

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Monensinin Glioblastoma Multiformede Kaspaz-10 Aracılı Apoptoz Üzerine Etkileri

Sema SERTER KOÇOĞLU¹, Mücahit SEÇME²

¹ Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.

² Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye.

ÖZET

Glioblastoma multiforme (GBM), en kötü huylu primer merkezi sinir sistemi tümörüdür. Şu anda, GBM için iyileştirici tedavi seçenekleri yoktur ve 5 yıllık hayatta kalma oranı %5'den daha azdır. Monensin, "*Streptomyces cinnamonensis*" den elde edilen antibakteriyel ve antiparazitik etkileri bilinen iyonofor bir antibiyotiktir. Literatürde monensinin GBM hücrelerinin apoptoz mekanizması üzerine etki gösterdiği bir çalışmaya rastlanmadığından yapılan bu çalışmanın amacı monensinin U373 GBM hücrelerinde apoptoz aracılı hücre proliferasyonu üzerine etkilerini araştırmaktır. Monensinin U373 hücre canlılığı üzerine etkileri XTT ile apoptoz üzerine etkileri ise RT-PCR ve Annexin V ile araştırılmıştır. Monensinin U373 GBM hücrelerinde IC₅₀ değeri 48'inci saatte 4 µM olarak bulunmuştur. Monensin U373 GBM hücrelerinde apoptoz oranında 6 katlık bir artışa neden olmuştur. Bununla birlikte monensin *kaspaz-10* gen ekspresyonunu artırarak apoptozu anlamlı olarak aktive etmiştir. Sunulan çalışma monensinin GBM hücrelerinin *kaspaz-10* aracılı apoptoz mekanizması üzerine etkilerini gösteren ilk çalışmadır. Bizim sonuçlarımız monensinin GBM kanserinde güçlü apoptotik etkileri olan terapötik bir antikanser ilaç bileşiği olabileceğini önermektedir.

Anahtar Kelimeler: Monensin. U373. Apoptosis.

Effects of Monensin on Caspase-10 Mediated Apoptosis in Glioblastoma Multiforme

ABSTRACT

Glioblastoma multiforme (GBM) is the most malignant primary central nervous system tumor. Currently, there are no curative treatment options for GBM and the 5-year survival rate is less than 5%. Therefore, further studies are needed to identify effective markers and therapeutic targets for GBM treatment. Monensin is an ionophore antibiotic obtained from *Streptomyces cinnamonensis* with known antibacterial and antiparasitic effects. In the literature, no study has been found that shows an effect of monensin on the apoptosis mechanism of GBM cells. The aim of the present study was to investigate the effects of monensin on apoptosis-mediated cell proliferation in U373 GBM cells. The effects of monensin on U373 cell viability were investigated by XTT and its effects on apoptosis were investigated by RT-PCR and Annexin V. The IC₅₀ value of monensin in U373 GBM cells was 4 µM at 48 hours. Monensin caused a 6-fold increase in the rate of apoptosis in U373 GBM cells. Monensin also significantly triggered apoptosis by increasing *caspase-10* gene expression. The present study is the first to demonstrate the effects of monensin on the *caspase-10*-mediated apoptosis mechanism of GBM cells. Our results suggest that monensin may be a therapeutic anticancer drug compound with potent apoptotic effects in GBM cancer.

Key Words: Monensin. U373. Apoptosis.

Geliş Tarihi: 23.Eylül.2021

Kabul Tarihi: 18.Kasım.2021

Dr. Sema SERTER KOÇOĞLU.
Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,
Balıkesir.
Tel: 0266 612 14 61
E-posta: serter_bio@hotmail.com

Yazarların ORCID Bilgileri:

Sema SERTER KOÇOĞLU: 0000-0002-3180-4007
Mücahit SEÇME: 0000-0002-2084-760X

Glioma, yetişkinlerde agresif fenotip ve yüksek mortalite ile seyreden en yaygın intrakranial solid tümördür¹. Tüm gliomların yaklaşık % 45'ini oluşturan glioblastoma multiforme (GBM), dünya sağlık örgütü tarafından grade IV glioma olarak tanımlanan, en agresif ve yaygın birincil beyin tümörüdür². GBM görülme sıklığı düşüktür (100.000 kişide 4.67-5.73 vaka). Ancak, tümör hızla büyür, yayılır ve yaşamı düzenleyen merkezleri istila eder. Kemoterapi ve radyoterapi alan hastalarda bile hayatta kalma süresi 7-15 ay arasında ve sağkalım oranı sadece %0,05-4,7 arasındadır³. Dahası, GBM'nin kötü prognozu ve düşük hayatta kalma oranı tanı, tedavi ve izlemeyi zorlaştırır⁴.

GBM için şu anda kabul edilen ve önerilen tedavi seçenekleri nöroşirurji, radyoterapi ve temozolomid (TMZ) kemoterapidir. TMZ, glioblastoma kanser hücrelerini öldürmek ve büyümelerini yavaşlatmak için tasarlanmış, GBM tedavisi için en etkili kemoterapi ajanıdır. TMZ, hastanın yaşam standartlarını iyileştirebilir ve hayatta kalma süresini uzatabilir. Fakat GBM hastalarında görülen ilaca karşı direnç gelişimi ve ilaç yan etkileri kullanımını sınırlamaktadır^{3,5}. Cerrahi, radyoterapi ve TMZ bazlı kemoterapinin birlikte kullanıldığı kombine tedavilerde bile GBM hastalarının hayatta kalma oranı çok düşüktür^{3,5}. Sonuç olarak, apoptozu tetikleyecek ve hücre proliferasyonunu azaltacak yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi gerekmektedir.

Doğal poliyeter antibiyotikler antifungal, antiparazitik, antibakteriyel ve antiviral özelliklerinden dolayı ilgi uyandırılır. Bu bileşiklerin poliyeter iskeleti, metal katyonlarla kompleksler oluşturabilir ve bunları lipit hücre zarları boyunca taşıyabilir. Sonuç olarak bu olay, lipit hücre membranında doğal katyon dengesinin bozulmasına yol açar ve apoptozu başlatır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, poliyeter iyonoforların kanser kök hücreleri ve çoklu ilaç direncinin üstesinden gelebilen ve çeşitli kanser türlerinde etki gösteren önemli kemoterapitik ajanlardan olabileceği göstermiştir⁶.

Monensin, '*Streptomyces cinnamomensis*'den elde edilen antibakteriyel ve antiparazitik etkileri bilinen ve hücre membranlarında Na⁺/H⁺ iyon değişimini sağlayan iyonofor bir antibiyotiktir⁷. Monensin ABD besin ve ilaç yönetimi tarafından veteriner hekimlik uygulamalarında sığır ve kanatlılarda gelişimi arttırıcı madde olarak kullanılmıştır. Antibiyotik kullanımı sonrası sığırlarda süt üretimini arttırdığı ve hayvan sağlığı açısından hiçbir yan etki oluşturmadığı gözlenmiştir⁸. Son zamanlarda farklı kanser türleriyle yapılan çalışmalar bu antibiyotiğin oldukça etkili ve ilgi çekici antikanser özelliklerinin olduğunu göstermiştir. Monensinin insan kolon, lenfoma ve miyeloma kanserlerinde hücre proliferasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Yine prostat kanseri gelişimini nanomolar konsantrasyonlarda azalttığı gösterilmiştir^{6,9}.

Monensinin çeşitli kanser türleri üzerinde hücre proliferasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Fakat literatürde monensinin GBM hücrelerinin apoptoz etki mekanizması üzerine etki gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Sunulan çalışmanın amacı monensinin U373 GBM hücrelerinde apoptoz aracılı hücre proliferasyonu üzerine etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Hücre kültürü ve reaktifler

Bu çalışmada, U373 ve HUVEC hücre dizisi kullanılmıştır. Hücreler 2 mM L-glutamin, penisilin (20

units/mL), streptomisin (20 µg/mL) ve %10 fetal sığır serumu içeren DMEMF12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium) kültür ortamında %95 hava ve %5 CO₂ basıncı altında 37 °C'de inkübe edilmiştir. Monensin (Abcam, ABD) etanol ile çözülmüştür. U373 GBM hücreleri 2 µM, 4 µM, 8 µM monensin ile 24, 48 ve 72. saatler için doz ve zaman-bağımlı olarak inkübe edilmiştir.

Sitotoksitenin belirlenmesi

Monensinin U373 ve HUVEC hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi XTT yöntemi ile belirlenmiştir. Hücreler 96 kuyucuklu plakalara 10.000 hücre/kuyucuk yoğunlukta ekilmişlerdir ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Liyofilize haldeki monensin etanol ile çözülmüş kontrol ve doz grupları oluşturulmuştur. Kontrol ve monensin doz grupları (2 µM, 4 µM, 8 µM) her bir plaka içerisinde 3 tekrar olacak şekilde çalışılmıştır. 96-kuyucuklu plakalar 24, 48 ve 72 saat boyunca CO₂ inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Her bir inkübasyon periyodunun sonunda XTT yöntemi uygulanmıştır. 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonların ardından, her bir kuyucuktaki besiyeri uzaklaştırılmış sonrasında her bir kuyucuğa 100 µl DMEM/F-12 ve 50 µl aktive edilmiş XTT solüsyonu eklenmiş ve her bir plaka 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında plakalar, mikropilaya okuyucuya yerleştirilmiş, 450 nm ve 630 nm referans aralığında okuma işlemi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda, 450 nm'deki değerlerden 630 nm'de ölçülen değerler çıkartılarak kontrol grubundaki absorbans değerleri ile karşılaştırılmış, yüzde ölüm ve IC₅₀ değeri hesaplanmıştır. (% Hücre Canlılığı = Ölçülen optik dansite değeri/Kontrol optik dansite değeri).

Apoptozun Annexin V/PI yöntemi ile belirlenmesi

Monensinin U373 GBM hücreleri üzerindeki apoptotik etkilerini belirlemek için hücreler 6 kuyucuklu plakalara 5x10⁵ hücre/kuyucuk yoğunlukta ekilmiştir. İnkübasyon sonrası kontrol ve doz grupları oluşturulmuş ve 48 saat 37 °C %95 CO₂ basıncı altında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası hücreler toplanmış ve 2000 x g'de 5 dak. santrifüj edilmiştir. Takibinde soğuk PBS ile 2 kez yıkanmış ve Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit (ABP Biosciences, ABD; Katolog numarası: A026) ile üretici firmanın önerdiği protokol uygulanmıştır. Hücreler Arthur image-based cytometer (NanoEnTek, USA) kullanılarak analiz edilmiştir.

Apoptozun RT-PCR ile belirlenmesi

U373 hücreleri 6 kuyucuklu plakalara 3x10⁵ hücre/kuyucuk yoğunlukta ekilmiş ve 24 saat 37 °C inkübasyona bırakılmıştır. Takibinde, kontrol ve monensin dozu uygulanmış ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Total RNA trizol reaktif protokolüne (TRIzol™ Rea-

Monensinin GBM Hücrelerinde Apoptoza Etkisi

gent, Invitrogen, Katalog numarası: 15596026) göre izole edilmiştir. cDNA sentezi 'Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit' ile üreticinin talimatlarına göre gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen cDNA'lardan apoptoz yolağında görevli olan genlerin mRNA düzeyindeki ekspresyonları SYBR Green metoduna göre gerçek-zamanlı PCR cihazında (Applied-Biosystems, USA) analiz edilmiştir. Analiz edilen genler Tablo I'de verilmiştir. Gen ekspresyonları beta aktin kullanılarak normalize edilmiştir. Gen ekspresyonlarının kat değişimleri hesaplanmış ve deneyler üç kez tekrarlanmıştır.

Tablo I. Monensinin U373 GBM hücrelerinde apoptoz ilişkili genlerin mRNA seviyesinde ekspresyon değişikliklerine etkisinin belirlenmesi. Monensin uygulanan grupta kontrol grubuyla kıyaslandığında genlerin kat değişimleri ve p değerleri gösterilmiştir ($p < 0,05$).

Gen	Kat değişimi	P-değeri
Kaspaz-3	1.49	0.48
Kaspaz-8	1.43	0.75
Kaspaz-9	-1.03	0.92
Kaspaz-10	4.55	0.02
BAX	3.71	0.08
BCL2	-5.13	0.75

İstatistiksel Analiz

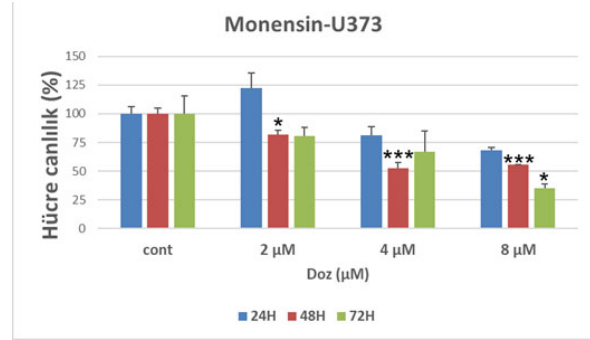
XTT ve Annexin V/PI dataları SPSS 23 programı ile analiz edilmiş, gruplar arası karşılaştırma one way ANOVA takibinde Tukey test ile yapılmıştır. RT-PCR verilerin analizi için $\Delta\Delta CT$ metodu kullanılarak bilgisayar programı ile kantitasyonu yapılmış ve web tabanlı "RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis" programında bulunan, Volcano Plot analizleri kullanılmıştır. Kontrol ve doz gruplarının karşılaştırılması "RT² Profiler™ PCR Array Data Analysis" programında bulunan "Student t-testi" analizi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. $p < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular

Monensin U373 GBM hücre canlılığını azaltır

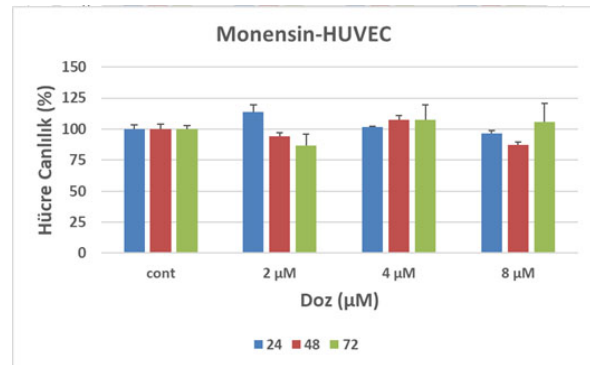
Monensin, U373 GBM hücrelerinin canlılığını doz ve zaman bağımlı olarak azaltmıştır. 24 saatte monensinin U373 GBM hücrelerinin canlılığını %50 azalttığı bir doz bulunmamıştır. 2 μM monensin U373 hücre proliferasyonunu bir miktar artırmış fakat anlamlı bulunmamıştır. 4 ve 8 μM monensin U373 hücre canlılığını sırayla %81 ($p > 0.05$) ve 68 ($p > 0.05$)'e düşürmüştür fakat anlamlı bulunmamıştır (Şekil 1). 48 saatte 2 μM monensin U373 GBM hücre canlılığını %82'ye

($p < 0.05$) 4 μM %52'ye ($p < 0.001$) 8 μM ise %55'e ($p < 0.001$) düşürmüştür. Monensinin U373 hücrelerinde IC₅₀ dozu 48. saatte 4 μM olarak belirlenmiştir (Şekil 1). Monensin dozları normal hücre hattı olan HUVEC hücre canlılığı üzerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 2).



Şekil 1:

Monensinin U373 GBM hücre canlılığı üzerine etkisi. İstatistiksel anlamlılık One Way Anova takibinde Tukey analizi ile yapılmıştır ($\pm SS$, $n=3$). $p^* < 0.05$ ve $p^{***} < 0.001$, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel farklılıkları gösterir.

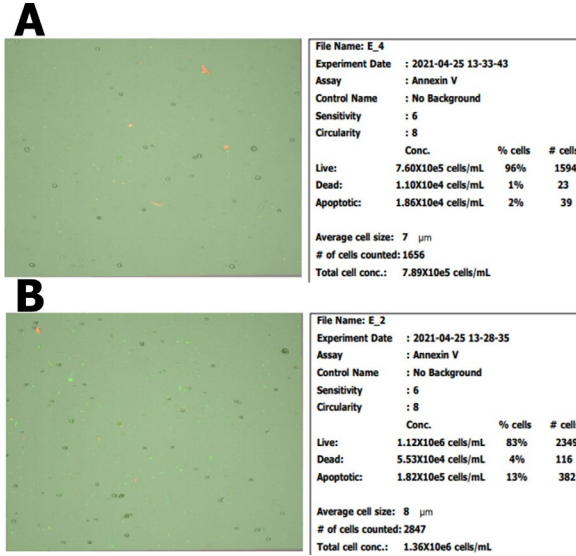


Şekil 2:

Monensinin HUVEC hücre canlılığı üzerine etkisi. İstatistiksel anlamlılık One Way Anova takibinde Tukey analizi ile yapılmıştır ($\pm SS$, $n=3$). HUVEC, insan umbilikal ven endotel hücreleri.

Monensin U373 GBM hücrelerinin apoptozunu artırır

Annexin V/PI sonuçları 48 saatte 4 μM monensin uygulamanın U373 GBM hücrelerinin apoptozunu artırdığını göstermiştir. 4 μM monensin ile 48 saat inkübasyon sonrası apoptotik, yaşayan ve ölü hücrelerin oranı sırasıyla %13, 83 ve 4'dür. (Şekil 3B). Kontrol grubunda ise bu değerler sırayla %2, 96 ve 1'dir (Şekil 3A). 48 saat 4 μM monensin inkübasyonu U373 GBM hücrelerinin apoptozunu artırırken canlı hücrelerin sayısını da azaltmıştır (Şekil 3).



Şekil 3:

Monensinin U373 GBM hücrelerinin apoptozuna etkisinin Annexin V/PI ile değerlendirmesi. Apoptoz değerlendirilmesi Arthur görüntü tabanlı sitometri cihazı ile yapılmıştır. Data, monensin (B) ve kontrol grubunda (A) 48 saat inkübasyonu takiben canlı, ölü ve apoptotik U373 GBM hücrelerinin oranlarını vermektedir.

RT-PCR gen ekspresyonu analizi

Monensinin U373 GBM hücrelerinde apoptoz ile ilişkili genlerin ekspresyonu üzerine etkileri RT-PCR ile araştırılmış ve gen ekspresyon değişiklikleri *delta-delta ct* analizi ile değerlendirilmiştir. Analiz edilen genler Tablo I'de gösterilmiştir. *Kaspaz-3*, *kaspaz-8*, *kaspaz-9*, *kaspaz-10*, *BAX* ve *BCL2* genlerin ekspresyon analizleri RT-PCR ile belirlenmiştir. Monensin uygulanan U373 GBM hücrelerinde kontrol grubuyla kıyaslandığında *kaspaz-10* ekspresyonu anlamlı olarak artmıştır (Tablo I) ($p < 0,05$). Diğer genlerde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

Tartışma ve Sonuç

GBM Dünya Sağlık Örgütü tarafından grade IV glioma olarak tanımlanır ve oldukça hızlı ve agresif yayılım gösterir^{2,3}. Cerrahi, radyoterapi, TMZ bazlı kemoterapi tedavi seçeneklerinin birlikte kullanıldığı durumlarda bile yaşam süresi çok düşüktür^{3,5}. Dolayısıyla sinir sistemi kökenli bir tümör olan GBM'de gerek cerrahi gerekse diğer tedavi yaklaşımlarıyla istenilen sonuçların alınamaması, GBM onkogenezi üzerinde yeni ve alternatif ilerleyici tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi ihtiyacını doğurmuştur. *Streptomyces cinnamomensis*'den elde edilen doğal polietir bir antibiyotik olan monensinin antiparazitik, antibakteriyel ve antikanser özellikleri olduğu bilinmektedir. Renal hücreli karsinoma ve diğer hücre hatlarında mitokond-

ri transmembran potansiyelini azalttığı ve hücre döngüsünü baskıladığı, protein salınımı inhibe ettiği ve güçlü bir oksidatif stres indükleyicisi olduğu gösterilmiştir. Son zamanlarda farklı kanser türleriyle yapılan çalışmalar bu antibiyotik oldukça etkili antikanser özelliklerinin olduğunu göstermiştir⁶⁻¹⁰. Sunulan çalışmada monensinin U373 GBM hücrelerinde apoptoz mekanizması üzerine etkisi araştırılmıştır. Monensin ve onun antikanser özelliklerini gösteren farklı çalışmalar olsa da bu çalışma monensinin U373 GBM hücrelerinde apoptoz aracılı hücre proliferasyonu üzerine etkilerinin gösterildiği ilk çalışmadır.

Monensinin prostat kanseri gelişimini nanomolar konsantrasyonlarda azalttığı gösterilmiştir^{6,9}. Bizim çalışmamızda monensinin U373 GBM hücrelerinin proliferasyonunu doz ve zaman bağımlı olarak azalttığı gösterilmiştir. 4 µM monensin U373 hücrelerinin canlılığını anlamlı azaltırken normal hücreler olan HUVEC hücrelerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır.

Monensinin hayvan sistemlerinde güvenli bir özgeçmiş profilinin olması, onun moleküler mekanizmalarının aydınlatılması için bir avantaj sağlar. Özellikle prostat kanser hücrelerinde, monensinin androjen sinyal yolağını inhibe ederek apoptoza ve oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir¹⁰. Kolorektal kanserde Wnt sinyal yolunu inhibe ettiği multiple intestinal tümör gelişimini baskıladığı gösterilmiştir^{8,11}. Monensinin ilaç dirençli pankreas kanser hücrelerinde EGFR sinyal yolağı aracılığıyla tümör gelişimini ve proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir¹². Yine akciğer kanser hücrelerinde 50 nM konsantrasyonda monensinin rapamisin (mTOR inhibitörü) ve erlotinib (EGFR inhibitörü) tarafından indüklenen apoptozu arttırdığı gösterilmiştir¹³. Apoptozis tümör gelişimi ve tedaviye cevapta önemli bir düzenleyicidir¹⁴. Kaspazlar apoptozun düzenlenmesinde önemlidirler ve sistein proteaz ailesinin bir üyesidirler¹⁵. Kaspaz proteaz ailesi üyeleri apoptozun başlatılmasında ve sürdürülmesinde önemlidirler. Kaspaz-2, -kaspaz-8, kaspaz-9 ve kaspaz-10 apoptozun başlatılmasında kaspaz-3, kaspaz-6, ve kaspaz-7 sürdürülmesinde önemli düzenleyicilerdir. Apoptozdan kaçınma, kanserin ayırt edici özelliğidir. Bu nedenle, mevcut tedavi yöntemlerinin çoğu, kanser hücrelerini öldürmek ve apoptoz sinyal yollarını aktive etmek için kaspaz yollarını hedefler¹⁶. Kaspaz-8 ve kaspaz-10, ekstrinsik yolun devreye girmesinde köklü rollere sahiptir, kaspaz-9, içsel/mitokondriyal yol için kritik enzimdir. Kaspaz-8, NF-kB aktivasyonunda veya nekroptozu sınırlamada olduğu gibi apoptozla ilgisi olmayan roller de oynayabilir ve kaspaz-10'un yakın zamanda otofajiyi kontrol ettiği gösterilmiştir¹⁷. Kaspaz-10 geni, insan kromozom lokusu 2q33-34'nda kaspaz-8 geni ile bağlantılıdır. Kaspaz-10'un hücre ölüm yolağında rol oynadığı düşünülmese rağmen fizyolojik işlevleri tam olarak anlaşılamamıştır. Son zamanlarda, bir antikanser ilacı

Monensinin GBM Hücrelerinde Apoptoza Etkisi

olan paklitaksel tarafından indüklenen apoptoz sürecinde kaspaz-10'un rol oynadığı gösterilmiştir¹⁸. Bu çalışmada U373 GBM hücrelerinde monensinin apoptoz üzerine etkilerini belirlemek için RT-PCR ve Annexin V/PI yöntemi kullanılmıştır. Monensin ve kontrol grupları arasında kaspaz-3, kaspaz-8, kaspaz-9, kaspaz-10, Bax ve Bcl2 genlerin mRNA ekspresyon değişimleri hesaplanmıştır. Bizim sonuçlarımız monensin uygulanan grupta kaspaz-10 ekspresyonunda 4.55 katlık anlamlı bir artış olduğunu göstermiştir. Diğer genlerin mRNA ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Bizim sonuçlarımız monensin U373 GBM hücrelerinde kaspaz-10'un ekspresyonunu artırarak, dolayısıyla ekstrinsik yolu kullanarak, apoptozu aktive etmiş olabileceğini önermektedir. Ek olarak Annexin V/PI sonuçlarına göre monensin grubunda apoptotik hücrelerin oranı %13 iken kontrol grubunda %2'dir. Bizim sonuçlarımız monensin uygulanan grupta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında U373 apoptotik hücrelerin sayısında 6 katlık bir artış olduğunu göstermiştir. Bizim sonuçlarımız monensin U373 GBM hücrelerinin apoptozunu aktive ettiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, monensin U373 GBM hücrelerinin proliferasyonunu azaltmış ve normal hücreler olan HUVEC hücre proliferasyonu üzerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Dahası, monensin kaspaz-10'u aktive ederek GBM hücrelerinin apoptozunu uyarmıştır. Bizim çalışmamız, monensinin GBM hücrelerin kaspaz-10 aracılı apoptoz mekanizmasını kullanarak hücre ölümüne sebep olduğunu göstermiştir. Dahası bizi sonuçlarımız monensinin GBM'de güçlü apoptotik etkileri olan terapötik bir ajan olabileceğini desteklemektedir. Gelecekte, monensinin GBM hücreleri üzerindeki etki mekanizmasını *in vitro*, *in vivo* ve klinik olarak destekleyecek daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik Kurul Onay Bilgisi: Bu çalışma etik onam alınması gereken çalışmalar kapsamında olan hücre kültürü çalışmasıdır.

Araştırmacı Katkı Beyanı: Fikir ve tasarım: S.S.K.; Veri toplama ve işleme: M.S.; Analiz ve verilerin yorumlanması: S.S.K., M.S.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: S.S.K."

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarlarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

Kaynaklar

1. Lapointe S, Perry A, Butowski NA. Primary brain tumours in adults. *Lancet*. 2018;392(10145):432-446.
2. Harmouch E, Seitlinger J, Chaddad H, vd. Flavagline synthetic derivative induces senescence in glioblastoma cancer cells without being toxic to healthy astrocytes. *Sci Rep*. 2020;10(1):13750.

3. Liu J-Y, Fu W-Q, Zheng X-J, vd. Avasimibe exerts anticancer effects on human glioblastoma cells via inducing cell apoptosis and cell cycle arrest. *Acta Pharmacol Sin*. 2020;42:97-107.
4. Sabbagh Q, Andre-Gregoire G, Guevel L, Gavard J. Vesiclemia: counting on extracellular vesicles for glioblastoma patients. *Oncogene*. 2020;39(38):6043-6052.
5. Avcı NG, Ebrahimzadeh-Pustchi S, Akay YM, vd. NF-κB inhibitor with Temozolomide results in significant apoptosis in glioblastoma via the NF-κB(p65) and actin cytoskeleton regulatory pathways. *Sci Rep*. 2020;10(1):1-14.
6. Antoszczak M, Klejborowska G, Kruszyk M, Maj E, Wietrzyk J, Huczyński A. Synthesis and antiproliferative activity of silybin conjugates with salinomycin and monensin. *Chem Biol Drug Des*. 2015;86:1378-86.
7. Markowska A, Kaysiewicz J, Markowska J, Huczyński A. Doxycycline, salinomycin, monensin and ivermectin repositioned as cancer drugs. *Bioorganic Med Chem Lett*. 2019;29(13):1549-1554.
8. Tumova L, Pombinho AR, Vojtechova M, vd. Monensin Inhibits Canonical Wnt Signaling in Human Colorectal Cancer Cells and Suppresses Tumor Growth in Multiple Intestinal Neoplasia Mice. *Mol Cancer Ther*. 2014;13:812-22.
9. Urbaniak A, Delgado M, Antoszczak M, Huczyński A, Chambers TC. Salinomycin derivatives exhibit activity against primary acute lymphoblastic leukemia (ALL) cells in vitro. *Biomed Pharmacother*. 2018;99:384-390.
10. Ketola K, Vainio P, Fey V, Kallioniemi O, Iljin K. Monensin Is a Potent Inducer of Oxidative Stress and Inhibitor of Androgen Signaling Leading to Apoptosis in Prostate Cancer Cells. *Mol Cancer Ther*. 2010;9:3175-85.
11. Verma SP, Das P. Monensin induces cell death by autophagy and inhibits matrix metalloproteinase 7 (MMP7) in UOK146 renal cell carcinoma cell line. *Vitr Cell Dev Biol - Anim*. P. 2018;54:736-742.
12. Wang X, Wu X, Zhang Z, vd. Monensin inhibits cell proliferation and tumor growth of chemo-resistant pancreatic cancer cells by targeting the EGFR signaling pathway. *Sci Rep*. 2018;8(1):1-15.
13. Choi HS, Jeong EH, Lee TG, Kim SY, Kim HR, Kim CH. Autophagy inhibition with monensin enhances cell cycle arrest and apoptosis induced by mTOR or epidermal growth factor receptor inhibitors in lung cancer cells. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2013;75(1):9-17.
14. Fulda S, Debatin KM. Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene*. 2006;25(34):4798-4811.
15. Degtrev A, Boyce M, Yuan J. A decade of caspases. *Oncogene*. 2003;22(53 REV. ISS. 7):8543-8567.
16. Boice A, Bouchier-Hayes L. Targeting apoptotic caspases in cancer. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*. 2020;1867(6):118688.
17. Picco R, Tomasella A, Fogalari F, Brancolini C. Transcriptomic analysis unveils correlations between regulative apoptotic caspases and genes of cholesterol homeostasis in human brain. *PLoS One*. 2014;9(10):e110610.
18. Meng L, Sefah K, O'Donoghue MB, vd. Silencing of PTK7 in colon cancer cells: caspase-10-dependent apoptosis via mitochondrial pathway. *PLoS One*. 2010;5(11):e14018.

