

# Farklı Meme Kanseri Hücre Hatlarında Karnitin Metabolizmasının İncelenmesi

## Investigation of Carnitine Metabolism in Different Breast Cancer Cell Lines

Şükrü AKMEŞE<sup>1</sup>, Ebru TEMİZ<sup>2</sup>, İsmail KOYUNCU<sup>3</sup>, Hüseyin TAŞKIRAN<sup>4</sup>, Mehmed Zahid TÜYSÜZ<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Harran Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri Programı, Şanlıurfa, Türkiye

<sup>2</sup>Harran Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Tanıtım ve Pazarlama Programı, Şanlıurfa, Türkiye

<sup>3</sup>Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

<sup>4</sup>Medikal Park Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye

<sup>5</sup>Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

### Öz.

**Amaç:** Meme kanseri (MK), iyi prognozlu tedavi edilebilir bir hastalıktan tedavi edilemeyen kötü prognozlu metastatik hastalığa kadar değişkenlik gösteren heterojen bir hastalıktır. Günümüzde meme kanseri tanısı çoğunlukla görüntüleme teknikleri kullanılarak yapılmakta ve değişen faktörlerin etkisi (meme dokusunun yoğunluğu, yaş vs.) bu yöntemi sınırlamaktadır. Ayrıca serum ve doku belirteçleri ile tanı konularak hastalığın seyri takip edilmektedir. Meme kanserinin tanısının konulmasında ve patolojisinin belirlenmesinde başarılı, hızlı, güvenilir ve erken saptamada kullanılabilecek biyo-belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Standart tanı yöntemlerinin sahip olduğu sınırlamaların üstesinden gelebilmek için metabolomikler yeni bir yaklaşım olmuştur. Metabolomik yaklaşımı doku, serum veya idrar gibi biyolojik numunelerde çok düşük ağırlıklı (<1kDa) metabolitlerin teşhisini olanak sağlamaktadır. Bu metabolitlerden biri olan serbest karnitin ve açıl karnitinler hem bir biyo-belirteç olarak hem de meme kanserinin metabolizmasının, gelişiminin ve ilerlemesinin anlaşılmasında önemli hale gelmiştir. Bu çalışmada meme kanseri patolojisinde değişen karnitinlerin tespit edilmesi ve erken tanısında kullanılabilecek biyo-belirteçlerin saptanması hedeflenmiştir.

**Materyal ve metod:** Farklı meme kanseri hücre hatları olan MCF-7 (ER+/PR+), MDA-MB 231(ER-/PR-/HER2-) ve CRL-4010 (normal) hücreleri çoğaltılarak homojenize edildi ve elde edilen hücre lizatları gutria kağıdına damlatılarak kurutuldu. Uygun prosedürde LC-MS/MS cihazı kullanılarak çalışıldı. Sonuçlar SPSS 25.0 ve metaboanalyst programları değerlendirildi.

**Bulgular:** Serbest karnitin ve karnitin esterleri kanser hücre hatlarında (MCF-7 ve MDA-MB-231) kontrol hücreye (CRL-4010) göre yüksek bulundu. MCF-7 hücrelerinde CRL-4010 ve MDA-MB-231 hücrelerine göre C5-OH, C12, C3, C5:1, C14:1, C10, C0, C6 ve C14:2 karnitinleri belirgin olarak artmış; MDA-MB-231 hücrelerinde MCF-7 ve CRL-4010 hücrelerine göre C14, C16, C5, C8:1 ve C18 karnitinlerinin arttığı ve C10DC, C4 ve C10:1 karnitinlerinin ise kanser hücrelerinde kontrol hücrelerine göre artış gösterdiği bulunmuştur. Kanser biyo-belirteç adayları olabilecek karnitinler ise MCF-7 ve MDA-MB-231 kanser hücrelerini CRL-4010 kontrol hücrelerinden ayırmada C0; MDA-MB-231 ve MCF-7 kanser hücrelerini birbirinden ayırmada ise C5-OH biyo-belirteç adayları olarak tespit edildi.

**Sonuç:** Bu sonuçlara göre karnitinler, kontrol grubunu kanserli gruptan ayırmada başarılı olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010, Karnitin Metabolizması

### Abstract

**Background:** Breast cancer (BC) is a heterogeneous disease that ranges from a treatable disease with a good prognosis to metastatic disease with an incurable poor prognosis. Today, the diagnosis of breast cancer is mostly made using imaging techniques and the effect of changing factors (density of breast tissue, age, etc.) limits this method. In addition, the course of the disease is followed by diagnosis with serum and tissue markers. There is a need for successful, rapid, reliable and early detection biomarkers that can be used in the diagnosis and pathology of breast cancer. Metabolomics has been a new approach to overcome the limitations of standard diagnostic methods. Its metabolomics approach enables the diagnosis of very low weight (<1kDa) metabolites in biological samples such as tissue, serum or urine. Free carnitine and acyl carnitines, one of these metabolites, have become important both as a biomarker and in understanding the metabolism, development and progression of breast cancer. In this study, it was aimed to detect the changing carnitines in the pathology of breast cancer and to determine the biomarkers that can be used in the early diagnosis.

**Materials and Methods:** Different breast cancer cell lines MCF-7 (ER+/PR+), MDA-MB 231(ER-/PR-/HER2-) and CRL-4010 (normal) cells were multiplied and homogenized, and the obtained cell lysates were dried by dripping on gutria paper. It was studied using the LC-MS/MS device in the appropriate procedure. Results SPSS 25.0 and metaboanalyst programs were evaluated.

**Results:** Free carnitine and carnitine esters were found to be higher in cancer cell lines (MCF-7 and MDA-MB-231) compared to control cells (CRL-4010). C5-OH, C12, C3, C5:1, C14:1, C10, C0, C6 and C14:2 carnitines were significantly increased in MCF-7 cells compared to CRL-4010 and MDA-MB-231 cells; It was found that C14, C16, C5, C8:1 and C18 carnitines increased in MDA-MB-231 cells compared to MCF-7 and CRL-4010 cells, and C10DC, C4 and C10:1 carnitines increased in cancer cells compared to control cells. Carnitines, which can be cancer biomarker candidates, are C0 in differentiating MCF-7 and MDA-MB-231 cancer cells from CRL-4010 control cells; C5-OH was identified as a candidate for biomarker in distinguishing between MDA-MB-231 and MCF-7 cancer cells.

**Conclusions:** According to these results, carnitines were found to be successful in separating the control group from the cancerous group.

**Keywords:** MCF-7, MDA-MB-231, CRL-4010, Carnitine Metabolism

### Sorumlu Yazar / Corresponding Author

**Dr. Ebru TEMİZ**

Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya A.D. Osmanbey kampüsü, Şanlıurfa-Mardin Karayolu Üzeri 18.Km Şanlıurfa/Türkiye

E-mail: ebrutemiz90@gmail.com

Geliş tarihi / Received: 10.03.2021

Kabul tarihi / Accepted: 06.04.2021

DOI: 10.35440/hutfd.1085974

## Giriş

Meme kanseri (MK), iyi prognozlu tedavi edilebilir bir hastalıktan tedavi edilemeyen kötü prognozlu metastatik hastalığa kadar değişkenlik gösteren heterojen bir hastalıktır (1). MK günümüzde hem gelişmiş hem de az gelişmiş ülkelerde görülebilen yüksek insidans ve mortaliteye sahip bir kanser türüdür (2). Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) ve Ki67 ekspresyonuna bağlı olarak meme kanseri dört ana alt tipte sınıflandırılmaktadır (3). Bu sınıflandırma yöntemi ile kişiye özel terapötik strateji belirlenerek hastalığın klinik seyri iyileştirilebilir ama ilerlemiş meme kanserinin prognozu kötüdür. Bu yüzden erken tanı ve tedavi iyileşmeyi, yaşam kalitesini ve sağkalım oranı önemli bir şekilde artırılabilir (2, 4). Meme kanserinde günümüzde kullanılan tanı yöntemleri arasında mamografi, manyetik rezonans, bilgisayarlı tomografi, pozitron emisyon tomografisi ve tek foto emisyon bilgisayarlı tomografi gibi görüntüleme teknikleri bulunmaktadır. Ancak bu görüntüleme tekniklerinin yoğun meme dokusunda duyarsızlık, uygulayıcının yeteneği, zaman ve maliyet gibi yaş farklılıkları için uygunluk gibi sınırlamaları ve dezavantajları bulunmaktadır (4, 5). Ek olarak CA 15.3, karsinoembriyonik antijen (CEA), CA 549-MUC-1 ailesi, BR 27.29, MCA ve sitokeratinler gibi serum belirteçleri, BRCA1 ve BRCA2 gibi genetik belirteçler ve ER, PR, HER2, ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA) ve plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI-1) ve katepsin D gibi doku belirteçleri tanı ve tedaviyi belirlemede kullanılan moleküler yöntemlerdir (6). Moleküler yöntemlerde kanserin erken tanısında başarısızdır ve tedaviden veya hastalık durumundan etkilenebilirler. Bu nedenlerle meme kanserinin alt tiplerini ayırmada başarılı, hızlı, güvenilir ve erken saptamada kullanılabilecek biyo-belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır (5). Kanser tanısında kullanılan standart tanı yöntemlerinin var olan sınırlamaların ve dezavantajların üstesinden gelebilmek için metabolomik yeni bir yaklaşım olarak hızlı bir şekilde bilim dünyasında yerini almıştır (7). Son yıllarda kolorektal, böbrek, akciğer, beyin ve meme gibi birçok kanser türünde metabolomik çalışmalar başarılı bir şekilde devam etmektedir (8). Metabolomik yaklaşımı doku, serum veya idrar gibi biyolojik numunelerde çok düşük ağırlıklı (<1kDa) metabolitlerin teşhisini sağlamaktadır. Bu metabolitlerden biri olan serbest karnitin ve açilkarnitinler hem bir biyobelirteç olarak hem de meme kanserinin metabolizmasının, gelişiminin ve ilerlemesinin anlaşılmasında önemli hale gelmiştir (9, 10). Karnitin karaciğer, beyin ve böbrekte sentezlenebilen bir aminoasit türevidir. Karnitin uzun zincirli yağ asitlerini mitokondri matriksine ve kısa zincirli yağ asitlerini mitokondriden sitozole taşıyarak enerji üretiminde görev yapmaktadır. Ayrıca karnitin mitokondrideki Koenzim A ve Asetil-CoA oranını stabilize etmek, membran bütünlüğünü korumak ve laktat üretimini azaltmak gibi fonksiyonları da bulunmaktadır (11, 12).

Tümörlerin gelişmesinde ve büyümesinde uyarıcı rolleri

bulunan ATP, NADH, FADH<sub>2</sub> ve NADPH gibi faktörlerin karnitin kaynaklı yağ asidi oksidasyonu ile üretimlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Karnitin palmitoiltransferaz'ın çeşitli tümör dokularında up-regüle olduğunu ve tümör vazkularizasyonunda rol oynadığı bildirmiştir (12). Bu çalışmada meme kanseri patolojisinde değişen karnitinlerin tespit edilmesi ve erken tanısında kullanılabilecek biyo-belirteçlerin hızlı ve güvenilir bir yöntem olan LCMS/MS cihazı kullanılarak saptanması hedeflenmiştir.

## Materyal ve Metod

### Hücre Kültürü

Çalışmada ATCC den temin edilip, sıvı azotta stokladığımız kanser ve normal hücre hatları kullanıldı. MCF-7 (meme kanseri hücresi), MDA-MB-231 (meme kanseri hücresi) ve CRL-4010 (meme normal hücresi) %10 Fetal Bovine Serum (FBS), 100 µg/mL streptomisin/ 100IU/ mL penisilin eklenmiş DMEM: F-12 /RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, ABD) besiyerinde nemli atmosferde, %5 CO<sub>2</sub>, %95 hava içeren inkübatörde 37 °C'de kültüre edildi.

### Hücre Homojenizasyonu ve Karnitin Profillemesi

Hücreler 75 cm<sup>2</sup>lik kaplarda %80-90 çoğaldıktan sonra besiyeri uzaklaştırılarak tripsinizasyon yöntemi ile kaldırıldı. Kaldırılan hücreler 1000 rpm 5 dk santrifüj edildi ve oluşan pellet üzerine soğuk lizis buffer eklendi. Tissuelyser kullanılarak homojenize edilen hücreler sonra 1000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. 5 µl gutria kağıdına damlatılarak 25°C'de gece boyunca kurutulduktan sonra kesilerek temiz tüplere alındı ve karnitin tarama kiti kullanıldı. Kısaca kit prosedürüne göre, gutria kâğıdı üzerine 200 µl internal standart eklenerek 30 dk azot gazı altında kurutuldu. Kuruduktan sonra 60 µl DRVT eklenerek 60 °C de 30 dk inkübasyona bırakılarak türevlendirildi ve 30 dk azot gazı altında 30 dk kurutuldu. Üzerine 100 µl mobil faz (asetonitril: metanol: formik asit) solüsyonu eklenerek LC-MS/MS (Shimadzu 8040, Japan) cihazında 3 tekrarlı çalışıldı ve veriler değerlendirildi.

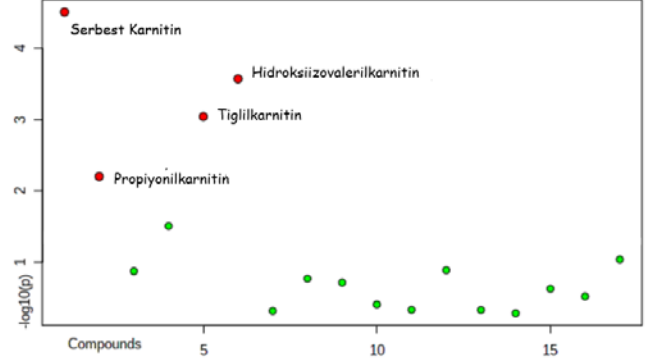
### İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS versiyon 22.0 (SPSS Inc.) kullanılarak istatistiksel analizi yapıldı ve ortalama ± standart sapma (Sd) olarak sonuçlar verildi. Gruplar arasındaki farklılıklar Kruskal-Wallis testi ile ardından Tamhane testi kullanılarak analiz edildi ve p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. Çok değişkenli istatistiksel analiz için MetaboAnalyst 5.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>) kullanıldı. Principal Component Analysis (PCA) ile gruplar arasındaki ayrışma ve kümeleşme belirlendi. Bu ayrışma ve kümeleşmeye katkısı olan karnitinleri tespit etmek için Variable Importance in Projection (VIP) skorları bulundu. Ayrıca gruplar arasında değişim gösteren karnitinlerin yoğunluklarını görselleştirmek amacıyla ısı haritası oluşturuldu.

## Bulgular

Serbest karnitin ve karnitin esterleri kanser hücre hatlarında (MCF-7 ve MDA-MB-231) kontrol hücreye (CRL-4010) göre yüksek bulundu (Tablo 1). Ancak bunlardan C0, C3, C5:1 ve C5-OH gruplar arasında anlamlı bir değişim gösterdi ( $p < 0.05$ ). C0'daki yükseliş kanser hücre hatlarında kontrol hücre hatlarına göre ve MCF-7 hücre hatlarında MDA-MB-231 hücre hattına göre anlamlı bulundu. C3, C5:1 ve C5-OH karnitin esterlerindeki yükseliş CRL-4010 ve MDA-MB-231 hücre hatlarına göre MCF-7 hücre hattında anlamlı bulundu.

Gruplar arasında Kruskal Wallis test analizine göre anlamlı ve anlamsız değişen karnitinler Şekil 1'de gösterilmiştir. Kırmızı küreler anlamlı şekilde değişim gösteren karnitinleri yeşil renkli küreler ise anlamlı değişim göstermeyen karnitinleri temsil etmektedir.



Şekil 1. Kruskal Wallis Test analizi.

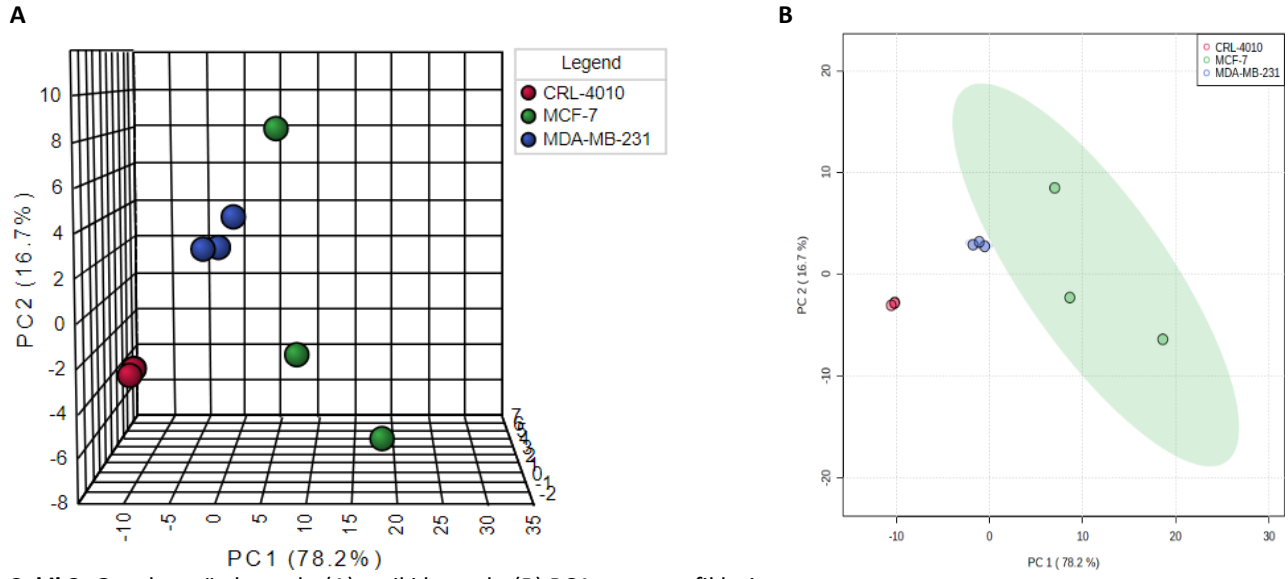
Tablo 1. Karnitin kompozisyonunun kantitatif analizi.

Yaygın isim	Kısaltma	Gruplar (Ort±Sd)			Post-Hoc
		CRL-4010	MCF-7	MDA-MB-231	
Serbest Karnitin	C0	2,520±0,247	21,761±2,963	13,199±0,458	MCF-7-CRL-4010; MDA-MB-231-CRL-4010; MDA-MB-231-MCF-7
Propiyonilkarnitin	C3	0,168±0,008	4,009±1,708	0,726±0,043	MCF-7-CRL-4010; MDA-MB-231-MCF-7
Butirilkarbitin	C4	0,153±0,007	0,580±0,388	0,571±0,184	
İzovalerilkarnitin	C5	0,118±0,073	0,387±0,290	0,632±0,032	
Tiglikarnitin	C5:1	0,0091±0,0034	0,087±0,022	0,022±0,008	MCF-7-CRL-4010; MDA-MB-231-MCF-7
Hidroksiizovalerilkarnitin	C5-OH	0,0086±0,0040	0,139±0,032	0,019±0,004	MCF-7-CRL-4010; MDA-MB-231-MCF-7
Heksanoilkarnitin	C6	0,011±0,003	0,303±0,044	0,156±0,018	
Oktenoilkarnitin	C8:1	0,0027±0,0021	0,112±0,095	0,285±0,257	
Dekanoilkarnitin	C10	0,0078±0,0038	0,653±0,615	0,222±0,200	
Dekenoilkarnitin	C10:1	0,0019±0,0015	0,205±0,195	0,198±0,163	
Sebakoilkarnitin	C10DC	0,0013±0,0005	0,016±0,014	0,016±0,010	
Dodekanoilkarnitin	C12	0,0209±0,0144	0,970±0,940	0,593±0,482	
Miristoilkarnitin	C14	0,072±0,050	0,243±0,171	0,646±0,645	
Miristoleilkarnitin	C14:1	0,0007±0,0005	0,080±0,031	0,055±0,052	
Tetradekadienilkarnitin	C14:2	0,0007±0,0001	0,023±0,022	0,010±0,010	
Palmitoilkarnitin	C16	0,282±0,152	0,800±0,497	3,206±3,041	
Stearoilkarnitin	C18	0,105±0,090	0,174±0,066	0,257±0,040	

### Temel Bileşen Analizi ile grupların ayrılması

Gruplardaki örneklerin dağılımlarını görselleştirmek amacıyla temel bileşen analizi (Principal Component Analysis (PCA)) testi yapıldı ve sonuçlar iki ve üç boyutlu görseller olarak verildi (Şekil 2). PCA'ya göre gruplar arasında belirgin bir ayrışma ve kümeleşme görüldü.

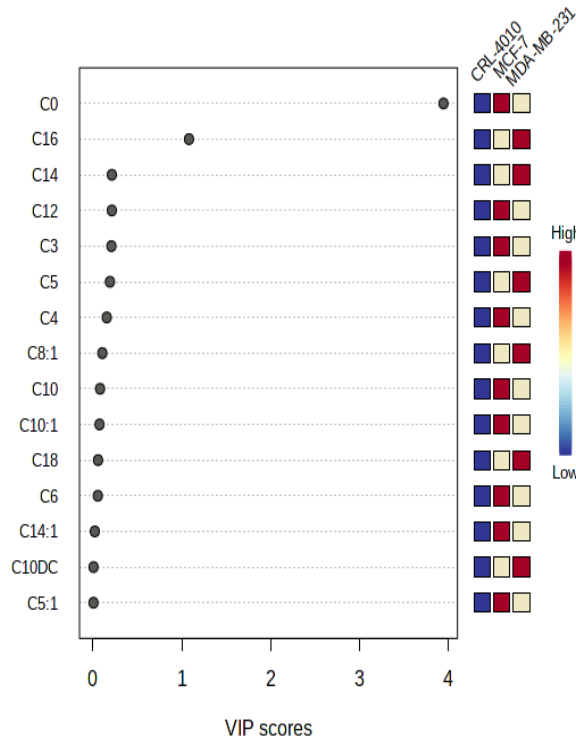
Bu sonuçlara göre karnitinler kontrol grubunu kanserli gruptan ayırmada başarılı bulundu. Ek olarak kanser hücre hatlarını ise birbirinden ayırmada kısmi başarı gösterdi.



Şekil 2. Grupların üç boyutlu (A) ve iki boyutlu (B) PCA puan grafikleri.

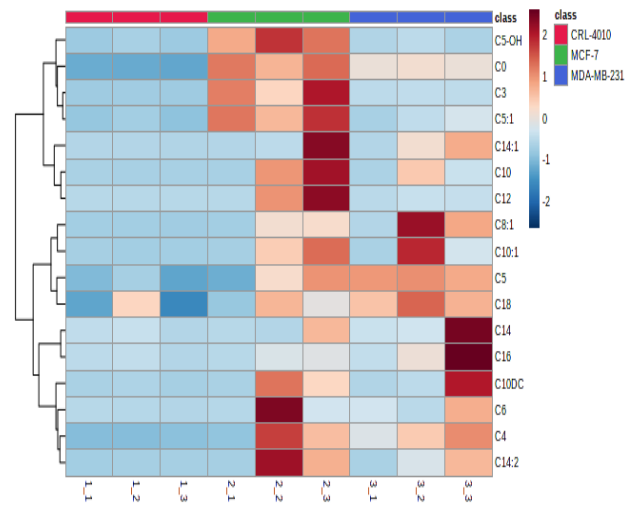
### Diferansiyel Karnitinlerin Taranması

Gruplardaki ayrışmaya katkıları olan karnitinleri sıralayan değişken önem grafiği (variable importance in the projection (VIP)) çizildi (Şekil 3). VIP skoru en yüksek 15 karnitin sıralandığı grafikte en yüksek skora sahip olan serbest karnitin (C0) oldu. VIP skoru ne kadar yükselirse ayrışmaya olan katkıları da o kadar yüksek olmaktadır. Grafikteki mavi ve kırmızı kutucuklar beyaz kutucuklara sırasıyla aşağı ve yukarı regülasyonu göstermektedir.



Şekil 3. Karnitinleri önem sırasına göre sıralayan VIP grafiği.

Kanser hücrelerinde ve kontrol hücrelerindeki 17 karnitin yoğunlukları ısı haritası ile gösterildi (Şekil 4). Isı haritasındaki sütunlar hücreleri satırlar ise karnitinleri göstermektedir. Karnitinin yukarı regülasyonu artıkça kahverengi tonunda koyulaşma aşağı regülasyonu artıkça mavi tonundan koyulaşma olmaktadır. Isı haritasına bakıldığında kanser hücrelerinde karnitinler kontrol hücrelerine göre artış göstermektedir. C5-OH, C12, C3, C5:1, C14:1, C10, C0, C6 ve C14:2 MCF-7 hücrelerinde CRL-4010 ve MDA-MB-231 hücrelerine göre belirgin olarak artış görülmektedir. C10DC, C4 ve C10:1 kanser hücrelerinde kontrol hücrelerine göre artış göstermiştir. C14, C16, C5, C8:1 ve C18 MDA-MB-231 hücrelerinde MCF-7 ve CRL-4010 hücrelerine göre belirgin artış olmuştur.



Şekil 4. Hücrelerdeki karnitin yoğunluklarını gösteren ısı haritası.

**Kanser Tanısı için Biyo-belirteç Adayları**

Karnitinlerin kanser hücrelerindeki değişimi kanser hastalığında erken tanıda kullanılabilecek bir biyobelirteç olabileceğini düşündürdü. Bu amaçla alıcı işlem karakteristikleri eğrisi (receiver operating characteristic (ROC)) analizi ile potansiyel biyobelirteçler tanımlandı.

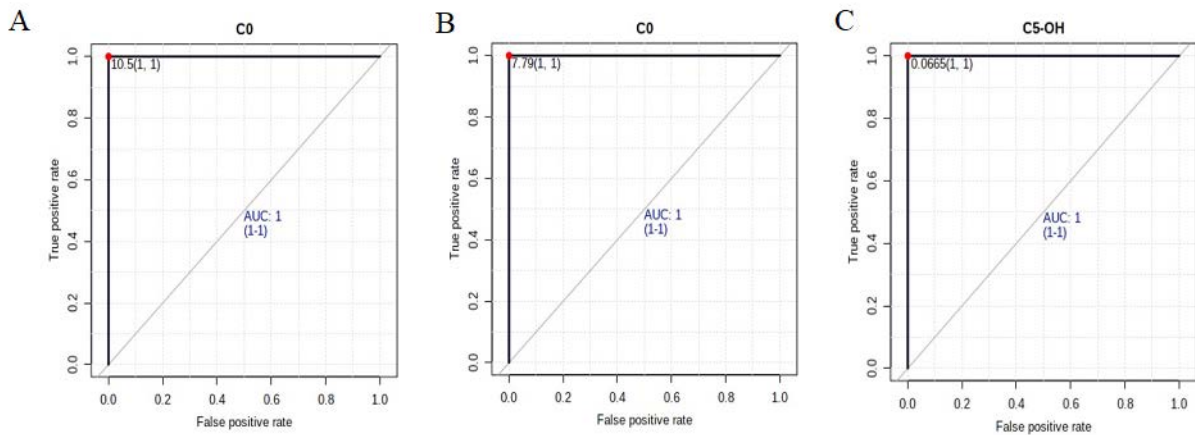
Analiz sonuçlarına göre AUC değeri (ROC eğrisi altındaki alan) en yüksek olan 5 karnitin Cut-off Value, AUC, Sensitivity, Specificity, p-Value, Positive ve Negative Likelihood oranları Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2.** ROC analizine göre potansiyel biyobelirteçlerin özellikleri.

Karşılaştırmalar	Karnitinler	Cut-off Value	AUC	Sensitivity	Specificity	Positive Likelihood Ratio	Negative Likelihood Ratio	p-Value
CRL-4010 Vs. MCF-7	C0	10.5	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	<0.001
	C3	1.24	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	0.017
	C4	0.168	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	0.130
	C5:1	0.0392	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	0.003
	C5-OH	0.0606	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	0.002
CRL-4010 Vs. MDA-MB-231	C0	7.79	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	<0.001
	C3	0.437	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	<0.001
	C4	0.275	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	0.017
	C5:1	0.396	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	<0.001
	C5-OH	0.0146	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	0.056
MDA-MB-231 Vs. MCF-7	C0	16.1	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	0.007
	C3	1.54	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	0.029
	C5:1	0.048	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	0.008
	C5-OH	0.0665	1.0	1.0	1.0	Infinity	0.0	0.003
	C18	0.2	0.888	1.0	0.66	3.0	0.0	0.134

AUC değeri en yüksek, Positive Likelihood oranı en yüksek, Negative Likelihood oranı ve p değeri en düşük olan biyo-belirteç potansiyel olarak yüksek biyo-belirteç adayı olmaktadır. Grup karşılaştırmalarında biyo-belirteç potansiyeli yüksek olan karnitinlerin ROC eğrileri Şekil 5'te

verilmiştir. MCF-7 ve MDA-MB-231 kanser hücrelerini CRL-4010 kontrol hücrelerinden ayırmada C0 potansiyel biyo-belirteç olabilir. Ayrıca MDA-MB-231 ve MCF-7 kanser hücrelerini birbirinden ayırmada ise biyo-belirteç adayı C5-OH'dir.



**Şekil 5.** Gruplar arası karşılaştırmalarda biyobelirteç olabilecek karnitinlerin ROC eğrileri. A.MCF-7 ve CRL-4010 karşılaştırması. B.MDA-MB-231 ve CRL-4010 karşılaştırması. C.MDA-MB-231 ve MCF-7 karşılaştırması.

## Tartışma

Kanser hücreleri gelişmesi ve ilerlemesi için apoptozdan kaçınma, doku invazyonu ve metastaz, büyüme sinyallerinde kendi kendine yeterlilik, sınırsız çoğalma potansiyeli büyüme karşıtı sinyallere karşı duyarsızlık ve enerji metabolizmasında değişim gibi normal hücrelerden ayıran özellikler kazanmaktadır. Hücre proliferasyonunun kanserdeki artışı ATP, NADH ve NADPH'a büyük oranda talepleri artmaktadır. Bu da metabolik yolların yeniden düzenlenmesini gerektirmektedir (10, 13). Karnitinler kanser hücrelerinin artan bu enerji ve biyosentetik taleplerini sağlayan anahtar yolları ve metabolitleri birbirine bağlayan çok önemli bir aracı rolü üstlenmektedir (14). Karnitinlerin kanserdeki değişimleri birçok deneysel ve klinik modellerde incelenmiştir ve farklı kanser türlerinde modülasyonunda ve ekspresyonunda değişimler olduğu bildirilmiştir (15). Karnitinin yağ asitlerini mitokondrinin iç zarı boyunca taşınmasını kolaylaştırmak temel biyolojik rolüdür. Hücresel ve mitokondriyal açıl Koenzim A oranı, fazla açıl gruplarını vücuttan uzaklaştırma ve kısa ve orta zincirli açıl gruplarının mitokondriye geçişini sağlamak gibi başka rolleri de bulunmaktadır. Karnitin diyet yoluyla alınan besinlerden, aminoasitlerinden endojen sentez ve glomerüler filtrasyondan sonra reabsorpsiyon yoluyla vücut içerisinde homeostazisi sürdürülmektedir. Homeostazinin bozulması çeşitli hastalıklar ve kanserler ilişkilendirilmiştir (16). Kanser hastalarında metabolik değişiklikler ve biyobelirteçleri tespit etmek metabolomik önemli bir yaklaşım olmaktadır. Meme kanserinin metabolomik profillerinin araştırılması erken tanı için çeşitli biyobelirteç araştırılmaktadır (4). Günümüzde CA 15-3 meme kanseri tanısında yaygın olarak kullanılmasına rağmen tanısız özgüllüğü ve duyarlılığından dolayı kullanımı sınırlıdır. Yeni biyobelirteçlerin keşfi ile meme kanserinde erken tanı, erken tedavi ve sağkalımın artırılması olası hale gelecektir (4). Serbest karnitin ve 16 açıl karnitin araştırılmıştır. Tüm karnitin seviyelerinin kanser hücre hatlarında kontrol hücre hattına göre yükseldiği bulundu. Bu karnitinlerden C0, C3, C5:1 ve C5-OH seviyelerindeki yükseliş ise anlamlıydı. MDA-MB-231 kanser hücre hattında MCF-7'ye göre C10DC, C8:1, C5, C18, C14 ve C16 karnitinleri yüksek C4, C0, C3, C14:1, C6, C14:2, C5:1, C10:1, C12, C5-OH ve C10 karnitinleri ise düşük bulunmuştur. C0, C3, C5:1 ve C5-OH'daki değişimler anlamlı bulundu. 2021 yılında yürütülen ve sedef hastalığının erken tanısında kullanılabilecek biyo-belirteçlerin araştırıldığı bir çalışmada, C16'nın belirgin bir şekilde azaldığı ve C6'nın ise aşırı arttığını bulmuşlar ve bu iki karnitinin hem tanı hem de tedavide kullanılabileceği önermesinde bulunmuşlardır (17). Karnitinler, kanser başta olmak üzere otoimmün, kardiyovasküler hastalıkların tanısında kullanılabilecek potansiyeli yüksek olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir(18).

Bu çalışma ile meme kanseri patofizyolojisine göre karnitin seviyelerinin değiştiği tespit edilmiştir. Hasta meme doku örnekleri ile yapılacak çalışmalarla, hastalığın erken tanısında kullanılabilecek yeni biyo-belirteçlerin keşfine ve kişisel tedavi yöntemlerinin gelişmesine olanak sağlayacaktır.

**Etik onam:** İnsan ve hayvan deneklerle herhangi bir çalışma içermemektedir. Çalışma hücre kültürü ortamında yapılmıştır.

### Yazar Katkıları:

**Konsept:** Ş.A., İ.K., E.T., H.T., M.Z.T.

**Literatür Tarama:** Ş.A., İ.K., H.T., M.Z.T.

**Tasarım:** Ş.A., İ.K., E.T.

**Veri toplama:** Ş.A., İ.K., E.T.

**Analiz ve yorum:** Ş.A., İ.K.

**Makale yazımı:** Ş.A., İ.K., E.T.

**Eleştirel incelenmesi:** Ş.A., İ.K.

**Çıkar Çatışması:** Yazarların beyan edecekleri herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

**Finansal Destek:** Araştırma kapsamında herhangi bir kurum ya da kuruluştan finansal destek sağlanmamıştır.

## Kaynaklar

1. Madssen TS, Cao MD, Pladsen AV, Ottestad L, Sahlberg KK, Bathen TF, et al. Historical biobanks in breast cancer metabolomics—challenges and opportunities. 2019;9(11):278.
2. Díaz-Beltrán L, González-Olmedo C, Luque-Caro N, Díaz C, Martín-Blázquez A, Fernández-Navarro M, et al. Human plasma metabolomics for biomarker discovery: Targeting the molecular subtypes in breast cancer. 2021;13(1):147.
3. Vignoli A, Muraro E, Miolo G, Tenori L, Turano P, Di Gregorio E, et al. Effect of estrogen receptor status on circulatory immune and metabolomics profiles of HER2-positive breast cancer patients enrolled for neoadjuvant targeted chemotherapy. 2020;12(2):314.
4. Park J, Shin Y, Kim TH, Kim D-H, Lee AJPO. Plasma metabolites as possible biomarkers for diagnosis of breast cancer. 2019;14(12):e0225129.
5. Fan S, Shahid M, Jin P, Asher A, Kim JJM. Identification of metabolic alterations in breast cancer using mass spectrometry-based metabolomic analysis. 2020;10(4):170.
6. Donepudi MS, Kondapalli K, Amos SJ, Venkateshan PJJocr, therapeutics. Breast cancer statistics and markers. 2014;10(3):506.
7. Hirschey MD, DeBerardinis RJ, Diehl AME, Drew JE, Frezza C, Green MF, et al., editors. Dysregulated metabolism contributes to oncogenesis. Seminars in cancer biology; 2015: Elsevier.
8. Jayavelu ND, Bar NSJWJoGW. Metabolomic studies of human gastric cancer. 2014;20(25):8092.
9. Sun C, Wang F, Zhang Y, Yu J, Wang XJT. Mass spectrometry imaging-based metabolomics to visualize the spatially resolved reprogramming of carnitine metabolism in breast cancer. 2020;10(16):7070.
10. Cheng Y, Yang X, Deng X, Zhang X, Li P, Tao J, et al. Metabolomics in bladder cancer: a systematic review. 2015;8(7):11052.
11. Khalil RM, El-Bahrawy H, El-Ashmawy NE, Darwish HJI-J. I-carnitine decreases Her-2/neu in breast cancer patients

- treated with tamoxifen. 2013;5(2):91-8.
12. Zhang J, Wu G, Zhu H, Yang F, Yang S, Vuong AM, et al. Circulating Carnitine Levels and Breast Cancer: A Matched Case-Control Study. 2021.
  13. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. 2000;100(1):57-70.
  14. Melone MAB, Valentino A, Margarucci S, Galderisi U, Giordano A, Peluso G, et al. The carnitine system and cancer metabolic plasticity. 2018;9(2):1-12.
  15. Vinci E, Rampello E, Zanolì L, Oreste G, Pistone G, Malaguarnera M. Serum carnitine levels in patients with tumoral cachexia. 2005;16(6):419-23.
  16. Rogalidou M, Evangelidou A, Stiakaki E, Giahnakis E, Kalmanti M. Serum carnitine levels in childhood leukemia. 2010;32(2):e61-e9.
  17. Chen C, Hou G, Zeng C, Ren Y, Chen X, Peng C. Metabolomic profiling reveals amino acid and carnitine alterations as metabolic signatures in psoriasis. *Theranostics*. 2021;11(2):754.
  18. Console L, Scalise M, Mazza T, Pochini L, Galluccio M, Giangregorio N, et al. Carnitine traffic in cells. Link with cancer. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2020:981.