

## ÖZET

Meme kanseri dünyada ve ülkemizde en yaygın görülen kanserden biridir ve dünya çapındaki tüm yeni kanser vakalarının %12,5'ini oluşturmaktadır. Kişiler çoğunlukla metastaz nedeniyle kaybedilmektedir. Dolayısıyla metastazın azaltılması, kanser hastalarının hem hayatta kalma süresini hem de yaşam kalitesini önemli derecede artırabilecektir. Yapılan çalışmalar iyon biri de hücre membranında bulunan, asıl görevi kalp ve nöron gibi uyarılabilen hücrelerin aksiyon potansiyelinin oluşmasında rol oynayan voltaj kapılı sodyum kanalları (VGSC) dır. Yüksek metastatik meme kanseri hücrelerindeki VGSC ekspresyonunun, düşük metastatik meme kanseri hücrelerine kıyasla arttığı tespit edilmiştir. VGSC'lerin alt birimlerinden olan Nav 1.5'in artan ekspresyonunun, özellikle meme kanserinde hastalığın ilerlemesi ve metastaz oluşumu ile ilişkili olduğu konusunda çalışmalar bulunmaktadır. Long QT sendromu, atriyal fibrilasyon gibi kalp hastalıkları ile bazı nörolojik hastalıkların tedavilerinde VGSC'leri bloke etme mekanizmasına sahip ilaç grupları bulunmaktadır. Antiaritmikler ve anti epileptikler asıl kullanım amaçları dışında yüksek VGSC ekspresyonu gösteren kanser hücrelerinin invazivliğini inhibe ettiği birçok araştırmada raporlanmıştır.

Yeni anti-aritmik ilaç adayı, VGSC inhibitörü Eleclazine (ELE) ve GS-967'nin anti-aritmik lidokain ve ranolazine'den çok daha etkili Na<sup>+</sup> kanal blokleri olduğu kalp hücreleri ile yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. VGSC'lerin meme kanseri hücreleri üzerindeki metastatik potansiyelinin artmasına katkı sağladığı bilindiğinden yeni nesil antiaritmik ajanlar ELE ve GS-967'nin farklı metastatik özelliklere sahip MDA-MB-231 ve MCF-7 hücrelerinin metastatik potansiyeli üzerindeki etkilerinin normoksi ve hipoksi ortamlarında araştırılması amaçlanmıştır.

Ajanların yüksek metastatik MDA-MB-231 ve düşük metastatik MCF-7 meme kanseri hücre hatlarının normoksi ve hipoksi şartlarında hücre proliferasyonuna etkileri MTT yöntemi ile, metastatik aktiviteye olan etkileri; hücrenin motilitesi yara açma, invazyonu ise, Boyden Chamber deneyi ile değerlendirilmiştir. Ajanların Nav1.5 protein miktarına etkisi immüno blotlama, Nav1.5 ekspresyonuna etkisi ise qRT-PCR ile gerçekleştirilmiştir.,

Çalışmada hücre proliferasyonunu etkilemeyen ELE (0,5 µM ve 1 µM) ve GS-967 (0,05 µM ve 0,1 µM) konsantrasyonlarının yüksek metastatik MDA-MB-231 hücrelerinde, düşük metastatik MCF-7 hücrelerine göre, hücre motilite ve invazyonu üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Nav 1.5 VGSC'yi inhibe ederek gösterdiği bu etkinin normoksi koşullarına oranla, hipoksidede daha fazla olduğu moleküler olarak da belirlenmiştir.

Sonuç olarak, VGSC blokeri olan antiaritmik ELE ve GS-967'nin yüksek metastatik MDA-MB-231 ile düşük metastatik MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde Nav 1.5 VGSC yi hedef alan ve metastatik potansiyelin ilk kez değerlendirildiği bu çalışmada; (1) ELE ve GS-967'nin diğer antiaritmiklere göre, Nav1.5 VGSC'yi daha düşük dozlarda bloke ettiği (2) bu blokasyonun normoksiye oranla hipoksi koşullarında daha etkili olduğu (3) GS-967'nin Nav 1.5'i daha düşük konsantrasyonlarda bloke ettiği (4) hatta GS-967'nin bu etkisinin TTX'e yakın olduğunu ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Meme Kanseri, MDA-MB-231, MCF-7, VGSC, Nav 1.5 Eleclazine, GS-967

# **The Effect Of Ion Channel Blocker Antiarrhythmic Agents (Eleclazine, GS-967) On Nav1.5 Voltage Gated Sodium Channels In Triple Negative Breast Cancer Cells: Antimetastatic Potential**

## **ABSTRACT**

Breast cancer is one of the most common cancers in the world and in our country, accounting for 12.5% of all new cancer cases worldwide. Most people die from metastasis. Therefore, reducing metastasis could significantly improve both the survival and quality of life of cancer patients. Studies show that ion channels have effects on cancer development and progression. One of these is voltage-gated sodium channels (VGSCs), which are located in the cell membrane and whose main function is to generate the action potential of excitable cells such as the heart and neurons. VGSC expression in high metastatic breast cancer cells was found to be increased compared to low metastatic breast cancer cells. There are studies showing that increased expression of Nav 1.5, a subunit of VGSCs, is associated with disease progression and metastasis formation, especially in breast cancer. There are drug groups that work with the mechanism of blocking VGSCs in the treatment of heart diseases such as Long QT syndrome, atrial fibrillation and some neurological diseases. Antiarrhythmics and antiepileptics have been reported in many studies to inhibit the invasiveness of cancer cells that show high VGSC expression outside their primary use.

The new anti-arrhythmic drug candidate, the VGSC inhibitor Eleclazine (ELE) and GS-967, were found to be much more effective Na<sup>+</sup> channel blockers than the anti-arrhythmic lidocaine and ranolazine in studies with cardiac cells. Since it is known that VGSCs contribute to the increase in the metastatic potential of breast cancer cells, it was aimed to investigate the effects of new generation antiarrhythmic agents ELE and GS-967 on the metastatic potential of MDA-MB-231 and MCF-7 cells with different metastatic properties in normoxia and hypoxia environments.

The effects of the agents on cell proliferation of high metastatic MDA-MB-231 and low metastatic MCF-7 breast cancer cell lines under normoxia and hypoxic conditions were evaluated by MTT method, and their effects on metastatic activity; cell motility, wounding and invasion were evaluated by Boyden Chamber assay. The effect of the agents on the amount of Nav1.5 protein was determined by immunoblotting and the effect on Nav1.5 expression was determined by qRT-PCR,

The study revealed that ELE (0.5  $\mu$ M and 1  $\mu$ M) and GS-967 (0.05  $\mu$ M and 0.1  $\mu$ M) concentrations, which did not affect cell proliferation, had an inhibitory effect on cell motility and invasion in high metastatic MDA-MB-231 cells compared to low metastatic MCF-7 cells. It was also molecularly determined that this effect of Nav 1.5 by inhibiting VGSC was greater in hypoxia compared to normoxia conditions.

In conclusion, in this study, which targeted Nav 1.5 VGSC on highly metastatic MDA-MB-231 and low metastatic MCF-7 breast cancer cells and evaluated the metastatic potential of the antiarrhythmic VGSC blockers ELE and GS-967 for the first time; (1) ELE and GS-967 blocked Nav1.5 VGSC at lower doses compared to other antiarrhythmics (2) this blockade was more effective under hypoxia conditions compared to normoxia (3) GS-967 blocked Nav 1.5 at lower concentrations (4) and this effect of GS-967 was even close to TTX.

**Keywords:** Breast Cancer, MDA-MB-231, MCF-7, VGSC, Nav 1.5 Eleclazine, GS-967