مهار تلومراز در سلول‌های بنیادی سرطان حاد خون باعث القای آپوپتوز از هر دو مسیر داخلی و خارجی می‌شود

علی رفعت[۱*]، خدیجه دیزجی اصل[۲]، زینب مظلومی[۳]، حجت‌الله نوزاد چاروده[۴]

۱- دکتری، مرکز تحقیقات علوم تشریحی، پژوهشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲- دکتری، گروه آناتومی و هیستوپاتولوژی، دانشکده پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، ایران

۳- دکتری، گروه علوم کاربردی سلولی، دانشکده علوم پزشکی پیشرفته، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۴- دکتری، مرکز تحقیقات سلول های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

علی رفعت: alirafat1370@gmail.com

چکیده

هدف: لوسمی حاد میلوئید (AML) یک سرطان خون مهاجم و کشنده است که توسط جمعیت نادری از سلول‌های بنیادی لوسمی (LSCs) ایجاد می‌شود. فعال شدن تلومراز یک فرآیند خود تجدیدی نامحدود در LSCها است. جدا از نقش تلومراز در افزایش طول تلومر، تلومراز (به‌ویژه زیر واحد hTERT) مسیرهای آپوپتوز با واسطه داخلی، خارجی و p53 را مهار می‌کند. در این مطالعه، اثر مهار تلومراز (TI) بر مسیرهای داخلی، خارجی و با واسطه p53 آپوپتوز و مارکرهای اپی‌ژنتیکی DNMT3a و TET در سلول‌های AML بنیادی (CD34 مثبت) و تمایز یافته (CD34 منفی) مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: سلول‌های CD34 مثبت (KG-1a و نمونه‌های انسانی) با خلوص بالا با استفاده از سیستم جداسازی سلولی فعال‌شده مغناطیسی (MACS) غنی‌سازی شدند. سلول‌های CD34 مثبت و CD34 منفی با BIBR1532 تیمار شدند و سپس، سنجش MTT، Annexin V/7AAD، سنجش Ki-67، اندازه‌گیری طول تلومر (TL) و تغییرات رونویسی p53، hTERT، TET2، DMT مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در نهایت، ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با آپوپتوز مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته‌ها: TI با مقادیر IC50 ۸۳/۵، ۳۳/۲، ۵۴/۳ و ۲۴/۶ میکرومولار در سلول‌های CD34 مثبت و CD34 منفی (AML اولیه و KG-1a) به‌طور قابل‌توجهی از تکثیر سلولی جلوگیری کرد و آپوپتوز را القاء کرد. با این‌حال، TI اثر قابل‌توجهی بر TL نداشت. نتایج هم‌چنین نشان داد آپوپتوز با واسطه مسیر داخلی، خارجی و p53 ناشی از TI است. نشان داده شد که سطح بیان مارکرهای اپی‌ژنتیکی DNMT3a و TET2 به‌دنبال TI بسیار افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری: در مجموع مشخص شد که TI از طریق مسیرهای داخلی، خارجی و p53 باعث آپوپتوز شده و بیان مارکرهای اپی‌ژنتیکی DNMT3a و TET2 را افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: تلومراز، فعالیت تلومرازی، سرطان حاد خون، آپوپتوز، مارکرهای اپی‌ژنتیکی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-03-20]

Telomerase inhibition on acute myeloid leukemia stem cell induced apoptosis with both intrinsic and extrinsic pathways

Ali Rafat[1*], Khadijeh Dizaji Asl[2], Zeinab Mazloumi[3], Hojjatollah Nozad Charoudeh[4]
1- Ph.D, Anatomical Sciences Research Center, Institute for Basic Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
2- Ph.D, Department of Anatomy and Histopathology, Faculty of Medicine Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad Tabriz University
3- Ph.D, Department of Applied Cell Sciences, Faculty of Advanced Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
4- Ph.D, Stem Cell Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Ali Rafat: alirafat1370@gmail.com

Introduction: Acute Myeloid Leukemia (AML) is an invasive and lethal blood cancer caused by a rare population of Leukemia Stem Cells (LSCs). Telomerase activation is a limitless self-renewal process in LSCs. Apart from telomerase role in telomere lengthening, telomerase (especially hTERT subunit) inhibits intrinsic$^-$, extrinsic$^-$, and p53$^-$ mediated apoptosis pathways. In this study, the effect of Telomerase Inhibition (TI) on intrinsic$^-$, extrinsic$^-$, p53$^-$ mediated apoptosis, and DNMT3a and TET epigenetic markers in stem (CD34$^+$) and differentiated (CD34$^-$) AML cells is evaluated.

Methods and Materials: High-purity CD34$^+$ (primary AML and KG-1a) cells were enriched using the Magnetic-Activated Cell Sorting (MACS) system. CD34$^+$ and CD34$^-$ (primary AML and KG-1a) cells were treated with BIBR1532 and then, MTT assay, Annexin V/7AAD, Ki-67 assay, Telomere Length (TL) measurement, and transcriptional alterations of p53, hTERT, TET2, DNMT3a were analyzed. Finally, apoptosis-related genes and proteins were studied.

Results: TI with the IC50 values of 83.5, 33.2, 54.3, and 24.6 µM in CD34$^+$ and CD34$^-$ (primary AML and KG-1a) cells significantly inhibited cell proliferation and induced apoptosis. However, TI had no significant effect on TL. The results also suggested TI induced intrinsic$^-$, extrinsic$^-$, and p53$^-$ mediated apoptosis. It was shown that the expression levels of DNMT3a and TET2 epigenetic markers were highly increased following TI.

Conclusion: In total, it was revealed that TI induced apoptosis through intrinsic, extrinsic, and p53 pathways and increased the expression of DNMT3a and TET2 epigenetic markers.

Keywords: Telomerase, Telomerase activity, AML, Apoptosis, Epigenetic marker

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-03-20]