



# V.ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ

27-29 NİSAN 2018 – MALATYA

## K562 HÜCRE HATTINDA PONATINIB VE VS-5584 TERAPÖTİK AJANLARLA HÜCRE DÖNGÜSÜ REGÜLASYONU

**Yazarlar** : Öğrenci Çağla Kayabaşı<sup>1</sup> - Öğrenci Besra Özmen Yelken<sup>1</sup> - Araştırma Görevlisi Aycan Aşık<sup>1</sup> - Yrd.Doç.Dr Tuğçe Balcı Okcanoğlu<sup>2</sup> - Öğrenci Fatma Söğütü<sup>1</sup> - Öğrenci Röya Gasımlı<sup>1</sup> - Öğrenci Eda Tayfur<sup>1</sup> - Dr. Sunde Yılmaz Süslüer<sup>1</sup>-Doç.Dr. Çığır Biray Avcı<sup>1</sup>-Prof. Dr.Cumhur Gündüz<sup>1</sup>

**Kurum** : <sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İZMİR , <sup>2</sup>Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Lefkoşa, KKTC

### GİRİŞ - AMAÇ

Kronik myeloid lösemi (KML), t(9,22)' ye bağlı olarak BCR-ABL onkoproteinli hücrelerle karakterizedir. Üçüncü kuşak tirozin kinaz inhibitörü (TKİ) olan Ponatinib, özellikle TKİ' lerine direnç veya toleransı olmayan hastalar için KML tedavisinde kullanılmaktadır ve T315I mutant BCR-ABL dahil olmak üzere tüm BCR-ABL proteinlerinin otofosforilasyonunu ATP-yarışmalı olarak inhibe edebilir. VS-5584, Verastem tarafından tasarlanan ve tercihen kanser kök hücrelerini hedef alan yeni, seçici bir PI3K-mTOR dual inhibitördür.

Bu çalışmada K562 hücre hattında VS-5584 ve/veya Ponatinib uygulaması ile hücre döngüsünde meydana gelen değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır.

### METOD

K562 hücrelerinin Ponatinib, VS-5584 ve iki ajanın 1:500 sabit oranındaki kombinasyonlarının sitotoksik etkileri WST-8 ile analiz edildi. Kombinasyon indeksleri, CalcuSyn izoblogram analizi ile değerlendirildi. K562 hücrelerine uygulanan Ponatinib ve VS-5584 için IC50, IC75 dozlarının ve ED50, ED75 kombinasyon dozlarının hücre döngüsü üzerindeki etkileri, flow sitometri ile BD Cycletest Plus DNA Reaktif Kiti kullanılarak ölçüldü.

### BULGULAR

Ponatinib IC50 değeri 24, 48 ve 72 saatte sırasıyla 25,5 nM, 2,18 nM, 0,73 nM, IC75(Ponatinib) değeri 262,3 nM, 6,7 nM, 1,79 nM, IC50(VS-5584) değeri 1,36 µM, 0,5 µM, 0,27 µM, IC75(VS-5584) değeri 33,89 µM, 2,7 µM, 1,11 µM olarak saptandı. ED75 kombinasyon dozları, ED50 kombinasyon dozlarından daha sinerjistik olarak belirlendi. Kontrol grubuna kıyasla 24 saatte, Ponatinibin IC50 ve IC75 dozları G0/G1 fazındaki hücreleri %25,7 ve %33,3 oranlarında, VS-5584' ün IC50 ve IC75 dozları G0/G1 fazındaki hücreleri %15 ve %18,8 oranlarında arttırdı. ED50 ve ED75 dozları ise G0/G1 fazındaki



# V. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ

27-29 NİSAN 2018 – MALATYA

hücreleri 19,2 % ve %35,5 oranlarında arttırdı. Kontrol grubuna kıyasla 48 saatte, Ponatinib IC50 ve IC75 dozları G0/G1 fazındaki hücreleri %16,8 ve %18,8 oranlarında, VS-5584 IC50 ve IC75 dozları G0/G1 fazındaki hücreleri %7,6 ve %17,6 oranlarında, ED50 ve ED75 dozlarında G0/G1 fazındaki hücreleri %5,8 ve %34,4 oranlarında arttırdı. Kontrol grubuna kıyasla 72 saatte Ponatinib IC50 ve IC75 dozları G0/G1 fazındaki hücreleri %8,4 ve %21,6; VS-5584 IC50 ve IC75 dozları G0/G1 fazındaki hücreleri %9,9 ve %17 oranlarında; ED50 ve ED75 dozları ise G0/G1 fazındaki hücreleri %8,8 ve %15,2 oranlarında arttırdı. Dozlar ile 72 saat inkübasyondan sonra, apoptotik etkinin devam edip etmediğini araştırmak için hücreler besiyeri ile 72 saat kültürlendi. Kültür sonrası Ponatinib IC50 ve IC75 dozları G0/G1 fazındaki hücreleri % 4,8 ve % 15,3 oranlarında; VS-5584 IC50 ve IC75 dozları G0/G1 fazındaki hücreleri % 11,6 ve % 77 oranlarında; ED50 ve ED75 dozları G0/G1 fazındaki hücreleri % 5,8 ve % 7,3 oranlarında arttırdı.

## SONUC

Bu çalışmada, Ponatinib ve VS-5584'ün önemli ölçüde G0/G1 hücre döngüsünün arrestine neden olduğu açıkça görülmektedir. Ponatinib ve VS-5584 kombinasyonu, düşük dozlarda dahi G0/G1 arestinin en yüksek seviyesini sinerjik olarak indükler ve uygulama sonrası arresti sürdürürler. Lösemik hücre döngüsünü arreste indüklemek, lösemi progresyonun önlenmesinde oldukça önemlidir.

---

## ANAHTAR KELİMELELER

Ponatinib, PI3K/Akt/mTOR yolağı, VS-5584, hücre döngüsü, kronik miyeloid lösemi