

## ÖZET

Üçlü negatif meme kanseri (TNBC), yüksek invazivite ve metastaz potansiyeliyle bilinen, tedavisi zor bir kanser türüdür. Bu hastalarda ölüm oranlarının en önemli nedenlerinden biri metastazdır ve metastazın engellenmesi, hastaların yaşam süresini ve yaşam kalitesini artırmada kritik bir rol oynar. Son yıllarda yapılan çalışmalar, voltaj kapılı sodyum kanallarının (VGSC'ler), özellikle alfa alt birimi Nav1.5'in, meme kanser metastazının oluşmasında önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir. Nav1.5'in aşırı ekspresyonu, hücrelerin göç ve invazyon yeteneğini artırmakta ve bu durum, kanserin yayılmasını kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle, VGSC'ler metastatik meme kanserinde umut vaadeden bir tedavi hedefi olarak ortaya çıkmaktadır.

Kalp hastalıklarında yaygın olarak kullanılan ve VGSC'leri bloke eden Ranolazine (RNL) ve Flecainide (FLC) gibi anti-aritmik ilaçların, kanser hücrelerinde de metastatik aktiviteyi azaltma potansiyeli araştırılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, yüksek metastatik özellik gösteren MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde Nav1.5 sodyum kanalına ait gen/mRNA ekspresyonu ve proliferasyon düzeylerini, normoksi ve hipoksi koşulları altında flekainid (FLC) ve ranolazin (RNL) tekli ve kombinasyon tedavileriyle değerlendirmektir. Hücre proliferasyonu MTT testiyle moleküler düzeyde ise Nav1.5 gen ve protein ekspresyonları sırasıyla Western blot ve qRT-PCR ile araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre ilaçların, uygulanan dozlarda hücre proliferasyonunu etkilemediği saptanmıştır. Nav1.5 ekspresyonu analizlerinde, hem tekli hem de kombinasyon tedavilerinin proteini anlamlı oranda azalttığı belirlenmiştir. Özellikle FLC ve RNL'nin kombinasyon şeklinde kullanımı, Nav1.5 protein ve mRNA seviyelerinde daha belirgin bir azalma sağlamıştır, bu da ilaçların sinerjik bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, VGSC'lerin bloke edilmesinin meme kanserinde metastazın moleküler mekanizmalarını hedeflemede etkili olabileceğine işaret etmektedir.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında elde edilen bulgular, antiaritmik ajanlar RNL ve FLC'nin, MDA-MB-231 TNBC hücrelerinde Nav1.5 VGSC'yi hedef alarak, i) hem FLC hem de RNL'nin ayrı ayrı Nav1.5 VGSC ekspresyonunu inhibe ettiğini ve RNL'nin FLC'ye oranla daha etkili olduğunu, ii) Ayrı ayrı kullanıma oranla, FLC+RNL kombinasyonunun daha etkili olduğu, dolayısıyla da ilaçların sinerjik bir etki gösterdiklerini iii) İlaçların hipoksik koşullarda VGSC ekspresyonunu daha yüksek seviyede inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Böylece, anti-aritmik FLC+RNL kombinasyonu ile kanal ekspresyonunun hipoksik koşullarda daha yüksek oranda inhibe edilebileceğine dair ilk veriler saptanmış olup, metastatik aktiviteye karşı, bu terapötik potansiyelin daha ayrıntılı olarak ve in vivo da araştırılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Meme Kanseri hücreleri (MDA MB 231), VGSC, Nav1.5, Flekainid (FLC), Ranolazin (RNL), Kombine Tedavi ( FLC+RNL) , Normoksi , Hipoksi

## ABSTRACT

Triple-negative breast cancer (TNBC) is a highly aggressive and metastatic subtype of breast cancer, known for its poor prognosis and limited treatment options. One of the leading causes of mortality in these patients is metastasis, and preventing metastatic progression plays a critical role in improving both survival rates and quality of life. Recent studies have highlighted the significant role of voltage-gated sodium channels (VGSCs), particularly the alpha subunit Nav1.5, in the metastatic behavior of breast cancer cells. Overexpression of Nav1.5 has been shown to enhance cellular migration and invasion capabilities, thereby facilitating cancer dissemination. As such, VGSCs have emerged as promising therapeutic targets in metastatic breast cancer.

Ranolazine (RNL) and Flecainide (FLC), two well-known antiarrhythmic agents that block VGSCs and are widely used in the treatment of cardiac disorders, have recently gained attention for their potential to reduce metastatic activity in cancer cells. This study aimed to evaluate the gene/mRNA expression levels of the Nav1.5 sodium channel, along with cell proliferation, in highly metastatic MDA-MB-231 TNBC cells under normoxic and hypoxic conditions, following single and combination treatments with FLC and RNL. Cell proliferation was assessed via the MTT assay, while molecular expression of Nav1.5 was investigated using Western blot and qRT-PCR techniques. The results indicated that the applied doses of the drugs did not significantly affect cell proliferation. However, both individual and combination treatments led to a significant reduction in Nav1.5 expression at the protein level. Notably, the combination of FLC and RNL resulted in a more pronounced decrease in both Nav1.5 protein and mRNA expression, suggesting a synergistic effect between the two agents. These findings suggest that blocking VGSCs may represent a promising strategy for targeting the molecular mechanisms of metastasis in breast cancer.

In conclusion, the findings of this thesis demonstrate that the antiarrhythmic agents RNL and FLC: i) individually inhibited Nav1.5 VGSC expression in MDA-MB-231 TNBC cells, with RNL showing higher efficacy than FLC; ii) exerted greater inhibitory effects when used in combination, indicating a synergistic interaction; iii) exhibited enhanced inhibition of VGSC expression under hypoxic

conditions. These results provide the first evidence that the FLC+RNL combination may lead to greater suppression of Nav1.5 expression in hypoxia, emphasizing the need for further detailed investigations, including in vivo studies, to explore this therapeutic potential against metastatic activity.

**Keywords:** Breast cancer cells (MDA-MB-231), VGSC, Nav1.5, Flecainide (FLC), Ranolazine (RNL), Combination Therapy (FLC+RNL) , Normoxia, Hypoxia.

