

ÖZET

Meme kanseri dünya çapında kadınlar arasında en sık görülen kanser tipidir. Meme kanserinin heterojenik yapısı ve tümör mikro çevresi göz önüne alındığında, tümör hücrelerinin komşu hücrelerden çeşitli hormonlar ve sitokinler salgılanması yoluyla etkilendiği ve kanser gelişiminin tetiklendiği bilinmektedir. Bu kapsamda meme tümörleri ve en bilinen komşu dokularından olan adipositler, salgıladıkları adipokinler ve büyüme faktörleri aracılığı ile karşılıklı olarak birbirleriyle etkileşimde bulunmakta ve meme kanserinin agresivitesinin artmasında teşvik edici rol oynamaktadırlar. Bu kapsamda yağ asidi metabolizması inhibitörü olarak kullanılan orlistat, obezite karşıtı bir ilaçtır ve antiproliferatif, proapoptotik, antianjiyogenik ve anti metastatik etkiler göstererek kanser hücrelerinin metabolizmasını engeller. Orlistatın meme kanserinde kullanımını ile EMT (epitel-mezenkimal dönüşüm) baskılanması ile apoptoz mekanizmasının aktiflendiği belirlenmiştir.

Birçok kanser tipinde sıklıkla çalışılmış olan FoxO3a transkripsiyon faktörünün, otofaji, apoptoz, endoplazmik retikulum stresi gibi hücrel mekanizmalar ile ilişkide olduğu ve bu mekanizmalarda görevli olan genlerin regülasyonunda rol oynarak tümör baskılayıcı karakter gösterdiği bilinmektedir. Ancak FoxO3a'nın meme kanseri gelişiminde tetikleyici rol oynayan yağ asidi sentez metabolizmasındaki fonksiyonu net olarak bilinmemektedir. Bu kapsamda tez çalışmasında, FoxO3a artışı ve yağ asidi metabolizması inhibitörü olan orlistat ilacı uygulamasını takiben BT-474 meme kanseri hücrelerinde miRNA (microRNA)'ların ifade seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, BT-474 meme kanseri hücrelerinde FoxO3a'nın ifadesi plazmit vektörler aracılığı ile arttırılmış ve artan FoxO3a ifadesi immunoblotlama ve qRT-PCR teknikleri ile doğrulanmıştır. Ardından, MTT ve DioC6 floresans boyama yöntemleri ile FoxO3a'nın artışının ve orlistat uygulamasının hücre canlılığında azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Hücre canlılığındaki değişikliğin incelenmesinden sonra, FoxO3a arttırılmış ve orlistat uygulanmış BT-474 hücrelerinde miR-27a-3p, miR-200a-5p, miR-429, miR-767-5p, miR-130b-3p ve miR-887-3p'nin ifade seviyeleri qRT-PCR yöntemi ile belirlenmiştir. miR-27a ,miR-200a-5p ve miR-429'un wt (doğal tip) hücrelere kıyasla FoxO3a'nın ekspresyonu arttırılmış ve orlistat uygulanmış BT-474 hücrelerinde arttığı, miR-130b-3p, miR-887-3p, miR-767-5p ise azaldığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar kapsamında ifade

seviyesi artan ve azalan miRNA'lar gruplanarak ortak hedef genleri ve etkili oldukları sinyal yollarını *in silico* olarak belirlenerek fonksiyonel analizleri yapılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler yağ asidi metabolizması aracılı olarak FoxO3a artışının meme kanseri gelişimindeki etkilerinin anlaşılması açısından literatüre katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: meme kanseri, Foxo3a, BT-474, orlistat, miR-27a, miR-130b-3p, miR-429, miR-767-5p, miR-200a-5p, miR-887-3p

SUMMARY

Considering the variability of breast cancer and FoxO3a-mediated cell development, it has become important to determine the occurrence of miRNA (microRNA) expression depending on FoxO3a expression level during breast cancer progression. Although it is known that FoxO3a disrupts cell viability and suppresses cancer due to its tumor suppressor role in breast cancer, there is no detailed information in the literature about genetic miRNAs due to the increase in FoxO3a. Orlistat is an anti-obesity drug and inhibits cancer healing metabolism, treating hypolipidemic, antiproliferative, proapoptotic, antiangiogenic and anti-metastatic effects. This drug promotes the apoptosis of tumor cells by obscuring the NF- κ B, caspase3/caspase9 and AKT/m signaling pathways in breast cancer. With the use of orlistat, a suppressor of fatty acid stability, in breast cancer, apoptosis rates are actively adjusted by suppressing EMT (epithelial-mesenchymal transformation). However, there are no sufficient studies on the effect of orlistat on breast cancer mediated by FoxO3a. As this active mediator of fatty acid metabolism and with increased FoxO3a, miRNA levels were investigated in the BT-474 breast cancer spectrum. This ability was primarily demonstrated by increased expression of FoxO3a in BT-474 breast cancer. Additionally, cell viability tests were performed with MTT, dioc6, PI staining and it was determined that the increase in FoxO3a caused a decrease in cell viability and that cell viability decreased significantly with orlistat application.. After examining the change in cell viability, the expression levels of miR-27a-3p, miR-130b-5p and miR-429 in BT-474 cells with increased FoxO3a and orlistat application were determined by qRT-PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction) method. miR-27-3p, miR-200a-5p, miR-429, miR-130b-3p, miR-887-3p, miR767 were increased in FoxO3a expression increased and orlistat-treated BT-474 cells compared to wt (wild type) cells It was determined that miR-130b-3p, miR-887-3p, miR767-5p decreased. The data obtained from this study contribute to the literature in terms of understanding the effects of FoxO3a increase, mediated by fatty acid metabolism, on the development of breast cancer.