

ÖZET

Pankreas kanseri, dünya nüfusu arasında insidansı ve mortalite oranı son yıllarda önemli ölçüde artmakta olup en yaygın dördüncü kanser türüdür. Erken teşhisi ve tedavi imkanı son derece kısıtlı olan pankreas kanseri, terapötik stratejilere karşı son derece dirençli olduğundan bazı tedavi yöntemlerinin yetersiz kalmasında rol alan ve sıklıkla görülen *KRAS*, *SMAD*, *TP53*, *CDK2NA* gibi mutasyonların varlığında hücre proliferasyonunu artırarak agresif profil izlemektedir. Bu durum kanserin yaygın özelliklerinden biri olduğundan CDK' yı hedefleyen yeni ajanlar yeni tedavi yöntemleri için ilgi çekici bir seçenek olmuştur. Spesifik CDK4/6 inhibitörleri olan palbociclib ve abemaciclib, hücre çoğalmasını G1 fazında tutulu kalmasını sağlayarak hücre proliferasyonunu azalttığı ve apoptozu indükleyerek önemli bir anti-kanser özelliğine sahiptirler. Anti-kanser etkileri sayesinde tümör oluşumuna dahil olan hücre sağkalımı ve ölümünde rol alan çeşitli moleküler hedefler bildirilmiştir. Agresif Pankreas kanseri hücreleri kullanılarak yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, aktiflenen CDK4 ile zıt etkileşimde olduğu bilinen evrimsel olarak korunan bir hücre içi enerji sensörü olan AMPK'nin aktivasyonundaki değişikliklerin hücre tipiyle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu anlamda kanserin temel özellikleri arasında bilinen enerji metabolizmasının yeniden düzenlenmesi kritik önem taşımaktadır. Tez kapsamında farklı genomik özelliklere sahip MIA PaCa-2 ve Capan-2 pankreas kanseri hücre hatlarında CDK4/6 inhibitörlerinin AMPK'nin etkileşimde olduğu üst ve alt sinyal yolları üzerine etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Farklı stres koşullarının, hücrelerde hayatta kalma/ölüm kararında kritik olan AMPK aktivitesini tetiklediği gösterilmiştir. Hücresel enerji ile etkileşimleri nedeniyle AMPK aktivitesi, kanser hücrelerinde mTOR sinyalini veya lipid metabolizmasını değiştirmektedir. Bu çalışmada, hücrelerdeki PI3K/AKT/mTOR sinyal eksenini modüle ederek hücre döngüsünün G1 fazında tutulu kalmalarını sağlayıcı ajanlar olan iki farklı CDK4/6 inhibitörünün etkisi karşılaştırılmıştır. MIA PaCa-2 ve Capan-2 hücrelerindeki metabolik farklılıklardan dolayı palbociclib ve abemaciclib'in her kanser hücresindeki etkileri aynı olmamakla birlikte farklı moleküler mekanizmalar üzerinden yanıt oluşturduğu dikkati çekmiştir. Palbociclib uygulanan hücrelerde hücre açlığının AMPK aktivitesinin artışı ile korelasyon gösterirken abemaciclib uygulanan hücrelerde hücre

açılığının mTOR üzerinden metabolik olarak sensör mekanizma ile algılandığı belirlenmiştir. Buna bağlı olarak pankreas kanseri hücrelerinin proliferasyonunu tetikleyen yağ asidi biyosentezinin baskılanması terapötik açıdan kritik önem taşımaktadır. Bu nedenle her iki CDK4/6 inhibitörünün, hücre ölüm mekanizmasını genişletmek için hücrelerdeki farklı mekanizmaları indüklediği sonucuna varılmıştır.

Son derece agresif profile sahip pankreas kanseri hücreleri için umut vaad edici çalışmalar olmakla birlikte klinik uygulamalar öncesinde pankreas kanseri farklı hücre tiplerinde CDK4/6 inhibitörlerinin moleküler hedeflerinin geniş ölçekli olarak tanımlanmasına yönelik bulgular sağlanması ve bu bulguların olası tedavi seçeneklerinin başarılarının arttırılmasına yönelik olarak yeni kombine tedaviler için önemli hücresel hedeflerin ayırt edilmesini sağlama potansiyeli taşımaktadır.

ABSTRACT

The incidence and mortality rate of pancreatic cancer among the world population has increased significantly in recent years and is the fourth most common cancer type. Pancreatic cancer is highly resistant to therapeutic strategies, with early diagnosis and the possibility of treatment being extremely limited, and it increases the cell proliferation by the presence of mutations such as *KRAS*, *SMAD*, *TP53*, *CDK2NA*, which play an important role in cell aggressiveness. Since this is one of the common features of cancer, new agents targeting CDK have been an interesting option for new treatment methods. Specific CDK4/6 inhibitors palbociclib and abemaciclib have an important anti-cancer feature by reducing cell proliferation and inducing apoptosis by arresting cell proliferation in the G1 phase. Thanks to its anti-cancer effects, various molecular targets involved in cell survival and death, which are involved in tumor formation, have been reported. In vitro and in vivo studies using aggressive pancreatic cancer cells suggest that changes in the activation of AMPK, an evolutionarily conserved intracellular energy sensor known to be in opposite interaction with activated CDK4, may be associated with the cell type. Deregulating of known cellular energy metabolism is one of the main features of cancer. Within the scope of the thesis, it is aimed to investigate the effects of CDK4/6 inhibitors on the upstream and downstream signalling related cascades of AMPK in MIA PaCa-2 and Capan-2 pancreatic cancer cells with different genomic properties.

Different stress conditions have been shown to trigger AMPK activity, which is critical in the decision of survival/death in cells. Due to their interaction with cellular energy, AMPK activity alters the mTOR signal or lipid metabolism in cancer cells. In this study, the effects of two different CDK4/6 inhibitors, which are the agents that enable the cell cycle to remain in the G1 phase by modulating the PI3K/AKT/mTOR signal axis in cells, were compared. It is noteworthy that due to the metabolic differences in MIA PaCa-2 and Capan-2 cells, palbociclib and abemaciclib do not have the same effects on each cancer cell but produce responses through different molecular mechanisms. Palbociclib was correlated with increased AMPK activity of cell starvation in treated cells. It was determined that cellular starvation is detected by the metabolic sensor

mechanism on mTOR in abemaciclib treated cells. Accordingly, suppression of fatty acid biosynthesis that triggers proliferation of pancreatic cancer cells is therapeutically critical. It is therefore concluded that both CDK4/6 inhibitors induce different mechanisms in cells to expand the cell death mechanism.

Promising studies for pancreatic cancer have the potential to enable large-scale identification of molecular targets of CDK4/6 inhibitors in different cell types of pancreatic cancer prior to clinical applications and to enable them to distinguish important cellular targets for new combined treatments in order to increase the success of possible treatment options for these findings.