



ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΜΕ CISPLATIN ΚΑΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ BRAF ΔΕΙΚΝΟΥΝ ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΗ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΕ ΚΠΕ

Πίντζας Α.¹, Κουμάκη Κ.¹, Κοσμίδου Β.¹, Σκαρμαλιωράκη Σ.¹, Κρικώνη Λ.¹, Γουλιελμάκη Μ.¹, Ζουμπουρλής Β.¹, Σουλιώτης Β.Λ.^{1,2}

¹ Ινστιτούτο Χημικής Βιολογίας, Εθνικό Ιδρυμα Ερευνών, ² Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ABSTRACT

Εισαγωγή: Στον καρκίνο του παχέος εντέρου (CRC), η μονοθεραπεία με αναστολέα BRAF (BRAFi) φαίνεται αναποτελεσματική, ενώ η θεραπεία με σισπλατίνη συσχετίζεται με ανεπιθύμητες ενέργειες, αντοχή στα φάρμακα και μειωμένη αποτελεσματικότητα. Μέθοδοι: Τα αποτελέσματα της θεραπείας με BRAFi και σισπλατίνη στη βιωσιμότητα των BRAF^{mt} κυττάρων, στον κυτταρικό κύκλο και στη φωσφορυλίωση των ERK1/2 και H2AX εξετάστηκαν σε BRAFV600E-mut CRC. Η συνδυασμένη θεραπεία μελετήθηκε in vivo σε ξενομοσχεύματα ποντικών. Σκοπός: Αποτελεσματική θανάτωση καρκινικών κυττάρων ξεπερνώντας την αντίσταση στη μονοθεραπεία με συνδυασμένη επίδραση του BRAFi - σισπλατίνη σε προκλινικά μοντέλα CRC. Αποτελέσματα: Η επεξεργασία με σισπλατίνη έδειξε σημαντική συσσωρευση σε φάση subG1 (αποπτωτικά κύτταρα) και G2/M, φωσφορυλίωση ERK1/2 και H2AX. Η συνδυασμένη θεραπεία BRAFi-σισπλατίνης μείωσε συνεργικά τη βιωσιμότητα των καρκινικών κυττάρων RKO, μείωσε τη p-ERK1/2, αύξησε τη p-H2AX. Σε ξενομοσχεύματα ποντικών RKO, η συνδυασμένη θεραπεία BRAFi και σισπλατίνης έδειξε ανώτερη θεραπευτική δυνατότητα από κάθε μονοθεραπεία. Συμπεράσματα: Τα ευρήματά μας υποδηλώνουν ότι η συνδυασμένη θεραπεία BRAFi και σισπλατίνης έχει σημαντική αντικαρκινική επίδραση στα μεταλλαγμένα κύτταρα CRC με BRAF μετάλλαξη, καθιστώντας την μια πιθανή στρατηγική αντικαρκινικής θεραπείας για ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου με mtBRAF.

CONTACT

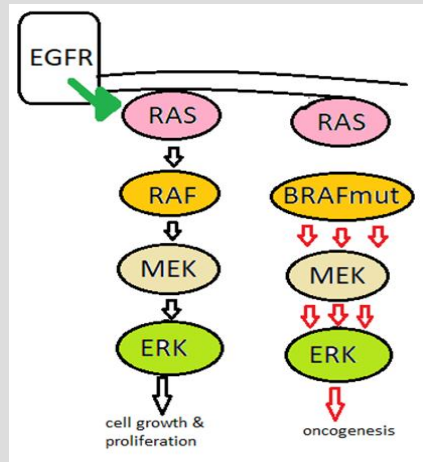
Alex Pintzas and Vassilis Souliotis
Institute of Chemical Biology, National Hellenic Research Foundation
Email: apint@eie.gr and vls@eie.gr
Website:
http://www.eie.gr/nhrf/institutes/icb/index_en.html

INTRODUCTION

Cisplatin treatment is still the gold standard for solid tumours; however, in CRC it is correlated with adverse effects, drug resistance and reduced efficacy.

Inhibitors targeting mutated BRAF proteins have been approved by the FDA , such as Vemurafenib, Dabrafenib and Encorafenib, for the treatment of patients with BRAF mutant metastatic melanoma.

In an effort to explore the effectiveness of combined treatment with BRAF inhibitors and cisplatin, we tested them in vitro, in three colorectal adenocarcinoma cell lines, RKO, HT29 and Colo-205, that harbour the BRAFV600E mutation and one BRAFwt cell line, Caco-2.



METHODS AND MATERIALS

We examined the effects of combined treatment on: cell viability, cell cycle, phosphorylation of components of the MAPK pathway and the DNA damage response network, mouse xenograft models in vivo and compared it to the effect of each monotherapy

Mutations	RKO	HT29	Colo-205
KRAS	wt	wt	wt
BRAF	V600E(+/-)	V600E(+/-)	V600E(+/-)
PIK3CA	H1047R(+/-) Kinase	P449T (+/-)	wt
p53	wt	R273H(-/-)	Y103fsX37(-/-) /G266E
MSI	BAT25 BAT26 D2S123 D17S250		

Table 1

RESULTS

The effect of combined treatment with cisplatin and a BRAF inhibitor on cell viability and phosphorylation of ERK1/2 and γH2Ax in colorectal cancer cell lines. A synergistic effect on the reduction of cell viability is observed in some cases, whereas increased phosphorylation of γH2AX and reduced phosphorylation of ERK1/2 are observed in all cases.

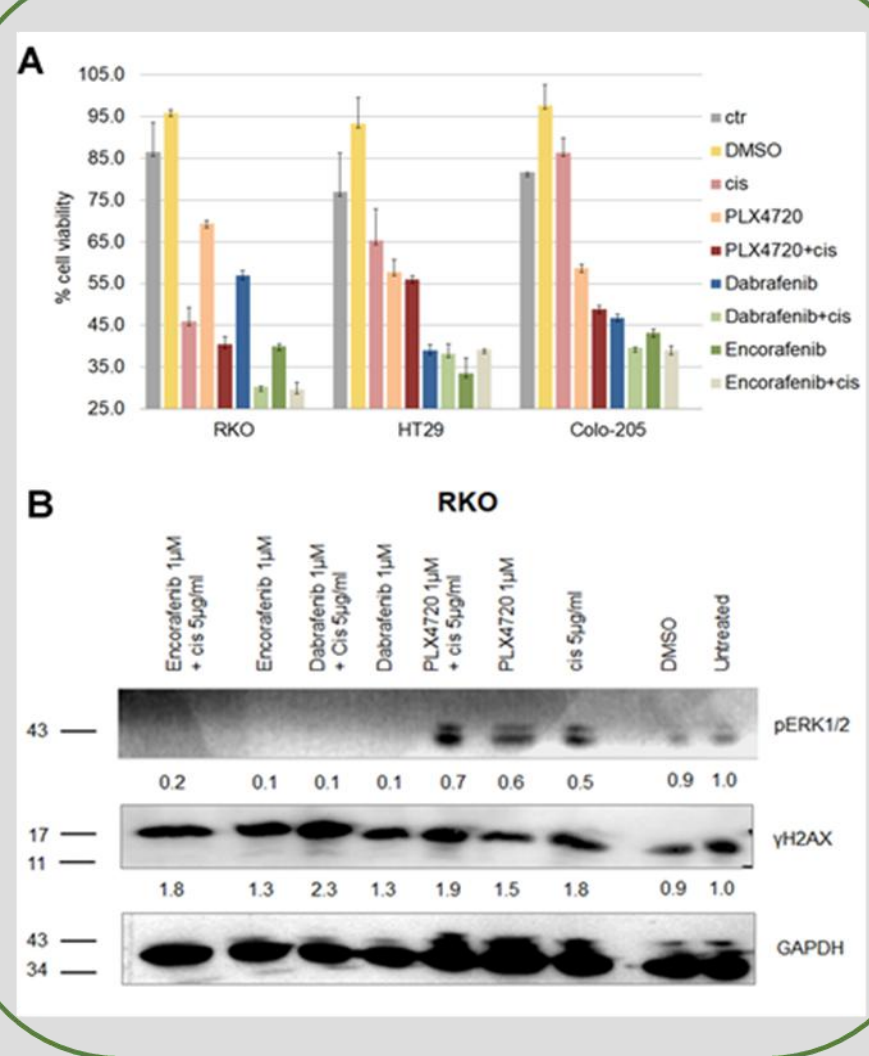


Figure 1

RESULTS

The effect of combined treatment with cisplatin and a BRAF inhibitor in xenografts of RKO cells in SCID mice. Significant attenuation of cancer progression and greater reduction in tumour size are observed with the combined treatment of cisplatin and PLX4720, indicating a superior effect than each monotherapy in vivo.

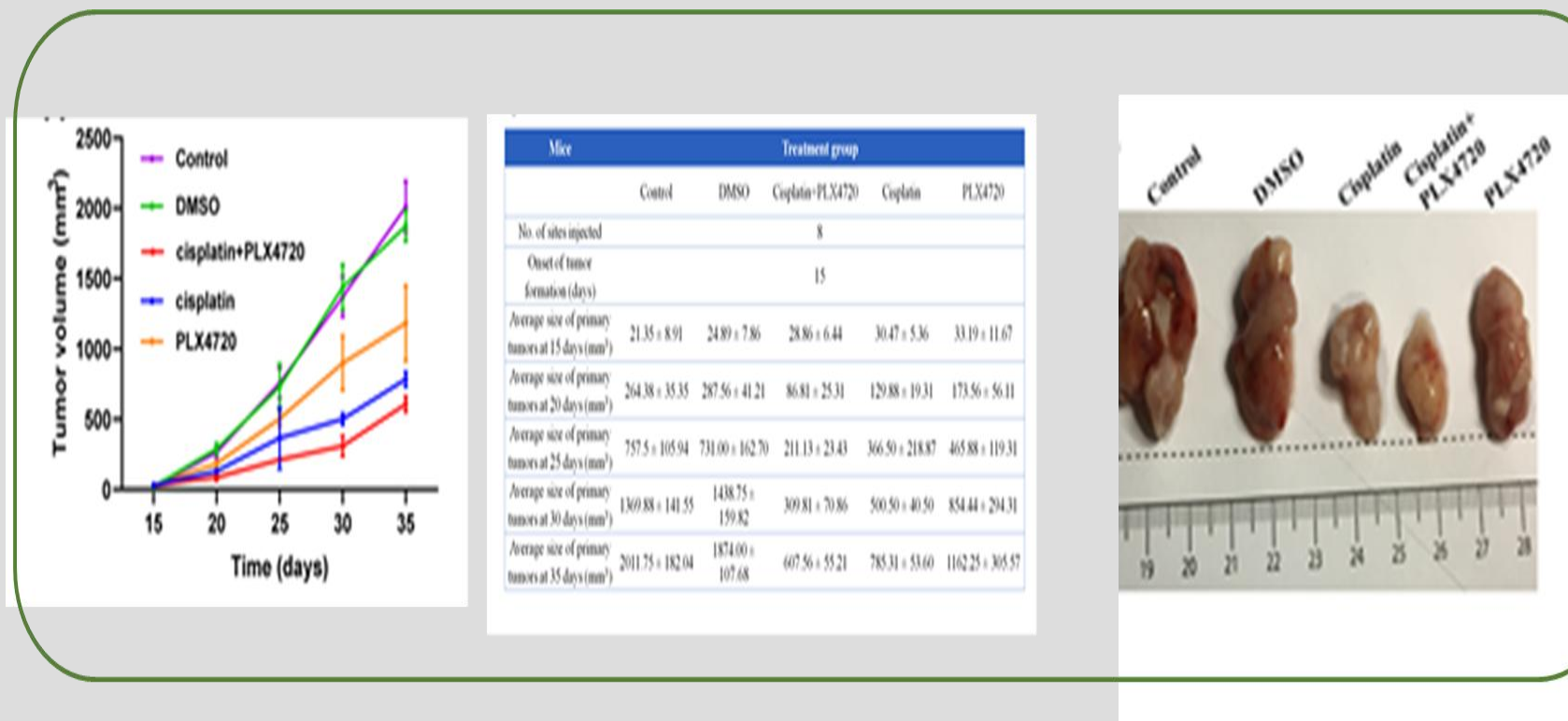


Figure 2.

ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge support of this work by the project “STHENOS-b” (MIS 5002398), funded by the Operational Programme "Competitiveness, Entrepreneurship and Innovation" (NSRF 2014-2020) and co-financed by Greece and the EU (European Regional Development Fund).

DISCUSSION

BRAF mutant CRC cells treated with cisplatin exhibit reduced cell viability, G2/M arrest and phosphorylation of H2AX. In addition, phosphorylation of the ERK1/2 kinase is observed.

Treatment of BRAF mutant CRC cells with a BRAF inhibitor results in decreased cell viability and reduction of ERK activation/phosphorylation, whereas the inhibition of BRAF has no effect on the cell viability of BRAFwt cells.

BRAF inhibition in BRAF mutant CRC cells leads to phosphorylation of H2AX and perturbation of cell cycle progression, inducing G0/G1 arrest.

CONCLUSIONS

Combined treatment of a BRAF inhibitor and cisplatin shows superior therapeutic potential in mouse xenograft models in vivo than each drug.

Combined treatment of a BRAF inhibitor and cisplatin is more effective than single drug treatment both in vitro and in vivo, suggesting that the therapeutic value of the proposed treatment can be exploited further as a potential treatment strategy in mtBRAF CRC patients.

REFERENCES

Koumaki K., Skarmalioraki, S., Kosmidou, V., Krikoni, L., Goulielmaki, M., Zoumpourlis, V., Pintzas A., Souliotis, V.L. *Advanced Therapeutics* 2025; 8(1), 2400250. DOI: 10.1002/adtp.202400250

Psyrris A, Gkatzamanidou M, Papaxoinis G, Krikoni L, Economopoulou P, Kotsantis I, Anastasiou M, Souliotis VL. *ESMO Open*. 2021;6(2):100075.

Koumaki K, Kontogianni G, Kosmidou V, Pahitsa F, Kritsi E, Zervou M, Chatziioannou A, Souliotis VL, Papadodima O, Pintzas A. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2021;1867(4):166061.