

ÖZET

Meme kanserinin (MK) heterojenliği ve FoxO3a aracılı hücre yanıtının değişkenliği göz önüne alındığında, meme kanseri ilerlemesi sırasında FoxO3a ekspresyon düzeyine bağlı olarak miRNA (microRNA)'ların ekspresyonunun belirlenmesi önemli hale gelmiştir. Her ne kadar meme kanserinde FoxO3a'nın tümör baskılayıcı rolüne bağlı olarak hücre canlılığını azalttığı ve kanser gelişimini baskıladığı bilinse de FoxO3a artışına bağlı olarak değişen miRNA'ların profilleri hakkında literatürde detaylı bilgi bulunmamaktadır. Orlistat, obezite karşıtı bir ilaçtır ve hipolipidemik, antiproliferatif, proapoptotik, antianjiyogenik ve antimetastatik etkiler göstererek kanser hücrelerinin metabolizmasını engeller. Bu ilaç meme kanserinde NF-κB, kaspaz3/kaspaz9 ve AKT/mTOR sinyal yollarını inhibe ederek tümör hücrelerinin apoptozunu teşvik eder. Yağ asidi sentezinin baskılayıcısı olan orlistatin meme kanserinde kullanımı ile EMT (epitel-mezenkimal dönüşüm) baskılanması ile apoptoz mekanizmasının aktiflendiği belirlenmiştir. Ancak, orlistatin FoxO3a aracılı olarak meme kanserindeki etkisine dair yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada yağ asidi metabolizması aracılı olarak ve FoxO3a artışı ile birlikte MCF-7 meme kanseri hücrelerinde değişen miRNA seviyeleri araştırılmıştır. Bu kapsamda, öncelikle MCF-7 meme kanseri hücrelerinde FoxO3a'nın ifadesi arttırılmış. Ardından, MTT ve PI boyama ile hücre canlılığı testleri gerçekleştirilerek FoxO3a'nın artışının hücre canlılığında azalmaya sebep olduğu ve orlistat uygulaması ile hücre canlılığının önemli derecede fazla oranda azaldığı belirlenmiştir. Hücre canlılığındaki değişikliğin incelenmesinden sonra, FoxO3a arttırılmış ve orlistat uygulanmış MCF-7 hücrelerinde miR-27a-3p, miR-130b-3p ve miR-429'un ifade seviyeleri qRT-PCR (kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile belirlenmiştir. miR-27a ve miR-429'un wt (doğal tip) hücrelere kıyasla FoxO3a'nın ekspresyonu arttırılmış ve orlistat uygulanmış MCF-7 hücrelerinde arttığı, miR-130b-3p'nin ise azaldığı belirlenmiştir.

Ardından DIANA-miRPath v4.0 web sunucusu ile miR-27a, miR130b-3p ve miR-429 için hedef genler ve sinyal yolakları bulundu. miR-27a ve miR-429, orlistat uygulanmış MCF-7 meme kanseri hücrelerinde ekspresyonu arttığı gösterildi. Bu iki miRNA'nın hedeflediği hedef gen ve sinyal yolakları tespit edildi. Aynı olarak, miR-130b-3p'nin hedefleri ve etkili sinyal yolakları çıkarıldı. Bu çalışmadan elde edilen veriler yağ asidi metabolizması aracılı olarak FoxO3a artışının meme kanseri gelişimindeki etkilerinin anlaşılması açısından literatüre yenilik sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, Foxo3a, MCF-7, Orlistat, miR-27a, miR-130b-3p, miR-429

SUMMARY

Given the heterogeneity of breast cancer (BC) and the variety in cell response mediated by FOXO3a, assessing the expression of miRNAs in connection to FOXO3a expression has become critical throughout breast cancer progression. Despite multiple studies revealing that FOXO has varied functions at different expression levels in breast cancer, the control of miRNAs in breast cancer formation, particularly with regard to FOXO3a, remains largely unexplained. The purpose of this study is to discover possible targeted genes and pathways under conditions of FOXO3a deficiency by screening differently expressed miRNAs in MCF-7 breast cancer cells compared to WT cells. Orlistat is an anti-obesity medicine that inhibits cancer cell metabolism by having hypolipidemic, antiproliferative, proapoptotic, antiangiogenic, and antimetastatic properties. In breast cancer, this medication increases tumour cell death by blocking the NF- κ B, caspase3/caspase9, and AKT/mTOR signalling pathways. The expression of FOXO3a was overexpressed in MCF-7 breast cancer cells via transfection. Cell viability was determined using MTT and PI staining. QRT-PCR was used to examine the expression of discovered miR-27a, miR-130b-3p, and miR-429 in the MCF-7 breast cancer cell line and identify common targets. Orlistat suppressed tumour growth in MCF-7 cells with elevated expression of FOXO3a. QRT-PCR was used to examine the expressions of discovered miR-27a, miR-130b-3p, and miR-429 in the MCF-7 breast cancer cell line, and common targets were identified. Orlistat suppressed tumour growth in MCF-7 cells treated with miR-27a and miR-429. This is particularly promising as a prognostic marker for breast cancer.

Key words: Breast Cancer, Foxo3a, MCF-7, Orlistat, miR-27a, miR-130b-3p, miR-429