Kocatepe Veterinary Journal

Kocatepe Vet J (2017) 10(1): 7-13
DOI: 10.5578/kvj.48640
Submittion: 27.12.2016
Accepted: 01.02.2017

RESEARCH ARTICLE

Gemsitabin Uygulanan Prostat Kanseri Hücre Hatlarında Oxaliplatin ve Sisplatinin Kemoterapötik Etkilerinin Belirlenmesi

Hatice Arzu ÖZYÜREK[1], Gülcan AVCI[*2], Nuray VAROL[3]

[1] *Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D, AFYONKARAHİSAR.*
[2] *Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya AD, AFYONKARAHİSAR.*
[3] *Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D, AFYONKARAHİSAR.*

***Corresponding author e-mail:** gulcanavci@hotmail.com

ÖZ

Ürogenital kanserler içerisinde erkeklerde görülme sıklığı açısından ilk sırada yer alan prostat kanseri, kanser ilişkili ölümler arasında ikinci sırada yer almaktadır. Mevcut araştırmalar, spesifik hasta popülasyonlarında ilave avantajlar sağlamak için platin-temelli kemoterapötikler ile hedeflenmiş tedavi kombinasyonlarına odaklanmıştır. Cerrahi veya radrasyonu takiben platin bazlı kombinasyon kemoterapisi kullanımı en fazla yararı sağlamaktadır. Bu çalışmanın amacı, platin temelli kemoterapötikler sisplatin ve oksaliplatin ile Gemsitabinin tek başına ve kombine dozlarının insan prostat kanserli hücre hatları olan DU-145 ve PC3 üzerindeki hücre proliferasyonu ve apoptotik yolaklar üzerine etkilerini belirlenmektedir. Prostat kanserli hücre hatlarında bu ilaçların tek başlarına veya kombine dozlarının, hücrelerin canlılığı üzerine olan etkileri WST-1 yöntemiyle ve CASP3, CASP8 ve CASP9 genlerinin mRNA düzeylerinde ifadelenme değişiklikleri RT-PCR ile belirlendi. Sonuç olarak, içsel ve dışsal yolakta görev alan *CASP8* ve *CASP9* genlerinin mRNA düzeyleri değerlendirildiğinde sisplatinin içsel yolaktan *(CASP9)* ve oxaliplatinin ise dışsal yolaktan *(CASP8)* apoptozu indüklediği tespit edildi. Bu göstermektedir ki; platin temelli kemoterapötik olan oxaliplatin ve sisplatin hedef yolakta farklı proteinler üzerinden etki etmektedir. Oxaliplatinin tek başına veya gemsitabin ile kombinasyonlarının apoptotik yolakta sisplatinden daha etkin olduğunu belirlendi.

Anahtar Kelime: Gemsitabin, Kaspazlar, Oxaliplatin, Prostat kanseri, Sisplatin.

The Determination of Chemotherapeutic Effects of Oxaliplatin and Cisplatin In The Prostate Cancer Cell Lines Administered Gemcitabine

ABSTRACT

While prostate cancer takes first place in terms of prevalence among genitourinary cancers in men, it is second among cancer related deaths. Current researches are focused on combining targeted therapy with platinum-based chemotherapy for achieve additional avantages for spesific patient populations. Use of platin-based combination chemotherapy followed by surgical resection and/or radiation ensures the most benefit terapy. The aim of this study was to compare the effectiveness of platinum-based chemotherapeutics Cisplatin and Oxaliplatin used single or combination doses with Gemsitabine on apoptosis and cell proliferation of DU145 and PC3 human prostate cancer cell lines. The effects of drugs alone or combinations on cell viability were determined by WST-1 method. The mRNA expression levels of Caspase-3, Caspase-8, Caspase-9 genes were analyzed by real time polymerase chain reaction (RT-PCR). As a result, when evaluated the mRNA levels of Caspase-8 and Caspase-9 genes that play role intrinsic and extrinsic pathway, it was faund that Cisplatin induced apoptosis by intrinsic pathway, and Cisplatin induced apoptosis by extrinsic pathway. It is determined that, only Oxaliplatin or along with Gemsitabin combinations are more effective on apoptotic pathway than Sisplatin.

Key Words: Gemsitabine, Caspases, Oxaliplatin, Prostate cancer, Cisplatin.

To cite this article: **Özyurek HA. Avcı G. Varol N.** Gemsitabin Uygulanan Prostat Kanseri Hücre Hatlarında Oxaliplatin ve Sisplatinin Kemoterapötik Etkilerinin Belirlenmesi. *Kocatepe Vet J. 2017; 10(1): 7-13.*

GİRİŞ

Prostat kanseri erkeklerde sıklıkla teşhis edilen ve akciğer kanserinden sonra ikinci sırada görülen kanser türleri arasında yer almaktadır. Prostat kanserinin gelişim süreci için kesin bir sebep olmamasına rağmen etnik farklılık, yaş, beslenme ve genetik faktörler gibi bazı risk faktörleri etkili bulunmaktadır. Görülme sıklığının ileri yaşla artan prostat kanseri vakalarında hastaların % 65'i 70 yaşın üzerindedir. Buna göre 40 yaş altı erkeklerde görülme oranı 1/10000 olmasına rağmen 40 yaş ve üstü erkeklerde bu oran 1/38'e, 60 yaş ve üstü erkeklerde ise 1/15'e kadar yükselmektedir (Koochekpour 2011, Pienta ve Bradley, 2006; Rentsch, 2009). Sisplatin, oxaliplatin ve gemsitabin prostat kanseri başta olmak üzere çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (Curran, 2002, Zou ve ark. 2002). Gemsitabin kemoterapi ve radyoterapiye dirençli olmalarıyla bilinen solid tümörlere karşı önemli etki gösteren bir primidin analoğudur. Genellikle bölünen hücrelerde sitotoksik aktivite gösterdiği için hücre döngüsünde belirteçtir. Hücre döngüsü sırasında S-fazı ve G1 fazı aralığındaki hücrelerin programlarını inhibe etmektedir (Hertel ve ark., 1990). Sisplatin platin atomu etrafında klor ve amonyum atomları ile çevrili inorganik bir platin kompleksidir (Tüfekçi, 2009; Coşkun, 2011). Sisplatin uzun yıllardır kanser tedavisinde kullanılmasına rağmen biyokimyasal etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. İlacın sitotoksik özelliklerini nükleer DNA'ya bağlanıp replikasyon ve transkripsiyonu bozarak gösterdiği ve ayrıca çeşitli sinyal iletim yolaklarını aktive ettiği düşünülmektedir (Kelland, 2007; Wang ve Lippart, 2005). Diğer bir platin kompleksi olan oxaliplatin ise sisplatin yapısından ayrılan klor atomlarının yerine oksalat ligandının geçmesi ile oluşan bir bileşiktir (Desoize ve Modoulet, 2002). Oxaliplatin, sisplatine karşı direnç gösteren kanser türlerinde etkilidir (Desoize ve Modoulet, 2002). Özellikle kullanılan ilaçların tek başına ya da kombinasyonlarının yan etkileri dikkate alındığında prostat kanserinde daha etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulduğu görülmektedir (Zou ve ark. 2002). Sisplatin ve oxaliplatin, kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan ve birbirinin türevi olan kemoterapötikler olmasına karşın, özellikle sisplatinin istenmeyen yan etkileri gözönüne alındığında, ilaçların birbiri ile kombine edilerek sinerjistik etki gösterip göstermediklerinin belirlenmesi tedavide bunların daha düşük dozda kullanımı yolunu açması bakımından konuyu önemli hale getirmektedir. Böylece kemoterapide kullanılan bu ilaçların kombinasyonu ile apoptozise giden yolda aynı veya farklı yolaklar üzerinden sinerjistik etki göstermeleri ilacın tedavide istenmeyen yan etkilerinin hafifletilmesine neden olacaktır. Bu amaçla çalışmada, DU-145 ve PC3 prostat kanseri hücre hatları kullanılarak platin temelli kemoterapötik ilaçlar olan sisplatin ve oxaliplatinin hem tek başına hem de Gemsitabin ile kombinasyonu yapılarak uygulanmasının hücre proliferasyonu ve apoptoza giden yoldaki CASP3, CASP8 ve CASP9 mRNA düzeylerine etkisi belirlenmiştir. Bu bağlamda elde edilen veriler ile söz konusu ilaçların tek başına ya da kombinasyonlarının tedavide nasıl kullanılacağına ilişkin yapılacak diğer araştırmalara temel oluşturması hedeflenmektedir.

MATERYAL VE METOT

Hücre Hatları Araştırmada kullanılan DU145 insan prostat kanser hücre hattı Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ve PC3 insan prostat hücre hattı ise İstanbul Kültür Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'dan temin edilmiştir.Çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı Biyoteknoloji Ünitesinde gerçekleştirilmiştir.

Hücre Kültürü DU145 ve PC3 hücreleri, %10 FBS içeren RPMI 1640 besiyerinde % 95 nem ve % 5 CO2'li ortamda 37°C ayarlı etüv içerisinde kültüre edildi. DU145 ve PC3 hücreleri, (0.1- 50µM) gemsitabin ve sisplatin, (0.1-180µM) oxaliplatin ile ayrı ayrı ve gemsitabin+sisplatin ve gemsitabin+oxaliplatin kombinasyonları halinde 0-72 saat süreyle inkübe edildi. Gemsitabin, sisplatin ve oxaliplatin kemoterapötikleri için çözücü olarak dH2O kullanıldı. İnkübasyon sonrasında her bir doz ve süre için sitotoksik etkileri araştırıldı. Her bir konsantrasyon için 3 ayrı kültür yapılarak deney tekrarlandı.

WST-1 Sitotoksisite Deneyi DU145 ve PC3 hücreleri 96 kuyulu hücre kültür kaplarına 105 hücre/ kuyu olacak şekilde ekildi, bir gece besiyerinde inkübe edilerek hücrelerin yapışmasını takiben besiyeri uzaklaştırıldı. Daha sonra Gemsitabin, Sisplatin ve Oxaliplatin birlikte ve ayrı ayrı çeşitli konsantrasyonları ile 0-72 saat süreyle inkübe edildi. Belirtilen sürelerin sonunda hücre proliferasyonu WST-1 assay (Roche, Almanya; Kat. No: 001 644 807 001) ile belirlendi. Negatif kontroller kör olarak kullanıldı. Hücre canlılığı % hesaplamaları Microsoft Excel programı ile gerçekleştirildi.

Hücrelerden Total RNA İzolasyonu Belirtilen dozlarda DU145 ve PC3 hücrelerinden inkübasyon sürelerinin ardından Tripure Isolation Reagent ile total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Örnekler kullanılıncaya kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklandı.

cDNA Sentezi RT2 HT First Strand cDNA sentez kiti (Qiagen, Almanya; Kat. No: 330411) kullanılarak total RNA'dan protokol doğrultusunda

gerçekleştirilmiştir. Real-Time PCR'da kullanılıncaya kadar -200C'lik derin dondurucuda saklandı.

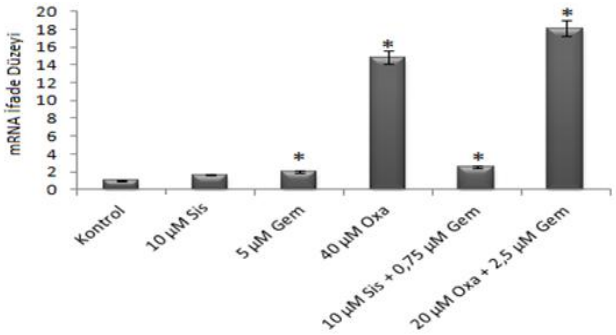
Genlerin İfade Edilmesinin Real-Time PCR ile Ölçümü CASP3, CASP8 ve CASP9 genlerinin mRNA miktarları, Real-Time PCR yöntemi ile RotorGeneQ cihazı kullanılarak yapıldı. Amplifikasyonlar 25 µL toplam tepkime hacmi içerisinde; cDNA, bölgeye özgü primerler ve RT2 SYBR Green Mastermix karışımı (Qiagen, Almanya; Kat. No:330500) ve steril H2O-PCR grade kullanılarak gerçekleştirildi. CASP3, CASP8 ve CASP9 genlerinin ifadelenmesini normalize etmek için GAPDH mRNA düzeyi referans olarak alındı. Reaksiyon sonucunda, CASP3, CASP8, CASP9 ve GAPDH genlerin mRNA düzeylerini gösteren Crossing point (Cp) değerleri belirlendi. CASP3, CASP8 ve CASP9 ifade düzeyleri GAPDH ifade düzeyine göre normalize edildi. Göreceli gen ifadesi sonuçları REST programı kullanılarak "Pfaffl" matematiksel yöntemi ile hesaplandı.

İstatistiki Analiz Doza bağlı olarak değişen, CASP3, CASP8 ve CASP9 ve GAPDH mRNA ifade düzeylerindeki farklılıklar "Qiagen Data Analysis Center" istatistik programı ile karşılaştırıldı. 0.05'den küçük olan P değerleri istatistiki açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

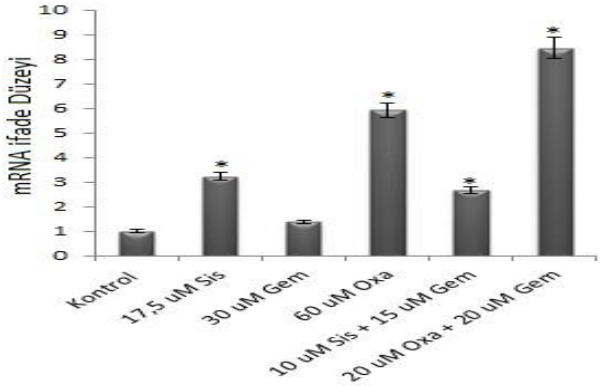
DU145 ve PC3 prostat kanser hücrelerinin gemsitabin, sisplatin ve oxaliplatin'in ayrı ayrı ve birlikte kombinasyonlarının uygulaması sonrasında tüm gruplardaki CASP3, CASP8 ve CASP9 geninin mRNA düzeyindeki değişimler Şekil 3.(1-6)'da gösterildi.DU145 prostat kanser hücrelerinde CASP3 geninin mRNA düzeyi kontrole göre 10 µM sisplatin uygulaması sonrasında 1.65 kat artmasına rağmen istatiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmedi. Diğer gruplarda ise; 5µM gemsitabin ile muamele edilmesi sonrasında 2.04 kat, oxaliplatin uygulaması sonrasında 14.82 kat, 10 µM sisplatin + 0.75 µM gemsitabin uygulaması sonrasında 2.51 kat, arttığı belirlenmiş ve 20 µM oxaliplatin + 2.5 µM gemsitabin uygulanması sonrasında ise 18.12 kat artış istatiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur (Şekil 3.1).

PC3 prostat kanser hücrelerinde CASP3 geninin mRNA düzeyi kontrole göre 30µM gemsitabin ile muamele edilmesi sonrasında 1.37 kat artmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı bir artış değildi. Diğer gruplarda ise; 17.5 µM sisplatin uygulaması sonrasında 3.22 kat, 60 µM oxaliplatin uygulaması sonrasında 5.93 kat, 10 µM sisplatin + 15 µM gemsitabin uygulaması sonrasında 2.65 kat, arttığı belirlenmiş ve 20 µM sisplatin + 20 µM gemsitabin uygulaması sonrasında 8.45 kat artışla istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur (Şekil 3.2)



Şekil 3.1. DU145 hücre hattında CASP3 geninin mRNA düzey değişimleri. Hedef genin ifade düzeyi GAPDH mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi, *; ($p<0.05$).

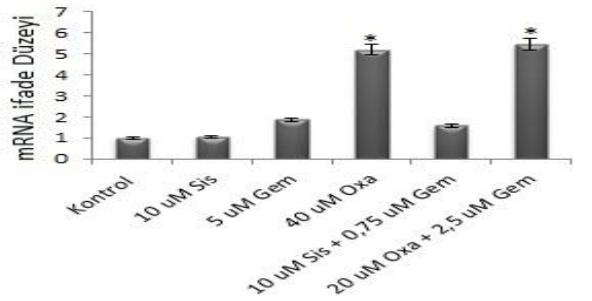
Figure 3.1. mRNA levels of CASP3 gene in DU145 cell line. Target gene expression level was normalized based on GAPDH mRNA expression level, *; ($p<0.05$).



Şekil 3.2. PC3 hücrelerinin CASP3 geninin mRNA düzeyinde değişimler . Hedef genin ifade düzeyi GAPDH mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi, *; ($p<0.05$).

Figure 3.2. mRNA levels of CASP3 gene in PC3 cell line. Target gene expression level was normalized based on GAPDH mRNA expression level, *; ($p<0.05$).

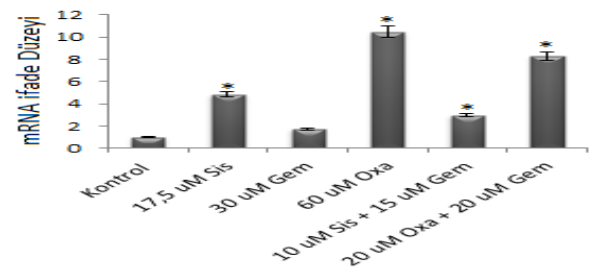
DU145 prostat kanser hücrelerinde CASP8 geninin mRNA düzeyi kontrole göre; 10 µM sisplatin uygulaması sonrasında 1.06 kat, 5µM gemsitabin ile muamele edilmesi sonrasında 1.86 kat, 10 µM sisplatin + 0.75 µM gemsitabin uygulaması sonrasında 1.59 kat artış göstermesine rağmen istatiksel olarak anlamlı bulunmadı. Diğer gruplarda ise; 40 µM oxaliplatin uygulaması sonrasında 5.2 kat arttığı belirlendi ve 20 µM oxaliplatin + 2.5 µM gemsitabin uygulaması sonrasında 5.46 kat artış istatiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulundu (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. DU145 hücrelerinin CASP8 geninin mRNA düzeyinde değişimler . Hedef genin ifade düzeyi GAPDH mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi, *; ($p<0.05$).

Figure 3.3. mRNA levels of CASP8 gene in DU145 cell line. Target gene expression level was normalized based on GAPDH mRNA expression level, *; ($p<0.05$).

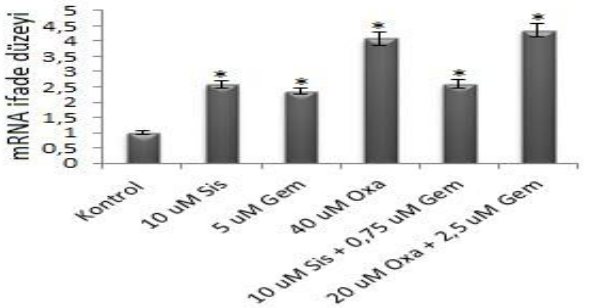
PC3 prostat kanser hücrelerinde CASP8 geninin mRNA düzeyi kontrole göre; 30μM gemsitabin ile muamele edilmesi sonrasında 1.72 kat artmış olmasına rağmen istatiksel olarak anlamlı bir artış değildi. 17.5 μM sisplatin uygulaması sonrasında 4.85 kat, 60 μM oxaliplatin uygulaması sonrasında 10.48 kat, 10 μM sisplatin + 15 μM gemsitabin uygulaması sonrasında 2.94 kat ve 20 μM oxaliplatin + 20 μM gemsitabin uygulaması sonrasında 8.28 kat artış istatiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulundu (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. PC3 hücrelerinin CASP8 geninin mRNA düzeyinde değişimler . Hedef genin ifade düzeyi GAPDH mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi, *; ($p<0.05$).

Figure 3.4. mRNA levels of CASP8 gene in PC3 cell line. Target gene expression level was normalized based on GAPDH mRNA expression level, *; ($p<0.05$).

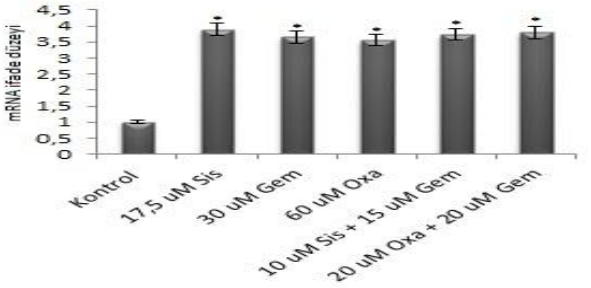
DU145 prostat kanser hücrelerinde CASP9 geninin mRNA düzeyi kontrole göre; 10 μM sisplatin uygulaması sonrasında 2.58 kat, 5μM gemsitabin ile muamele edilmesi sonrasında 2.36 kat, 40 μM oxaliplatin uygulaması sonrasında 4.08 kat, 10 μM sisplatin + 0.75 μM gemsitabin uygulaması sonrasında 2.6 kat arttığı belirlendi ve 20 μM oxaliplatin + 2.5 μM gemsitabin uygulaması sonrasında 4.34 kat artış istatistiki olarak anlamlı ($p<0.05$) bulundu (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. DU145 hücrelerinin CASP9 geninin mRNA düzeyinde değişimler . Hedef genin ifade düzeyi GAPDH mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi, *; ($p<0.05$).

Figure 3.5. mRNA levels of CASP9 gene in DU145 cell line. Target gene expression level was normalized based on GAPDH mRNA expression level, *; ($p<0.05$).

PC3 prostat kanser hücrelerinde CASP8 geninin mRNA düzeyi kontrole göre; 17.5 μM sisplatin uygulanması sonrasında 4.85 kat, 30μM gemsitabin ile muamele edilmesi sonrasında 3.65 kat, 60 μM oxaliplatin uygulaması sonrasında 3.55 kat, 10 μM sisplatin + 15 μM gemsitabin uygulaması sonrasında 3.73 kat ve 20 μM oxaliplatin + 20 μM gemsitabin uygulaması sonrasında 3.8 kat artış ile istatistiki olarak anlamlı ($p<0.05$) bulundu (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. PC3 hücrelerinin CASP9 geninin mRNA düzeyinde değişimleri. Hedef genin ifade düzeyi GAPDH mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi, *; ($p<0.05$).

Figure 3.6. mRNA levels of CASP9 gene in PC3 cell line. Target gene expression level was normalized based on GAPDH mRNA expression level, *; ($p<0.05$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kemoterapötiklerin, farklı kemoterapötiklerle veya spesifik inhibitörlerle birlikte kullanımının tedavi etkinliğini arttırdığı ve bu bağlamda gemsitabin ile oxaliplatin ve sisplatin kombinasyonlarının da pankreas ve mesane gibi solid tümörlerin tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir (Kollmannsberger ve ark., 2004; Louvet ve ark., 2005; Santisteban ve ark., 2008; Lee, 2014). Ancak sisplatinin ciddi yan etkileri bulunduğundan bunun farklı türevlerinin kullanımı söz konusu olmaktadır. Bu araştırmada prostat kanseri DU145 ve PC3 hücre hatlarında, platin temelli kemoterapötik ilaçlar olan sisplatin ve

oxaliplatinin tek başına yada gemsitabin ile kombinasyonu yapılarak bunların hücre proliferasyonu ve bazı kaspazlar üzerine olan etkileri ortaya konuldu.Sisplatin DNA'nın yapısına kovalent bağlanmak suretiyle DNA replikasyonu ve translasyonunun bozulmasına yol açmakta ve hücrede sitotoksik etkiye neden olmaktadır (Lıu ve ark., 2007). Ancak ilacın böbrek, ürogenital ve sinir sistemi ile kemik iliği üzerine olan ciddi toksisitesi ve yan etkileri sisplatinin klinik kullanımını sınırlamaktadır (Daugaard ve ark., 1988; Hamer ve ark.,1991). Bu sebeple sisplatin dozunun azaltılması da klinik kullanımı için yeterli olmadığından ilacın farklı platin-temelli ilaçlarla kombinasyonu söz konusu olmaktadır.CASP3 mRNA düzeyleri açısından karşılaştırıldığında DU145 (10μM) hücre hattında 48 saatlik uygulamada sisplatin tek başına anlamlı artış göstermezken, tek başına gemsitabin ve sisplatin + gemsitabin kombinasyonu daha etkin görülmektedir ($p<0.05$). PC3 hücre hattında ise tek başına sisplatin ve sisplatin + gemsitabin kombinasyonu daha etkin görülmektedir ($p<0.05$). Elde edilen bu verilere göre gemsitabin ve sisplatinin tek başına kullanımından ziyade kombinasyonlarının hem daha düşük dozlarda ve hem de yüksek oranda CASP3 üzerinden apoptozise etkili olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda metastatik prostat kanserinde gemsitabinin tek başına kullanılması ile prostat spesifik antijene cevap oranı % 9 iken, diğer kemoterapötikler ile kombine edildiğinde bu oranın %23'e çıktığı bildirilmektedir (Morant ve ark., 2000; Di Lorenzo ve ark., 2007). Benzer bir çalışmada ise ileri evre prostat duktal adenokarsinomalı hastaların dosetaksel ilacına karşı cevap vermezken gemsitabin/sisplatin kombinasyonuna cevap vermesinin diğer bir tedavi seçeneği olduğu belirtilmektedir (Kamiyama ve ark., 2015).

Çalışmada DU145 (10μM) hücre hattında inkubasyon sonrası CASP3 mRNA düzeyi kontrolle karşılaştırıldığında sisplatin hariç tüm uygulamalarda istatistik olarak artış gösterirken en yüksek artışın (18.22 kat) 72 saatlik uygulama ile oxaliplatin + gemsitabin kombinasyonunda olduğu belirlendi ($p<0.05$). PC3 (17.5 μM) hücre hattında ise CASP3 mRNA ekspresyon düzeyinde gemsitabin hariç tüm gruplarda istatistik olarak anlamlı artış bulunurken, 72 saatlik uygulamada oxaliplatin+ gemsitabin kombinasyonundaki (8.45 kat) artış en yüksek bulundu ($p<0.05$). Bu sonuçlara göre prostat kanser hücrelerinde gemsitabin + oxaliplatin kombinasyonunun sisplatin ile kombinasyonuna göre daha CASP3 mRNA ekspresyonunu yüksek düzeyde indüklediği görülmektedir. Oxaliplatin açısından karşılaştırıldığında ise her iki hücre hattında da tek başına ve gemsitabin + oxaliplatin kombinasyonunun istatistiki olarak CASP3 mRNA düzeylerini artırdığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar gemsitabinin bir diğer platin temelli kemoterapötik olan oxaliplatin ile kombinasyonunun güvenilirliği ve tolere edilebilirliğinin daha fazla olduğu bildirimleri ile uyumlu bulunmaktadır (Santisteban ve ark., 2008, Li ve ark,. 2011, Lee ve ark., 2014). Platin temelli kemoterapötikler olan sisplatin ve oxaliplatinin birbirlerinin türevi olmasına karşın etkilerinin aynı olmadığı ayrıca çeşitli kanser tiplerinde de etkinliklerinin farklı olduğu ortaya konmuştur (Marasco ve ark., 2015). Genital kanserlerde sisplatine göre oxaliplatinin daha etkin, güvenilir ve düşük nörotoksik profile sahip olduğu belirtilirken (Kolomeyevskaya Nonna ve ark., 2014), skuamöz hücre karsinomlarında ise etkinliğinin düşük olduğu ve rutinde sisplatinin yerini alamayacağı ifade edilmektedir (Fakhrian ve ark., 2014). Benzer bir çalışmada ise ileri evre mide kanserlerinde her iki ilacın da eşit aktivite ve toleransa sahip olduğu belirtilmektedir (Kim ve ark., 2013). Çalışmada DU145 hücre hattında inkubasyon sonrası CASP8 mRNA düzeyi kontrolle karşılaştırıldığında sadece oxaliplatin ile oxaliplatin + gemsitabin kombinasyonunda anlamlı artış bulundu ($p<0.05$). PC3 hücre hattında inkubasyon sonrası CASP8 mRNA ekspresyon düzeyi kontrolle karşılaştırıldığında gemsitabin hariç tüm gruplardaki artış ile birlikte, oxaliplatindeki artış en yüksek (10.48 kat) değere sahipti ($p<0.05$). DU145 ve PC3 prostat kanser hücreleri her ne kadar androjen bağımsız olsalar da farklı sinyal molekülleri aktiftir. Bu nedenle özellikle CASP8 mRNA düzeyini sisplatinin DU145 hattında etkilemezken PC3 hücre hattında istatistik olarak artırdığı görülmektedir. Bu sonuçlar göstermektedir ki, yalnızca oxaliplatin her iki hücre hattında da CASP8 mRNA üzerinden dışsal yolağı uyarabilmektedir. Çalışmada DU145 hücre hattında CASP9 mRNA düzeyindeki en yüksek artışın (4.34 kat) 72 saatlik uygulama ile oxaliplatin + gemsitabin kombinasyonunda olduğu belirlendi ($p<0.05$). PC3 hücre hattında ise , sisplatin (3.89 kat) ve oxaliplatin + gemsitabin kombinasyonundaki (3.8 kat) artış en yüksek bulundu ($p<0.05$). Bu verilere göre gemsitabin ve oksaliplatin kombinasyonunun CASP9 üzerinden etkili olarak daha düşük dozda sinerjistik etki gösterdikleri sonucuna varılmaktadır. Ayrıca her 3 ilaç ve kombinasyonlarının her iki hücre hattında da CASP9 üzerinden iç yolağı uyarabildiği görülmektedir. CASP3, CASP8 ve CASP9 mRNA düzeylerine bakıldığında sisplatin içsel yolak aracılığıyla CASP3'ü aktive ettiği ve oxaliplatin ise etkisini CASP8 üzerinden yani dışsal yolak üzerinden apoptozu indüklediği görülmektedir. Bu bulgular sisplatin ve oxaliplatinin hedef protein üzerinde farklı bölgelere bağlanmak suretiyle aktivitelerini gösterdikleri ifadesi ile desteklenmektedir (Marasco ve ark. 2015). Sonuç olarak ilk kez prostat kanseri hücrelerinde sisplatin ve oksaliplatinin tek başlarına ve gemsitabin ile kombinasyonunun apoptoz üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, sisplatinin içsel

yolak ile oxaliplatinin ise dışsal yolak aracılığıyla apoptozu indüklediği ve oksaliplatinin sisplatine nazaran hem tek başına hem de gemsitabin ile kombinasyonunun apoptozu daha yüksek seviyede indüklediği belirlendi. Bunlara ilave olarak ciddi yan etkilerinden dolayı prostat kanseri tedavisinde kullanımı sınırlı olan sisplatinin yerine alternatif bir kemoterapötik ilaç olan oxaliplatinin ve bunun gemstabin ile kombinasyonlarının tedavi amaçlı uygulanmasına ilişkin daha ileri düzey araştırmalara ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

KAYNAKLAR

Coşkun N. Gonadotoksisite de Asetil L- Carnitin'in testisteki koruyucu etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Histoloji Embriyoloji AD., Gazi Üniversitesi, Ankara, 2011.

Curran WJ. New chemotherapeutic agents: update of major chemoradiation trials in solid tumors. Oncology.2002; 63(2): 29-38.

Daugaard G, Abildgaard U, Holstein-Rathlou NH, Bruunshuus I, Bucher D, Leyssac PP. Renal tubular function in patients treated with high-dose cisplatin. Clin Pharmacol Ther. 1988; 44 (2):164-72.

Desoize B, Modoulet C. Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer treatment. Crit Rev Oncol Hematol. 2002; 42(3): 317-25. Review.

Di Lorenzo G, Autorino R, Giuliano M, Morelli E, Giordano A, Napodano G, Russo A, Benincasa G, D'armiento M, Altieri V, De Placido S. Phase II trial of gemcitabine, prednisone, and zoledronic acid in pretreated patients with hormone refractory prostate cancer. Urology. 2007; 69(2): 347-351.

Fakhrian K, Ordu AD, Haller B, Theisen J, Lordick F, Bišof V, Molls M, Geinitz H. Cisplatin- vs. oxaliplatin-based radiosensitizing chemotherapy for squamous cell carcinoma of the esophagus: a comparison of two preoperative radiochemotherapy regimens. Strahlenther Onkol. 2014; 190(11): 987-92.

Hamers FPT, Gispen WH, Neijt JP. Neurotoxic side-effects of cisplatin. Eur J Cancer. 1991; 27(3): 372-6.

Hertel LW, Boder GB, Kroin JS. Evaluation of the antitumor activity of gemcitabine 2' 2'-diflurodeoxycytidine. Cancer Research. 1990; 50(14): 4417-4422.

Kamiyama Y, Mitsuzuka K, Watanabe M, Kawamorita N, Yamada S, Kaiho Y, Ito A, Nakagawa H, Arai Y. Chemotherapy with Gemcitabine and Cisplatin for Advanced Ductal Adenocarcinoma of the Prostate: Clinical Courses of Two Patients. Tohoku J Exp Med. 2015; 237(4): 317-321.

Kelland L. The resurgence of platinum based cancer chemotherapy. Nat Rev Cancer. 2007; 7: 573-584 .

Kim YS, Sym SJ, Park SH, Park I, Hong J, Ahn HK, Park J, Cho EK, Lee WK, Chung M, Lee JH, Shin DB. A randomized phase II study of weekly docetaxel/cisplatin versus weekly docetaxel/oxaliplatin as first-line therapy for patients with advanced gastric cancer. Cancer Chemother Pharmacol. 2013; 73(1):163-169.

Kolomeyevskaya Nonna V, Lele Shashikant B, Miller Austin, Riebandt Grazyna C, Blum Bonnie L, Odunsi Kunle O, Frederick Peter J. Oxaliplatin is a safe alternative option for patients with recurrent gynecologic cancers after hypersensitivity reaction to Carboplatin. official journal of the International Gynecological Cancer Society. 2014; 25: 42-48.

Koochekpour S. Genetic and epigenetic changes in human prostate cancer. Iran Red Crescent Medical Journal. 2011; 13(2): 80-98.

Lee JL, Choi JH, Kim Y, Hong SW, Lee KH, Jeong IG, Song C, Hong BS, Hong JH, Ahn H. Gemcitabine–oxaliplatin plus prednisolone is active in patients with castration-resistant prostate cancer for whom docetaxel-based chemotherapy failed. British Journal of Cancer. 2014; 110: 2472-2478.

Li Z, Hou M, Wang H, Wang Z. A randomized study of gemcitabine plus oxaliplatin versus gemcitabine plus cisplatin as the 1st line chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer in elderly patients. Zhongguo Fei Ai Za Zhi. 2011; 14(7): 588-92.

Liu Y, Chen L, He X, Fan L, Yang G, Chen X, Lin X, Du L, Li Z, Ye H, Mao Y, Zhao X, Wei Y. Enhancement of therapeutic effectiveness by combining liposomal honokiol with cisplatin in ovarian carcinoma. International Journal of Gynecological Cancer Volume. 2007; 18(4): 652–659.

Louvet C, Labianca R, Hammel P, Lledo G, Zampino MG, Andre T, Zaniboni A,

Ducreux M, Aitini E, Taieb J, Faroux R, Lepere C, De Gramont A. Gemcitabine in combination with oxaliplatin compared with gemcitabine alone in locally advanced or metastatic pancreatic cancer: Results of a GERCOR and GISCAD phase III trial. J Clin Oncol. 2005; 23(15): 3509-3516.

Marasco D, Messori L, Marzo T, Merlino A. Oxaliplatin vs. cisplatin: competition experiments on their binding to lysozyme. Dalton Trans. 2015; 44(22): 10392-10398.

Morant R, Bernhard J, Maibach R, Borner M, Fey MF, Thurlimann B, Jacky E, Trinkler F, Bauer J, Zulian G, Hanselmann S, Hurny C. Response and palliation in a phase II trial of gemcitabine in hormone-refractory metastatic prostatic carcinoma. Ann Oncol. 2000; 11(2): 183-188.

Pienta KJ, Bradley D. Mechanisms underlying the development of androgen-ındependent prostate cancer. Clinical Cancer Research. 2006; 12: 1665-1671.

Rentsch CA, Cecchini MG, Thalmann GN. Loss of inhibition over master pathways of bone mass regulation results in osteosclerotic bone metastases in prostate cancer. Swiss Medical Weekly. 2009; 139(15-16): 220-225.

Tüfekçi Ö, Güneş D, Özoğul C, Kolatan E, Altun Z, Yılmaz O, Aktaş S, Erbayraktar Z, Kırkım G, Mutafoğlu K, Soylu A, Şerbetçioğlu B, Güneri EA, Olgun N. Evaluation of the effect of acetyl L-Carnitine on experimental cisplatin nephrotoxicity. Chemotherapy. 2009; 55: 451-459.

Santisteban M, Pérez-Gracia Jl, Ceballos J, Vivas İ, Garcia-Foncillas J. Oxaliplatin plus gemcitabine as a salvage schedule for hormone-refractory prostate adenocarcinoma. Clin Transl Oncol. 2008; 10(6): 372-374.

Wang D, Lippart SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs, Nat Rev Drug Discov. 2005; 4: 307-320.

Zou Z, Zhang W, Young D, Gleave MG, Rennie P, Connell T, Connelly R, Moul J, Srivastava S, Sesterhenn I. Maspin expression profile in human prostate cancer (CaP) and in vitro induction of Masp in expression by androgen ablation. Clin Cancer Res. 2002; 8(5): 1172-1177.