

In Vitro and In Silico Analysis of the Potential Effects of Kaempferol on Cell Viability and Calcium-Mediated Apoptotic Pathways in C6 Glioma Cells

Tuğba Yıldız Asdemir^{1*}, Ahmet Şevki Taşkıran², Bilal Şahin³, Mert Ataş⁴

¹Sivas Cumhuriyet University, Vocational School of Health Services, 58140, Sivas, Türkiye.

²Sivas Cumhuriyet University, School of Medicine, Departments of Physiology, 58140, Sivas, Türkiye.

³Sivas Cumhuriyet University, School of Medicine, Departments of Physiology, 58140, Sivas, Türkiye.

⁴Department of Physical Therapy and Rehabilitation, Sivas Numune Hospital, Sivas, Türkiye.

Abstract

This study aimed to investigate the effects of kaempferol on cell viability, intracellular calcium signaling, and apoptosis-related possible molecular mechanisms in C6 glioma cells. C6 rat glioma cells were cultured under appropriate cell culture conditions and treated with 25, 50, and 100 µM concentrations of kaempferol for 24 hours. Cell viability was evaluated using the XTT assay. Changes in intracellular calcium levels were analyzed by fluorescent calcium imaging using Fluo-4 AM fluorescent dye. To evaluate the potential effects of kaempferol on calcium-mediated apoptotic mechanisms, a protein-protein interaction (PPI) network including BAX, VDAC1, CYCS, CASP9, and CASP3 proteins was constructed using the STRING database. In addition, KEGG pathway enrichment analysis was performed for the selected gene/protein set. Statistical analyses were conducted using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test, and $p < 0.05$ was considered statistically significant. The findings demonstrated that kaempferol treatment significantly reduced the viability of C6 glioma cells and increased intracellular calcium signaling. In conclusion, kaempferol may exert antiproliferative effects in C6 glioma cells through calcium-mediated apoptotic mechanisms. However, further molecular and functional studies are needed to confirm the underlying mechanism more comprehensively.

Keywords: Kaempferol, C6 glioma, apoptosis, calcium signaling, XTT

Kaempferol'ün C6 Glioma Hücrelerinde Hücre Canlılığı ve Kalsiyum Aracılı Apoptotik Yolaklar Üzerindeki Olası Etkilerinin İn Vitro ve İn Silico Analizi

Özet

Bu çalışmada, kaempferolün C6 glioma hücrelerinde hücre canlılığı, hücre içi kalsiyum sinyali ve apoptoz ile ilişkili olası moleküler mekanizmalar üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı. C6 rat glioma hücreleri uygun hücre kültürü koşullarında çoğaltıldı ve 25, 50 ve 100 µM konsantrasyonlarında kaempferol ile 24 saat süreyle muamele edildi. Hücre canlılığı XTT yöntemi ile değerlendirildi. Hücre içi kalsiyum düzeylerindeki değişimler Fluo-4 AM floresan boyası kullanılarak floresan kalsiyum görüntüleme yöntemi ile analiz edildi. Kaempferolün kalsiyum aracılı apoptotik mekanizmalar üzerindeki olası etkilerini değerlendirmek amacıyla BAX, VDAC1, CYCS, CASP9 ve CASP3 proteinlerini içeren protein-protein etkileşim ağı (PPI) STRING veri tabanı kullanılarak oluşturuldu. Ayrıca seçilen gen/protein kümesine yönelik KEGG yolak zenginleştirme analizi gerçekleştirildi. İstatistiksel analizlerde one-way ANOVA ve Tukey post hoc testi kullanıldı ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi. Elde edilen bulgular, kaempferol uygulamasının C6 glioma hücre canlılığını anlamlı şekilde azalttığını ve hücre içi kalsiyum sinyalizasyonunda artışa neden olduğunu gösterdi. Sonuç olarak, kaempferolün C6 glioma hücrelerinde kalsiyum aracılı apoptotik mekanizmalar üzerinden antiproliferatif etki gösterebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, mekanizmanın daha güçlü biçimde doğrulanabilmesi için ileri moleküler ve fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Kaempferol, C6 glioma, apoptoz, kalsiyum sinyalizasyonu, XTT.

