



V.ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ

27-29 NİSAN 2018 – MALATYA

LÖSEMİ KÖK HÜCRE İNHİBİSYONUNDA PONATİNİB VE VS-5584' ÜN SİNERJİSTİK ETKİLERİ

Yazarlar : Öğrenci Çağla Kayabaşı¹ - Öğrenci Besra Özmen Yelken¹ - Araştırma Görevlisi Aycan Aşık¹ - Yrd.Doç.Dr Tuğçe Balcı Okcanoğlu² - Öğrenci Fatma Söğütlü¹ - Öğrenci Röya Gasımlı¹ - Dr. Sunde Yılmaz Süslüer¹- Doç.Dr.Çığır Biray Avcı¹-Prof.Dr. Cumhuriyet Gündüz¹

Kurum : ¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir ²Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Lefkoşa, KKTC

GİRİŞ - AMAÇ

Lösemi kök hücreleri (LKH), normal hematopoetik kök hücrelerle benzer özelliklere sahip malignant hücrelerdir. Ponatinib, BCR-ABL otofosforilasyonunu ATP-yarışmalı olarak inhibe edebilen, çok hedefli tirozin kinaz inhibitörüdür (TKI). TKI'ler primitif lösemi kök hücreleri üzerinde etkili olmadıkları için tedavinin etkinliği düşük olabilmektedir. Bu durumlarda tek ilaç kullanımından ziyade çoklu hedefli tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine ihtiyaç olduğu açıktır. Lösemilerde aktif olduğu bilinen PI3K/Akt/mTOR yolağının inhibitörlerinden VS-5584, tercihen kanser kök hücrelerini öldüren, potent, seçici PI3K, mTORC1-2 dual inhibitörüdür.

Bu çalışmada ponatinib tedavisinin yan etkilerini azaltabilecek bir kombinasyon tedavisinin belirlenebilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla VS-5584 ile ponatinibin kombinasyonunun lösemi kök hücrelerindeki sinerjistik etkisi ve inhibisyonundaki rolü araştırılmıştır.

METOD

LSC hücre hattında (Celprogen) ponatinib ve VS-5584'ün IC₅₀ ve IC₇₅ değerleri, WST-8 analizi ile zaman ve doza bağımlı olarak belirlendi. Ponatinible VS-5584'ün, 1:5, 1:2,5, 1:1 oranlarındaki kombinasyonları artan dozlarla LSC hücrelerine uygulandı. Doz-etki eğrileri, Chou-Talalay medyan etkisi grafikleri, fraksiyonel etki-kombinasyon indeks çizimleri ve konservatif izobologram grafikleri CalcuSyn izobologram analizi ile gerçekleştirildi. ED₅₀ ve ED₇₅ konsantrasyonları sinerjistik, antagonistik veya aditif olarak tanımlandı ve doz azaltma indeksleri (DRI) ve kombinasyon indeksleri (CI) belirlendi. LSC hücrelerine uygulanan ponatinib ve VS-5584 için IC₅₀, IC₇₅ dozlarının ve ED₅₀, ED₇₅ kombinasyon (1:2,5) dozlarının hücre döngüsü üzerindeki etkileri, akım sitometride BD-Cycletest Plus DNA Reaktif kitiyle ölçüldü.

BULGULAR

Ponatinibin IC₅₀ değerleri 24, 48 ve 72 saat için sırasıyla 1,57µM, 0,91µM, 0,73µM ve IC₇₅ değerleri 4,58µM, 1,54µM, 1,28µM olarak hesaplandı. VS-5584'ün IC₅₀ değerleri 24, 48 ve 72 saat için sırasıyla, 3,46µM, 1,32µM, 0,62µM ve IC₇₅ değerleri, 130,67µM, 10,41µM, 6µM olarak hesaplandı. Kombinasyon



V. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ

27-29 NİSAN 2018 – MALATYA

oranı 1:2,5 iken, 24 saatte ponatinibin EC_{50} 'de CI değeri 0,7 (sinerji), DRI değeri 3 ve EC_{75} 'de CI değeri 0,39 (sinerji), ponatinib DRI 2,8 olarak hesaplandı. 48 saatte EC_{50} 'de CI değeri 1,2 (zayıf antogonizm), ponatinib DRI değeri 2,3 ve EC_{75} 'de CI değeri 0,73 (zayıf sinerji), ponatinib DRI değeri 1,9 olarak hesaplandı. 72 saatte EC_{50} 'de CI değeri 1,91 (antogonizm), ponatinib DRI değeri 2,1 ve EC_{75} 'de CI 0,74 (zayıf sinerji), ponatinib DRI değeri 2,1 olarak hesaplandı.

Deneyleerin 24. saatinde, kontrol grubu LSC hücrelerinin %56,9'u G_0/G_1 fazında bulunurken, G_0/G_1 fazındaki hücrelerin IC_{50} (ponatinib) ve IC_{75} (ponatinib) ile sırasıyla %57,4 ve %60,2' ye, IC_{50} (VS-5584) ve IC_{75} (VS-5584) ile %75,2 ve %81,5'e, ED_{50} ve ED_{75} kombinasyon dozları ile %60,7 ve %69'a yükseldiği saptandı. Kontrol grubu LSC hücrelerinin 48. saatte %57' si G_0/G_1 fazında bulunurken, G_0/G_1 fazında bulunan hücrelerin IC_{50} (ponatinib) ve IC_{75} (ponatinib) ile %54,9 ve %59,2'ye, IC_{50} (VS-5584) ve IC_{75} (VS-5584) ile %70,6 ve %77,4'e, ED_{50} ve ED_{75} kombinasyon dozları ile %66,7 ve %69,8'e değiştiği saptandı. Yetmiş ikinci saatte, kontrol grubu LSC hücrelerinin %57,6'si G_0/G_1 fazında bulunurken, G_0/G_1 fazında bulunan hücrelerin IC_{50} (ponatinib) ve IC_{75} (ponatinib) ile %56,1 ve %59,3'e, IC_{50} (VS-5584) ve IC_{75} (VS-5584) ile %69,3 ve %78'e, ED_{50} ve ED_{75} kombinasyon dozları ile %66,6 ve %69,5'e değiştiği saptandı. VS-5584 ve kombinasyonlarının LSC hücrelerinde meydana getirdikleri hücre döngüsü arrestinin, madde uygulamasının sonlandırılmasını takiben 72 saatte devam ettiği gösterildi.

SONUÇ

VS-5584'ün LSC hücrelerinde G_0/G_1 arrestine neden olduğu, bunun yanında ponatinibin LSC hücre döngüsü arresti üzerinde etkisi olmadığı belirlendi. Sinerjistik etkili ponatinib ve VS-5584'ün kombinasyonunun, lösemi kök hücrelerinin kontrolsüz proliferasyonunun önlenmesinde önemli ve selektif bir tedavi stratejisi olabileceği sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER

Ponatinib, PI3K/Akt/mTOR yoluğı, VS-5584, hücre döngüsü, lösemi kök hücresi