



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

Ruxolitinibin K562 KML Hücrelerinde Glikoliz Metabolizması Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Yazarlar : Öğrenci Selin ÇEŞMELİ - Araştırma Görevlisi Bakiye GÖKER BAĞCA - Araştırma Görevlisi Neslihan Pınar ÖZATEŞ AY - Dr. Zaka ABBASZADE - Doç. Dr. Çığır BİRAY AVCI

Kurum : Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

GİRİŞ - AMAÇ

Kronik myeloid lösemi (KML) bir klonal myeloproliferatif neoplazmdır ve t (9;22) (q34; q11) resiprokal translokasyonunun sonucunda oluşan BCR-ABL füzyon genleri ile karakterizedir. Bu füzyon geni, sinyal yollarında önemli rol oynayan agresif tirozin kinaz ile ayırt edilen yüksek oranda aktif olan BCR-ABL onkoproteinini kodlamaktadır. İmatinib, nilotinib ve ponatinib gibi FDA-onaylı moleküler hedeflenmiş terapiler KML'de sağkalım oranlarını ciddi şekilde değiştirmekte ve hastaların hayat kalitesini yükseltmektedir. Fakat; terapi direnci, kök hücre heterojenitesi ve metastaz riski hala düşünülmesi ve aşılması gereken konulardır.

JAK/STAT yolunun KML'deki rolü tedavi için yeni stratejiler sunmuştur. Kasım 2011'de FDA onayı alan ve bir JAK1/2 inhibitörü olan ruxolitinib, primer myelofibroz için lisanslanan bir madde olarak bilinmektedir. Ruxolitinibin tirozin kinaz inhibitörleri (TKI) ile kombinasyonunun KML kök/progenitör hücrelerinin eliminasyonu için yapılan çalışmalar hız kazanmaktadır.

Bu çalışmada, K562 KML hücrelerine ruxolitinib IC50 dozu uygulanarak glikoliz genlerindeki ekspresyon değişimlerinin incelenmesi ve Seahorse XFp Enerji Fenotipi Testi gerçekleştirilerek, ruxolitinibin glikolitik mekanizmada ve mitokondriyal solunum oranlarındaki etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.

METOD

Ruxolitinib'in IC50 dozunun uygulandığı K562 hücrelerinde glikolitik mekanizma ve mitokondriyal solunum oranlarındaki etkilerinin araştırılması amacıyla Seahorse XFp Enerji Fenotipi Testi (Agilent), glikoliz yolağı ile ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerindeki değişim ise Real-time qPCR yöntemiyle analiz edilmiştir.



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

BULGULAR

Sehorse XFp Enerji Fenotipi Testi

Ruxolitinib uygulanmış K562 hücrelerinin göre oksijen tüketme oranı (OCR- oxygen consumption rate) ve ekstraselüler asidifikasyon oranının (ECAR- extracellular acidification rate) kontrole göre azaldığı görülmektedir. Metabolik potansiyelin artmış görünmesine karşın, OCR ve ECAR'e bakılarak hücre metabolizma hızının azaldığı söylenebilmektedir.

Gen Ekspresyon Analizi

Kanser hücrelerinde artmış ekspresyon gösteren ve tedavi stratejilerinde sıkça hedeflenen heksokinaz 2 (HK2- hexokinase 2) (Liu et al., 2017) geninin ekspresyonunun çalışmamızda 3 kat azaldığı görülmektedir. Pirüvat dehidrojenaz kinaz 3 (PDK3- pyruvate dehydrogenase kinase 3) enziminin kanser hücrelerinde HIF-1 α aracılığı ile ekspresyonunun arttığı, laktik asit birikiminde ve ilaç direncinde etkili olduğu gösterilmiş; PDK3 inhibisyonu ise glikolizi ve sağ kalımı engellediği bilinmektedir (Lu, Lin, Chen, Lai, & Tsai, 2008). Çalışmamızda ise PDK3 ekspresyonunun 2 kat azaldığı görülmektedir.

Meme kanseri hücrelerinde artmış ekspresyon gösteren ATP sitrat liyaz (ACLY- ATP citrate lyase) geninin ekspresyonu çalışmamızda yaklaşık 2,5 kat azalmış görülmektedir. ACLY geninin deregülasyonunun apoptozu indüklediği ve malin hücre büyümesini arttırdığı bilinmektedir (Wang, Yin, Wei, Yang, & Jiang, 2017).

SONUC

Seahorse XFp Enerji Fenotipi Testinin sonuçlarında metabolik potansiyelin kontrole kıyasla anlamlı derecede arttığı bunun yanı sıra ECAR ve OCR değerlerinde azalma görülmektedir. Özellikle asidifikasyonun kanser hücre oluşumu ve gelişimindeki önemi bilindiğinden, bu orandaki azalma pozitif bir sonuç göstermektedir. Aerobik solunumun solid tümörler gibi hematolojik kanserlerde de önemli bir özellik olduğu varsayıldığında, OCRdaki azalmanın tümör üzerinde negatif bir etkiye sahip olduğunu kanıtlar niteliktedir. Bu nedenle, ekspresyonlarında önemli değişim gözlenen genlerin ve metabolizma hedefli yaklaşımların konvansiyonel kanser tedavilerine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELER

Kronik Miyeloid Lösemi (KML), Ruxolitinib, Metabolik potansiyel, Glikoliz, qRT-PCR.