

دراسة دور مانعات المورثة BCL2 في خطوط الخلايا النخاعية لسرطان الدم

الحاد المقاومة لعلاج الادرياميسين

الاسم: تهاني عيادة العصلاني

إشراف:

أ.د. ممدوح قاري

د.فريد أحمد

المستخلص

سرطان الدم النخاعي الحاد (AML) هو اضطراب تكاثري لخلايا الدم النخاعية تتميز بتراكم خلايا غير ناضجة في نخاع العظام والدم ، يُعالج سرطان الدم الحاد غالباً بجرعات كبيرة من العلاج الكيميائي ، مسببة للمرضى آثار جانبية خطيرة وقد تقل نسبة نجاح العلاج خاصة لدى كبار السن. من أسباب فشل العلاج الكيميائي في مرض سرطان الدم النخاعي الحاد هو مقاومة الخلايا السرطانية للعلاج الكيميائي. يُستخدم لعلاج سرطان الدم الحاد عائلة الانثراسيكلين (anthracyclines) مثل الأدرياميسين(Adriamycin) و الدونوروبيسين (Daunorubicin) بالإضافة إلى السيترابين(Cytarabine) ، وهي أدوية كيميائية تُستخدم كعلاج أولي لهذا المرض، ولكن سُجل في بعض الأبحاث وجود مقاومة للانثراسيكلين في بعض أنواع السرطانات منها سرطان الدم الحاد.

يزداد نشاط بعض البروتينات المانعة لموت الخلايا السرطانية مثل المورثة (BCL2) في سرطان الدم الحاد مما يؤدي إلى تكاثر الخلايا السرطانية وعدم موتها، أنفاً أظهرت بعض مانعات المورثة(BCL2) نتائج ناجحة وفعالة في التجارب المخبرية على الخلايا السرطانية، ولكن هناك نقص في الدراسات المركزة على دراسة دور مانعات المورثة (BCL2) في الخلايا السرطانية المقاومة للعلاج الكيميائي.

Studying the Role of BCL2 Inhibitors in Adriamycin Resistant Acute Myeloid Leukemia Cell Lines

Name: Tahani Ayadah Alaslani

Supervised by: Prof. Mamdooh Gari
Dr. Farid Ahmed

Abstract

Acute myeloid leukemia (AML) is a clonal disorder of the blood forming cells in which myeloid cells fail to differentiate into functional cells and multiply unstopably. The standard treatment of AML comprises of high dose chemotherapy with anthracyclines such as adriamycin (Adr) or daunorubicin used in combination with cytarabine (AraC). The outcome of standard AML therapy is highly variable and depends upon the molecular mutational background as well as age of the patients. The major reasons for failure of high dose chemotherapy in AML are drug resistance and treatment related mortality. Resistance to Adriamycin and daunorubicin has been reported in many cancers including AML. Finding new agents that show reversal of drug resistance has been the target of many studies. BCL-2 family of proteins is frequently overexpressed in leukemia leading to resistance of cells to undergo apoptosis. In this study we aimed to test the role

of BCL-2 inhibitors on the reversal of Adriamycin resistance. We generated Adriamycin (Adr) resistant cell line from AML cell line K562 and studied the effects of BCL-2 inhibitors (ABT-737, HA14-1, Curcumin and Obatoclax) on the proliferation and the apoptosis of Adr-resistant cells. Cell viability assays were performed to assess the cytotoxicity of drugs by measuring the half maximal inhibitory concentration (IC₅₀). Apoptosis induction was analysed by flow cytometry.

Cell viability assays demonstrated that B4 (Adr resistant cells) had 3.2 fold higher IC₅₀ values as compared to the parental K562 cells. We could show that B4 cells accumulated less Adr than the K562 cells which correlated to high expression of multidrug resistant protein ABCB1, indicating efflux of Adr as the main cause of resistance. BCL-2 inhibitors alone showed similar induction of apoptosis on K562 and B4 cells, however, when we investigated BCL-2 inhibitors on modulation of Adr cytotoxicity, we found that ABT-737, HA14-1 and Curcumin but not Obatoclax modulate the IC₅₀ values of Adr. Further studies on interaction of these BCL2 inhibitors and ABCB1 using functional efflux as well as computer aided molecular docking are warranted.

في هذه الدراسة عملنا على تطوير مقاومة الخلايا السرطانية لعلاج الأدريناميسين مخبرياً وذلك بتعريض الخلايا السرطانية نوع (K562) لجرعات متزايدة من العلاج الكيميائي ادريناميسين في فترة ثلاثة شهور، بعد ذلك تؤخذ مستوطنة من الخلايا التي أصبحت مقاومة للادريناميسين و توضع في بيئة مغذية شبه صلبة. تم قياس قيمة التركيز التثبيطي الأقصى حتى النصف (IC50) للخلايا السرطانية الحساسة (المستجيبة) لعلاج الادريناميسين والخلايا المقاومة له بتحليل حيوية الخلايا و أظهر لنا أن قيمة التركيز التثبيطي الأقصى حتى النصف للخلايا المقاومة للادريناميسين التي تسمى (B4) تكون ثلاث أضعاف قيمة التركيز التثبيطي الأقصى حتى النصف للخلايا السرطانية الحساسة للادريناميسين (K562). ووجدنا كمية تخزين الادريناميسين في B4 أقل من K562 وذلك بسبب زيادة ظهور بروتينات مقاومة لعدة أدوية (multidrug resistant protein ABCB1) على سطح الخلايا B4. أيضاً وجدنا أن دور مانعات الموروثة BCL2 في موت الخلايا المبرمج أعطى نتائج متشابهة في كل من الخلايا السرطانية الحساسة (المستجيبة) لعلاج الادريناميسين والخلايا المقاومة له، بينما وجدنا عند وضع هذه المانعات مثل الكركم (Curcumin) و HA-14 و ABT737 ماعدا Obatoclox مع الادريناميسين غيرت قيمة التركيز التثبيطي الأقصى حتى النصف في الخلايا المقاومة للادريناميسين وجعلت الخلايا تستجيب للعلاج الكيميائي (الادريناميسين) أكثر.

بالمستقبل سنتعمق الدراسات في دراسة دور مانعات BCL2 على بروتينات سطح الخلايا المقاومة لعدة أدوية بواسطة الكمبيوتر والتقنيات المتقدمة مثل docking molecular.