

PROSTAT KANSERİNDE PARP VE NAMPT İNHİBİSYONUNUN HÜCRESEL PROLİFERASYON, METABOLİK YANIT VE NCRNA ÜZERİNE ETKİLERİ

Funda Fidan¹, Gamze Nur Öter³, Şura Nur Başpınar², Servet Tunçoğlu³, Canan Küçükgergin³, Abdurrahman Fatih Aydın³, Naziye Ak²

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı

³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

Amaç

PARP inhibitörleri, metastatik prostat kanserinin tedavisinde hem hormon sensitif(mHSPK), hem de hormon dirençli(mHRPK) döneminde, özellikle DNA hasar onarım bozukluğu bulunan olgularda etkili olmakla birlikte; tedaviye direnç gelişimi önemli sorun oluşturmaktadır. Son yıllarda PARP/NAMPT eksenini üzerinden hücre metabolizması ile DNA onarım mekanizmaları arasındaki etkileşimin direnç gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı; farklı biyolojik özelliklere sahip prostat kanseri hücre hatlarında olaparib ve NAMPT inhibitörü FK866'nın tekli ve kombine uygulamalarının hücre proliferasyonu, NAD⁺metabolizması, reaktif oksijen türleri(ROS) durumu vedaha önceki çalışmalara dayanarak PARP/NAMPT yolu üzerinde değişimleri gözlenen seçilmiş miRNA/lncRNAekspresyon profilleri üzerindeki etkilerini değerlendirmektir.

Yöntem

PC3 (hormon dirençli p53mutant/PTENkayıbı), DU145(hormon dirençli p53mutant/BRCA kaybı) ve LNCaP(hormon sensitif) prostat kanseri hücre hatları ile normal kontrol amaçlı benign prostat epitel hücre hattı PNT1A kullanıldı. Hücreler olaparib,FK866 ve bunlardan oluşan kombinasyon tedavisi ile inkübe edildi. Sitotoksikite CCK-8 testi ile değerlendirildi,IC₅₀ değerleri hesaplandı. Hücre içi total NAD(NAD⁺+NADH), NADH ve ROS düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle ölçüldü. PARP1,NAMPT1,lncRNA-H19 ile miR-34a,miR-130a ve miR-182 ekspresyon düzeyleri RT-qPCR ile analiz edildi.

Bulgular

Olaparib ve FK866 tüm prostat kanseri hücre hatlarında doza bağımlı sitotoksikite oluşturdu(Tablo-1). LNCaP hücreleri daha yüksek duyarlılık gösterdi ve en düşük dozda en yüksek sitotoksikite sağlandı. Kombinasyon uygulaması PC3 ve LNCaP hücrehatlarında olaparibin direnç ile arttırdığı total NAD⁺+NADH havuzunu anlamlı oranda azalttı(p<0.001)(Şekil-1). DU145 ve LNCaP hücre hatlarında PARP1 ekspresyonu anlamlı olarak baskılandı(p<0.0001)(Şekil-2). Normal prostat hücrehattı PNT1A'da NAD⁺ ve ROS düzeylerinde anlamlı değişiklik izlenmedi (p>0,05) ve bu bulgu özellikle tedavininkanser seçiciliğini ve normal dokudaki güvenilirliğini gösterdi. DU145 ve LNCaPhücre hatlarında kombinasyon tedavisi tekli ajanların başaramadığı onkojenik lncRNA-H19'u baskılamayı başardı(p<0.001)(Şekil-3). LNCaP hücre hattında kombinasyon tedavisi onkojenik miR-182'yi baskıladı

($p < 0.001$). DU145 hücre hattında kombinasyon tedavisi tümör baskılayıcı miR34a'yı arttırdı($p < 0.0001$). LNCaP ve PC3 hücre hatlarında kombinasyon tedavisi DNA hasar yanıtı ile ilişkili miR-130a'yı baskılayarak direnç mekanizmasını kırmıştır($p < 0.01$).

Sonuç

Olaparib-FK866 kombinasyonu, NAD⁺metabolizmasını ve onkojenik ncRNA ağlarını baskılayarak antitümöral yanıtı güçlendirmiş, normal prostat hücrelerinde ise metabolik dengeyi koruyarak yüksek seçicilik sergilemiştir. Bulgularımız, prostat kanserinde metabolizma-DNA onarım etkileşimini hedefleyen bu yaklaşımın güçlü bir translayonelpotansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

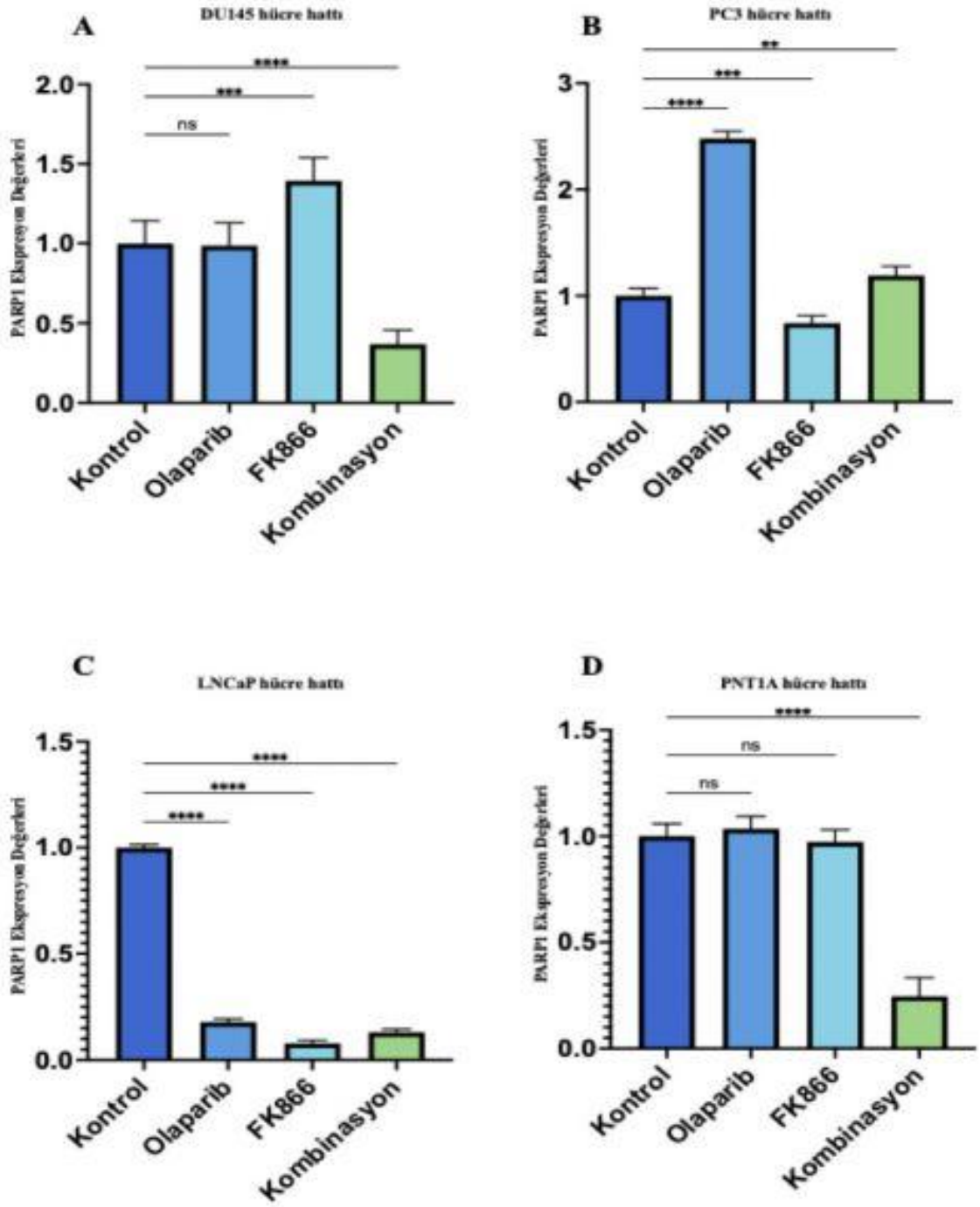
Anahtar Kelimeler : prostat kanseri, PARP inhibitörleri, NAMPT, NAD⁺ metabolizması, miRNA, lncRNA

Kaynakça :

1. American Cancer Society. Prostate Cancer Survival Rates (SEER 2014–2020)
2. Hussain, M., et al. Enzalutamide in Men with Nonmetastatic, Castration-Resistant Prostate Cancer. The New England journal of medicine, 378(26), 2465–2474.
3. de Bono, J., et al. Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. The New England journal of medicine, 382(22), 2091–2102.
4. Agarwal, N., et al. Talazoparib plus enzalutamide in men with first-line metastatic castration-resistant prostate cancer (TALAPRO-2) Lancet, 402(10398), 291–303.
5. Attard, G., et al. Niraparib and abiraterone acetate plus prednisone for HRR-deficient metastatic castration-sensitive prostate cancer: a randomized phase 3 trial. Nature medicine, 31(12), 4109–4118
6. Chi, K. N., et al. Niraparib plus abiraterone acetate with prednisone in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer and homologous recombination repair gene alterations. Annals of oncology :, 34(9), 772–782.
7. Sauriol, S. A., et al. Inhibition of nicotinamide dinucleotide salvage pathway counters acquired and intrinsic poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor resistance in high-grade serous ovarian cancer. Scientific reports, 13(1), 3334.
8. Mao, J., et al. Discovery of dual PARP/NAMPT inhibitors for the treatment of BRCA wild-type triple-negative breast cancer. Bioorganic & medicinal chemistry letters, 120, 130117.

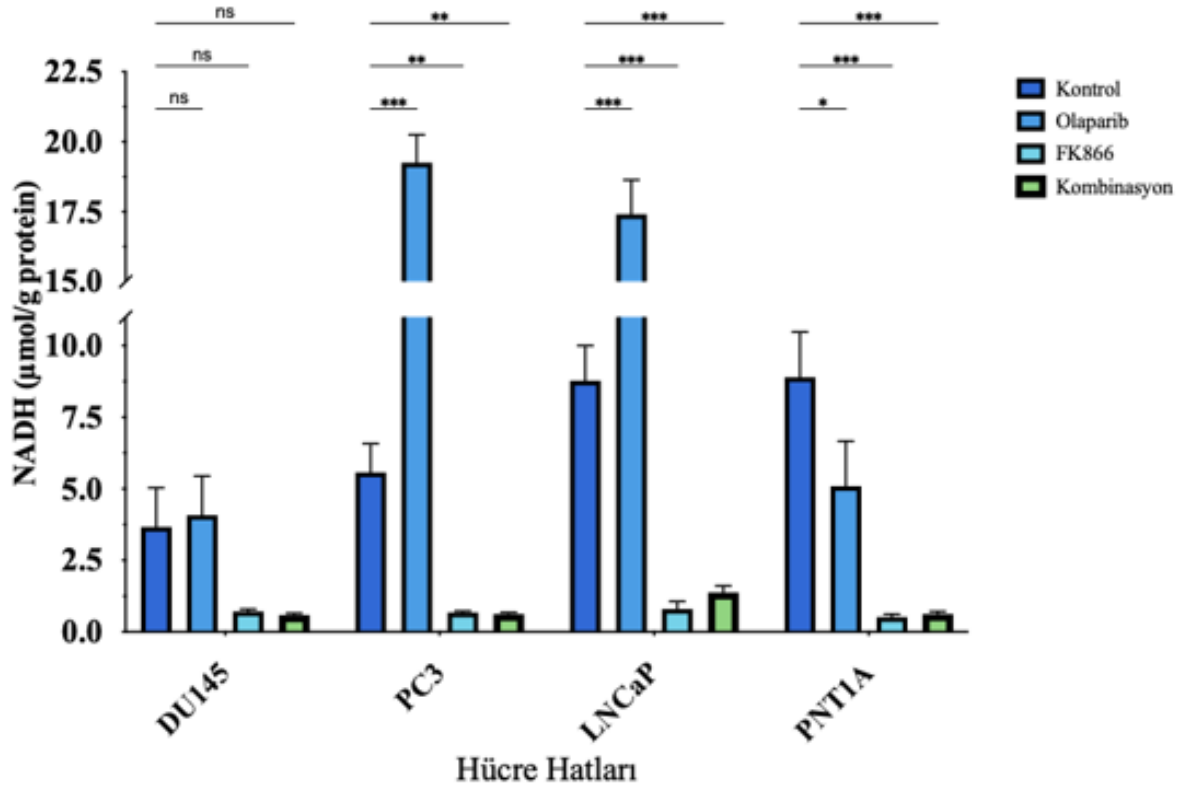
Resimler :

Resim Açıklaması: Dunnett çoklu karşılaştırma testi. Veriler ortalama $\pm$ SD şeklinde gösterilmiştir. Grafiksel gösterimlerde anlamlılık düzeyleri $p < 0.05$ için *, $p < 0.01$ için ** ve $p < 0.001$ için *** sembolleri ile belirtilmiştir.



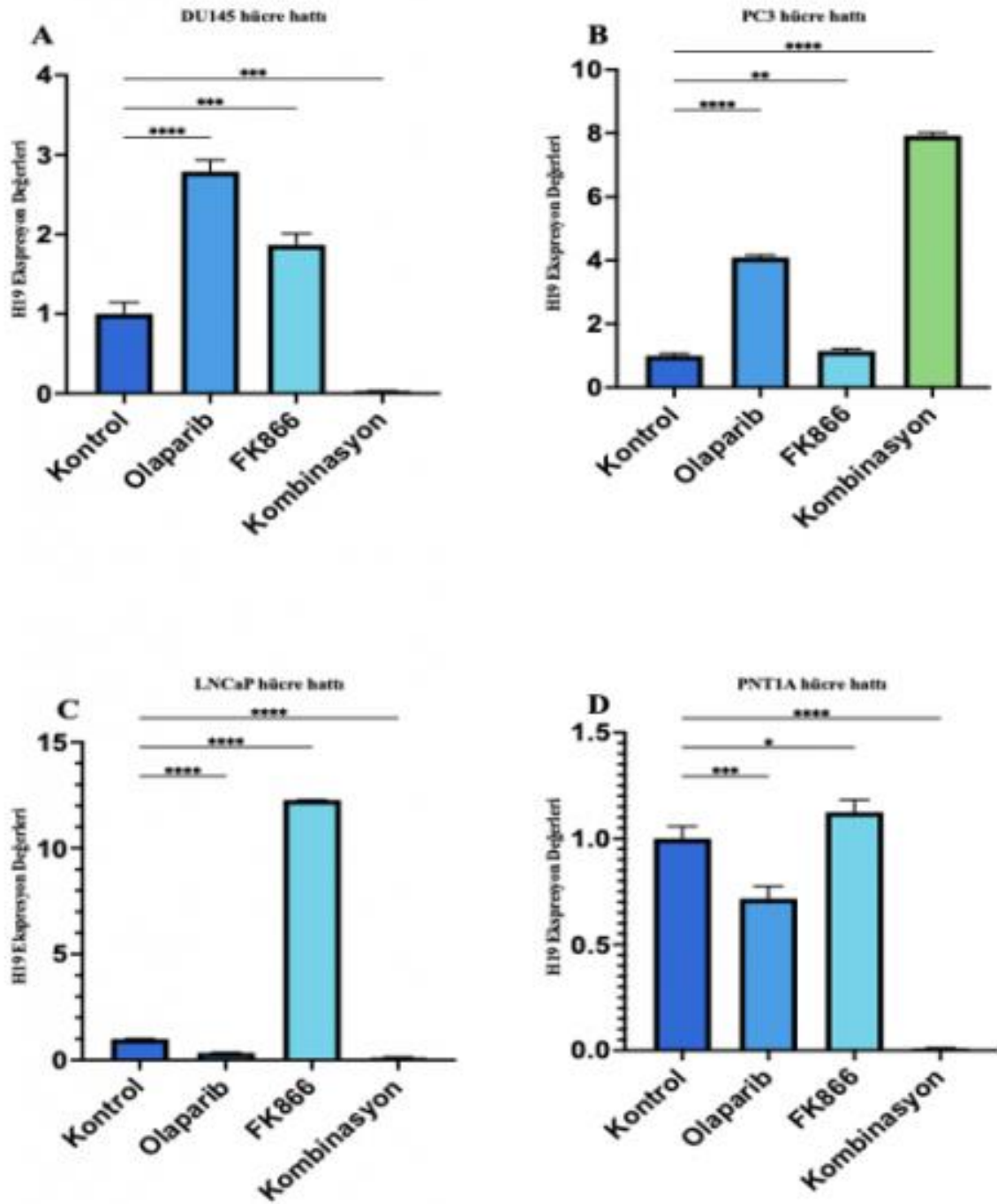
Resim Açıklaması: Dunnett çoklu karşılaştırma testi. Veriler ortalama $\pm$ SD şeklinde gösterilmiştir. Grafiksel gösterimlerde anlamlılık düzeyleri $p < 0.05$ için *, $p < 0.01$ için ** ve $p < 0.001$ için *** sembolleri ile belirtilmiştir.

Şekil 1. DU145, PC3, LNCaP ve PNT1A hücre hatlarında Olaparib, FK866 ve kombinasyon (Olaparib + FK866) tedavilerinin NADH düzeyleri üzerine etkisi.



Resim Açıklaması: Dunnett çoklu karşılaştırma testi. Veriler ortalama $\pm$ SD şeklinde gösterilmiştir. Grafiksel gösterimlerde anlamlılık düzeyleri $p < 0.05$ için *, $p < 0.01$ için ** ve $p < 0.001$ için *** sembolleri ile belirtilmiştir.

Şekil 3. Olaparib, FK866 ve kombinasyon uygulamasının prostat kanseri hücre hatlarında lncRNA H19 ekspresyonuna etkisi



Tables :

Hücre Hattı IC₅₀ Değerleri

Hücre Hattı	Olaparib IC ₅₀ (µM)	FK866 IC ₅₀ (nM)
-------------	--------------------------------	-----------------------------

DU145	61,35	9,91
PC3	49,37	11,57
LNCaP	12,60	12,52