

Radyoterapinin Metastatik Meme Kanseri Hücrelerindeki Mitokondri İlişkili Yolaklar Üzerine Etkisi

The Effect of Radiotherapy on Mitochondria-Related Pathways in Metastatic Breast Cancer Cells

Aynur Karadağ Gürel¹ 

¹ Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uşak/Türkiye

ÖZET

AMAÇ: Radyoterapi, meme kanserinin tedavisinde önemli bir yöntemdir; ancak metastatik ve metastatik olmayan meme kanseri hücrelerinde mitokondri ilişkili yolaklar üzerindeki etkileri tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmada, radyoterapinin mitokondri fonksiyonu ve ilişkili sinyal yolakları üzerindeki etkilerini, kanser hücrelerinin hayatta kalma, apoptoz ve metastatik ilerlemedeki rolleri incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM: MCF-7 ve MDA-MB-231 metastatik meme kanseri hücre serileri kullanılan GEO veri tabanından meme kanseri verilerine ait GSE210306 erişim numarasına sahip ekspresyon verisi kullanılmıştır. Farklı şekilde ifade edilen genleri (DEG) bulmak için GEO2R ile analiz edildi. DEG'ler için GO ve KEGG zenginleştirme analizleri gerçekleştirilmiştir. Cytoscape yazılımıyla bir protein-protein etkileşimi (PPI) ağı oluşturuldu ve radyo terapi sonrası etkilenen mitokondri ilişkili önemli genler MitoCarta ile belirlendi.

BULGULAR: GEO2R ile analiz sonucunda $adjP < 0.05$ ve $log_2FC \geq 1$ veya ≤ -1 olan DEG'ler seçildi. Örneklerin karşılaştırılması MCF 7 WT vs MDA MB 231 WT ve MCF 7 RR vs MDA MB 231 RR olarak gerçekleştirildi. MCF 7 WT vs MDA MB 231 WT grubunda ifadesi azalan 759 gen 655 ifadesi artan gen bulunmuştur. MCF 7 RR vs MDA MB 231 RR karşılaştırılmasında 693 ifadesi artan 1084 ifadesi azalan gen bulunmuştur. Daha sonra bu genler 1140 mitokondriyle ilişkili gen listesi ile karşılaştırılmış ve ortak gen sayıları şekilde gösterilmiştir.

SONUÇ: Bu çalışmanın sonuçları, ortaya çıkan yolak ve genlerin radyoterapi sonrası metastatik hücrelerde etkinliğini ve mitokondri üzerinden değişen yolakların önemli bir rolü olabileceğini göstermiştir. Bu mekanizmaların anlaşılması, özellikle agresif ve metastatik meme kanseri alt tiplerinde radyoterapinin etkinliğini artırmaya yönelik hedefe yönelik müdahaleler için yeni yollar açabilir.

Anahtar Kelimeler: meme kanseri, mitokondri, biyoinformatik analiz, GEO, metastaz

ABSTRACT

OBJECTIVE: Radiotherapy is a crucial treatment method for breast cancer; however, its effects on mitochondria-related pathways in metastatic and non-metastatic breast cancer cells remain insufficiently understood. This study aims to investigate the effects of radiotherapy on mitochondrial function and associated signaling pathways, focusing on their roles in cancer cell survival, apoptosis, and metastatic progression.

MATERIALS AND METHODS: Expression data with accession number GSE210306 from the GEO database related to breast cancer was used, incorporating the MCF-7 and MDA-MB-231 metastatic breast cancer cell lines. Differentially expressed genes (DEGs) were identified using GEO2R. GO and KEGG enrichment analyses were performed on the DEGs. A protein-protein interaction (PPI) network was constructed using Cytoscape software, and mitochondria-related key genes affected by radiotherapy were identified.

RESULTS: GEO2R analysis identified DEGs with an $adjP$ -value < 0.05 and $log_2FC \geq 1$ or ≤ -1 . Comparisons included MCF-7 WT vs. MDA-MB-231 WT and MCF-7 RR vs. MDA-MB-231 RR. In the MCF-7 WT vs. MDA-MB-231 WT group, 759 downregulated and 655 upregulated genes were identified. For the MCF-7 RR vs. MDA-MB-231 RR comparison, 693 upregulated and 1,084 downregulated genes were found. These genes were cross-referenced with a list of 1,140 mitochondria-related genes, and the shared genes were illustrated.

CONCLUSION: The findings of this study highlight the effectiveness of the identified pathways and genes in metastatic cells following radiotherapy and suggest that mitochondria-related altered pathways may play a significant role. Understanding these mechanisms could pave the way for novel targeted interventions to enhance radiotherapy efficacy, especially in aggressive and metastatic breast cancer subtypes

Keywords: breast cancer, mitochondria, bioinformatics analysis, GEO, metastasis

GİRİŞ

Kadınlarda yaygın bir kötü huylu tümör olan meme kanseri (MK), önemli bir küresel sağlık sorununu temsil etmektedir. İstatistikler, her yıl yaklaşık 2,3 milyon yeni MK vakasının bildirildiğini ve toplam kanser teşhislerinin %11,7'sini oluşturduğunu göstermektedir. Meme kanseriyle ilişkili yıllık ölüm oranı 700.000'e yaklaşmakta ve kansere bağlı tüm ölümlerin %6,9'unu oluşturmaktadır (1) MK, genetik, çevre ve yaşam tarzı gibi faktörlerin bir kombinasyonundan etkilenen karmaşık ve çok yönlü bir süreçtir. Ayrıca, son yıllarda tümör gelişimi ile tümörlerdeki anormal enerji metabolizması arasında güçlü bir bağlantı olduğunu gösteren giderek artan bir araştırma grubu olmuştur. 2011 yılında Weinberg ve arkadaşları, tümör hücrelerindeki anormal enerji metabolizması da dahil olmak üzere kanserin on ayırt edici özelliğini önermiştir (2). Tümör hücrelerinin aerobik koşullar altında bile artmış glikoliz oranlarıyla karakterize edilen benzersiz bir fenotip sergilediği ve bu metabolik davranış, birçok kanser tipinde doğrulanmıştır (3,4). Tümör hücreleri, glikoz kıtlığı olduğunda enerji için aerobik glikolizden OXPHOS'a geçebildikleri için büyüme için mitokondriyal oksidatif fosforilasyona (OXPHOS) güvenirlir (5). Ökaryotik hücrelerin temel güç merkezleri olan mitokondriler, metabolizma, büyüme, farklılaşma ve apoptozu kapsayan çok sayıda hücresel süreçte önemli bir rol oynar (6). Ortaya çıkan kanıtlar, mitokondriyal işlev bozukluğunun kanser başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını güçlü bir şekilde göstermektedir. Mitokondriyal DNA anormallikleri ve mitokondriyal ribozomlardaki kusurlar dahil olmak üzere bir dizi faktör, OXPHOS sürecini bozabilir ve solunum zincirinin işlevini tehlikeye atabilir. Bozulma, ATP sentezinin eksikliğine, yüksek kalsiyum salınımına, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine, mitokondriyal katlanmamış protein yanıtının tetiklenmesine ve kanser teşviki veya inhibisyonuyla ilgili birden fazla gen ve sinyal yolunun değişmesine yol açar (7,8). Bozulmuş mitokondriyal fonksiyon ilaçlara karşı direnç ve kanser kök hücrelerinin hayatta kalmasıyla bağlantılıdır (9). Son araştırmalar giderek artan bir şekilde mitokondriyal ilişkili genlerin (MRG'ler) MK bağlamındaki işlevine odaklanmıştır (10,11). Bununla birlikte, bu araştırmalar MRG'lerin MK'daki metastaz ve prognozla ilişkileri olmak üzere, MK'daki mitokondrilerin karmaşık biyolojik mekanizmalarını kapsamlı bir şekilde çözmek için daha fazla araştırma yapılmasının gerekliliğini de vurgulamaktadır. Bu

genler, tedavi yanıtının öngörülmesinde ve radyoterapi ile kombine edilebilecek hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesinde biyobelirteç olarak önemli bir potansiyele sahiptir (12-14).

Bu çalışmada, meme kanserinde tedavi müdahalesinin etkinliğini, metastazını ve prognozunu tahmin etmek için mitokondriyal fonksiyonla ilişkili mitokondri ilişkili genler çıkarılmıştır. Meme kanserinde bu genlerin araştırılması sadece invazivliğinin anlaşılmasını da değil aynı zamanda erken meme kanseri için daha kişiselleştirilmiş ve kesin tedavi stratejilerinin formüle edilmesine de yardımcı olacaktır. Radyoterapinin metastatik (MDA-MB-231) ve metastatik olmayan (MCF-7) meme kanseri hücrelerindeki mitokondri ile ilişkili genlerin ekspresyonunda ne gibi farklılıklar yarattığını belirlemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Veri Toplama ve Farklı Gen İfadesi Analizi

Gen ifadesi veri kümeleri Gen İfade Omnibus'unda (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) (1) birincil meme kanseri, (2) meme kanseri radyoterapisi ve (3) tekrarlayan meme kanseri ile ilgili çeşitli anahtar kelimeler kullanılarak bağımsız olarak arandı. GSE210306 veri seti uygun şartları sağlayan ve dört Radyodirençli (RR) ve dört radyodirençsiz (WT) örnek içermektedir. Her veri seti, farklı şekilde ifade edilen genleri (DEG'ler) belirlemek için GEO2R yazılımı kullanıldı. Her veri setindeki DEG'ler, adj p < 0,05 ile log katlama değışikliğı >1'ye göre seçildi. DAVID yazılımı ile GO ve KEGG yolakları karşılaştırıldı. Meme kanserinde hub genlerin ekspresyonunu açıklamak için bir TNM Plot analizi (<https://tnmplot.com/analysis/>) gerçekleştirildi.

Veri Setinde Kullanılan Hücre Hatları ve Deneysel Koşulları

İnsan meme kanseri hücre hattı MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatları kullanılmıştır. MCF-7, MCF-7RR, MDA-MB-231 ve MDA-MB-231RR hücre hatları rutin olarak %10 fetal sığır serumu ve penisilin ve streptomisin eklenmiş Dulbecco Modified Eagle Medium'da (DMEM) (Gibco) 37 °C'de %5 CO2 atmosferinde kültürlenmiş ve Radyasyona Dirençli Meme Kanseri Hücrelerinin Oluşturulması için Kısa, WT ve RR hücreleri T-25 şişelerine ekildi ve öldürücü bir doz olarak 4 Gy iyonlaştırıcı radyasyonla ışınlanmıştır.

Mitokondriyal İlişkili DEG'lerin (MitoDEG'ler) Tanımlanması

MitoCarta 3.0 veri tabanından (<http://www.broadinstitute.org/mitocarta>) toplam 1140 mitokondriyle ilişkili gen elde

edildi. MitoDEG'ler, her veri setinden ilgi duyulan DEG'lerin mitokondriyle ilişkili genlerle çaprazlanmasıyla tarandı ve sonuçlar molbiotool ile (<https://molbiotools.com/listcompare>) Venn diyagramları görselleştirildi.

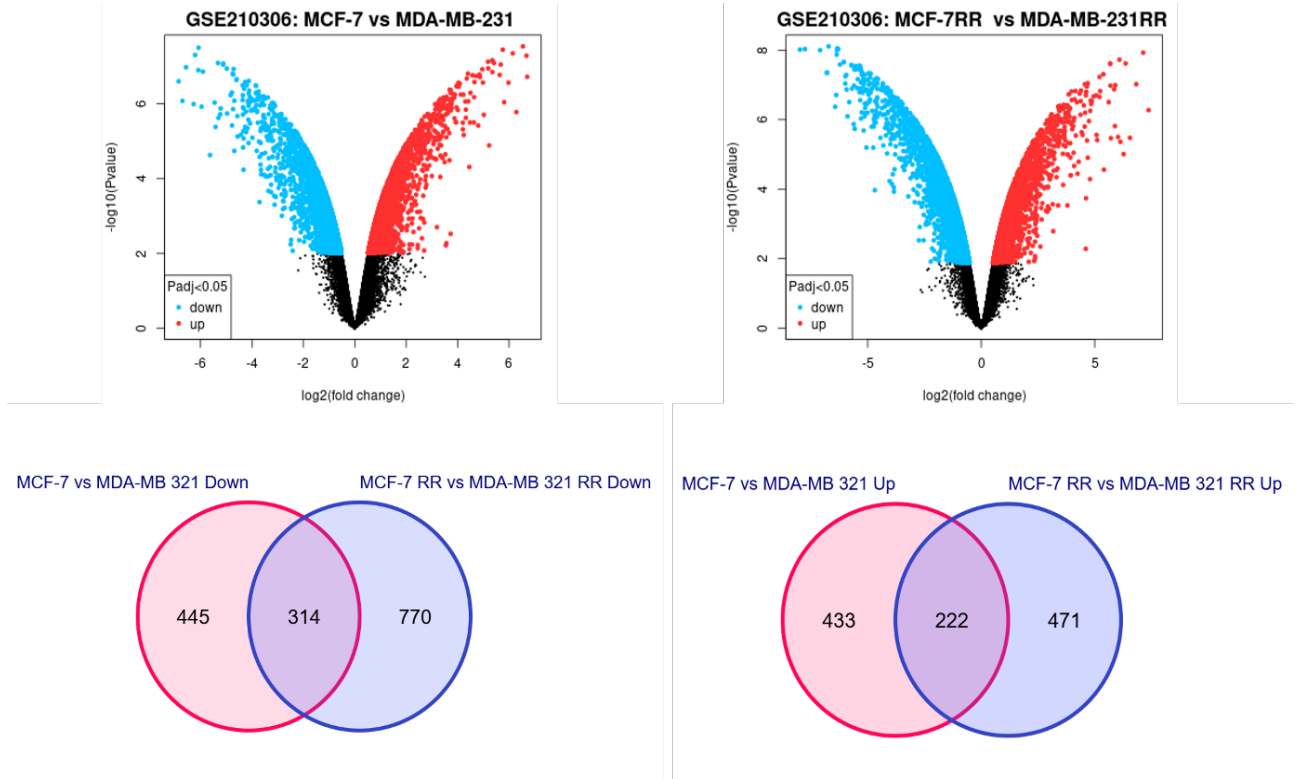
Protein-protein etkileşimlerinin analizi (PPI)

PPI ağları, MitoDEG'lere dayalı olarak STRING veritabanı (<https://string-db.org/>) kullanılarak oluşturuldu. Hub-MitoDEG'ler, Cytoscape yazılımı (sürüm 3.8.1) tarafından uygulanan CytoHubba (<https://apps.cytoscape.org/apps/cytohubba>) ve MCODE (<https://apps.cytoscape.org/apps/mcode>) eklentileri aracılığıyla seçildi. Özellikle, MCODE eklentisi aracılığıyla taranan protein etkileşim alt ağları için, tarama sürecinin parametre ayarları Derece Kesme: 2, Maksimum Derinlik: 100, K-Çekirdek:2 ve Düğüm Puanı Kesme: 0,2'yi içeriyordu. Daha sonra, CytoHubba eklentisi, PPI ağı içinde Matthews korelasyon katsayısı ≥ 60 olan hub genlerini seçmek için uygulandı. Sonuçlar birleştirilerek, ilk on hub-Mito-DEG seçildi.

BULGULAR

İfadesi Değişen Genlerin Analizi

Şekil 1. Gen ifadesi değişen gen sayıları ve volkano plot görüntüleri (Mavi noktalar azalmış ifadeyi-kırmızı noktalar artmış ifadeyi temsil etmektedir)



Örneklerin karşılaştırılması MCF 7 WT vs MDA MB 231 WT ve MCF 7 RR vs MDA MB 231 RR olarak gerçekleştirildi. MCF 7 WT vs MDA MB 231 WT grubunda ifadesi azalan 759 gen 655 ifadesi artan gen bulunmuştur. MCF 7 RR vs MDA MB 231 RR karşılaştırılmasında 693 ifadesi artan 1084 ifadesi azalan gen bulunmuştur. Daha sonra bu genler 1140 mitokondriyle ilişkili gen listesi ile karşılaştırılmış ve ortak gen sayıları şekilde gösterilmiştir (Şekil 1).

Farklı Olarak İfade Edilen Genlerin Fonksiyonel Zenginleştirme Analizi

DEG'lerin biyolojik özelliklerini belirlemek için, David çevrimiçi araçlarını kullanarak 1084 ifadesi azalan ve 693 ifadesi artan DEG üzerinde GO zenginleştirme analizi gerçekleştirildi. En az 10 genin kümelendiği biyolojik süreçler $p < 0,05$ 'e göre tarandı. Önemli zenginleşmeler biyolojik sürecinin esas olarak kromatin yeniden modellenme, sinyal iletimi, hücre bölünmesi, ATP aktivitesi ve protein kinaz aktivitesi ile ilişkili olduğunu gösterdi. KEGG yolak analizinde ise kanser yolağında, PI3K-Akt sinyal yolağında, Fokal adezyonda, MAPK sinyal yolağı ve metabolik yolakta toplandığını göstermiştir. Tablo 1 ve 2' de GO ve KEGG yolakları ayrıntılı gösterilmiştir.

Tablo 1. İfadesi artan ve azalan genlerin gen ontolojileri

Kategori	Term	Gen Sayısı
İfadesi azalan genlerin gen ontolojileri		
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006338~chromatin remodeling	64
	GO:0035556~intracellular signal transduction	36
	GO:0051301~cell division	31
	GO:0006468~protein phosphorylation	24
	GO:0007264~small GTPase-mediated signal transduction	17
	GO:0007596~blood coagulation	13
	GO:0030509~BMP signaling pathway	12
	GO:0051056~regulation of small GTPase mediated signal transduction	12
	GO:0032731~positive regulation of interleukin-1 beta production	11
	GO:0032755~positive regulation of interleukin-6 production	11
GOTERM_CC_DIRECT	GO:0001837~epithelial to mesenchymal transition	10
	GO:0001570~vasculogenesis	10
	GO:0005576~extracellular region	123
	GO:0005615~extracellular space	113
	GO:0046872~metal ion binding	171
	GO:0005524~ATP binding	97
	GO:0004672~protein kinase activity	31
	GO:0004674~protein serine/threonine kinase activity	29
	GO:0005096~GTPase activator activity	26
	GO:0005085~guanyl-nucleotide exchange factor activity	24
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0004677~DNA-dependent protein kinase activity	21
	GO:0008083~growth factor activity	16
	GO:0005125~cytokine activity	16
	İfadesi artan genlerin gen ontolojileri	
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007156~homophilic cell adhesion via plasma membrane adhesion molecules	19
	GO:0007416~synapse assembly	7
	GO:0007399~nervous system development	21
	GO:0007155~cell adhesion	24
	GO:0005886~plasma membrane	191
	GO:0005777~peroxisome	12
GOTERM_CC_DIRECT	GO:0005778~peroxisomal membrane	8
	GO:0005923~bicellular tight junction	12
	GO:0016020~membrane	175
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0030666~endocytic vesicle membrane	6
	GO:0005509~calcium ion binding	35
	GO:0005044~scavenger receptor activity	4
	GO:0008526~phosphatidylinositol transfer activity	3

Tablo 2. İfadesi artan ve azalan genlerin KEGG yolları

KEGG Yolları	Gen Sayısı
İfadesi Azalan Genler	
hsa05200: Kanserle ilişkili yollar	43
hsa04151: PI3K-Akt sinyal yolları	38
hsa04510: Fokal adezyon	29
hsa04010: MAPK sinyal yolları	26

hsa05206: Kanserde mikroRNA'lar	25
hsa05205: Kanserde proteoglikanlar	24
hsa04015: Rap1 sinyal yolu	21
hsa04621: NOD-benzeri reseptör sinyal yolu	20
hsa05130: Patojenik E. coli enfeksiyonu	20
hsa04014: Ras sinyal yolu	20
hsa04520: Adherens bağlantıları	16
hsa04630: JAK-STAT sinyal yolu	16
hsa04668: TNF sinyal yolu	15
hsa04350: TGF-beta sinyal yolu	14
hsa04512: ECM-reseptör etkileşimi	13
hsa01521: EGFR tirozin kinaz inhibitörü direnci	12
İfadesi Artan Genler	
hsa01100: Metabolik yollar	70
hsa04146: Peroksizom	9
hsa04530: Sıkı bağlantılar (Tight junction)	13
hsa04270: Damar düz kas kasılması	10
hsa00230: Pürin metabolizması	9
hsa04015: Rap1 sinyal yolu	12

İfadesi Değişen Mitokondri İlişkili Genlerin Analizi

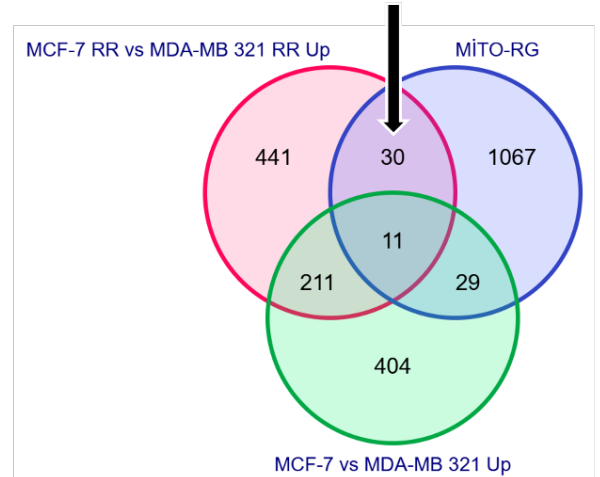
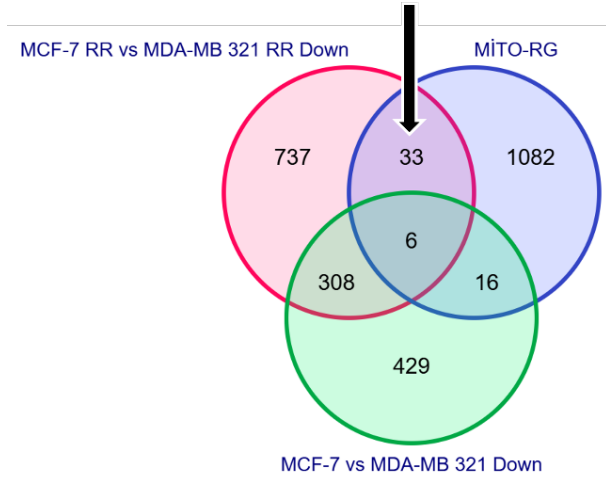
Radyoterapiden sonra MDA MB 231 hücrelerinde 30 mitokondri ilişkili gen azalmış ve 33 genin ifadesi artmıştır. Şekil 2 de farklı ifade edilen gen sayıları ve isimleri verilmiştir. Daha Mitokondri ilişki gen sayısı bulunmuştur

(Şekil 2). FH, IDH2, SHMT2, DBT, ALDH4A1, ALDH5A1, GOT2, HSDL2, ACS3 ve SDHC genleri hub mitokondri ilişkili genlerin ilk 10 tanesi olarak tanımlanmıştır. Bu genlerin daha önce yapılan çalışmalarda normal, tümör ve metastatik meme kanseri dokularındaki ifade seviyeleri TNMplot ile gösterilmiştir (Şekil 4).

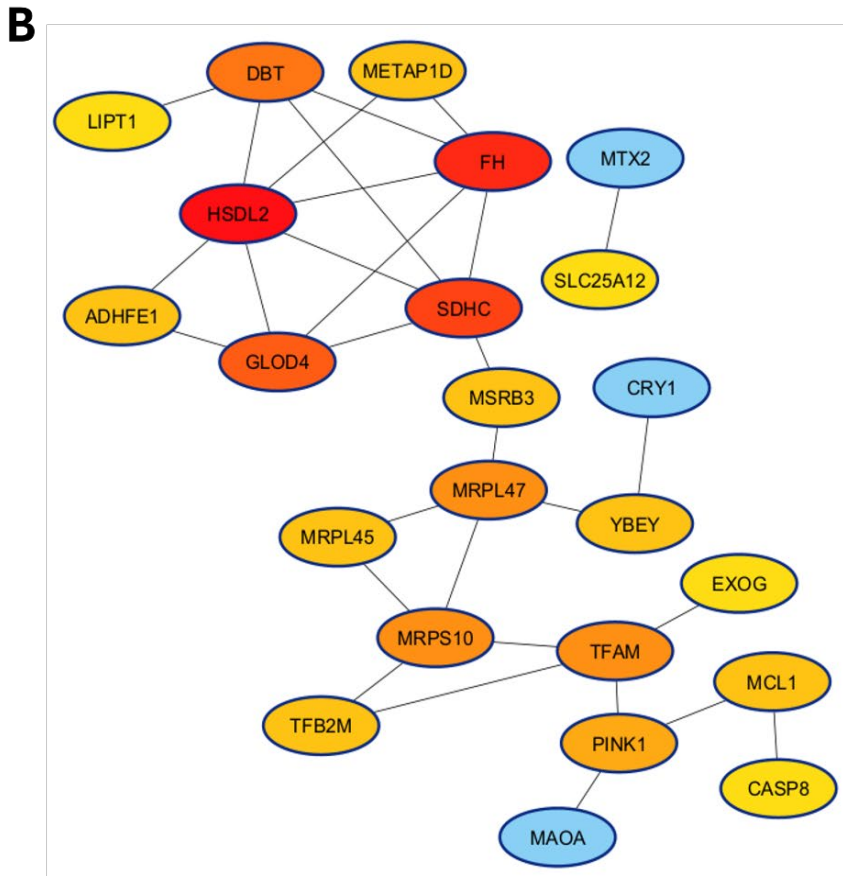
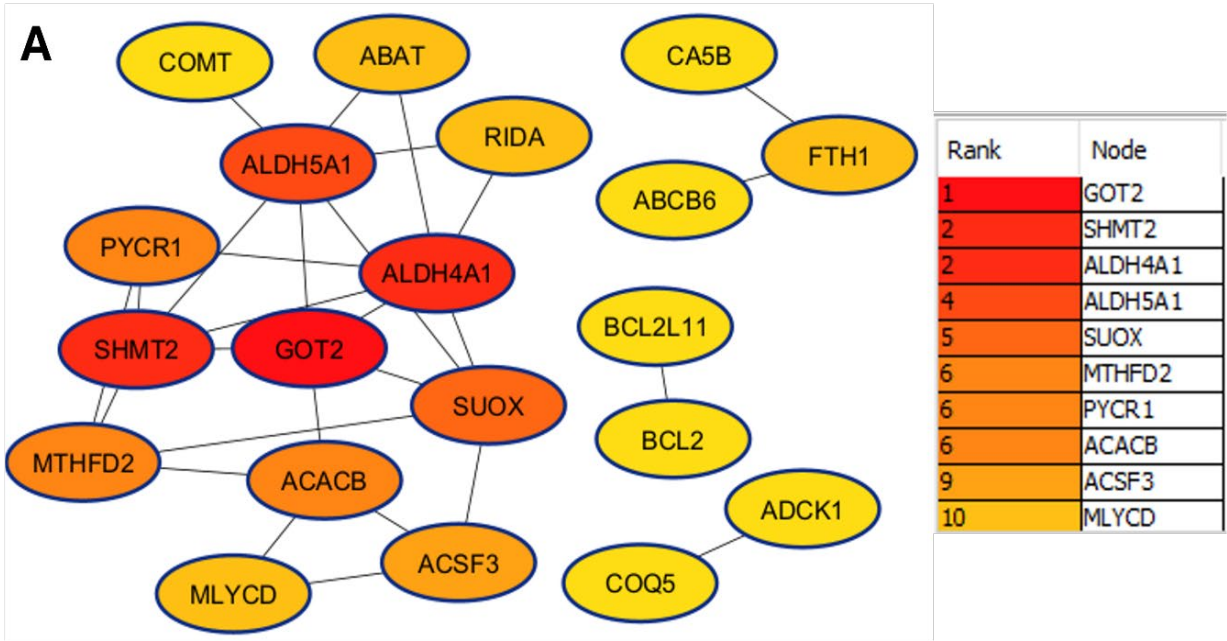
Şekil 2. İfadesi Değişen Mitokondri ilişkili Genlerin Analizi

ADHFE1 C15orf48 CASP8 CCDC127 CCDC90B
CISD1 CRY1 CYP27A1 DBT DTYMK EXOG FH
GLOD4 HSDL2 LIPT1 MAOA MCL1 METAP1D
MICU3 MOCS1 MRPL45 MRPL47 MRPS10 MSRB3
MTX2 PDP1 PINK1 SDHC SLC25A12 SLC30A9
TFAM TFB2M YBEY

ABAT ABCB6 ACACB ACSF3 ADCK1 AK3
ALDH4A1 ALDH5A1 BCL2 BCL2L1 CA5B
COMT COQ5 COX6C CROT DHRS1 FKBP10
FTH1 GOT2 LETMD1 MLYCD MRPS21
MTHFD2 PXMP4 PYCR1 RIDA RMDN1 SHMT2
SUOX TMLHE



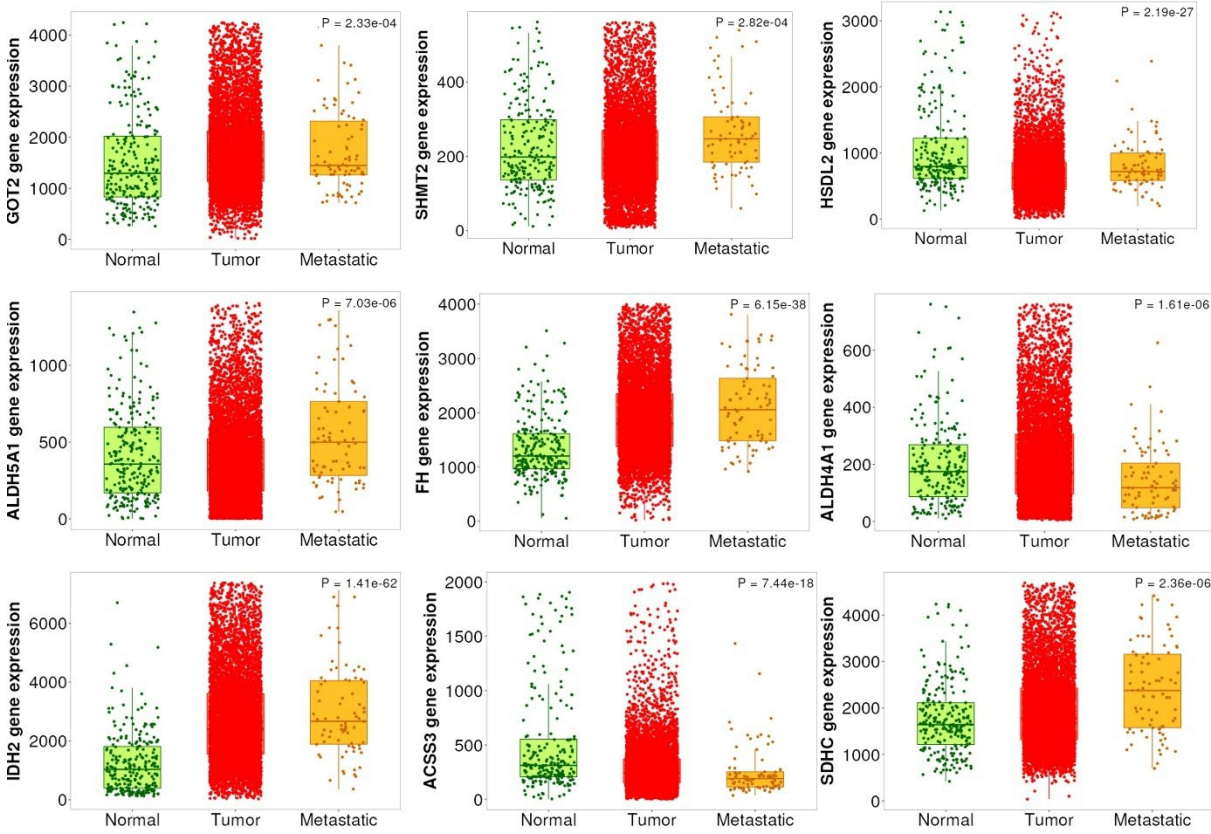
Şekil 3. Cytoscape PPI analizinin Cytohubba eklentisi ile 10 Hub-Mitokondri İlişki Gen Sayısı bulunmuştur A. Radyoterapiden sonra MDA MB 231 hücrelerinde 30 mitokondri ilişkili gen azalmıştır. Cytohubba Hub-Mitokondri İlişki Gen Sayısı Bulunmuştur B. Radyoterapiden sonra MDA MB 231 hücrelerinde 33 mitokondri ilişkili gen ifadesi artmıştır. (Kırmızıdan sarıya önem derecesi azalmaktadır)



PPI Etkileşim Ağı ve Modül Analizi

DEG'ler arasındaki ilişkileri araştırmak için, bir PPI ağı kurmak üzere STRING veritabanı kullanıldı. Ağ, 79 düğüm ve 5 kenar gösteren Cytoscape yazılımı kullanılarak görselleştirildi. Ayrıca, Cytoscape cytoHubba eklentisi hub genleri bulmak için kullanıldı. Artan ve azalan genlerin şekilleri ve genler şekil 3'te gösterilmiştir.

Şekil 4. İnsan normal ve meme tümörü örneklerinde Hub genlerin ekspresyonu. Kaplan–Meier Plotter tarafından sağlanan TNM çizimi verileri, meme kanserinde normal, tümör ve metastatik örneklerde ekspresyonunu göstermektedir



TARTIŞMA

Radyasyona direnç, meme kanseri tedavisinde zayıf sonuçlara yol açan antitümör tedavisinin etkinliğini azaltır. Bu nedenle, meme tümörü alt tiplerinin radyodirenciyle ilişkili genleri ve biyolojik süreçleri ortaya çıkarmak, radyasyon tedavisinden fayda görmeyebilecek hastaların seçilmesini destekleyebilir (15,16). Bu çalışmada, daha iyi kemoterapi yanıtıyla da ilişkili olan radyodirenciyle ilişkili mitokondriyal genleri ve yollar belirlenmiştir. En önemli mitokondri ile ilişkili genlere bakıldığında zaman FH, IDH2, SHMT2, DBT, ALDH4A1, ALDH5A1, GOT2, HSDL2, ACS3 ve SDHC genleri öne çıkmıştır.

FH geni, fumarat hidrataz enzimini kodlar ve krebs döngüsünün önemli bir bileşenidir. Bu enzim, fumaratı malata dönüştürerek enerji metabolizmasında merkezi bir rol oynar. FH gen ekspresyonunun azalması, meme kanseri hücrelerinde radyoterapinin metabolik ve biyolojik etkilerinin önemli bir göstergesi olabilir (17). Bu değişiklik hem hücre metabolizmasını hem de tedaviye yanıt mekanizmalarını etkileyerek klinik sonuçlara katkıda

bulunur. FH geninin ekspresyon düzeyindeki değişikliklerin mekanistik detaylarını anlamak, radyoterapi ile kombine edilecek hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine ışık tutabilir.

GOT2 (Glutamate oxaloacetate transaminase 2) geni, mitokondriyal bir enzim olup, aspartat ve glutamat arasındaki transaminasyon reaksiyonlarını katalize eder. GOT2, hücrelerde enerji metabolizması ve amino asit metabolizmasında kritik bir rol oynar. Meme kanseri hücrelerinde, özellikle metastatik hücrelerde, GOT2'nin ekspresyonu genellikle artmış olabilir, çünkü kanser hücreleri hızlı enerji üretimi ve amino asit dengesini sağlamak için bu enzimi daha fazla kullanır (18). Radyoterapi, kanser hücrelerinde genellikle mitokondriyal işlevi ve enerji üretimini bozar, bu da GOT2 gibi metabolizma ilişkili genlerin ekspresyonunun azalmasına yol açabilir. Radyoterapi sonrası GOT2'nin azalması, hücrenin mitokondriyal işlevinin zayıfladığını ve bu nedenle hücresel enerji üretiminin bozulduğunu gösterebilir.

IDH2, mitokondride yer alan bir enzim olan izositrat dehidrojenaz 2'yi kodlar. Bu enzim, Krebs döngüsü sırasında izositratı α -ketoglutarata (α -KG) dönüştürürken NADP+'yı NADPH'a indirger. Bu reaksiyon, hücre enerji metabolizması, oksidatif stres savunması ve epigenetik düzenleme üzerinde önemli etkilere sahiptir (19). Radyoterapi sonrası IDH2 gen ekspresyonunun artışı, hücrelerin oksidatif stres ve metabolik adaptasyon mekanizmalarını harekete geçirdiğini göstermektedir. Bu artış, hem hücrelerin hayatta kalmasına yardımcı olan koruyucu bir mekanizma hem de potansiyel tedavi hedefi olarak değerlendirilebilir. IDH2'nin rolünü daha iyi anlamak, radyoterapinin etkinliğini artıracak yeni kombinasyon tedavilerinin geliştirilmesine yol açabilir.

SHMT2 (Serine Hydroxymethyltransferase 2), mitokondriyal bir enzimdir ve karbon metabolizmasında önemli bir rol oynar. Özellikle serin ve glisin metabolizmasını düzenler ve hücrelerin DNA sentezi, epigenetik modifikasyonlar ve redoks dengesi gibi hayati süreçlerinde kullanılır (20). Radyoterapi sonrası SHMT2 ekspresyonunun azalması, DNA tamir mekanizmalarının ve nükleotid biosentezinin zayıfladığına işaret edebilir. Bu durum, hücrelerin radyoterapi sonrası hayatta kalmasını zorlaştırabilir çünkü DNA hasarını onaramazlar ve bu da hücre ölümüne yol açabilir.

DBT (Dihidrolipoamid Branched-Chain Acyltransferase), dallanmış zincirli amino asitlerin (valin, lösin, izolösin) metabolizmasında önemli bir rol oynayan bir mitokondriyal enzimdir. DBT, dallanmış zincirli α -keto asit dehidrojenaz kompleksinin bir alt birimidir ve enerji üretimi, hücre büyümesi ve metabolik homeostaz için gereklidir (21). DBT gen ekspresyonunun azalması, radyoterapinin hücre metabolizmasında yol açtığı geniş kapsamlı değişikliklerin bir yansımasıdır. Bu azalma, enerji üretimi ve hücre hayatta kalma mekanizmalarını etkileyerek tedaviye duyarlılığı artırabilir. DBT'nin fonksiyonel rolünü daha ayrıntılı incelemek, radyoterapi ile birleştirilebilecek yeni metabolik hedefler belirlenmesine olanak sağlayabilir.

ALDH (Aldehit Dehidrojenaz) enzim ailesi, aldehitlerin detoksifikasyonu, oksidatif stres savunması ve enerji metabolizmasında önemli bir rol oynar. ALDH4A1 ve ALDH5A1 genlerinin radyoterapi sonrası artışı, hücrelerin oksidatif stres ve metabolik adaptasyon süreçlerini harekete geçirdiğini gösterebilir (22). ALDH4A1 ve ALDH5A1

gen ekspresyonunun artışı, radyoterapinin neden olduğu oksidatif stresle başa çıkmak ve enerji metabolizmasını düzenlemek için hücre adaptasyon mekanizmalarını harekete geçirdiğini gösterir. Ancak bu adaptasyon, kanser hücrelerinde radyoterapiye karşı direnç gelişimine de yol açabilir. Bu genlerin rolünü daha detaylı anlamak, radyoterapinin etkinliğini artıracak yeni kombinasyon tedavileri geliştirilmesine yardımcı olabilir.

Radyoterapi sonrası meme kanseri hücrelerinde gen ekspresyon profillerindeki değişiklikler, hücrelerin oksidatif stres, enerji metabolizması ve apoptotik süreçlere adaptasyon sağlama çabalarını yansıtmaktadır. Özellikle DBT gibi azalan genler, enerji metabolizmasının baskılanması ve hücre sel zayıflamayı işaret ederken; IDH2, ALDH4A1 ve ALDH5A1 gibi artış gösteren genler, metabolik ve oksidatif stres yanıtını güçlendiren mekanizmaları temsil etmektedir. Bu genler, radyoterapiye duyarlılık ve direnç mekanizmalarının anlaşılmasında önemli ipuçları sunarak, biyobelirteç ve terapötik hedef adayları olarak değerlendirilebilir.

SONUÇLAR

Biyobelirteçler, kanser gibi kompleks hastalıklarda tanı, tedavi ve prognoz süreçlerini iyileştirmek için kritik öneme sahiptir. Erken teşhis, kişiselleştirilmiş tedavi, tedavi yanıtının izlenmesi ve direnç mekanizmalarının tespiti gibi alanlarda kullanılarak hasta yönetimini optimize eder. Ayrıca, noninvaziv izleme ve yeni terapötik hedeflerin keşfi için de değerli araçlardır. Bu özellikleriyle biyobelirteçler, modern onkoloji ve tedavi stratejilerinin temel taşlarından biridir (23,24).

Bu çalışmada, GSE210306 veri setinden elde edilen transkriptomik veriler kullanılarak metastatik ve metastatik olmayan meme kanseri hücrelerinde radyoterapinin mitokondri ilişkili yolaklar üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmamız, radyoterapinin hücresel enerji metabolizması, oksidatif stres yanıtı ve apoptoz mekanizmalarındaki rolünü anlamayı amaçlamaktadır. Veri analizi, radyoterapi uygulamasının mitokondriyal gen ekspresyon profillerinde belirgin değişikliklere neden olduğunu göstermiştir. Reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminde artış ve oksidatif fosforilasyonda yer alan genlerin farklı ekspresyon seviyeleri tespit edilmiştir. Metastatik hücrelerde, radyoterapinin terapötik etkilerine karşı direnç geliştiren

özgün mitokondriyal adaptasyonlar gözlemlenmiştir. Bu farklılıklar, metastatik olmayan hücrelere kıyasla daha belirgin metabolik ve sinyal yolları değişikliklerini ortaya koymuştur. Bu bulgular, radyoterapinin mitokondri ilişkili yollar üzerindeki etkilerinin metastatik süreçlere olan katkısını ve bu etkilerin terapiye direnç mekanizmalarıyla ilişkisini anlamada önemli bilgiler sunmaktadır. Çalışmamız, radyoterapinin etkinliğini artırmak için mitokondriyi hedef alan yeni tedavi stratejileri geliştirilmesine yönelik önemli bir temel sağlamaktadır.

Etik: Metodolojik olarak bu çalışma etik kurul onayı gerektirmemektedir.

Ethics: Methodologically, this study does not require an ethics committee.

Yazar katkı durumu; Çalışmanın konsepti; AKG, dizaynı; AKG, Literatür taraması; AKG, verilerin toplanması ve işlenmesi; AKG, istatistik; AKG, yazım aşaması; AKG.

Author contribution status; The concept of the study; AKG, design; AKG, literature review; AKG, collecting and processing data; AKG, statistics; AKG, writing phase; AKG.

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

The author declares no conflict of interest.

Finansal Destek: yoktur / Funding: none

doi: <https://doi.org/10.33713/egedbd.1597405>

KAYNAKLAR

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* (2021) 71:209–49. doi: 10.3322/caac.21660. [CrossRef]
2. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* (2011) 144:646–74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013. [CrossRef]
3. Spencer NY, Stanton RC. The warburg effect, lactate, and nearly a century of trying to cure cancer. *Semin Nephrol.* (2019) 39:380–93. doi: 10.1016/j.semnephrol.2019.04.007. [CrossRef]
4. Chen F, Chen J, Yang L, Liu J, Zhang X, Zhang Y, et al. Extracellular vesicle-packaged HIF-1 α -stabilizing lncRNA from tumour-associated macrophages regulates aerobic glycolysis of breast cancer cells. *Nat Cell Biol.* (2019) 21(4):498–510. doi: 10.1038/s41556-019-0299-0. [CrossRef]
5. Smolková K, Plecítá-Hlavatá L, Bellance N, Benard G, Rossignol R, Ježek P. Waves of gene regulation suppress and then restore oxidative phosphorylation in cancer cells. *Int J Biochem Cell Biol.* (2011) 43:950–68. doi: 10.1016/j.biocel.2010.05.003. [CrossRef]
6. Chew EGY, Lim TC, Leong MF, Liu X, Sia YY, Leong ST, et al.

Observations that suggest a contribution of altered dermal papilla mitochondrial function to androgenetic alopecia. *Exp Dermatol.* (2022) 31(6):906–17. doi: 10.1111/exd.14536. [CrossRef]

7. Kirtonia A, Sethi G, Garg M. The multifaceted role of reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cell Mol Life Sci.* (2020) 77:4459–83. doi: 10.1007/s00018-020-03536-5. [CrossRef]

8. Lee HY, Nga HT, Tian J, Yi HS. Mitochondrial metabolic signatures in hepatocellular carcinoma. *Cells.* (2021) 10:1901. doi: 10.3390/cells10081901. [CrossRef]

9. Zhang G, Frederick DT, Wu L, Wei Z, Krepler C, Srinivasan S, et al. Targeting mitochondrial biogenesis to overcome drug resistance to MAPK inhibitors. *J Clin Invest.* (2016) 126(5):1834–56. doi: 10.1172/JCI82661. [CrossRef]

10. Guo X, Xiang C, Zhang Z, Zhang F, Xi T, Zheng L. Displacement of bax by BMF mediates STARD13 3'UTR-induced breast cancer cells apoptosis in an miRNA-dependent manner. *Mol Pharm.* (2018) 15:63–71. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut. [CrossRef]

11. Greene KS, Lukey MJ, Wang X, Blank B, Druso JE, Lin MJ, et al. SIRT5 stabilizes mitochondrial glutaminase and supports breast cancer tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* (2019) 116(52):26625–32. doi: 10.1073/pnas.1911954116. [CrossRef]

12. Hekmatshoar, Y., Rahbar Saadat, Y., Ozkan, T., Bozkurt, S., & Karadağ Gürel, A. (2023). Identification of common genes and pathways underlying imatinib and nilotinib treatment in CML: a Bioinformatics Study. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids,* 43(7), 664–684. Doi:10.1080/15257770.2023.2296021. [CrossRef]

13. Karadağ Gürel A, Gürel S. To detect potential pathways and target genes in infantile Pompe patients using computational analysis. *Bioimpacts.* 2022;12(2):89-105. doi: 10.34172/bi.2022.23467. [CrossRef]

14. Karadağ A, Gürel S (01 Ağustos 2022) Pediatrik Obezite ile ilişkili Anahtar Genlerin ve Yolların Tanımlanması. *Ege Tıp Bilimleri Dergisi* 5 2 51–57. Doi: 10.33713/egedbd.1156405 [CrossRef]

15. Kwon YS, Lee MG, Baek J, Kim NY, Jang H, Kim S. Acyl-CoA synthetase-4 mediates radioresistance of breast cancer cells by regulating FOXM1. *Biochem Pharmacol.* 2021 Oct;192:114718. DOI: 10.1016/j.bcp.2021.114718. [CrossRef]

16. Jabbari N, Akbariazar E, Feqhhi M, Rahbarghazi R, Rezaie J. Breast cancer-derived exosomes: Tumor progression and therapeutic agents. *J Cell Physiol.* 2020 Oct;235(10):6345-6356. Doi: 10.1002/jcp.29668. [CrossRef]

17. Kiuru, M., Lehtonen, R., Eerola, H. et al. No germline FH mutations in familial breast cancer patients. *Eur J Hum Genet* 13, 506–509 (2005).Doi:10.1038/sj.ejhg.5201326 [CrossRef]

18. Kerk SA, Garcia-Bermudez J, Birsoy K, Sherman MH, Shah YM, Lyssiotis CA. Spotlight on GOT2 in Cancer Metabolism. *Onco Targets Ther.* 2023 Aug 22;16:695-702. Doi: 10.2147/OTT.S382161 [CrossRef]

19. Li, Jj., Yu, T., Zeng, P. et al. Wild-type IDH2 is a therapeutic target for triple-negative breast cancer. *Nat Commun* 15, 3445 (2024). Doi: 10.1038/s41467-024-47536-6. [CrossRef]

- 20.** Liu, Z., Fan, M., Hou, J. et al. Serine hydroxymethyltransferase 2 knockdown induces apoptosis in ccRCC by causing lysosomal membrane permeabilization via metabolic reprogramming. *Cell Death Dis* 14, 144 (2023). Doi:10.1038/s41419-023-05677-4 [CrossRef]
- 21.** Lai SW, Weng PW, Yadav VK, Pikatan NW, Yeh CT, Hsieh MS, Chou CL. Underlying mechanisms of novel cuproptosis-related dihydrolipoamide branched-chain transacylase E2 (DBT) signature in sunitinib-resistant clear-cell renal cell carcinoma. *Aging (Albany NY)*. 2024 Feb 1;16(3):2679-2701. doi: 10.18632/aging.205504. [CrossRef]
- 22.** Xia J, Li S, Liu S, Zhang L. Aldehyde dehydrogenase in solid tumors and other diseases: Potential biomarkers and therapeutic targets. *MedComm* (2020). 2023 Jan 16;4(1):e195. Doi: 10.1002/mco2.195. [CrossRef]
- 23.** Karadağ Gürel A, Gürel S. Identification of novel potential molecular targets associated with pediatric septic shock by integrated bioinformatics analysis and validation of in vitro septic shock model: Identifies hub genes associated with pediatric septic shock. *J Surg Med* . 2022 Dec. 1 ;6(12):932-8.Doi: 10.28982/josam.7461. [CrossRef]
- 24.** Hekmatshoar Y, Karadağ Gürel A. Entegre miRNA/mRNA düzenleyici ağ analizi ile Glioblastomda temozolomid direnç faktörlerinin belirlenmesi. *Ege Tıp Bilimleri Dergisi* 6 3 73–83. Doi: 10.33713/egetbd.1400022. [CrossRef]