



IV. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRE BİLDİRİSİ

KUERSETİN VE APIGENİN'İN KRONİK MİYELOİD LÖSEMI KÖK HÜCRELERİ ÜZERİNE SİTOTOKSİK VE APOPTOTİK ETKİLERİ

Yazarlar : Araştırma Görevlisi Yağmur Kiraz - Prof. Ali Ünal - Öğrenci Nihan Aktaş - Dr. Ayşe Birekul - Öğrenci Günsu Aydın - Prof. Yusuf Baran

Kurum : Abdullah Gül Üniversitesi, Yaşam ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 38080, Kayseri

GİRİŞ - AMAÇ

Kronik miyeloid lösemi (KML), 9 ve 22. Kromozomlar arasında meydana gelen resiprokal translokasyon sonucu meydana gelen BCR/ABL onkogeninin tetiklediği hematolojik bir kanser türüdür. BCR-ABL proteinini hedefleyerek aktivitesini engelleyen tirozin kinaz inhibitörlerinin (TKİ) geliştirilmesi ve ilaçların KML hastalarında uygulanması ile önemli başarılar elde edilmesine karşın hastalarda bu ajanlara karşı geliştirilen dirençlilik, KML tedavisinde mutlak başarıyı kısıtlamaktadır. Bu nedenle de KML kök hücrelerinde apoptozu tetikleyen yeni moleküllerin tespit edilmesi önemlidir. Kuersetin, farklı bitkilerde bulunan bir polifenolik flavanoiddir. Kuersetin'in farklı kanser türlerinde terapötik etkisi etkisi olmasına karşın literatür bilgimize göre Kuersetin'in KML kök hücreleri üzerine sitotoksik ve apoptotik etkilerinin belirlendiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Apigenin (4',5,7- trihidroksiflavon) ise farklı sebze ve meyvelerde bulunan ve farklı kanser türlerinde hücresel büyümeyi baskılama ve apoptozu tetikleme etkileri gösterilmiş bir flavanoiddir. Bu çalışma kapsamında Kuersetin'in ve Apigenin'in K562 hücre popülasyonundan seçilen KML kök hücreleri üzerine sitotoksik ve apoptotik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

METOD

K562 hücre popülasyonundan K562 KML kök hücreleri sorting yöntemi ile elde edilmiş ve akım sitometri yöntemi ile ilgili belirteçlere bakılarak bu hücrelerin KML kök hücresi olduğu belirlenmiştir. K562 KML kök hücreleri artan dozlarda Kuersetin ve Apigenin'e maruz bırakılmış ve hücre çoğalması üzerine etkisi XTT yöntemi ile belirlenmiştir. Kuersetin ve Apigenin'in K562 KML kök hücreleri üzerine apoptotik etkileri kaspaz-3 enzim aktivitesi ve mitokondri zar potansiyelinde (MZP) meydana gelen değişimler ve Anexin-V akım sitometrisi yöntemleri ile belirlenmiştir. Bu amaçla kaspaz-3 kolorimetrik enzim aktivitesi ölçüm kiti, JC-1 MZP belirleme kiti ve Anexin V-FITC kiti kullanılmıştır.

BULGULAR

Akım sitometri sonuçlarında seçilen hücrelerin %99,58'inin CD38 negatif ve %94,21'inin CD34 pozitif olması bu hücrelerin KML kök hücresi olduğunu göstermiştir. 48 saat boyunca artan dozlarda Apigenin ve Kuersetin'e (1-40 nM) maruz bırakılan K562 KML kök hücrelerinin proliferasyonu doza bağımlı olarak azalmış ve Apigenin'in IC50 değeri 3 nM olarak hesaplanırken Kuersetin'in IC50 değeri 1,5 nM olarak hesaplanmıştır. 1-, 5- ve 10 nM Apigenin uygulanan K562 KML kök hücrelerinin çoğalma yüzdesinde



IV. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRE BİLDİRİSİ

kontrol grubuna göre sırasıyla %34, %80 ve %96 azalma tespit edilmiştir. 1-, 5-, 10- ve 20 nM Kuersetin uygulanan hücrelerde bu azalma %37, %72, %90 ve %99 şeklindedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, artan dozlarda (1-20 nM) Apigenin uygulanan kök hücrelerin kaspaz-3 enzim aktivitesinde %8, %53 ve %82 artış gözlenirken, Kuersetin (10-, 20 nM) uygulanan hücrelerde ise %75 ve %321 artış gözlenmiştir. Apigenin ve Kuersetin uygulanan KML kök hücrelerinin mitokondri zarı potansiyelinde meydana gelen bozulmalar ve Anexin-V analiz sonuçları da Apigenin ve Kuersetin'in doza bağımlı olarak apoptozu tetiklediğini ve apoptotik hücre popülasyonunda önemli artışlara neden olduğunu göstermiştir.

SONUC

Kuersetin ve Apigenin'in KML kök hücreleri üzerine apoptotik ve antiproliferatif etkileri belirlenmiş ve KML kök hücreleri üzerine terapötik etkilerinin olabileceği gösterilmiştir. Kuersetin ve Apigenin'in kaspaz-3 enziminin ve mitokondrinin apoptotik hücre ölümlerindeki rolleri tarafımızca ortaya konmuştur.

ANAHTAR KELİMELE

Apigenin, Kuersetin, kronik miyeloid lösemi kök hücreleri, apoptoz, sitotoksiste