

## **SMAC MIMETICS IN SYNERGY WITH BRAF OR BCL-2 INHIBITORS OR TRAIL OVERCOME RESISTANCE OF CANCER CELLS TO APOPTOSIS**

Perimenis P., Galaris Ap., [Raftopoulou S.](#), Kosmidou V., Pappou E. and Pintzas A.

Institute of Biology, Medicinal Chemistry and Biotechnology, National Hellenic Research Foundation

48 Vas Constantinou Avenue, 116 35 Athens, Greece

### **AIMS**

Apoptosis inhibition contributes to the survival and proliferation of tumors and plays an important role to therapy resistance. Inhibitors of Apoptosis Proteins (IAP) block the cell death by interfering with the activation of caspases. High expression of IAPs in most malignancies and correlation with poor prognosis, makes them potential therapeutic targets. In this study, we investigate the effect of IAPs inhibition by SMAC mimetics Birinapant and AT406 in colorectal (CRC) tumour cells, their cross-talk and co-treatments with the TRAIL-induced apoptotic pathway, as well as with inhibitors of BRAF/MEK or Bcl-2 oncogenic pathways.

### **METHODS**

Human CRC cell lines were treated for 3D culture, Immunofluorescence Confocal Microscopy, Cell Viability Assay and FACS Analysis.

### **RESULTS**

Decrease of viability in RKO cell line after treatment with BIRINAPANT was observed and evidence of apoptosis were detected by caspase-3 and PARP cleavage. A synergistic effect in the reduction of viability of RKO cell line was observed after applying BIRINAPANT pre-treatment and then combinatorial treatment of BIRINAPANT with BRAF inhibitor PLX4720, which also caused PARP cleavage, marker of apoptosis.

### **CONCLUSIONS**

Potential importance of apoptotic factors in colorectal adenocarcinoma cell lines as tumour markers and/or targets Treatment of CRC cells with Smac mimatics Birinapant and AT-406 resulted in a decrease of cell viability and appearance of apoptotic characteristics. SMAC-mimetics can synergise with PLX4720, towards efficient antitumour treatments of BRAFV600E CRC cells. Inhibiting IAP function by SMAC mimetics can apparently sensitise the TRAIL resistant cell line HT29, to TRAIL-Birinapant (or AT-406) combinatorial treatments.

## **ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΩΝ IAPs ΜΕ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΟΓΚΟΠΡΩΤΕΙΝΩΝ BRAF Η BCL-2, ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΜΕ TRAIL, ΞΕΠΕΡΝΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΚΑΡΚΙΝΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ.**

Περιμένης Φ., Γαλάρης Α., Ραυτοπούλου Σ., Κοσμίδου Β., Πάππου Ε. Και Πίντζας Α.

Ινστιτούτο Βιολογίας, Φαρμακευτικής Χημείας και Βιοτεχνολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών

Λεωφ. Βασ. Κωνσταντίνου 48, 116 35 Αθήνα, Ελλάδα

### **ΣΤΟΧΟΙ**

Η αναστολή της απόπτωσης συμβάλλει στην επιβίωση και στον πολλαπλασιασμό των όγκων και παίζει σημαντικό ρόλο στην αντίσταση στη θεραπεία. Οι αναστολείς των κασπασών (IAP) εμποδίζουν την απόπτωση παρεμβαίνοντας στην ενεργοποίηση των κασπασών. Τα υψηλά επίπεδα έκφρασης των IAPs στις περισσότερες κακοήθειες και η συσχέτιση τους με κακή πρόγνωση, τις καθιστά υποψηφίους θεραπευτικούς στόχους. Σε αυτή τη μελέτη, διερευνώνται η επίδραση της αναστολής των IAPs από μόρια μιμητικά των SMAC, σε κύτταρα καρκίνου του παχέος εντέρου (ΚΠΕ) και η αλληλεπίδραση τους με την επαγόμενη από TRAIL απόπτωση και τα μονοπάτια BRAF / MEK ή Bcl-2.

### **ΜΕΘΟΔΟΙ**

Κυτταρικές σειρές ΚΠΕ του ανθρώπου υποβλήθηκαν σε Τρισδιάστατη Καλλιέργεια, Συνεστιακή Μικροσκοπία Ανοσοφθορισμού, Δοκιμασία Βιωσιμότητας και Ανάλυση FACS.

### **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

Παρατηρήθηκε μείωση της βιωσιμότητας κυττάρων ΚΠΕ μετά από τη κατεργασία με BIRINAPANT και ανιχνεύθηκαν δείκτες απόπτωσης, μέσω διάσπασης των κασπάσης-3 και PARP. Παρατηρήθηκε επίσης συνεργιστική επίδραση στη μείωση της βιωσιμότητας των RKO μετά από προ-επεξεργασία με BIRINAPANT και έπειτα συνδυαστική αγωγή με BIRINAPANT και του BRAF αναστολέα PLX4720. Αυτό προκάλεσε επίσης διάσπαση της PARP.

### **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Η κατεργασία με αναστολείς των IAPs (SMAC mimetics) Birinapant και AT-406 είχε ως αποτέλεσμα μείωση της κυτταρικής βιωσιμότητας και εμφάνιση αποπτωτικών χαρακτηριστικών.

Τα SMAC mimetics μπορούν να συνεργάζονται με τον BRAF αναστολέα PLX4720 και τον BCL-2 αναστολέα ABT-199, προς αποτελεσματικά αντικαρκινικά πρωτόκολλα έναντι των BRAFV600E καρκινικών κυττάρων. Επίσης, η παρεμπόδιση της λειτουργίας των IAPs από SMAC mimetics μπορεί να ευαισθητοποιήσει τα ανθεκτικά στο TRAIL καρκινικά κύτταρα σε νέα συνδυαστικά πρωτόκολλα.