



ARAŞTIRMA MAKALESİ
RESEARCH ARTICLE
CBU-SBED, 2022, 9(2): 222-227

A23187 Tamoksifene Dirençli Meme Kanseri Hücrelerinin Tamoksifen Duyarlılığını Geliştirebilir

A23187 May Improve Tamoxifen Sensitivity of Tamoxifen-Resistant Breast Cancer Cells

Yalçın Erzurumlu^{*1}, Deniz Çataklı²

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Biyokimya Anabilim dalı, Isparta, Türkiye

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

e-mail: yalcinerzurumlu@sdu.edu.tr denizcatakli@sdu.edu.tr
ORCID: 0000-0001-6835-4436
ORCID: 0000-0001-7327-5396

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Yalçın Erzurumlu

Gönderim Tarihi / Received: 14.11.2021

Kabul Tarihi / Accepted: 30.03.2022

DOI: 10.34087/cbusbed.1023372

Öz

Giriş ve Amaç: Tamoksifen, ER α -pozitif meme kanserinin tedavisinde en yaygın kullanılan terapötik bir ajandır. Ancak hastaların büyük bir kısmında tamoksifen'e karşı direnç kazanımının oluşması; terapötik etkinliği sınırlamakta ve hastalarda sağ kalım oranını azaltmaktadır. Hücre hareketliliği, gen ifadesi regülasyonu gibi çok sayıda kritik rolü olan Ca^{+2} sinyal mekanizması karsinogenez ile ilişkili proliferasyon, migrasyon, anjiyogenez ve ilaç direnci gelişimi gibi süreçler üzerinde önemli rollere sahiptir. Çalışmalarımızda yüksek oranda Ca^{+2} seçiciliği olan ve endoplazmik retikulumdan Ca^{+2} çıkışına aracılık eden kalsiyum iyonofor A23187 (kalsimisin)'nin tamoksifene dirençli meme kanseri hücrelerinde proliferasyon ve tamoksifen direnci üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: A23187 veya Tamoksifen ile A23187 kombine uygulamasının Tamoksifene dirençli meme kanseri hücreleri MCF-7/TAMR-1'de hücre proliferasyonu üzerine olan etkisini değerlendirmek amacıyla WST-1 temelli hücre proliferasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca mikroskopik incelemeler yapılarak fotoğraflanmıştır.

Bulgular: A23187'nin MCF-7/TAMR-1 hücreleri üzerindeki anti-proliferatif etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. A23187 ile tamoksifen'in kombine uygulaması ile hücrelerdeki tamoksifen direncini sınırlandırarak sinerjistik olarak hücrelerin proliferatif kapasitesini sınırladığı belirlenmiştir.

Sonuç: Bulgularımız, A23187 aracılı kalsiyum sinyalinin modülasyonunun meme kanseri hücrelerinde tamoksifen duyarlılığının ilerletilmesinde umut verici bir yaklaşım olabileceğini önermektedir.

Anahtar Kelimeler: A23187, Kalsiyum sinyalizasyonu, Meme kanseri, Tamoksifen.

Abstract

Objective: Tamoxifen is the most widely used therapeutic agent for the treatment of ER α -positive breast cancer. However, the development of resistance to tamoxifen in the majority of patients limits the therapeutic efficacy of tamoxifen and reduces the survival rate of patients. Ca^{+2} signaling mechanism, which has many critical roles including cell motility and gene expression regulation, has important roles in processes such as proliferation, migration, angiogenesis, and drug resistance development related to carcinogenesis. In this study, we aimed to investigate the effect of Calcium ionophore A23187 (calcimicin), which has high Ca^{+2} selectivity and mediates Ca^{+2} output from the endoplasmic reticulum, on proliferation and tamoxifen resistance in tamoxifen-resistant breast cancer cells.

Materials and Methods: WST-1-based cell proliferation analyzes were performed to evaluate the effect of A23187 or Tamoxifen and A23187 combined treatment on cell proliferation in Tamoxifen-resistant breast cancer cells MCF-7/TAMR-1. In addition, microscopic examinations were performed and photographed.

Results: A21387 has an antiproliferative effect on MCF-7/TAMR-1 cells. Moreover, a combined treatment of A21387 and tamoxifen synergistically reduced the proliferative capacity of cells manner dose-dependent by limiting tamoxifen resistance.

Conclusion: Our findings suggest that modulation of calcium signaling by A21387 may be a promising approach to improve tamoxifen sensitivity in breast cancer cells.

Keywords: A21387, Breast cancer, Calcium signaling, Tamoxifen.

1. Giriş

Günümüzde farklı kanser tiplerine yönelik çok sayıda tedavi yaklaşımı geliştirilmiş olmasına karşı halen daha efektif yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla cerrahi girişim ve özellikle hormon bağımlı kanser türlerinde endokrin tedavi yaklaşımları sıklıkla kullanılmaktadır. Meme kanseri bu stratejilerin kullanıldığı kanser türleri arasında yer almaktadır. Meme kanseri günümüzde kadınlarda en sık tanı konulan ve kanser bağlı en yaygın ölüm nedenleri arasında yer almaktadır. Dünya çapında her 4 kadından 1'inde meme kanseri görülmektedir. Kadınlara kıyasla erkeklerde nadir olarak bu kansere ait bulgulara rastlanmaktadır [1]. Meme kanseri, farklı prediktif ve tanısal belirteçlerle tanımlanabilen alt tiplerden oluşan heterojen bir patolojik durumdur [2]. Östrojen reseptör α (ER α), Progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü (Her2) rutin olarak gözlemlenen biyobelirteçleri oluşturmaktadır. Meme kanserinin büyük bir kısmını ER α /PR pozitif alt tipi ile bilinen hormon reseptör pozitif (HR(+)) oluştururken, Her-2 pozitif ve üçlü negatif (ER α - , PR- ve Her-2) alt tipleri de bulunmaktadır [3]. ER α - ve Her2- hedefli tedaviler, kemoterapi, cerrahi ve radyasyon standart tedavi yöntemleri arasında yer almaktadır [4].

Endokrin tedavisi (ET) ER α -pozitif olan meme kanseri türlerinde standart olarak uygulanmaktadır. ET'de östrojen-bağımlı ER α aktivitesini engellemek amacıyla kullanılan tedavi yaklaşımlarından birini ER α proteinine bağlanmak için östrojen ile yarışan anti-östrojenler oluşturur [5,6]. Bu gruptan yayın olarak kullanılan Selektif ER α modulatörleri (SERMs)'dir. [7].

Tamoksifen (TAM), östrojenin östrojen reseptörüne bağlanmasını engelleyerek hücre proliferasyonunun ve sağkalımın inhibisyonuna neden olan ve ER α (+) meme kanserinde yaygın olarak reçete edilen SERM grubuna ait adjuvan ilaçlardan biridir [8]. Her ne kadar meme kanseri hastalarında kullanılan TAM; tedavide büyük başarı sağlasa da, HR(+) meme kanseri hastalarının yaklaşık %30-%50'sinde intrinsik veya kazanılmış farmakolojik direnç gelişimi TAM'ın terapötik etkinliği için kritik ve sınırlayıcı bir faktör oluşturmaktadır [9,10]. Bu nedenle TAM etkinliğini arttırabilecek alternatif yaklaşımların geliştirilmesine ve sinerjistik uygulamaya elverişli moleküllerin test edilmesine yönelik ihtiyaç devam etmektedir.

Organizmada kritik rolleri olan kalsiyum iyonları (Ca²⁺)'na bağlı sinyal mekanizması, gen ifadesinin regülasyonu, hücre proliferasyonu, hücre göçü, apoptotik hücre ölümü, fertilizasyon ve sinir iletimi gibi önemli hücresel süreçleri kontrol etmektedir [11-14]. Hücrelerdeki anormal Ca²⁺ sinyali; metabolik,

otoimmün bozukluklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi farklı patolojilerin gelişimine sebep olabilmektedir [15,16]. Bunların yanısıra, Ca²⁺-bağımlı sinyal mekanizması tümör oluşumunu ve karsinogenez sürecini destekleyen proliferasyon, migrasyon, anjiyogenez ve apoptozdan kaçınma gibi süreçlerin regülasyonunda kritik öneme sahiptir [17,18]. Son yıllarda meme kanseri üzerine yapılan çalışmalarda, proliferasyon, metastaz, hücre ölümü ve ilaç direncinin kontrolünde rolü olan spesifik Ca²⁺ sinyal mekanizması düzenleyicileri ele alınmıştır [19]. Buna bağlı olarak, farklı moleküler ajanlar meme kanseri tedavisi için olası terapötik hedefler olarak gösterilmiştir [20,21].

Kalsiyum iyonofor A21387 (kalsimisin) Ca²⁺ iyonları için yüksek düzeyde seçiciliğe sahiptir. A21387 Ca²⁺ iyonlarının hücre membranını geçmesini sağlayan karboksilik asit iyonoforudur ve endoplazmik retikulum (ER) lümeninden Ca²⁺ çıkışına aracılık eder [22]. Bu nedenle hücre içi Ca²⁺ düzeylerinin artırılması için oldukça kullanışlı bir ajandır [23]. A21387'nin hücre aktivasyonu, farklılaşma ve proliferasyon süreçlerini düzenlediği gösterilmiştir [24].

Hasewaga ve ark.'nın gerçekleştirdiği çalışmalarda A21387, TAM'ın deri skuamöz hücreli karsinom hücrelerinde yapmış olduğu intrasellüler Ca²⁺ konsantrasyonundaki artışı destekleyerek bu hücrelerde proliferasyonu baskıladığı gösterilmiştir [24]. Bununla birlikte TAM'ın glioma ve meme kanseri hücrelerinde hücre içi Ca²⁺ düzeylerinde artışa neden olduğu rapor edilmiştir [25].

Bu bulgulardan hareketle çalışmamızda TAM dirençli meme kanseri hücreleri MCF-7/TAMR-1'de A21387 uygulamasına bağlı olarak Ca²⁺ sinyal mekanizması aracılığıyla TAM duyarlılığı üzerindeki etkilerin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma sonuçlarımız TAM ile A21387 kombine uygulamasının sinerjistik olarak etki göstererek MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin TAM duyarlılığını geliştirdiğini ve bu yolla proliferatif özelliklerini büyük oranda sınırlandırdığı göstermiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1 Hücre Kültürü:

Çalışmalarda American Type Culture Collection (ATCC)'den temin edilmiş TAM dirençli MCF-7/TAMR-1 insan meme kanseri hücreleri %10 FBS içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) besi yeri ile konvansiyonel hücre kültürü şartlarında (37 °C'de %5 CO₂) kültüre edildi. Kültürasyon işlemlerinde MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin direnç özelliklerinin devamlılığı için büyüme ortamına 1 μ M TAM ilave edilerek kültür işlemlerine devam edilmiştir.

2.2 Proliferasyon tahlili: Çalışmalarda kullanılan TAM (Sigma Aldrich) ve A21387 (Santa Cruz Biotechnology)

ile çözülerek 1000 kat konsantre stok (1000x) olarak hazırlandı. TAM (2.5, 5 μ M) ve A23187 (1, 2.5, 5, 10 μ M) hücelere 48 saat süre uygulandı. Kontrol uygulaması olarak hücelere eş hacimde çözücü uygulaması gerçekleştirildi. Çözücü olarak ultra saf su kullanıldı. MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin hücre proliferasyon oraları WST-1 hücre proliferasyon reaktifi (Takara) kullanılarak üreticinin önerdiği protokol kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir örnek 3 teknik tekrar halinde değerlendirildi. Çalışmalar 3 biyolojik tekrar şeklinde gerçekleştirildi. 96 kuyucuklu hücre kültür kaplarına 5000 hücre/kuyucuk olacak şekilde MCF-7/TAMR-1 ekimi yapıldı. Hücre ekim işlemini takiben geçen 24 saat sonrasında ajanlar hücelere 48 saat süre ile uygulandı. Kombine uygulamalarda hücelere öncelikli olarak TAM ve 1 saat sonrasında A23187 uygulaması gerçekleştirildi. Takiben geçen 48. saatte her bir örneğe 20 μ l WST-1 ajanı eklendi ve 4 saat süre ile konvansiyonel kültür şartlarında inkübasyon işlemi gerçekleştirildi. Takiben mikropilaka okuyucuda (BioTek, Epoch 2)'da 450nm dalga boyunda absorpsan okumaları gerçekleştirildi.

2.3 Mikroskopik inceleme: MCF-7/TAMR-1 hücrelerindeki morfolojik değişikliklerin incelenmesi amacıyla 4x objektif büyütmesinde ters faz kontrast ışık mikroskopunda fotoğraflama işlemi gerçekleştirilmiştir (Olympus CKX41). Fotoğraflama işlemlerinde kullanılan büyütme skalası 500 μ m'dir.

2.4 İstatistiksel analiz: Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SD) olarak sunuldu. Gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel anlamlılığı GraphPad Prism 5 yazılımı kullanılarak minimum %95 güven aralığı ile Student t testi ile belirlendi. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. Bulgular ve Tartışma

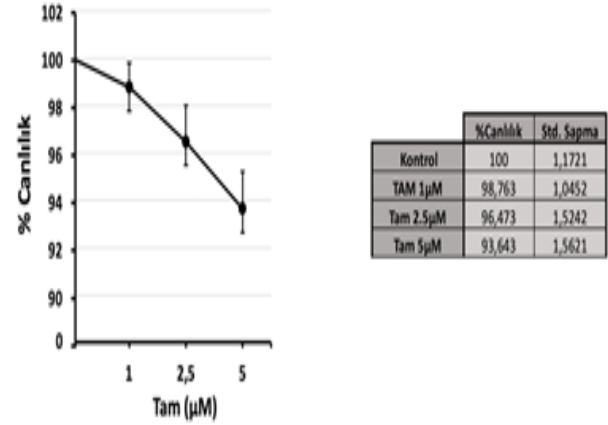
3.1 Bulgular

3.1.1 MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin TAM direncinin doğrulanması

MCF-7/TAMR-1 hücreleri uzun süreli olarak TAM mazuriyeti sonrasında elde edilen TAM'a karşı direnç kazanmış meme kanseri hücreleridir [26]. Çalışmalarımızda MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin TAM direncini doğrulamak üzere 1, 2.5 ve 5 μ M dozlarında TAM uygulaması gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubuna eş hacimde TAM çözücüsü uygulanmıştır. TAM'ın MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin proliferatif yeteneği üzerindeki etkileri WST-1 temelli hücre proliferasyon testi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlarımız beklendiği gibi TAM uygulamasına bağlı olarak kontrol grubuna kıyasla MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin proliferasyon yeteneğinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişime neden olmadığı saptanmıştır (Şekil 1).

3.1.2 Kalsiyum iyonofor A23187 doz bağımlı olarak MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin proliferatif özellikleri sınırlanmaktadır

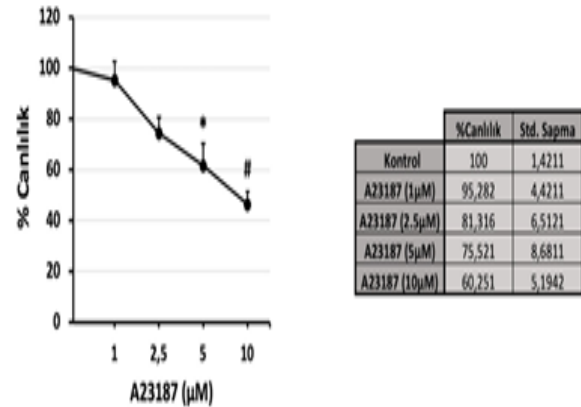
MCF-7/TAMR-1 hücelere 48 saat süre ile 1, 2.5, 5 ve 10 μ M A23187 uygulaması gerçekleştirilmiştir.



Şekil 1: TAM uygulamasının MCF-7/TAMR-1 hücreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi. MCF-7/TAMR-1 hücreleri 96 kuyucuklu kültür kaplarına 10.000 hücre/kuyucuk konsantrasyonunda ekimi gerçekleştirildi. 24 sonra hücelere 1, 2.5 ve 5 μ M konsantrasyonunda tamoksifen uygulaması yapılarak 48 süre ile inkübe edildi. Süre sonunda WST-1 temelli hücre proliferasyon tayini gerçekleştirildi. Kontrol uygulaması olarak eş hacimde ajanların çözücü uygulandı. (* $p < 0.05$, # $p < 0.001$)

Kontrol uygulaması olarak eş hacimde çözücü uygulaması gerçekleştirilmiştir.

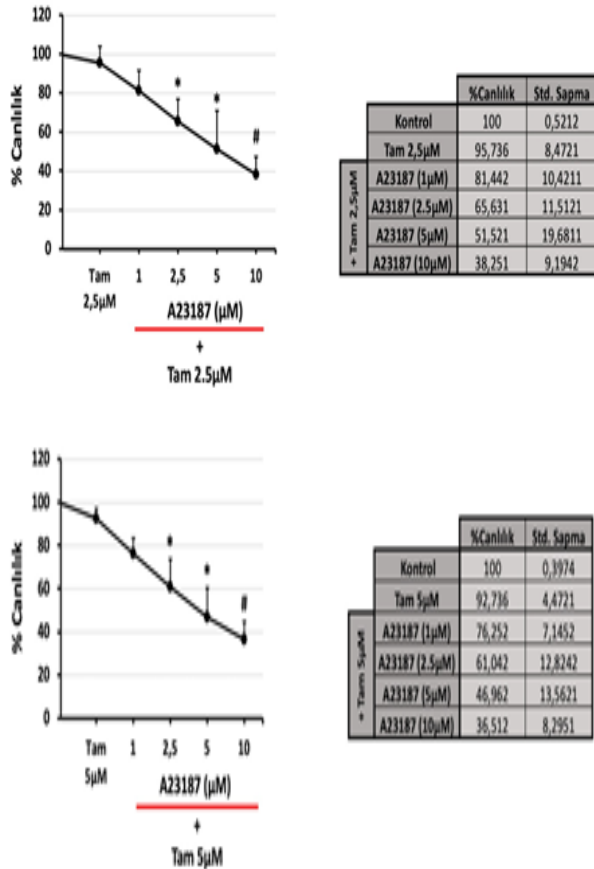
A23187'nin MCF-7/TAMR-1 hücreleri üzerindeki olası anti-proliferatif özelliklerini değerlendirmek üzere hücre proliferasyonundaki değişimler ölçülmüştür. Sonuçlarımız doğrultusunda, A23187 doz bağımlı olarak MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin proliferasyon özelliklerini sınırlandırdığı belirlenmiştir. 5 ve 10 μ M A23187 uygulamaları istatistiksel olarak (sırasıyla * $p < 0.05$, # $p < 0.001$) anlamlı düzeyde MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin proliferasyon özelliğini sınırlandırmıştır (Şekil 2).



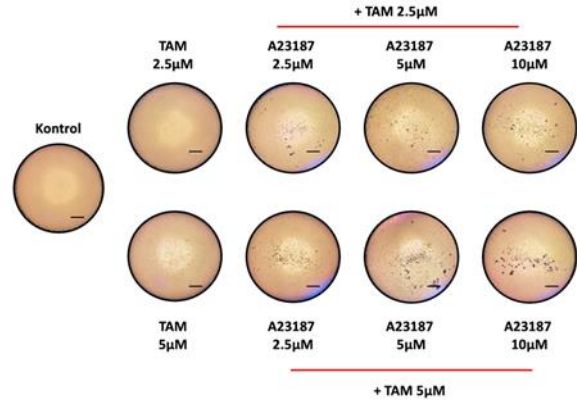
Şekil 2: A23187'nin MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin proliferatif yeteneği üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi. MCF-7/TAMR-1 hücreleri 96 kuyucuklu kültür kaplarına 10.000 hücre/kuyucuk konsantrasyonunda ekimi gerçekleştirildi. 24 sonra hücelere 1, 2.5, 5 ve 10 μ M konsantrasyonunda A23187 uygulaması yapılarak 48 süre ile inkübe edildi. Süre sonunda WST-1 temelli hücre proliferasyon tayini gerçekleştirildi. Kontrol uygulaması olarak eş hacimde ajanların çözücü uygulandı. (* $p < 0.05$, # $p < 0.001$)

3.1.3 MCF-7/TAMR-1 hücrelerine kalsiyum iyonofor A23187 ve Tamoksifen kombine uygulaması TAM duyarlılığını geliştirmektedir

MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin TAM karşı kazanmış olduğu direncin zayıflatılması amacıyla anti-proliferatif özelliğini göstermiş olduğumuz kalsiyum iyonoforu A23187'nin TAM ile kombine uygulamasının hücreleri üzerindeki etkileri hücre proliferasyon analizi ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla hücreler 48 saat süre ile 1, 2.5, 5 ve 10 μM A23187 uygulaması ile 2.5 veya 5 μM TAM kombine uygulamasına maruz bırakılmıştır. Kontrol uygulaması olarak 2.5 veya 5 μM TAM ve eş hacimde çözücü uygulaması gerçekleştirilmiştir. Sonuçlarımız 2.5 μM TAM ile değişen dozlardaki A23187 eş uygulamasının sinerjistik olarak MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin tamoksifen duyarlılığını geliştirdiğini göstermiştir (Şekil 3a). Benzer sonuçlar 5 μM TAM ile değişen dozlardaki A23187 eş uygulaması sonuçlarından da elde edilmiştir (Şekil 3b). Yürütülen mikroskobik incelemelerde proliferasyon tahlili ile tutarlı olarak hücrelerde apoptotik hücre bulguları saptanmıştır (Şekil 4).



Şekil 3: A23187 ve TAM eş uygulamasının MCF-7/TAMR-1 hücreleri üzerindeki anti-proliferatif özelliklerinin incelenmesi. MCF-7/TAMR-1 hücreleri 96 kuyucuklu kültür kaplarına 10.000 hücre/kuyucuk konsantrasyonunda ekimi gerçekleştirildi. 24 sonra hücrelere 2.5 (Şekil 3a) veya 5 μM (Şekil 3b) TAM ve 1, 2.5, 5 ve 10 μM konsantrasyonunda A23187 eş uygulaması gerçekleştirildi. 48 saatin sonunda WST-1 temelli hücre proliferasyon tayini gerçekleştirildi. Kontrol uygulaması olarak eş hacimde ajanların çözücü uygulandı. (* $p < 0.05$, # $p < 0.001$)



Şekil 4: A23187 ve TAM eş uygulamasının MCF-7/TAMR-1 hücreleri üzerindeki anti-proliferatif özelliklerinin mikroskobik incelenmesi. MCF-7/TAMR-1 hücreleri 96 kuyucuklu kültür kaplarına 10.000 hücre/kuyucuk konsantrasyonunda ekimi gerçekleştirildi. 24 sonra hücrelere 2.5 veya 5 μM TAM ve 2.5, 5 ve 10 μM konsantrasyonunda A23187 eş uygulaması gerçekleştirildi. 48 saatin sonunda mikroskobik incelemeler gerçekleştirilerek fotoğraflanmıştır. Kontrol uygulaması olarak eş hacimde ajanların çözücü uygulandı. (Skala 500 μm)

3.2 Tartışma

TAM, meme tümör dokularına erişebilirliği oldukça iyi olduğundan, meme kanseri tedavisinde sık kullanılan SERM grubuna ait etkili bir tedavi seçeneğidir [8]. Ancak meme kanseri hücrelerinin TAM'a karşı direnç geliştirmesi hastalara sunulan bu etkili terapötik süreci sınırlandırmaktadır. Bu durum TAM direnci gelişen meme kanseri hastalarında sağ kalım oranlarının büyük oranda azaldığı gözlenmektedir. Bu nedenle meme kanserine karşı geliştirilecek etkili tedavi yaklaşımlarına süren ihtiyaç devam etmektedir.

TAM'a karşı gelişen direncin önüne geçilmesinde *in vitro* da farklı moleküler odakları hedef alan özgül moleküllerin TAM ile kombinasyonundan faydalanılmaktadır [27]. Çalışmalarımızda bu amaçla bir kalsiyum iyonoforu olan A23187 ile TAM kombinasyonu aracılı olarak TAM'a dirençli MCF-7/TAMR-1 hücrelerinde TAM duyarlılığı üzerindeki etkilerini anlamaya yönelik çalışmalar sürdürülmüştür.

A23187 *Streptomyces chartreuses'* den izole edilen izole edilen hidrofobik bir moleküldür. A23187 seçici olarak Ca^{+2} iyonlarına bağlanarak lipit çift tabakasının hidrofobik iç kısmına nüfuz etmesini sağlayarak Ca^{+2} 'nin hücresel geçirgenliğini arttırmaktadır [28–30].

Hücre düzeyindeki Ca^{+2} düzeyleri mitokondriyal ve ER aracılı olarak koordine edilmektedir [31]. Bu süreç fizyolojik dengenin korunması için gerekli olmakla birlikte Ca^{+2} akışındaki değişimlerin çok sayıda patofizyolojik süreç ile güçlü şekilde ilişkilidir [32]. Stres koşulları altında ER'de depolanan Ca^{+2} 'nin mitokondriye yer değiştirmesi otofajik regülasyon, hücre döngüsü ve proliferasyon, metastaz ve invazyon, hücre yaşlanma ve hücre ölümü ile ilişkili olduğu bilinmektedir [33].

Hücre içi Ca^{+2} düzeyleri ile mitokondriyal dinamiklerdeki fonksiyonel bozulmanın demans, epilepsi, Alzheimer ve Parkinson, kardiyomyopati, koroner arter hastalığı, kronik yorgunluk sendromu, retinitis pigmentosa, diyabet ve kanser gibi çok sayıda patogeneze süreç ile ilişkilidir [34]. Doksorubisin dirençli

meme kanseri hücre hattı olan MCF-7/DOX ile sürdürülen çalışmalarda A23187'nin doz bağımlı olarak apoptotik hücre ölümünü indüklediği rapor edilmiştir [35]. Özellikle ilaç direnci geliştiren meme kanseri hücrelerinde sitozolik serbest Ca^{+2} düzeylerinin ilaç direnci gelişmesi ile doğrudan ilişkili olduğu önerilmiştir [35,36]. Çalışmalarımızdan elde edilen bulgular TAM dirençli MCF-7/TAMR-1 hücrelerine A23187 uygulamasına bağlı olarak hücrelerin proliferasyon oranlarında uygulama dozuna bağlı olarak azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 2). Benzer şekilde A23187'nin TAM ile farklı dozlardaki eş uygulaması MCF-7/TAMR-1 hücrelerinin proliferatif özellikleri kontrol ve yalnızca TAM uygulanan gruplara kıyasla büyük oranda sınırlandırmıştır (Şekil 3a, 3b). Çalışmalarımız takibinde gerçekleştirilen mikroskopik gözlemlerde MCF-7/TAMR-1 hücrelerinde A23187 uygulama dozuna bağlı olarak TAM kombinasyonu ile birlikte apoptotik hücre ölümünü işaret eden bulgular gözlenmiştir (Şekil 4). Bulgularımız MCF-7/TAMR-1 hücrelerine A23187 uygulaması sonrasında hücre içi Ca^{+2} düzeylerinde meydana gelen değişime bağlı olarak hücrelerde indüklenen apoptotik süreç ile ilişkili olarak hücre proliferasyonunda azalma olduğunu önermektedir. TAM'ın glioma ve meme kanseri hücrelerinde hücre içi Ca^{+2} düzeylerinde artışa neden olarak hücre proliferasyonunu azalttığı ve apoptotik hücre ölümünü indüklediği rapor edilmiştir [25]. TAM ile A23187 eş uygulamasına ilişkin sürdürdüğümüz çalışmalarda bulgularımız; TAM dirençli MCF-7/TAMR-1 hücrelerinde A23187 aracılı olarak artan hücre içi Ca^{+2} düzeylerine TAM'ın katkıda bulunduğu ve buna bağlı olarak hücre proliferasyonunun daha güçlü bir düzeyde baskılandığını düşündürmektedir. Ancak bu yaklaşımın doğrulanması için hücre içi Ca^{+2} düzeylerinin ölçülerek Ca^{+2} sinyalizasyonu ile ilişkili protein düzeylerindeki değişimlerin karakterize edilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Toplu olarak sonuçlarımız TAM'a dirençli meme kanseri hücrelerinde kalsiyum iyonoforu A23187 aracılı olarak hücre içi Ca^{+2} sinyalizasyonunun modülasyonunun ve TAM ile eş uygulamaya bağlı olarak hücrelerdeki TAM duyarlılığının artırılmasında Ca^{+2} sinyalizasyonunun destek verdiğini önermektedir.

4. Sonuç

TAM meme kanseri tedavisinde sıklıkla başvuru olan endokrin tedavi yaklaşımında hastalarda oral yolla kullanılan seçici östrojen reseptörü modülatördür. Her ne kadar TAM'ın meme kanseri hücreleri üzerindeki etkinliği ve güvenilirliği kanıtlanmış olsa da meme kanseri hücrelerinin reseptör ifade profillerinde gözlemlenen değişimler veya diğer nedenlerle kazanılmış farmakolojik direnç gelişimi tedaviyi büyük oranda sınırlandırmaktadır [9,10]. Bu nedenle TAM duyarlılığını geliştirecek yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmalarımızda bir kalsiyum iyonoforu olan A23187'nin TAM direnci sergileyen MCF-7/TAMR-1 hücreleri üzerinde anti-proliferatif özelliklere sahip olduğu ve TAM duyarlılığını geliştirerek meme

kanseri hücrelerinin proliferatif özelliklerini büyük oranda sınırlandırdığı belirlenmiştir. Bulgularımız A23187 ve diğer hücre sel kalsiyum regülasyonu üzerinde etkinliğe sahip biyomoleküllerin meme kanseri hücrelerindeki TAM direncinin aşılmasına yönelik umut vaat ettiğini önermektedir.

5. Teşekkürler ve Bilgilendirme

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen TSG-2021-8302 numaralı projemiz kapsamındaki bütçeden faydalanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm yazarlar çalışmalarımızda herhangi bir çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmektedir.

Referanslar

1. Torre, LA, Bray, F, Siegel, R.L, Ferlay, J, Lortet-Tieulent, J, Jemal, A, Global cancer statistics, 2012, *CA: a cancer journal for clinicians*, 2015, 65(2), 87-108.
2. Cardoso, F, Paluch-Shimon, S, Senkus, E. 5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5). 2020.
3. Prat, A, Perou, C.M, Deconstructing the molecular portraits of breast cancer, *Molecular oncology*, 2011, 5(1), 5-23.
4. Harbeck, N, Gnant, M. Breast cancer, *The Lancet*, 2017, p. 1134-50. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)31891-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(16)31891-8)
5. Santen, R.J, Brodie, H, Simpson, E.R, Siiteri, P.K, Brodie, A. History of aromatase: saga of an important biological mediator and therapeutic target, *Endocrine reviews*, 2009, 30(4), 343-375.
6. Dixon, J.M. Endocrine resistance in breast cancer, *New Journal of Science*, 2014, 2014.
7. Liu, S, Han, S.J, Smith, C.L, Cooperative activation of gene expression by agonists and antagonists mediated by estrogen receptor heterolog dimer complexes, *Molecular pharmacology*, 2013, 83(5), 1066-1077.
8. An, K.C, Selective estrogen receptor modulators, *Asian Spine Journal*, 2016, 10(4), 787.
9. Osborne, C.K, Schiff, R. Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer, *Annual review of medicine*, 2011, 62, 233-247.
10. Abdel-Hafiz, H.A, Epigenetic mechanisms of tamoxifen resistance in luminal breast cancer, *Diseases*, 2017, 5(3), 16.
11. Bagur, R, Hajnóczky, G, Intracellular Ca^{2+} sensing: its role in calcium homeostasis and signaling, *Molecular cell*, 2017, 66(6), 780-788.
12. Berridge, M.J, Lipp, P, Bootman, M.D, The versatility and universality of calcium signalling, *Nature reviews Molecular cell biology*, 2000, 1(1), 11-21.
13. Wakai, T, Vanderheyden, V, Fissore, R.A, Ca^{2+} signaling during mammalian fertilization: requirements, players, and adaptations, *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2011, 3(4), a006767.
14. Hagenston, A.M, Bading, H. Calcium signaling in synapse-to-nucleus communication, *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2011, 3(11), a004564.
15. Bezprozvanny, I. Calcium signaling and neurodegenerative diseases, *Trends in molecular medicine*, 2009, 15(3), 89-100.
16. Jayakumar, S, Hasan, G. Neuronal calcium signaling in metabolic regulation and adaptation to nutrient stress, *Frontiers in neural circuits*, 2018, 12, 25.
17. Varghese, E, Samuel, S.M, Sadiq, Z, Kubatka, P, Liskova, A, Benacka, J, et al. Anti-cancer agents in proliferation and cell death: the calcium connection, *International journal of molecular sciences*, 2019, 20(12), 3017.
18. Marchi, S, Giorgi, C, Galluzzi, L, Pinton, P. Ca^{2+} fluxes and cancer, *Molecular cell*, 2020, 78(6), 1055-1069.
19. So, C.L, Saunus, J.M, Roberts-Thomson, S.J, Monteith, G.R, Calcium signalling and breast cancer. In: *Seminars in Cell & Developmental Biology, Academic Press*, 2019. p. 74-83.
20. Roberts-Thomson, S.J, Chalmers, S.B, Monteith, G.R, The calcium-signaling toolkit in cancer: remodeling and targeting, *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2019, 11(8), a035204.
21. Saldías, M.P, Maureira, D, Orellana-Serradell, O, Silva, I, Lavanderos, B, Cruz, P, et al. TRP channels interactome as a novel therapeutic target in breast cancer, *Frontiers in oncology*, 2021, 1321.

22. White, C.D, Sacks, D.B, Regulation of MAP kinase signaling by calcium, In: *MAP Kinase Signaling Protocols*, Humana Press, Totowa, N.J, 2010. p. 151-165.
23. Aitken, R.J, Paterson, M, Fisher, H, Buckingham, D.W, van Duin, M, Redox regulation of tyrosine phosphorylation in human spermatozoa and its role in the control of human sperm function, *Journal of Cell Science*, 1995, 108(5), 2017-2025.
24. Hasegawa, G, Akatsuka, K, Nakashima, Y, Yokoe, Y, Higo, N, Shimonaka, M. Tamoxifen inhibits the proliferation of non-melanoma skin cancer cells by increasing intracellular calcium concentration, *International journal of oncology*, 2018, 53(5), 2157-2166.
25. Zhang, W, Couldwell, W.T, Song, H, Takano, T, Lin, J.H, Nedergaard, M, Tamoxifen-induced enhancement of calcium signaling in glioma and MCF-7 breast cancer cells, *Cancer Research*, 2000, 60(19), 5395-5400.
26. Madsen, M.W, Reiter, B.E, Lykkesfeldt, A.E, Differential expression of estrogen receptor mRNA splice variants in the tamoxifen resistant human breast cancer cell line, MCF-7/TAMR-1 compared to the parental MCF-7 cell line, *Molecular and cellular endocrinology*, 1995, 109(2), 197-207.
27. Jiang, Q, Zheng, S, Wang, G, Development of new estrogen receptor-targeting therapeutic agents for tamoxifen-resistant breast cancer, *Future medicinal chemistry*, 2013, 5(9), 1023-1035.
28. Reed, P.W, Lardy, H.A, A23187: a divalent cation ionophore, *Journal of Biological Chemistry*, 1972, 247(21), 6970-6977.
29. Zmijewski, MJ, Wong, R, Paschal, J.W, Dorman, D.E, The biosynthesis of antibiotic A23187, *Tetrahedron*, 1983, 39(8), 1255-1263.
30. Chaney, M.O, Demarco, P.V, Jones, N.D, Occolowitz, J.L, Structure of A23187, a divalent cation ionophore, *Journal of the American Chemical Society*, 1974, 96(6), 1932-1933.
31. Verma, M, Wills, Z, Chu, C.T, Excitatory Dendritic Mitochondrial Calcium Toxicity: Implications for Parkinson's and Other Neurodegenerative Diseases, *Frontiers in neuroscience*, 2018, 523.
32. Brookes, P.S, Yoon, Y, Robotham, J.L, Anders, M.W, Sheu, S.S, Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle, *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2004.
33. Ivanova, H, Kerkhofs, M, La, Rovere, R.M, Bultynck, G, Endoplasmic Reticulum-Mitochondrial Ca²⁺ Fluxes Underlying Cancer Cell Survival, *Frontiers in oncology*, 2017, 7,70.
34. de Castro, I.P, Martins, L.M, Tufi, R, Mitochondrial quality control and neurological disease: an emerging connection, *Expert reviews in molecular medicine*, 2010, 12.
35. Chen, J.S.K, Konopleva, M, Andreeff, M, Multani, A.S, Pathak, S, Mehta, K, Drug-resistant breast carcinoma (MCF-7) cells are paradoxically sensitive to apoptosis, *Journal of cellular physiology*, 2004, 200(2), 223-234.
36. Chen, J.S.K, Agarwal, N, Mehta, K, Multidrug-resistant MCF-7 breast cancer cells contain deficient intracellular calcium pools, *Breast cancer research and treatment*, 2002, 71(3), 237-247.

<http://edergi.cbu.edu.tr/ojs/index.php/cbusbed> isimli yazarın CBU-SBED başlıklı eseri bu Creative Commons Alıntı-Gayriticari4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

