

ÖZET

RANOLAZİNE VE FLECANİDE'İN ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTI-METASTATİK ETKİSİ

Küresel ölçekteki istatistiklere göre meme kanseri tüm kanserler içinde insidansı en yüksek olanıdır ve kadınlarda kanserden kaynaklanan ölümlerin başında gelmektedir. Meme kanserinden kaynaklı ölümler ise, sıklıkla metastaz nedeniyledir. Metastatik kanser hastalığının tedavi başarısı düşüktür ve metastazın altında yatan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılmadığından yeni moleküler hedefli anti-metastatik tedavilerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Hücre membranında bulunan voltaj kapılı sodyum kanallarının (VGSC'ler) yüksek ekspresyonu, yakın geçmişte patofizyolojik olarak metastatik karsinoma ile ilişkilendirilmiştir. Çeşitli kanserlerde VGSC'lerin alfa ve beta alt birimlerinin ekspresyonunda artış görüldüğü saptanmıştır. Alfa alt birimleri tarafından taşınan sodyum akımları ve beta alt birimleri tarafından düzenlenen yapışma etkileşimi yoluyla VGSC'lerin istila, göç, endositoz ve gen ekspresyonu dahil olmak üzere invazyon ve migrasyonu dolayısıyla metastazı artırdıkları bulunmuştur. VGSC'ler den SCN5A tarafından kodlanan alfa alt birim NaV1.5'in metastatik meme kanseri hücrelerinde yüksek oranda eksprese edildiği ortaya konulmuş ve ekspresyonu artan NaV1.5 meme kanserinin teşhis ve tedavisinde umut verici bir hedef olarak kabul edilmiştir. Çalışmanın amacı, anti-aritmik olarak kullanılan ve etki mekanizması VGSC'ler üzerine olan Ranolazine ve Flecainide'in, MDA-MB-231 ve MCF-7 hücrelerinin invazyon ve migrasyonu üzerindeki etki potansiyellerini in vitro ve moleküler yöntemlerle araştırmaktır.

Hücreler DMEM ile %5 CO₂, 37 °C de yetiştirilmiştir. VGSC blokeri tetrodotoksin (TTX), 600 nM olarak kullanılmıştır. Hücre proliferasyonu MTT testi ile, migrasyon,

wound healing ve invazyon matrigel aracılı transvers migrasyon yolu ile belirlenmiştir.

Deneyle, hücre proliferasyonu üzerinde herhangi bir etki göstermeyen 2,5 µM ve 5 µM RNL ile 0,5 µM ve 1 µM FLC konsantrasyonları ile sürdürülmüştür. MDA-MB-231 hücrelerinin motilite indeksini VGSC blokeri TTX, 24. saatte 24,6%, 48. saatte ise, 26,0% oranında azaltmaktadır. İyon kanal blokerlerinden RNL, 2.5 µM uygulandığında her iki saatte de hücrelerin motilitesinde sırasıyla, 6.7% ve 16.2% azalma meydana getirirken, 5 µM RNL, 13.8% ve 20.8% (sırasıyla) inhibisyon oluşturmuştur. 0.5 µM FLC sadece 48. saatte 8.1%, 1 µM FLC, her iki saatte hücrelerin motilitesini sırasıyla, 5.1% ve 17.6% oranında baskılamıştır. Yüksek metastatik MDA-MB-231 hücrelerinin invazyonlarını TTX, 63.9% ile önemli derecede, 5 µM RNL de, 65.6% ile TTX'e benzer bir inhibisyon meydana getirmiştir. 1 µM FLC ise, hücrelerin invazyonunu 42.6% oranında azaltmıştır.

İyon kanal blokeri olan RNL'nin, yüksek metastatik MDA-MB-231 hücrelerinin migrasyon ve invazyonunu FLC'ye oranla daha yüksek oranda inhibe ettiği saptanmıştır. NaV 1.5 ekspresyonu yüksek olan MDA-MB-231 hücrelerinin hareketlerini bloke ederek, meme kanseri metastazının baskılanmasında etkin rol alabileceği in vitro olarak ortaya konmuş olup, in vivo olarak da araştırılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Ranolazine, Flecainide, Üçlü negatif meme kanseri (MDA-MB-231, MCF-7), Metastaz, VGSC, Nav1,5.

ABSTRACT

THE ANTI-METASTATIC EFFECT OF RANOLAZINE AND FLECAINIDE ON TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER CELLS

According to global statistics, breast cancer has the highest incidence among all cancers and ranks first in terms of cancer-related deaths in women. Deaths attributable to breast cancer are often due to metastasis. The treatment success of metastatic cancer is low, and the underlying molecular mechanisms of metastasis have not yet been fully elucidated. Therefore, there is a need for the development of new molecularly targeted anti-metastatic therapies.

The high expression of voltage-gated sodium channels (VGSCs) located in the cell membrane has recently been associated with the pathophysiology of metastatic carcinoma. VGSCs are involved in the processes of metastatic invasion and cell migration. The NaV1.5 channel observed in breast cancer is the alpha subunit encoded by SCN5A of VGSC. An increase in the expression of both alpha and beta subunits of VGSCs has been observed in various cancers. It has been found that VGSCs enhance invasion and migration, including invasion, migration, endocytosis, and gene expression, through sodium currents carried by alpha subunits and adhesion interactions regulated by beta subunits, thus promoting metastasis. It has been demonstrated that VGSCs, particularly NaV1.5, are highly expressed in metastatic breast cancer cells, and the increased expression of NaV1.5 is considered a promising target for the diagnosis and treatment of breast cancer. The aim of this study is to investigate the potential effects of Ranolazine and Flecainide, which are used as anti-arrhythmics and act on VGSCs, on the invasion and migration of MDA-MB-231 and MCF-7 cells in vitro and through molecular methods.

Cells were cultured in DMEM with 5% CO₂ at 37°C. The VGSC blocker tetrodotoxin (TTX) was used at 600 nM. Cell proliferation was determined using the MTT assay, and migration was determined through wound healing and invasion matrigel-mediated transwell migration.

Experiments were conducted with 2.5 µM and 5 µM RNL, which did not show any effect on cell proliferation. TTX reduced the motility index of MDA-MB-231 cells by 24.6% at 24 hours and 26.0% at 48 hours. When RNL was applied at 2.5 µM, it resulted in 6.7% and 16.2% reductions in cell motility at both time points, respectively, while 5 µM RNL inhibited by 13.8% and 20.8% (respectively). 0.5 µM FLC suppressed motility by 8.1% only at 48 hours, and 1 µM FLC suppressed motility by 5.1% and 17.6% at both time points, respectively. TTX significantly inhibited the invasions of highly metastatic MDA-MB-231 cells by 63.9%, and 5 µM RNL produced a similar inhibition to TTX with 65.6%. 1 µM FLC reduced cell invasion by 42.6%.

It was observed that RNL, an ion channel blocker, inhibited the migration and invasion of highly metastatic MDA-MB-231 cells to a higher extent compared to FLC. By blocking the movements of MDA-MB-231 cells with high NaV 1.5 expression, it has been demonstrated in vitro that RNL may play an effective role in suppressing breast cancer metastasis.

Keywords: Ranolazine, Flecainide, Triple negative breast cancer (MDA-MB-231, MCF-7) Metastasis, VGSC, NaV1.5.