ارزیابی چرخه سلولی سلولهای کارسینومای تخمدان انسانی (Ov2008) بدنبال استفاده از دوزهای مختلف داروی سیس پلاتین

بهروز نیک نفس*- فرشاد حسینی شیرازی**

*استادیار گروه آناتومی- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

**استادیار گروه سم شناسی و داروشناسی- دانشکده داروسازی ، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

داروی (Cisplatin) بعنوان یک داروی شیمی درمانی بطور وسیعی در درمان سرطانها استفاده می شود. این دارو از طریق اتصال به DNA موجب توقف چرخه سلولی و مرگ سلولی می شود . در این مطالعه ، دوزهایی از داروی سیس پلاتین بر سلولهای کارسینومای تخمدان انسان از نوع OV2008 تاثیر داده و سپس توسط فلوسیتومتری از نظر چرخه سلولی بررسی گردید . سلولهای OV2008 در محیط کشت RPMI با ۱۰٪ FCS و آنتی بیوتیک کشت داده شد و سلولها در مرحله Subconfluency بمدت یکساعت با غلظت های ۱ µg/ml (IC50) و ۳ µg/ml (IC80) از داروی سیس‌پلاتین تیمار شدند . سلولها بعد از ۴۸ ،۷۲و۹۶ ساعت از انکوباسیون برای مطالعه در فلوسیتومتری ، تریپسینه و جمع آوری شدند. نتایج آنالیز DNA در فلوسیتومتری نشان داد که در ۴۸ ساعت اول فازهای چرخه سلولی G2 و S افزایش و فاز G1 کاهش می یابد و تا ۷۲ساعت سلولها همچنان در فاز S باقی می مانند ولی میزان فاز G2 از ۴۸ ساعت به بعد کاهش می یابد . در صد فازهای چرخه سلولی در دو گروه آزمایشی ۱ µg/ml و ۳µg/ml از نظر آماری نسبت به گروه شاهد تغییر معنی داری را نشان نداد. ولی افزایش دوز دارو موجب افزایش کنده شدن سلولها از سطح چسبیده فلاسک شده است . بنابراین نتیجه گرفته می شود که تغییرات چرخه سلولی در این رده سلولی وابسته به دوز دارو نبوده و سیس پلاتین موجب توقف سلولها در فاز S و G2 می شود. که این توقف نمایانگرحساس بودن سلولهای OV2008 به سیس‌پلاتین در مرحله S و G2 می باشد.

کلید واژه‌ها: **چرخه سلولی/ سرطان تخمدان/ سیس‌پلاتین/ فلوسایتومتری**

مقدمه

تقسیم سلولی نتیجه انجام پیاپی مراحل چرخه سلولی است. عوامل گوناگونی در انتقال فازهای مختلف چرخه سلولی دخالت دارند. که انتقال این فازها تحت تاثیر Checkepoint ها می باشد. بیشتر سلولهای عادی و تمایز یافته که تقسیم سلولی در آنها متوقف شده است ، در فاز G_1 قرار دارند(۱).

در حال حاضر برای کنترل سلولهای در حال تقسیم سرطانی از پرتو درمانی و شیمی درمانی استفاده می شود. مطالعات اخیر بیانگر آنست که اولین پاسخ سلولهای در حال تقسیم به عوامل فوق ، تاخیر در تقسیم سلولی و توقف در فازهای مختلف G_1 و S و G_2 میباشد. توقف در فازهای مختلف سلولی‌وعدم‌توانایی‌درترمیم‌آسیب‌سلولهای سرطانی موجب مرگ این سلولها می‌شود(۱).

داروی سیس‌پلاتین‌یکی‌از داروهای شیمی درمانی است که به طور وسیعی در درمان سرطانها بخصوص سرطان تخمدان استفاده می شود . این دارو با اتصال به باندهای گوانین و سیتوزین مانع سنتز DNA و مرگ سلولی می شود (۲).

استفاده از داروهای سیتوتوکسیک باعث توقف چرخه سلولی در فاز G2/M شده و موجب مرگ سلولی می شود. این پدیده میتواند وابسته به دوز داروی سیتوتوکسیک باشد(۱۶). در رده سلولی

میلوئید، دوز بالای Okadaic Acid باعث توقف سلولها در فاز S و دوز پائین آن موجب توقف سلولها در G2/M می شود(٦).

همچنین بهم خوردن چرخه سلولی در سلول کار سینومای پروستات (PC-3) وابسته به نوع دارو است . بطوریکه سیس‌پلاتین باعث توقف در فاز S وداروی Taxol موجب توقف در فاز G2/M می‌شود(۱۸). فاز توقف چرخه سلولی در انواع کارسینومای تخمدان بدنبال استفاده از سیس‌پلاتین نیز متفاوت می‌باشد. همچنین بدنبال توقف چرخه سلولی، انواع مرگ سلولی کارسینومای تخمدان بصورت اپوپتوزیس در فازS و نکروزیس در فاز G2/M بروز می کند(۱۷). مطالعات مورفولوژیک نشان داده که سیس‌پلاتین‌باعث مرگ سلولی‌از نوع اپوپتوزیس در سلول OV2008 می شود(٤).

چون مکانیسم اثر سیس پلاتین در تغییر سیکل سلولی و مرگ سلولی هنوز بطور کامل مشخص نیست(۳). باتوجه به مطالب فوق که ، عوامل مختلفی از جمله نوع دارو، غلظت دارو و نوع سلول‌درتوقف‌چرخه‌سلولی سلولهای سرطانی‌موثر است. لذا در این مطالعه اثر غلظت داروی سیس‌پلاتین در حد فارماکولوژیک برچرخه سلولی سلول OV2008، یکی از سلولهای رده کارسینومای تخمدان ، مقایسه و بررسی می شود.

مواد و روش‌ها

کشت سلولی: سلولهای OV2008 (از آزمایشگاه فارماکولوژی Rocf، اتاوا، کانادا) به تعدادمساوی توسط محیط کشت کامل متشکل از RPMI (Gibco Co) +آنتی‌بیوتیک (Gibco),Co٪10FCS+ (استرپتومایسین ۱۰۰ µg/ml (- Sigma, Co). +پنی سیلین I.U./ml ۱۰۰) در فلاسکهای m^2 ۲۵ کشت داده شدند. در ابتدا تعداد سلولهای ریخته شده به فلاسک برابر بود. وقتی سلولها وارد مرحلهexponential) Late Sub confluency) شدند)، فلاسکها به سه گروه تقسیم گردیدند: گروه‌کنترل،گروه تیمارشده باسیس‌پلاتین ۱µg/ml و گروه تیمار شده با سیس‌پلاتین µg/ml ۳. (هر گروه به تعداد ۱۰ بار آزمایش شد).

هر کدام از گروهها نیز مجدداً از نظر زمان انکوباسیون به زیر گروههای صفر ،٤٨،٧٢،٩٦ ساعت تقسیم شدند. برای تیمار و اعمال داروی سیس پلاتین، ابتدا سلولها توسط PBS شستشو و سپس با سیس پلاتین µg/ml ۱و µg/ml ۳ رقیق شده در سالین ، همراه با محیط کشت RPMI بمدت یک‌ساعت تیمار شدند. در گروه کنترل بجای سیس‌پلاتین فقط سالین، استفاده گردید.بعد از یکساعت انکوباسیون در انکوباتور °C ۳۷، سلولها با PBS شستشو و دوباره با محیط کشت کامل جهت کامل شدن زمان انکوباسیون، در انکوباتور °C ۳۷ قرار داده شدند. سلولهای انکوبه شده به مدتهای ٤٨، ٧٢، ٩٦ ساعت بعد از زمان اعمال دارو، جهت مطالعات بعدی، تریپسینه و جمع آوری شدند . در ضمن دوزهای µg/ml ۱ برابر با IC 50 و µg/ml ۳ از سیس‌پلاتین برابر با IC80 بود(۷).

جهت مقایسه اثرات دارویی در دوزهای فوق سلولهای آزاد شده به مدیوم توسط تریپان بلو رنگ آمیزی و شمارش شدند.

آنالیز چرخه سلولی :

سلولهای چسبیده بعد از تریپسینه کردن، در گروههای کنترل و آزمایشی ابتدا با PBS شستشو و سپس در الکل ۷۰٪ فیکس شدند و تا زمان آنالیز چرخه سلولی در یخچال نگه داری گردیدند. برای آماده سازی سلولها جهت آنالیز چرخه سلولی در فلوسیتومتری نخست سلولها

توسط PBS شستشو و سپس توسط پرپیدیوم پدید (100µg/ml)[1] و RNase[1] (100µg/ml) مخلوط شده‌و بمدت ۳۰ دقیقه در 37°C انکوبه شدند. بعداز رنگ‌آمیزی، سلولها توسط فلوسیتومتری از نوع Elite بررسی و توسط برنامه Multi Cycle آنالیز شدند.

نتایج

آنالیز چرخه سلولی :

آنالیز چرخه سلولی سلولهای OV 2008 گروه کنترل نشان داده‌که G1 با ۵۵٪ نسبت به سایر فازها میزان بیشتری از حجم سلولها را تشکیل می‌داد. بعد از G_1 فاز S با۳۲٪ و فاز G_2 با ۱۲٪ ازسلولهارا تشکیل می‌دادند. در ضمن گروه ساعت صفربا گروه کنترل تفاوتی را نشان نداد(شکل ۱).

فاز G_1 درگروه‌تیمارشده‌باسیس پلاتین µg/ml [1] ، بعد از ٤٨ ساعت۲۷/۵٪ و گروه µg/ml ۳ برابر سیس‌پلاتین با ۲۵/۲٪ بود. فاز G_1 در گروههای تیمار شده با نسبت به گروه کنترل کاهش شدیدی داشت که این تفاوت معنی دار بود. بعد از ۷۲ ساعت، G_1 در هر دو گروه نسبت به ٤٨ ساعت بعد از انکوباسیون افزایش جزئی را نشان می داد که این افزایش کم بوده و تا ۹٦ ساعت ادامه یافت. بطوریکه اختلاف گروههای آزمایشی نسبت به گروه کنترل معنی دار بود(شکل ۱و۲).

فاز S در دو گروه تیمار شده با Cisplatin بعد از ٤٨ ساعت نسبت به گروه کنترل ، افزایش شدیدی را نشان داد که میزان آن تا ۷۲ ساعت ثابت ماند. بطوریکه اختلاف فاز S در ٤٨ و ۷۲ ساعت در هر دو گروه نسبت به G_1،G_2 و گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری داشت، ولی بین دو گروه آزمایشی، تفاوتی مشاهده نشد. در فاصله زمانی ۹٦ تا ۷۲ ساعت نیز میزان فاز S دوباره کاهش یافت (شکل۱و۲).

درصد

زمان (ساعت)

شکل ۱ : درصد تغییرات فازهای مختلف در رده سلول OV 2008 تیمار شده با دوزسیس پلاتین 1µg/ml بعد از ساعتهای صفر، ٤٨، ۷۲ و ۹٦ ساعت، مشاهده می شود. (انحراف معیار ± میانگین)

درصد

زمان (ساعت)

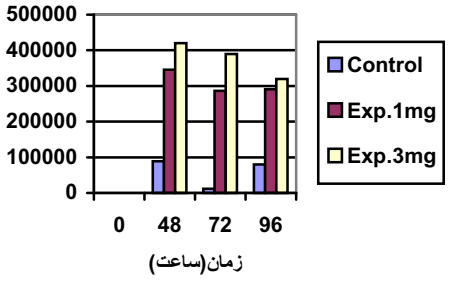
شکل ۲ : درصد تغییرات فازهای مختلف در رده سلول OV 2008 تیمار شده با Cisplatin 3µg / ml بعد از ساعتهای صف ، ۴۸،۷۲و ۹۶ ساعت ، مشاهده می شود. (انحراف معیار ± میانگین).

فاز G_2، در دو گروه تیمار شده با Cisplatin (۱ µg/m1 و۳µg/m1) بعد از ۴۸ ساعت تا دو برابر افزایش یافته بود. که این افزایش پایدار نبوده و میزان آن (G_2)تا ۷۲ ساعت کاهش یافت. همین فاز بعد از ۷۲ساعت دوباره تا ۹۶ ساعت افزایش نشان داد. که افزایش آن میتواند بدنبال کاهش شدید فازS در فاصله ۷۲ تا ۹۶ ساعت باشد. درصدفاز G_2 درهردوگروه‌آزمایشی‌نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری داشت (شکل ۱و ۲).

شمارش سلولها توسط تریپان بلو:

میزان سلولهای آزاد شده از سطح چسبنده فلاسک در ساعتهای صفر، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت برای گروه کنترل یکسان بود . برای گروه تیمار شده با Cisplatin۱µg/m1در ۴۸ ساعت بیشترین مقدار و برای ساعتهای ۷۲و ۹۶ ساعت تقریباً یکسان بود .

در هرسه نوبت زمانی،میزان سلولهای آزاد شده در گروه۱µg/m1نسبت به‌گروه‌کنترل، حدودسه برابر بود.همچنین در گروه Cisplatin با۳µg/m1 میزان سلولهای آزاد شده به مدیوم‌نسبت‌به‌گروه ۱µg/m1 وگروه کنترل بیشتربود.بطوریکه‌اختلاف‌گروهها در ساعتهای مختلف نسبت بهم دیگرمعنی‌داربود(شکل۳).



شکل ۳: نمودارستونی ، میانگین تعداد سلولهای آزاد شده به مدیوم ، در سه گروه کنترل ، تیمار شده Cisplatin 1µg/m1 و 3µg / ml درساعتهای‌مختلف‌رانشان‌می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

از آنجائیکه DNA سلولهای سرطانی حین تقسیم سلولی دو برابر می شود، می‌توان با آسیب به DNA مانع تقسیم‌سلولی‌ازطریق ریکلیکاسیون شد. Cisplatin یکی‌ازداروهای‌آسیب‌زننده‌به‌DNAاست که بدنبال استفاده از آن، چرخه سلولی متوقف شده و سلولها دچار مرگ سلولی می شوند(۱و۳). مطالعات نشان میدهد که نوع سلول، در تعیین فاز توقف چرخه سلولی موثر می باشد بطوریکه با استفاده از Cisplatin ، سلولهای CHo/UV41 در مرحله early S آسیب دیده و سپس وارد G_2 شده و متوقف می شوند(۸). سلولهای لنفومای از نوع EL-4 نیز در G_2 متوقف می شوند(۹) .با سلولهای OV 2008 در این مطالعه عمدتا" در S و کمی از سلولها نیز در G_2 متوقف می شوند. البته توقف یک نوع سلول در چندین فاز در سلولهای T-Cell hybridoma با داروی Camptotheain نیز مشاهده شده است (۱۰).

تاثیر انواع داروها بر سلول OV 2008 نتایج مختلفی دارد ، بطوریکه Taxol (IC50) بعنوان داروی Anti- microtubule فاز چرخه سلولی را تغییر نمی دهد. ولی استفاده همزمان این دارو با Cisplatin موجب مرگ سلولی بیشتری می شود. گرچه با تغییرات چرخه سلولی در ترکیب Cisplatin با Taxol اشاره ای نشده است (۱۱). این مطالعه نشان داد که Cisplatin باعث توقف سلولها در فازهای S و G2/M می شود. حساس بودن سلولهای OV 2008 به Cisplatin در فاز S و تجمع سلولها در فازهای S و G2/M بدین ترتیب توجیه می شود، که رشته های DNA در فازهای مختلف تقسیم سلولی از جمله S که برای سنتز از هم باز می‌شوند، Cisplatin به میزان بیشتری بصورت Interstrand و Intrastrand به بازهای DNA متصل می شود. سپس سلولها نمی‌توانند فازهای مختلف تقسیم سلولی را بصورت عادی ادامه بدهند(۲).

عدم تغییر فاز چرخه سلولی در دوزهای بالا در این مطالعه، نشان دهنده تاثیر یکسان Cisplatin بر OV 2008 در دوزهای مختلف می باشد. گرچه عدم تغییر فاز چرخه سلولی با تغییر دوز دارو، در همه سلولها مصداق ندارد. بطوریکه استفاده از دوزهای متفاوت Okadic Acid بر روی سلولهای میلوماموجب‌توقف‌چرخه‌سلولی‌در فازهای مختلف می‌شود.بطوریکه‌دردوزپائین‌موجب‌توقف‌درG_2 /M ودردوزبالا باعث توقف سلولهادر S می شود (٦). بررسی ارتباط توقف چرخه سلولی و فعالیت ژنها در سلولهای سرطانی نشان داده، سلولهای CHD/UV41 که توسط Cisplatin در فاز G_2 متوقف می شوند. همزمان با توقف چرخه سلولی، آنزیم P^{cdc2}_{34} فعال می شود. بعد از توقف چرخه سلولی، این آنزیم دوباره دفسفوریله شده و سلولها بصورت غیر طبیعی تقسیم می شوند. با تقسیم غیرطبیعی، سلولها دچار مرگ می‌شوند(۸). درسلولهای سرطانی تخمدان (SK-OV- 3) نیز، Cisplatin باعث فعال شدن آنزیم JNRI و عامل تنظیم‌کننده ERK 1/2 می شود، ولیP_{36} خاموش می‌ماند. فعال شدن عوامل فوق وابسته به دوز Cisplatin است (۱۲). همچنین ژن P_{53} در مقابل عوامل آسیب زننده فعال می شود. که در بعضی از موارد، میزان تجمع ژن P_{53} وابسته به دوز Cisplatin است (۱۳).البته‌در مورد فعال شدن ژن P_{53}دررده‌سلولی OV 2008گزارشی‌وجودندارد. بنابراین‌تغییرات دوزCisplatin می‌تواند بر خاموش یافعال‌شدن یک سری از روندهای ژنی موثر باشد. توقف چرخه سلولی‌درسلول OV 2008 دو نوع شرایط رابرای این سلول فراهم می کند، فعال‌شدن

روند مرگ سلولی یا ترمیم آسیب DNA .

مطالعات نشان داده که سیستم ترمیم Nucletide excision repair درسلولهای OV2008 بدنبال استفاده از Cisplatin فعال نمی شود بدین ترتیب عامل دوم یعنی ترمیم آسیب DNA بدنبال توقف چرخه سلولی تا حدی رد می شود(١٤) .

Delmastro نشان داد که بیان ژنهایی مثل Gadd 153 و Gadd 45 در رده سلولی OV2008 بدنبال استفاده از Cisplatin با دوز IC 90 ، نشان دهنده پاسخهای تاخیری از نوع اپوپتوزیس است تا ترمیم DNA و بیشترین پاسخها در فاصله زمانی ٢٤ تا ٤٨ می باشد(١٥) .

باتوجه‌به نتایج این تحقیق، افزایش دوز Cisplatin موجب‌افزایش‌تعدادسلولهای‌آزادشده‌به مدیوم شده که‌بیشترین‌میزان‌آن‌در٤٨ساعت‌اول‌مشاهده می‌شود.

و اپوپتوزیس سلولهای (OV2008) آزاد شده به مدیوم در اثر Cisplatin (٤) و نتایج گرفته شده بدین‌ترتیب نتایج Delmastro (١٥) تائید می‌شود.

با جمع بندی نتایج تحقیقات دیگران (١٤ و١٥) از این تحقیق میتوان نتیجه گرفت که سلولهای OV2008 بعد از توقف چرخه سلولی در G_2 و S، سلولها به‌مدیوم‌آزادشده‌و سلولهای(OV2008) آزاد شده،دچارمرگ‌سلولی از نوع اپوپتوزیس می‌شوند.

از این تحقیق نتیجه می گیریم که افزایش تغییر غلظت Cisplatin موجب افزایش سلولهای آزاد شده به مدیوم‌می‌شود.عدم‌تغییرتوقف‌چرخه سلولی S وG_2،بدنبال‌تغییر غلظت Cisplatin ، نشان‌دهنده حساس‌بودن مرحله S و G_2 چرخه سلولی در رده سلولی‌OV2008 به Cisplatin است. توقف چرخه سلولی‌در هر دو دوز تا ٩٦ ساعت پایدار می ماند.

منابع

1.Smith ML, Fornace AJ. Mammalian DNA Damage - Inducible Genes Associated with Growth Arrest and Apoptosis. Mutation Res 1996: 340: 109- 124.

2. Eastman A.Activation of Programmed Cell Death by Anticancer Agents: Cisplatin as a Model System. Cancer Cells 1990: 2:275-280.

3. Chu GC. Cellular Response to Cisplatin. J Biol Chem 1994: 269: 787-790.

4. Niknafs B, Shirazi FH, Yazdi MH, Gertler S, Molepo JM, Rippstein P, et al. Morphological Altrations in Human Overian Carcinoma (OV 2008) Cells Following the Induction of Cell Death by Cisplatin, Proc. Am Associa Can Res 1997: 312: 38.

5. Gately DP, Sharm A, Christeu RD, Howell SB. Cisplatin and Taxol Activate Different Pathways Regulating Cellular Injury – induced Experssion of GADD 153. Br J Cancer 1996: 73(1): 18-23.

6. Ishida Y, Furukawa Y, Decaprio JA, Saito M, Coriffin JD. Treatment of Myeloid Leukemic Cells with the Phosphatase Inhibitor Okadaic Acid Induces Cell Cycle Arrest at Either G1/S or G2/M Depending on Dose. J Cell Physio 1992: 150:484-492.

7.Shirazi FH, Molepo JM, Stewart DJ, NG Ch E, Raaphorst GP, Goel R. Cytotoxicity, Accumulation, and Efflux of Cisplatin and its Metabolites in Human Ovarian Carcinoma Cells. Toxicol Appl Pharmacol 1996: 140: 211-218.

8. Demarcq C, Bunch RT, Creswell D, Eastman A.The Role of Cell Cycle Progression in Cisplatin Induced Apoptosis in Chinese Hamster Ovary Cells. Cell growth & Differentiation 1994: 51: 983-993.

9. Shinomiya N, Shinomiya M, Wakiyama H, Katsurax.y Rokutanda M. Enhancement of CDDP Cytotoxicity by Caffeine is Characterized by Apoptotic Cell Death. Exp Cell Res 1994: 210:236-242.

10. Cotter Th G, Glynn J M, Echeverr F, Green DR. The Induction of Apoptosis by Chemotherapeutic Agents Occurs in all Phases of the Cell Cycle. Anticancer Res 1992: 12:773- 780.

11. Jekunen AP, Christen RD, Shalinsky DR. Howell SB. Synergistic Interaction

Between Cisplatin and Taxol in Human Ovarian Carcinoma Cells in Vitro. Br J Cancer 1994: 69:299-306.

12. Persons DL, Xazlovitskaya EM, Cui W, Pelling JC. Cisplatin- Induced Activation of Mitogen- Activated Protein Kinases in Ovarian Carcinoma Cells: Inhibition of Extracellular Signal- Regulated Kinase Activity Increases Sensivity to Cisplatin. Clin Cancer Res 1999: 5: 1007-14.

13. Merlin T, Brandner G, Hess RD. Cell Cycle Arrest in Ovarian Cancer Cell Lines Doesnot Depend on P53 Status Upon Treatment with Cytostatic Drugs. Int J Oncol 1998 : 13:1007 - 16.

14. Moorehead RA, Armstrong S G, Rainbow A J, Singh G. Nucleotide Excision Repair in the Human Ovarian Carcinoma Cell Line(2008) and its Cisplatin - Resistant Variant (C13). Cancer Chemother Pharmacol 1996: 38:245- 253.

15. Delmastro DA,Li J,Vaisman A, Solle M, Chaney SG. DNA Damage Inducible- Gene Experssion Following Platinum Treatment in Human Ovarian Carcinoma Cell Lines. Cancer Chemother Pharmacol 1997: 39: 245- 53.

16. Torres K, Horwitz SB. Mechanisms of Taxol- Induced Cell Death are Concentration Dependent. Cancer Res 1998: 58: 3620-3626.

17. Sekiguch I, Susuki M, Tamada T, Shinomiyo N, Tsura S, Murata M. Effects of Cisplatin on Cell Cycle Kineties, Morphological Change , and Cleavage Pattern of DNA in two Human Carcinoma Cell Lines. Oncology 1996: 53: 19-26.

18. Mastbergen SC, Duivenvoorden I , Versteegh RT, Geldof A. A Cell Cycle Arrest and Clonogenic Tumor Cell Kill by Divergent Chemotherapeutic Drugs. Anticancer Res 2000: 20:1833-1838.

Cell Cycle Analysis of Human Ovarian Carcinoma (OV2008) After Application of Different Doses of Cisplatin

Niknafs B, Hosseini Shirazi F.

Abstract

Cisplatin has been used as a chemotherapeutic agent widely. Its cytotoxicity is through binding with DNA, which will cause cell death. Cell cycle arrest death is among hypothesized cellular effects of Cisplatin. In this study, human ovarian carcinoma, (OV 2008) cells have been exposed to two different doses of Cisplatin and cell cycle arrest has been investigated. OV 2008 cells were exposed to 1µg/ml (IC50 of drug) and 3µg/ml (IC80 of drug) for one hour in RPMI medium supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) Medium. Cells were collected 48, 72 and 96 hours after exposure to Cisplatin with trypsinisation. As was shown with DNA content, Cisplatin caused increasing of G2 and S phases as well as decreasing of G1 phase 48 hours after exposure. G2 cell population was decreased from 48 hours to 96 hours time. However, S phase populations remained high untill 96 hours time. Our results revealed that there was not dose related differences in the cell cycle arrest caused by Cisplatin and no differences in the percentages of G1, S and G2 cells exposed to any of 1 or 3 µg/m1 Cisplatin had. As a conclusion, cell cycle arrest pattern of OV 2008 cells exposed to Cisplatin was not concentration dependent and Cisplatin caused S and G2 phase cell cycle arrest .OV2008 cell lines were sensitive to Cisplatin in G2 and S phases without any indication of concentration.

Key words: Cell Cycle/ Cisplatin/ Flow cytometry/ Ovarian Neoplasms.