



# VI.ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

## **Dasatinib ile muamele edilen K562 hücre serisinde, Dasatinib'in, PP2A katalitik ve regülatuar alt birimlerinde, enzim aktivitesine ve protein ekspresyonu üzerine etkisinin değerlendirilmesi**

**Yazarlar** : Öğrenci Buket ÖZEL - Öğrenci Sezgi KIPÇAK - Yrd.Doç.Dr Çağdaş AKTAN - Doç.Dr. Çığır BİRAY AVCI - Prof. Cumhur GÜNDÜZ - Prof. Güray SAYDAM - Yrd.Doç.Dr Nur SELVİ GÜNEL

**Kurum** : Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.B.D.

---

### GİRİŞ - AMAÇ

Kronik miyeloid lösemi (KML), BCR / ABL translokasyonuna bağlı artmış tirozin kinaz aktivitesi ile karakterizedir. Dasatinib BCR-ABL1'i inhibe etmek için kullanılan bir tirozin kinaz inhibitörüdür. Dasatinib, imatinibden daha etkili olsa da KML hastalarının %20'si ilaç tedavisine yanıt vermemektedir. Bu durum, tedavide etkin olabilecek alternatif yolların ve mekanizmalarının aydınlatılmasını gerektirmektedir. KML'de genomik ya da fonksiyonel değişime uğramış birçok hücrenel olayda fonksiyon gören protein fosfotaz 2A (PP2A) gibi yapıların incelenmesi bu yaklaşımlardan biri olabilir.

Bu çalışmada amacımız, dasatinib ile muamele edilen K562 hücre serisinde, hücrenel homeostazı sağlayan PP2A'nın enzim aktivitesi ve alt birimlerinin protein düzeyinde ekspresyon değişimini saptamaktır.

### METOD

Bu amaçla dasatinibin K562 hücre serisindeki sitotoksik etkisi WST-1, apoptotik etkisi Annexin V ve Apo Direct Tunel, sitostatik etkisi Hücre Döngüsü Analizi, enzim aktivitesi serin/treonin fosfataz ve PP2A'nın alt birimlerindeki protein ifade düzeyleri ise Western Blot analizi ile değerlendirilmiştir. PP2A'nın apoptoz ve hücre döngüsü üzerindeki etkisini belirlemek için PP2A inhibitörü olarak Okadaik asit (OA) ile çalışılmıştır.



# VI. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ 19-21 NİSAN 2019 – GAZİANTEP NOVOTEL

## BULGULAR

Dasatinibin, K562 hücrelerinde IC50 değeri 4,6 nM olarak belirlenmiştir. Annexin V sonuçlarına göre, 4.6 nM dasatinib apoptozu 1.41 kat, 25 nM OA 2.41 kat arttırırken, 4.6 nM dasatinib ile 2.5 nM ve 25 nM OA kombinasyonlarının sırasıyla apoptozu 2.35 ve 3.76 kat indüklediği belirlenmiştir. Apo-Direct Tunel sonuçlarına göre ise, dasatinibin IC50 dozu apoptozu 6.79 kat indüklerken, dasatinib ve 2.5 nM OA ve 25 nM OA kombinasyonları sırasıyla 16.45 kat ve 49.38 kat apoptoz artışına sebep olmuştur. 48. saatte PP2A baskılanması sonucu belirgin bir apoptotik artış gözlenmiştir .

OA' ile baskılanan PP2A'dan dolayı hücre döngüsünün G2/M fazında aresti kaydedilmiştir. Dasatinib uygulanan hücrelerin PP2A enzim aktivitesi 72. saatte kontrole kıyasla azalmıştır. Western Blot analizi sonuçlarına göre dasatinib uygulanan K562 hücrelerinin PP2A C (katalitik) alt biriminin protein seviyesinde kontrole kıyasla azalma belirlenmiştir.

## SONUC

Çalışma sonuçlarımız, dasatinib ve PP2A inhibitörü okadaik asit ile muamele edilen K562 hücre serisinde PP2A'nın baskılanmasına bağlı olarak apoptozun ve cell cycle arrestin arttığını göstermiştir. Ayrıca, dasatinib uygulaması sonucu PP2A enzim aktivitesinde ve altbirim protein ekspresyon seviyelerinde özellikle 72. saatte azalma saptanmıştır. PP2A genel olarak birçok kanserde tümör süpresördür ve baskılanmış PP2A'nın restore edilmesi yararlı bir tedavi yaklaşımı olarak düşünülmektedir . Ancak, çalışmalar birçok kanserde de PP2A inhibisyonunun apoptozu ve cell cycle arresti indüklediğini ortaya koymaktadır.

In vivo çalışmalar ile desteklenmesi durumunda, birçok hücresel olayda önemli fonksiyonu olan PP2A'nın, TKI ve PP2A inhibitör kombinasyonu ile hedeflenerek KML tedavisinde terapötik yaklaşım olarak katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

---

## ANAHTAR KELİMELER

PP2A, Dasatinib, Kronik Miyeloid Lösemi, Okadaik asit