

## ÖZET

Akciğer kanseri, mortalitesi en yüksek kanserlerdendir. Akciğer kanserinde, kanser hücrelerinin primer tümörden ayrılarak vücudun kan dolaşımına veya lenfatik sistemine girerek zamanla vücuttaki farklı dokulara yayılması olarak tanımlanan metastaz, kanser hastalarında yaşamı en fazla tehdit eden olaydır ve ölümlerin büyük çoğunluğundan sorumludur. Dolayısıyla, metastatik sürecin altında yatan mekanizmaları anlamak ve tedavi stratejileri geliştirmek önem taşımaktadır. Hücre membranında eksprese olan voltaj kapılı sodyum kanallarının (VGSC), malignitenin görüldüğü yüksek metastatik kanser hücrelerinde yüksek oranda eksprese edildikleri saptanmıştır. Kolorektal, prostat, meme gibi kanser hücreleri ile yapılan in vitro hatta in vivo çalışmalarda, VGSC'lerin bazı ilaç ve ajanlarla bloke edilmesiyle metastaza neden olan hücre hareketinin (migrasyon ve invazyonun) baskılanabileceği gösterilmiştir. Günümüzde farmakolojik ajanlar ile kanser tedavisi önemli bir yere sahip olmakla birlikte, hedefe yönelik farmakolojik ajanların daha fazla kullanıldığı dikkati çekmektedir. Bu çalışmada erlotinib'in küçük hücreli dışı akciğer kanserinde, klinikte hedefe yönelik olarak kullanılan düşük metastatik A549 ve yüksek metastatik H460 hücrelerinin proliferasyonunu, toksisitesini, koloni oluşumunu ve metastatik davranışlarını in vitro olarak değerlendirilmek böylece ekspresyonu yüksek olan Nav 1.7 VGSC üzerindeki rolünü saptamak amaçlanmıştır.

Bu amaç için, erlotinib'in yüksek metastatik H460 ve düşük metastatik A549 hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkileri MTT yöntemi, apoptoz oluşumu annexin yöntemiyle araştırılmış, koloni oluşumuna bakılmıştır. Metastatik aktiviteye etkisi, yara analizi ile hücre motilitesi değerlendirilmiş, Nav 1.7 ekspresyonuna etkisi ise, qRT-PCR ile bakılmıştır. Çalışmada hücrenin proliferasyonu ve koloni oluşumu üzerinde inhibe edici etki göstermeyen 0,01  $\mu$ M ve 0,02  $\mu$ M erlotinib konsantrasyonları esas alınmış ve pozitif kontrol olarak sodyum kanal blokleri TTX kullanılmıştır. Erlotinib'in yüksek metastatik H460 hücrelerinin motilitesi üzerinde daha yüksek bir inhibisyona neden olduğu ancak, Nav1.7 mRNA düzeyinde etki göstermediği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, elde edilen bu veriler tirozin kinaz inhibitörü erlotinib'in H460 ve A549 hücreleri üzerinde Nav 1.7 VGSC'yi hedef alan ve metastatik potansiyelin ilk kez değerlendirildiği bu çalışmada; erlotinib'in H460 ve A549 hücre motilite/migrasyonunu inhibe etse de, PCR sonuçları Nav 1.7 VGSC ler üzerinde etki gösterdiğine dair bir veriyi açık bir şekilde ortaya koyamamıştır. Motilite üzerinde görülen etkinin hangi yol ile meydana geldiğine dair ayrıntılı moleküler çalışmaların yapılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Erlotinib, KHDAK, A549, H460, Nav 1.7 VGSC, Migrasyon, Apoptoz

## ABSTRACT

Lung cancer is one of the cancers with the highest mortality rate. In lung cancer, metastasis, in which cancer cells break away from the primary tumor and are distributed intermittently to different tissues throughout the blood units or lymphatic system, is the most life-threatening event in cancer patients and is responsible for large amounts of deaths. Therefore, it is stored under the metastatic process and distribution of the treatment is important. Voltage-gated sodium channels (VGSC), expressed in the cell membrane, are highly expressed in the highly metastatic range of cancers that promote malignancy. Cell movement (migration and invasion) due to metastasis can be suppressed by blocking VGSCs with some drugs and agents, which can be rescued in vitro and even in vivo by cancer treatment such as colorectal, prostate, breast. Although cancer treatment with today's pharmacological agents has an important place, targeted pharmacological agents attract more attention. The performance of this effective erlotinib in small cell lung cancer, low metastatic A549 and high metastatic H460, which are used as targeted in the clinic, by evaluating the live proliferation, inflammation, colony formation and metastatic activities of Nav 1.7 VGSC with high expression in vitro.

For this purpose, the effects of erlotinib on the characteristic proliferation of high metastatic H460 and low metastatic A549 were investigated by the MTT method, apoptosis formation by the annexin method, and colony formation was examined. Its effect on metastatic activity and cell motility was evaluated by wound analysis, and its effect on Nav 1.7 expression was examined by qRT-PCR. In the study, recording was based on 0.01  $\mu\text{M}$  and 0.02  $\mu\text{M}$  erlotinib concentrations, which have an inhibitory effect on cell proliferation and colony formation, and the sodium channel blocker TTX was used as a positive control. It was determined that erlotinib caused a higher inhibition on the high metastatic H460 characteristic motility, but had no effect on the Nav1.7 mRNA level.

In conclusion, the data obtained are the first time that the tyrosine kinase inhibitor erlotinib targets Nav 1.7 VGSC on H460 and A549 records and its metastatic potential has been evaluated; Although erlotinib inhibited H460 and A549 cell motility/migration, PCR results did not clearly demonstrate an effect on Nav 1.7 VGSCs. Daily detailed visits are required to determine how the effect on motility occurs.

**Keywords:** Erlotinib, NSCLC, A549, H460, Nav 1.7 VGSC, Migration, Apoptosis