



VI. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

Bendamustinin HL60 Hücrelerinde Mitotik Katastrofiye Etkisi

Yazarlar : Öğrenci Sezgi Kıpçak - Öğrenci Buket Özel - Dr. Çağla Kayabaşı - Prof. Güray Saydam - Prof. Cumhur Gündüz - Yrd.Doç.Dr Nur Selvi Günel

Kurum : Ege Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı

GİRİŞ - AMAÇ

Akut miyeloid lösemi (AML), hematopoetik öncül hücrelerin heterojen klonal bir hastalığıdır. Akut promiyelositer lösemi (APL), bir AML alt tipidir ve morfolojik olarak anormal promiyelositler ile karakterize edilir. Bendamustin suda çözünebilen, beyaz, nitrojen hardal grubu ve bütirik asit yan zinciri bulundurması nedeniyle amfoterik özellik gösteren mikrokristalin tozudur. Alkilleyici ajan olan bendamustin aynı zamanda pürin analogu özelliği gösterir ve diğer alkilleyici ajanlara göre toksisite profili daha ılımlıdır. Mitotik katastrofi, hatalı mitoz sırasında veya hemen sonrasında gerçekleşen hücre ölümü şeklindedir. Hücre döngüsünün hatalı kontrol noktalarının bir kombinasyonu sonucunda meydana gelir. Mitotik katastrofi siklin B1 bağımlı kinaz, polo-like kinaz, aurora kinaz, kaspazlar ve Bcl-2 ailesi gibi pek çok moleküler sistemle kontrol edilmektedir

Çalışmadaki amacımız mitotik katastrofiye neden olduğu bilinen bendamustinin, APL hücre serisi olan HL60 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini belirleyerek, hücre döngüsünü durdurucu etkisini ve mitotik katastrofi, hücre döngüsüyle ilişkili genlerin ekspresyon değişimlerini belirlemektir.

METOD

Çalışmamızda bendamustinin APL'ye model oluşturan HL60 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla 10 µg/ml, 30 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml'lik dilüsyonları 48. saatte WST-1 testi kullanılarak belirlenmiştir. Hücre döngüsü üzerindeki etkileri Cycletest Plus DNA Reagent Kit ile hücre döngüsü ve mitotik katastrofi ile ilişkili genlerin ekspresyonları ise kantitatif RT-PCR ile rölatif olarak belirlenmiştir.



VI. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

BULGULAR

Bendamustinin sitotoksik etkisinin HL60 hücre serisi üzerinde yüksek dozlarda etkili olduğu belirlenmiştir. Hücre döngüsü analizi sonucunda 48 Saat boyunca bendamustin ile muamele edilen HL 60 hücrelerinin kontrole kıyasla doza bağımlı olarak G2/M evresinde hücre arrestine neden olduğu belirlenmiştir (G2/M; kontrol : %14.09, 10µg/ml Bendamustin; %23.56, 30µg/ml1 Bendamustin: %24.97). Gen ekspresyon analizleri sonucunda ise mitotik katastrofi ile ilişkili olan, tümör hücrelerinde aşırı ifade edildiği bilinen ve onkogenik özellik gösteren Polo like kinaz 1 (Plk1) ekspresyonunun 7.5-kat, Plk1 tarafından fosforile edildiği bilinen Siklin B 'nin ise 12,1 kat azaldığı belirlenmiştir. Hücre döngüsü genlerinden p21 ve ATM'nin ekspresyonu ise sırasıyla 25,2 ve 8,2 kat artmıştır.

SONUC

Çalışmamızda bendamustinin ancak yüksek dozlarda sitotoksik etki yarattığını belirledik. Hücre döngüsü analizleri sonucunda mitotik katastrofiye neden olduğu bilinen bendamustinin bu özelliğiyle uyumlu olarak HL60 hücrelerinin G2/M evresinde arrestine neden olduğunu ve gen ekspresyon analizleri sonrasında mitotik katastrofi ile ilişkili olduğu bilinen Plk1 ve siklin B ekspresyonlarının da hücre döngüsü analizi sonuçlarını destekleyici biçimde değiştiğini belirledik. Bunun yanı sıra siklin bağımlı kinaz inhibitörü olarak tanımlanan hücre döngüsü kontrolünde önemli role sahip olduğu bilinen p21 geninin ekspresyonunda artış olduğunu tespit edilirken p21 geni tarafından regüle edilen ve DNA hasarı sonucunda tetiklenen sinyal ileti kaskadında aktif bir role sahip olan ATM geninin ekspresyonunun da artmış olduğu belirledik. Bu sonucun p53 defektli hücre serisi olan HL60 da hücre döngüsünün G2 evresinde arreste neden olabileceğini sonucuna varılabilir.

Sonuç olarak, bendamustinin, özellikle apoptozdan kaçan hücreleri mitotik katastrofi yoluyla hücre ölümüne sevk edebilme yeteneği açısından APL'nin tamamlayıcı tedavisinde umut vadebileceğini düşünmekteyiz.

ANAHTAR KELİMELELER

. Akut promiyelositer lösemi, mitotik katastrofi, bendamustin