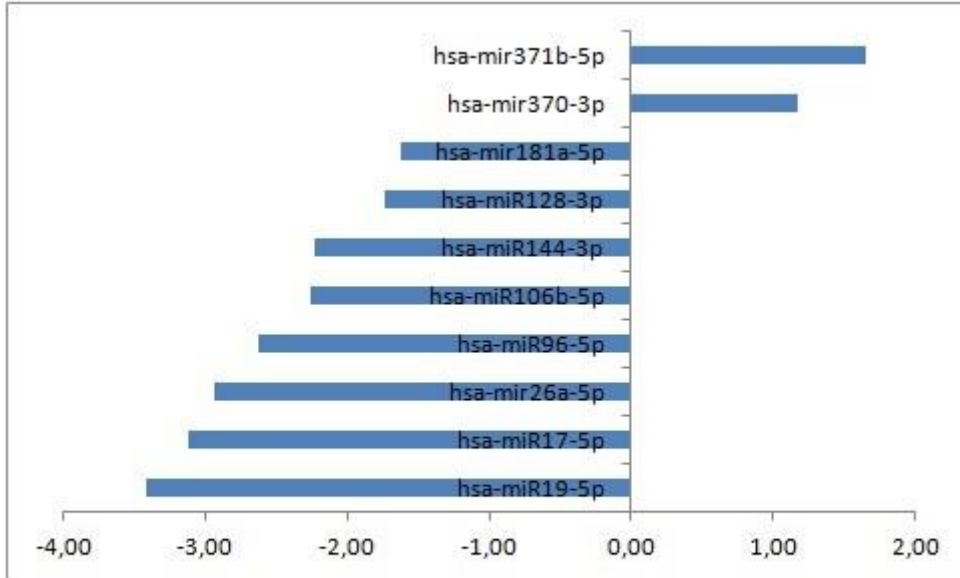
Ct değerlerinden, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri hesaplanarak kat değişimleri bulunmuş, miR-17-5p, miR-19a-3p, miR-26a-5p ve miR-96-5p ekspresyon seviyelerinde açlığa maruz bırakılmış hücrelerde kontrole kıyasla üç kat anlamlı bir azalış görülmüştür (Şekil 1). İdarubisin maruziyeti sonrası herhangi anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır.

SONUC

Otofaji, farklı uyarıcı yollar ve otofaji ile ilişkili genlerin (ATG) bulunduğu karmaşık bir ağ mekanizmasıyla düzenlenir. Bu genleri hedef alan mikroRNA'ların da otofajiyi düzenlemede rol aldıkları bilinmektedir. Açığa maruz bırakılmış hücrelerde ekspresyon seviyesi değişen miRNA'ların, İdarubisin maruziyeti ile değişmemesi, otofajinin farklı uyarıcı yollar üzerinden düzenlendiğini göstermektedir. Yeni tedavi stratejileri geliştirebilmek adına ileriki çalışmalarda daha fazla sayıda ve farklı otofaji genlerini hedef alan mikroRNA'lar taranıp otofaji ve lösemideki rolleri ortaya konulmalıdır.

ANAHTAR KELİMELE

Lösemi, HL-60, Otofaji, mikroRNA, APL



Şekil 1. Açığa maruz bırakılmış HL60 hücrelerinde kontrole kıyasla mikroRNA ekspresyon kat değişimleri