



ARAŞTIRMA MAKALESİ

RESEARCH ARTICLE

CBU-SBED, 2024, 11 (2): 254-259

Mide ve Kolon Kanseri Hücre Hatlarında Matriks Proteinlerinin Varlığında Cape'nin Etkisinin Karşılaştırılması

Comparison Of The Effect Of Cape On The Presence Of Matrix Proteins In Stomach And Colon Cancer Cell Lines

Nurcan Umur^{*1}, Funda Kosova², İbrahim Tuğlu³

^{1*} Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Moleküler Biyoloji, Manisa, Türkiye

² Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Biyokimya, Manisa, Türkiye

³ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji, Manisa, Türkiye

e-mail: nurcanumur@gmail.com, fundakosova@gmail.com, mituglu@yahoo.com

ORCID: 0000-0001-6593-8751

ORCID: 0000-0001-8070-5067

ORCID: 0000-0002-0569-8415

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Nurcan Umur

Gönderim Tarihi / Received: 31.10. 2023

Kabul Tarihi / Accepted:05.04. 2024

10.34087/cbusbed.1383372

Öz

Amaç: Çağımızın en önemli hastalıklarından olan kanser, vücut hücrelerinin kontrolsüz çoğalması ve yayılmasıyla oluşan ciddi bir sağlık sorunudur. Aynı zamanda kronik inflamasyon ve hastanın bağışıklık sisteminin zayıflaması ile karakterize ve ölüme en sık neden olan hastalıklardan biridir. Kanser hücre davranışlarını anlamak için kanser mikroçevresini oluşturan spesifik bileşenlerin bilinmesi, bu bileşenlerin hangi mekanizmaları kullanarak iletişim kurduklarının anlaşılması önemlidir. Bizde yaptığımız çalışmada bir antikanser ajan olarak Cape'nin (Kafeik asit fenetil ester) terapötik dozunun etkisini mide ve kolon kanseri hücre hatlarında matriks proteini olan laminin ve kollajen 1 varlığında anjiogenez ve apoptoz ile ilişkili markerler açısından karşılaştırmalı değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Mide kanseri hücre hattı (NCI-N87) ve kolon kanseri hücre hattlarına (Colo 205) matriks proteinleri varlığında CAPE ilave edildi. Sentezlenen DNA ların absorbanları Real Time PCR ile 260 nm de okundu.

Bulgular: Karşılaştırmalı çalışmamızda matriks proteinlerinin varlığında ve CAPE ilavesinde kolon kanseri hücrelerinde apoptozisin, mide kanseri hücrelerinde ise angiogenezin daha fazla arttırdığı görüldü.

Sonuç: Yaptığımız çalışmada ana sorumlunun laminin matriks proteini olduğunu ve CAPE ilavesiyle angiogenez ve apoptozisin daha fazla tetiklendiğini gözlemledik. Bu çalışmayı hayvan deneyleri ile desteklemeyi planlamaktayız. Bu çalışmadan da çıkan sonuçlara göre mide ve kolon kanseri hastaları için CAPE'nin tedavi edici bir bileşik olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Kanser hücre kültürü, Anjiogenesis, Apoptozis, Matriks proteinleri, CAPE

Abstract

Aim: Cancer, one of the most important diseases of our age, is a serious health problem caused by the uncontrolled proliferation and spread of body cells. It is also one of the diseases that most often causes death, characterized by chronic inflammation and weakening of the patient's immune system. In order to understand cancer cell behavior, it is important to know the specific components that make up the cancer microenvironment and to understand the mechanisms by which these components communicate. In our study, the effect of the therapeutic dose of Cape (Caffeic acid phenethyl ester), which is a matrix protein, as an anticancer agent, on stomach and colon cancer cell

lines. We aimed to comparatively evaluate markers related to angiogenesis and apoptosis in the presence of laminin and collagen 1.

Materials and Method: CAPE was added to the gastric cancer cell line (NCI-N87) and colon cancer cell lines (Colo 205) in the presence of matrix proteins. The absorbance of the synthesized DNAs was read by Real Time PCR at 260 nm.

Results: In our comparative study, it was observed that the presence of matrix proteins and the addition of CAPE increased apoptosis in colon cancer cells and angiogenesis in gastric cancer cells.

Conclusion: In our study, we observed that the main culprit was the laminin matrix protein and that angiogenesis and apoptosis were triggered more with the addition of CAPE. We plan to support this study with animal experiments. According to the results of this study, we think that CAPE may be a therapeutic compound for stomach and colon cancer patients.

Keywords: Cancer cell culture, Angiogenesis, Apoptosis, Matrix proteins, CAPE

1. Giriş

Çağımızın en önemli hastalıklarından olan kanser, vücut hücrelerinin kontrolsüz çoğalması ve yayılmasıyla oluşan ciddi bir sağlık sorunudur. Aynı zamanda kronik inflamasyon ve hastanın bağışıklık sisteminin zayıflaması ile karakterize ve ölüme en sık neden olabilen hastalıklardan biridir [1]. Verilere göre kanser vakalarının içinde akciğer, prostat, kolorektal, mide ve karaciğer kanseri erkeklerde en sık görülen kanser türleri iken meme, kolorektal, akciğer ve serviks kanseri kadınlar arasında en yaygın görülen türleridir [2]. Kanser tedavisinde farklı yöntem ve tedavi yaklaşımları uygulanabilmektedir. İmmünoterapi, kemoterapi, cerrahi tedavi, radyoterapi ve hedeflenmiş tedaviler gibi çeşitli tedavi yöntemleri tek başlarına veya kombine halde kullanılabilir [3]. Kanserli hücreler normal bir hücreyle kıyaslandığında pek çok farklılık gösterir. Bunlar arasında kanserli hücrenin apoptozdan kaçması, bağımsız büyüyebilmesi, sonsuz bölünebilme kapasitesi, anjiyogenez, hücre dışı matriks bozulması ve metastaz en belirgin olanlarıdır [4].

Anjiyogenez olarak adlandırılan yeni damar oluşumu tümör dokusunun büyümesi, invazyonu ve metastazı için gerekli olan oksijen, besin maddeleri ve büyüme faktörlerinin sağlanması için gereklidir ve kanser progresyonunda en önemli mekanizmalardan biridir [5]. Yeni oluşan mikrodamarların olgunlaşması ve yapılandırılması proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler arasındaki dengeye bağlıdır. Bu faktörler, tümör hücreleri, monosit ve fibroblast gibi ortamdaki hücrelerden veya kollajen matriksin yıkımı sonrasında ortaya çıkabilir. Ortamdaki çeşitli etkenler nedeniyle anjiyogenik faktörler ön plana geçtiğinde anjiyogenik aktivite başlar. Anjiyogenik faktörler VEGF, FGF-2, TGF- β , matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) ve anjiyopöietinler (Angs) vb dir. Anjiyogenik aktivitenin başlaması için sadece anjiyogenik faktörlerin artışı değil aynı zamanda antianjiyogenik faktörlerin etkilerinde aşılması gerekir. Antianjiyogenik faktörler normal şartlarda damar endotelini uyarılardan koruyarak

anjiyogenik aktiviteyi durdururlar. Bunlardan en önemlileri; Trombospondin, Anjiostatin, Endostatin vb dir [6, 7].

Apoptozis, organizmanın normal işleyişi sırasında meydana gelen ve kanserojen hücreleri ortadan kaldırmak için de gerekli olan bir tür hücre ölüm şeklidir. Apoptotik hücre ölümü farklı sinyal ileti mekanizmaları aracılığıyla uyarılmaktadır. Bu sinyal ileti yolları; mitokondriyal yol (intrinsik), ölüm reseptörleri (ekstrinsik) yolu ve endoplazmik retikulum aracılı yoldur [8]. Mitokondri aracılı apoptozda Sitokrom c'nin mitokondriden sitozole salınması hücre ölüm yolunu etkinleştirir. Sitokrom c'nin salınmasını takiben, prokaspaz 9 ve Apaf-1 sitozolde bir araya gelerek "apoptozom" olarak adlandırılan bir kompleks oluşturur. Bu kompleks içinde prokaspaz 9 etkinleşerek kaspaz 9'a dönüşür ve kaspaz 9, kaspaz 3 ve 7'yi etkinleştirir. Böylece hücre ölümü gerçekleşir [9]. Apoptoz modulatorlerinin en önemli mekanizmalarından biri Bcl-2 genidir. Bcl-2, hücreleri apoptozdan koruyan ilk gen olarak bilinir. Bu anti-apoptotik etkiyi sitokrom c salınımını ve efektör proteazın aktivasyonunu engelleyerek gösterir. Bcl-2 hücrelerinin seviyesindeki azalma apoptozu yol açarken, artması hücrelerin ölmesini engeller. Birçok anti-kanser ajanının apoptozu indüklediği ve buna kaspaz-3 ve kaspaz-9 aracılık ettiği, Bax proteinlerini upregüle ederek sitokrom c'nin sitozole salınımında bir artışa neden olduğu gösterilmiştir [10].

Tümör invazyon ve metastazında anahtar moleküllerden biri ekstrasellüler matriks (ESM) elemanlarıdır [11]. Tümör mikroçevresini oluşturan ESM, organizmalara sadece yapısal destek sağlamakla kalmayıp aynı zamanda hücre proliferasyonu, farklılaşması ve migrasyonu ile yapılaşma, doku morfogenezisi gibi pekçok biyolojik aktivitede etkisi olan karmaşık ve dinamik bir oluşumdur. Artan tümör ve doku sertliğinin çoğunluğu, ESM birikiminin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Tip I kollajen ve fibronektin, kanserde

biriken en yaygın ESM bileşenleridir [12]. Fibronektin, laminin, tenaskin, dekorin, fibromodulin, lumikan ve osteopontin gibi diğer ECM proteinlerinin de tümör gelişimine katıldığı, tümöral ESM'nin hem biyokimyasal hem de biyomekanik özelliklerini modifiye ettiği gösterilmiştir. Özellikle fibronektin ve laminin tümör hücre göçünü artıran glikoproteinlerdir [13]. Kanser hücre davranışlarını anlamak için kanser mikroçevresini oluşturan spesifik bileşenlerin

2.1 CAPE Uygulaması

1 mM CAPE stok solüsyonu, CAPE'nin 0.5 mM DMSO içinde çözülmesi ve 9.5 mM medyuma eklenmesiyle hazırlandı. CAPE stok solüsyonu kanser hücre hatlarına uygulanmak üzere 1, 0.5, 0.25, 0.12 ve 0.06 µg/ml konsantrasyonlarda seyreltildi [16]. CAPE'nin etkisi doza bağımlıydı ve IC₅₀ 0.25 µg/ml olarak hesaplandı.

2.2 Matris Molekül Kaplama

Altı kuyucuklu yirmi dört plaka 900 µl %2'lik (v/v) asetik asit içinde seyreltilmiş (1:10) 100 µl kolajen I ve 900 µl 1 mg/ml fosfat tamponlu salin (PBS) içinde seyreltilmiş (1:10) 100 µl laminin ile gece boyunca 4 °C'de kaplandı (pH 7.4) (4 µg/kuyu). Hem laminin hem de kollajen I, 6.25 µg/cm²'de kaplandı.

2.3 Hücre Kültürü

Mide kanseri hücre hattı NCI-N87 ve kolon kanseri hücre hattı Colo 205, %5 CO₂ in sağlandığı inkübatörde 37°C'de DMEM-F-12, %10 FCS, %1 L-glutamin ve %1 penisilin-streptomisin ile inkübe edildi. Hücreler, 6 kuyucuklu doku kültürü plakalarında 3 x 10⁵ hücre/3 ml ortam/kuyucukta 12 saat boyunca kültürlendi. Hücreler yüzeye yapışıp çoğaldıktan sonra CAPE stok solüsyonundan 1, 0.5, 0.25, 0.12 ve 0.06 µg/ml konsantrasyonlarda ilave edilip 48 saat boyunca beklendi. IC₅₀ 0.25 µg/ml olarak hesapladığımız dozun en etkili doz olduğuna karar verildi ve daha sonra PCR uygulaması yapıldı.

2.4 RNA İzolasyon Protokolü

Flakslardaki hücrelere Tripüre izolasyon reaktif eklendi ve hücreler süpürülerek tüplere yerleştirildi. Çalışmada kontrol grubu ve CAPE uygulanan grup olmak üzere iki tip hücre kullanılmıştır. Hücreler 3000 rpm'de 30 sn santrifüjlendi, boncuklar içeren özel Eppendorf tüplere aktarıldı ve bir MAGNA Lyser homojenizatöründe 3000 rpm'de 30 saniye santrifüjlendi. Tüpler homojenizatörden çıkarılarak bir soğutma bloğuna yerleştirildi. Tüplere 200 µL kloroform eklendi ve 5 dakika sonra tüpler 4°C'de 20 dk 12000 rpm'de santrifüj edildi. Bu sürecin sonunda üç faz elde edilmiştir. 1. faz (sulu faz) RNA içerir, renksizdir. 2. faz beyaz renkli DNA içerir. 3. faz (organik faz) protein içerikli, kırmızı renklidir.

bilinmesi, bu bileşenlerin hangi mekanizmaları kullanarak iletişim kurduklarının anlaşılması önemlidir [11,14].

Kafeik asit (3,4-dihidroksisinnamik asit) fenetil ester (CAPE), yapısal olarak flavonoidlerle ilişkili ve bal arısı kovanlarından elde edilen propolisin biyolojik olarak aktif bir bileşenidir. Antiviral, antimitojenik, antiinflamatuvar ve immünomodülatör özelliklere sahiptir [15].

2. Yöntem

RNA izolasyonu için 500 µL renksiz 1. (sulu) faz yeni bir tüpe aktarıldı ve 500 µL izopropanol eklendi. Karışım oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildi ve 4°C'de 12000 rpm'de 10 dk santrifüjlendi. Pelet 1 mL %75 etanol ile yıkandı ve 4°C'de 12000 rpm'de 5 dk santrifüjlendi. Süpernatant atıldı. Etanol 57°C'de çıkarıldı. Pelet üzerine 50-100 µL RNAase içermeyen su ilave edildi ve karışım pipetleme ile homojenleştirildi.

2.5 DNA Sentezi

Absorbans RNAaz içermeyen su eklendikten sonra ölçüldü. Her numune için 9.4 µL RNA+H₂O ve 2 µL Random hexamer primeri ile 11.4 µL karışım hazırlandı. Bu karışım küçük tüplere yerleştirildi ve pipetlendi. Tüpler daha sonra bir thermal cyclers'a yerleştirildi ve 65°C'de 10 dk inkübe edildi. Bu arada Reaksiyon Tamponu, Koruyucu RNaz İnhibitörü, Deoksinükleotid Karışımı ve Transcriptor Reverse Transcriptase enzimi içeren mastermix solüsyonu hazırlandı. Her numune için 4 µL reaksiyon tamponu, 2 µL DNTP, 1 µL DTT, 1.1 µL enzim ve 0.5 µL RNAase inhibitörü içeren 8.6 µL mastermix hazırlanmıştır. Bu mastermix (8,6 µL) thermal cyclers dan (11.4 µL) alınan örneklere ilave edildi ve pipetlendi. cDNA örneğinin son hacmi 20 µL idi. Tüpler daha sonra bir thermal cyclers a yerleştirildi ve 55°C'de 30 dk, ardından 85°C'de 5 dk çalıştırıldı.

2.6. Real Time PCR

Reaksiyon karışımının son hacmi 10 µL idi ve distile su, primer prob karışımı ve enzim içeriyordu. Her numune için 3.5 µL dH₂O, 0.5 µL primer prob karışımı ve 5 µL enzim karıştırılarak 9 µL karışım elde edildi. Bu karışıma 1 µL cDNA örneği eklendi ve pipetlendi. Reaksiyon karışımı, her oyukta 10 µL olacak şekilde 96 kuyucuklu plaklara bölündü ve 1 saat sonra absorbans okundu.

2.7. İstatistiksel Analiz

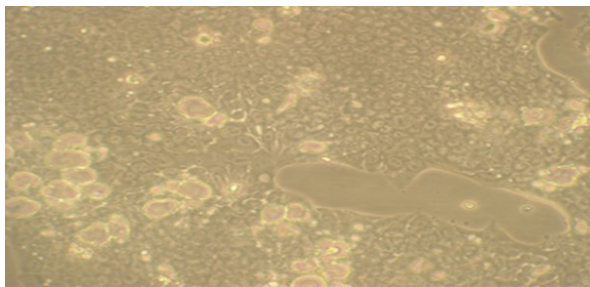
Çalışma sırasında elde edilen verilerin analizinde SPSS for Windows v15.0 kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılığı Mann Whitney-U testi ile yapıldı. Anlamlılık düzeyi p<0,05 olarak alındı.

3. Bulgular ve Tartışma

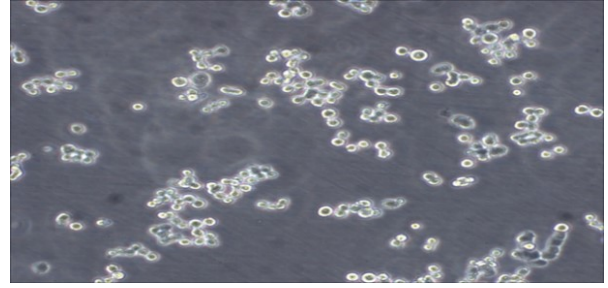
3.1 Bulgular

Kolon kanser hücre+laminin, Mide kanser hücre+laminin karşılaştırıldığında cys ve Apaf-1 arasında istatistiksel bir fark yokken ($p>0,05$), bcl-2 ve caspas-9 mide kanserde kolon kanserine göre daha fazla artıyor ($p<0,005$) (Grafik1 A, C). Kolon kanser hücre+kollajen ile Mide kanser hücre+kollajen karşılaştırıldığında bcl-2 de istatistiksel fark yokken, cys ve Apaf-1 de istatistiksel bir azalma varken (Grafik 1B, A), caspas-9 mide kanserinde kolon kanserine göre daha fazla artıyor ($p<0,005$) (Grafik 1C). Laminin matriks proteininin varlığında CAPE eklenmiş kolon ve mide kanser hücre hatları Resim 1 ve Resim 2 de gösterilmiştir. Bu hücreler karşılaştırıldığında Apaf-1 de istatistiksel fark yokken, cys ve caspas de istatistiksel bir azalma varken, bcl-2 seviyelerinde ise istatistiksel bir artış görülmektedir ($p<0,005$) (Grafik 1A, B, C). Böylece kolon kanser hücrelerine göre mide kanserinde matriks proteinlerinin varlığında ve CAPE ilavesinde de kolon kanserinde apoptozisin daha fazla arttığı görülüyor. Özellikle de kolon kanser hücre+laminin+CAPE ilavesinde apoptozisin en fazla arttığı grup oluyor. Böylece laminin matriks proteinine CAPE ilavesinin apoptozisi artırmak açısından daha etkili olduğunu söyleyebiliriz.

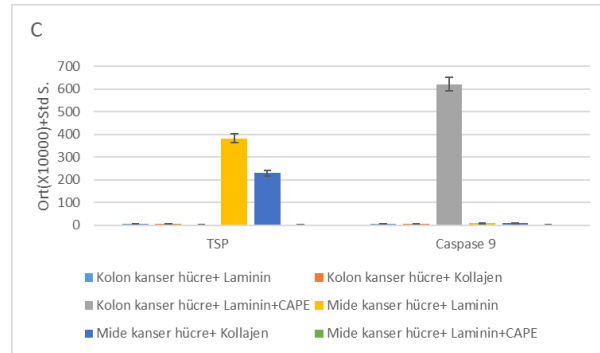
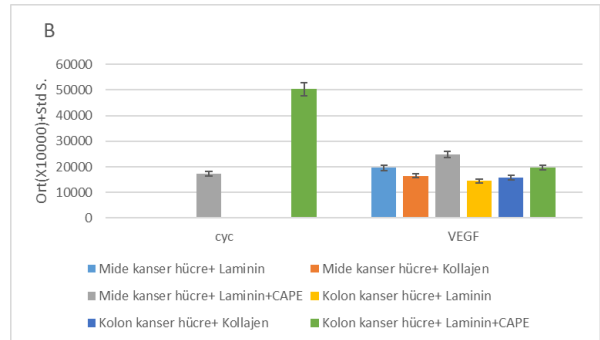
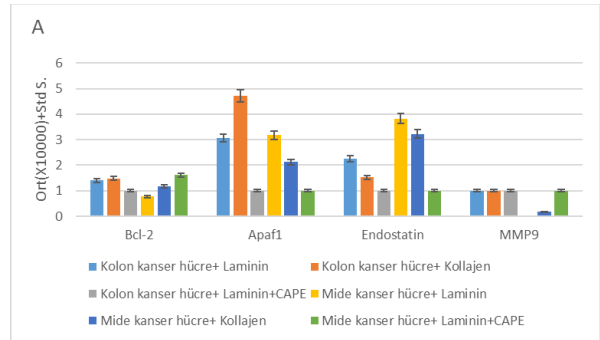
Kolon kanser hücre+laminin, Mide kanser hücre+laminin karşılaştırıldığında MMP9, VEGF ve Endostatin seviyeleri mide kanserinde artarken, TSP istatistiksel olarak azalıyor ($p<0,005$) (Grafik 1A, B, C). Kolon kanser hücre+kollajen ile Mide kanser hücre+kollajen karşılaştırıldığında MMP-9, Endostatin ve VEGF mide kanserinde artarken, TSP istatistiksel olarak azalıyor ($p<0,005$) (Grafik 1A, B, C). Kolon kanser hücre+laminin+cape, Mide kanser hücre+laminin+cape karşılaştırıldığında Endostatin ve MMP-9 arasında istatistiksel bir fark yokken, TSP ve VEGF mide kanserinde istatistiksel olarak artıyor ($p<0,005$) (Grafik 1A, B, C). Böylece kolon kanserine göre mide kanserinde matriks proteinlerinin varlığında ve CAPE ilavesinde de mide kanserinde angiogenезisin daha fazla arttığı görülüyor. Özellikle de Mide kanser hücre +laminin+CAPE ilavesinde angiogenезisin en fazla arttığı grup oluyor. Böylece laminin matriks proteinine CAPE ilavesinin angiogenезisi artırmak açısından daha etkili olduğunu söyleyebiliriz.



Resim 1. Laminin matriks proteinini varlığında CAPE ilave edilen Mide kanser hücre hattı



Resim 2. Laminin matriks proteinini varlığında CAPE ilave edilen Kolon kanser hücre hattı



Grafik 1. Mide ve kolon kanseri hücre hatlarında laminin ve kollajen varlığında ve CAPE ilavesinde apoptotik ve anjigenik markerlerin gösterimi. A. Bcl-2, Apaf1, Endostatin, MMP9, B. cys, VEGF C.TSP ve Caspaz-9 Real Time PCR sonuçlarının grafiksel gösterimi.

3.2 Tartışma

Mide kanseri, kansere bağlı ölümlerin en yaygın nedenleri arasındadır. Erkeklerde ikinci, kadınlarda ise üçüncü sırada görülen kanser türü olup ilaç tedavisine dirençlidir. Kolon kanseri ise dünya çapında üçüncü sık görülen kanserdir. Mide ve Kolon kanserleri etiyojisinde genetik özelliklerin yanı sıra yaş, çevresel etkenler, beslenme alışkanlıkları ve kanser gelişimini kolaylaştırıcı bazı öncü hastalıklar rol oynamaktadır. Bu hastalıkların tanı ve tedavisinde son on yılda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir, ancak prognoz hala kötüdür [17, 18]. Gelişmiş cerrahi tekniklere ve multimodal tedaviye rağmen sağkalım hala düşüktür. Mutasyon yoluyla kansere neden olma potansiyeline sahip onkogenler, anjiyogenez yoluyla hücre proliferasyonunu, invazyonunu ve metastazını kontrol eder [19, 20]. Kanser gelişiminde azalmış apoptotik hücre ölüm hızının da maligniteye katkıda bulunduğu görülmüştür. Zamanı geldiğinde normal olarak apoptozise gidemeyen dolayısıyla beklenenden daha uzun süre yaşayan hücreler, malign hücrelere dönüşme potansiyeli taşırlar [21]. Hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozun indüksiyonu, kanser tedavisi için potansiyel bir stratejidir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda doğal bileşiklerin kanser riskini azalttığına yönelik sonuçların bildirilmesi, doğal bileşiklerin kanser tedavisinde kullanımına olan ilgi ve araştırmaları arttırmıştır. Kafeik asit fenetil ester (CAPE), bal arısından elde edilen propolisin önemli aktif bileşenlerinden biridir ve çok geniş spektrumlu biyolojik ve farmakolojik etkilere sahiptir [22, 23]. Potansiyel bir anti-kanser ajan olarak CAPE'nin antiproliferatif etkisi, apoptoz indükleyici etkisi, invazyon ve metastazı inhibe edici etkisi birçok kanser hücre hattında gösterilmiştir [24,25]. CAPE kanser hücre hatları üzerine etki ederken, sağlıklı hücreler üzerine zarar göstermeyip yan etkiler neden olmaması anti-kanser ajan olarak kullanılma potansiyelini destekler niteliktedir [26]. Tedavide kullanılan kemoterapi ve radyoterapinin yan etkileri göz önüne alındığında CAPE'nin sahip olduğu bu özellik oldukça önemlidir [27]. CAPE, çeşitli sistemlerde antioksidan, antiinflamatuvar, antikanserojenik ve immünomodülatör aktiviteler sergileyen bal arısı kovanlarından elde edilen propolisin aktif bir bileşenidir [28]. CAPE'nin antiviral ve antimitojenik özellikleri vardır ve meme, mide, kolon kanseri hücreleri dahil olmak üzere farklı tipte dönüştürülmüş hücrelerin büyümesini engellediği gösterilmiştir. CAPE'nin çeşitli tümör hücre dizilerine karşı önemli bir sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir [29].

Yapılan çalışmalar, CAPE'nin PI-3K/AKT, ERK ve cadherin, β -katenin ve FAK dahil olmak üzere hücre içi sinyal yollarının VEGF aracılı aktivasyonunu inhibe ettiğini ve proliferasyonu, tüp oluşumunu, göçü, fokal yapışmayı ve hücreler arası yapışmayı baskıladığını göstermiştir [30]. CAPE'nin meme ve kolon kanseri hücreleri gibi farklı tipte dönüştürülmüş hücrelerin büyümesini engellediği gösterilmiştir [24]. CAPE ile yapılan tedaviler, CAPE'nin MMP ve VEGF

ekspresyonunu önleyerek ve neovaskülarizasyonu azaltarak anjiyogenezini inhibe ettiğini göstermiştir [16]. Yapılan çalışmalar göz önüne alındığında CAPE'nin kanser hücreleri üzerindeki etkisini sitotoksik olarak değil, apoptozu indükleyerek gerçekleştirdiğini göstermektedir [31]. CAPE'nin çeşitli etkileri, hücre zarını geçme kabiliyetine bağlanabilir. CAPE, lipoksijenaz, siklooksijenaz, glutatyon S-transferaz ve ksantin oksidaz gibi bazı enzimlerin aktivitelerini inhibe etme yeteneğine sahiptir. Aynı zamanda, nükleer transkripsiyon faktörü-kB (NF-kB) aktivasyonunun güçlü ve spesifik bir inhibitörüdür [32]. CAPE normal dokularda kemoterapötik ilaca bağlı toksisiteyi azaltabilir, diğer yandan apoptoz da dahil olmak üzere çeşitli mekanizmaları indükleyerek kemoterapötik ilaçların kanser hücrelerine toksisitesini artırabilir. CAPE'in ayrıca nefrotoksisite, ototoksisite ve periodontal hastalıklara karşı koruma sağladığı bildirilmiştir [33]. Propolis ve kafeik asit fenetil ester, TLR4 sinyal yolunu inhibe ederek ve apoptozu ve otofajiyi indükleyerek inflamatuvar mikroçevrede meme kanseri hücrelerinin çoğalmasını engeller [34]. Wu ve arkadaşlarının [35] yaptığı bir çalışmada CAPE'nin apoptotik etkileri ve NF-KB modülasyonu, hücre döngüsü ve anjiyogenez yoluyla MDA-231 ve MCF-7 insan meme kanseri büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir.

Kanser hücrelerinin davranışı Kollajen I ve Laminin gibi ECM proteinlerinden etkilenebilir. Lamininler, bazal membranların yapısal bileşenleridir. Hücre adezyonunu, hücre göçü, farklılaşması, çoğalması, doku morfogenez ve homeostazında önemli roller oynarlar [36]. Bazal membranın biyolojik aktivitesinin çoğu, ana bileşeni olan laminin-1'e atfedilebilir. Artan laminin-1 miktarları, artan tümör büyümesi ile ilişkilidir [37]. Lamininler, büyüyen bir $\alpha\beta$ heterotrimerik ailesidir. Bu proteinler, yaygın olarak bazal membranlarda bulunur. Bu büyük moleküller, integrinler ve diğer hücre yüzeyi reseptörleri aracılığıyla hücre yapışmasını ve göçünü destekler. Bununla birlikte, tümör invazyonu sırasında, BM bariyerinin kaybı meydana gelir ve süresiz bir laminin boyama modeli gözlemlenir. Karsinomlarda, istilacı cephedeki tümör hücreleri, laminin-5'in bir bileşeni olan $\gamma 2$ zincirini hücre içi olarak güçlü bir şekilde eksprese eder. Anjiyogenez sırasında vasküler BM'nin yeniden şekillenmesi gözlenir ve tümör yayılması ve metastazı sırasında birkaç BM'nin penetrasyonu meydana gelir. Bu nedenle, düzensiz hücre-laminin etkileşimleri, malign bozuklukların ana özellikleridir [38]. Kollajen I hücre dışı boşlukta bulunur; dokuya sertlik katar ve makromoleküllerin yapışması için biyomekanik bir yüzey sağlar. Kollajen I, deneysel hayvan modellerinde yumurtalık kanseri hücrelerinin yapışması ve göçü için tercih edilen substrattır ve invaziv davranışlarını uyarır [39,40]. Kollajen I ve laminin-1, malign hücre fenotipini düzenler [37]. Tümörle ilişkili anjiyogenez, spesifik büyüme faktörlerine, anjiyogenezin aktivasyonuna ve ECM bileşenlerindeki değişikliklere bağlıdır [6].

4. Sonuç

Mide kanseri ve kolon kanseri hücrelerinde yaptığımız karşılaştırmada matriks proteinlerinin varlığında ve CAPE ilavesinde kolon kanseri hücrelerinde apoptozisin, mide kanseri hücrelerinde ise angiogenезisin daha fazla arttırdığını gördük. Yapılan literatür çalışmalarında da düzensiz hücre-laminin etkileşimleri, malign bozuklukların ana özelliklerinden olduğunu bildirmişlerdir. Bizde bu bilgiler ışığında bu olayların ana sorumlusunun laminin matriks proteini olduğunu ve CAPE ilavesiyle angiogenез ve apoptozisin daha fazla tetiklendiğini gözlemledik. Bu çalışmayı hayvan deneyleri ile desteklemeyi planlamaktayız. Bu çalışmadan da çıkan sonuçlara göre mide ve kolon kanseri hastaları için CAPE'nin tedavi edici bir bileşik olabileceğini düşünmekteyiz.

5. Referanslar

1. Bashraheel SS, Domling A, Goda S K, Update on targeted cancer therapies, single or in combination, and their fine tuning for precision medicine, *Biomedicine&Pharmacotherapy*, 2020, 125,110009.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A, Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2018, 68,394-424.
3. Elena VR, Jacob EK, Corban GR, Niranjana BP, Amir PT, Aleksander SP. Anti-angiogenic peptides for cancer therapeutics, *Curr Pharm Biotechnol*, 2011,12(8),1101-16.
4. Iordache S, Saffoiu A, Georgescu CV, Ramboiu S, Gheonea DI, et al, Vascular endothelial growth factor expression and microvessel density-two useful tools for the assessment of prognosis and survival in gastric cancer patients, *J Gastrointest Liver Dis*, 2010,19:135-39.
5. Gupta MK, Qin RY. Mechanism and its regulation of tumor-induced angiogenesis, *World J Gastroenterol*, 2003,6, 144-1155.
6. Dönmez G, Sullu Y, Sancar B, Yıldız L, Aydın O, et al, Vascular endothelial growth factor (VEGF), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), and thrombospondin-1 (TSP-1) expression in urothelial carcinomas, *Pathol Res Pract*, 2009,205:854-857.
7. Zhou J, Bai C, Wang Y, Li X, Cheng Y, Chen S. Endostar combined with chemotherapy for treatment of metastatic colorectal and gastric cancer: a pilot study, *Chin Med J*, 2011, 124:4299- 303.
8. Li P, Nijhavan DI, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, Wang X. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade, *Cell*, 1997, 91:79-89.
9. Choen GM, Caspases the executioners of apoptosis, *Biochem J*, 1997, 326:1-16.
10. Kidd VJ, Lahti JM, Teitz T, Proteolytic regulation of apoptosis, *Semin Cell Dev Biol*, 2000, 11:191-201.
11. Adam JC, Watt FM, Regulation of development and differentiation by the extracellular matrix, *Development*, 1993, 117(4):1183-98.
12. Provenzano PP, Inman DR, Eliceiri KW et al., Collagen density promotes mammary tumor initiation and progression, *BMC Medicine*, 2008, 6:11.
13. Sorokin L, Girg W, Gopfert T, Hallmann R and Deutzmann R, Expression of novel 400-kDa laminin chains by mouse and bovine endothelial cells, *Eur J Biochem*, 1994, 15; 223(2):603-10.
14. Hirata E, Sahai E, Tumor Microenvironment and Differential Responses to Therapy Cold, *Spring Harb Perspect Med*, 2017; Jul 5;7(7):a026781.
15. Aldemir O, Memmedov H, Propolisin Bileşenlerinden Olan Kafeik Asit Fenil Esterin Antiinflatuvar Etkileri, *Aricılık Araştırma Dergisi*, 2019, 11(2):43-47.
16. Kosova F, Kurt FO, Olmez E, Tuğlu I, Arı Z, Effects of caffeic acid phenethyl ester on matrix molecules and angiogenetic and anti-angiogenetic factors in gastric cancer cells cultured on different substrates, *Biotech Histochem*, 2016, 91(1),38-47.
17. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J, Statistics are given for global patterns of cancer incidence and mortality for males and females in 23 regions of the world, *CA Cancer J Clin*, 1999, 49:33-64.
18. Ribeiro UJ, Safatle Ribeiro AV, Zilberstein B. Does the intraoperative peritoneal lavage cytology add prognostic information in patients with potentially curative gastric resection? *J Gastrointest Surg*, 2006; 10:170-177.
19. Daniela L, Raica M, Sporea I et al., Tumor angiogenesis in gastric cancer, *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 2006, 47(1):5-13.
20. A.Latif MM, Windle HJ, Homasany BS, Sabra K, Kelleher D, Caffeic acid phenethyl ester modulates Helicobacter pylori-induced nuclear factor-kappa B and activator protein-1 expression in gastric epithelial cells, *Br J Pharmacol*, 2005, 146:1139-1147.
21. Shi Y, Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis, *Molecular cell*, 2002,9:459-470.
22. Liao HF, Chen YY, Liu JJ, et al., İnhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on angiogenesis, tumor invasion and metastasis, *J Agric Food Chem*, 2003, 51(27), 7907-12.
23. Basini G, Baioni L, Bussolati S, et al., Antiangiogenic properties of an unusual benzo [k, l] xanthene lignan derived from CAPE (Caffeic Acid Phenethyl Ester), *Invest New Drugs*, 2012, Feb;30(1),186-90.
24. Onori P, DeMorrow S, Gaudio E, et al., Caffeic acid phenethyl ester decreases cholangiocarcinoma growth by inhibition of NF-kappa B and induction of apoptosis., *Int. J. Cancer*, 2009, 125: 565-76.
25. Budisan L, Gulei D, Jurj A, et al., *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5),1199.
26. Murtaza G, Sajjad A, Mehmood Z, Shah SH, Siddiqi AR, Possible molecular targets for therapeutic applications of caffeic acid 99 phenethyl ester in inflammation and cancer, *Journal of food and drug analysis*, 2015, 23:11-18.
27. Wu J, Omene C, Karkoszka J, Bosland M, Eckard J, Klein CB, Frenkel K, Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), derived from a honeybee product propolis, exhibits a diversity of anti-tumor effects in pre-clinical models of human breast cancer, *Cancer Lett* 2011, Sep 1;308(1):43-53.
28. Lee KW, Kang NJ, Kim JH, Lee KM, Lee DE Hur HJ, Lee HJ, Caffeic acid phenethyl ester inhibits invasion and expression of matrix metalloproteinase in SK-Hep1 human hepatocellular carcinoma cells by targeting nuclear factor kappa B, *Genes Nutr*, 2008, 2:319-22.
29. Kudugunti SK, Vad MN, Ekogbo E, Moridani MY, Efficacy of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in skin B16-F0 melanoma tumor bearing C57BL/6 mice, *Invest New Drugs*, 2011, 29:52-62.
30. Chung TW, Kim SJ, Choi HJ et al. CAPE suppresses VEGFR-2 activation, and tumor neovascularization and growth. *J Mol Med*, 2013; 91:271-82.
31. Rzepecka-Stojko A, Kabala-Dzik A., Mozdierz A., et al. Caffeic Acid phenethyl ester and ethanol extract of propolis induce the complementary cytotoxic effect on triple-negative breast cancer cell lines, *Molecules*, 2015, 20: 9242-62.
32. Cho MS, Park WS, Jung WK, et al., Caffeic acid phenethyl ester promotes antiinflammatory effects by inhibiting MAPK and NF-κB signaling in activated HMC-1 human mast cells, *Pharm Biol*, 2014, 52(7), 926-32.
33. Anjaly K, Tiku AB. Radio-Modulatory Potential of Caffeic Acid Phenethyl Ester: A Therapeutic Perspective, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2018, 18: 468-75.
34. Chang H, Wang Y, Yin X, Liu X, Xuan H, Ethanol extract of propolis and its constituent caffeic acid phenethyl ester inhibit breast cancer cells proliferation in inflammatory

- microenvironment by inhibiting TLR4 signal pathway and inducing apoptosis and autophagy, *BMC Complement Altern Med*, 2017, Sep 26;17(1):471.
35. Wu J, Omene C, Karkoszka J, Bosland M, Eckard J, Klein CB, Frenkel K, Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), derived from a honeybee product propolis, exhibits a diversity of anti-tumor effects in pre-clinical models of human breast cancer, *Cancer Lett*, 2011, 308:43-53.
 36. Hamil KJ, Kligys K, Hopkinson SB, Jones JCR, Laminin deposition in the extracellular matrix: a complex picture emerges, *J Cell Sci* 2009, 122, 4409-17.
 37. Benton G, Crooke E, George J, Laminin-1 induces E-cadherin expression in 3-dimensional cultured breast cancer cells by inhibiting DNA methyltransferase 1 and reversing promoter methylation status, *FASEB J*, 2009, 23, 3884-95.
 38. Patarroyo M, Tryggvasonb K, Virtanenc I, Laminin isoforms in tumor invasion, angiogenesis and metastasis, *Seminars in Cancer Biology*, 2002, Vol.12:197-207.
 39. Sodek LK, Brown TJ, Ringuette JM, Collagen I but not matrigel matrices, provide an MMP-dependent barrier to ovarian cancer cell penetration, *BMC Cancer*, 2008, 8: 223.
 40. Cross VL, Zheng Y, Choi NW, et al., Dense type I collagen matrices that support cellular remodeling and microfabrication for studies of tumor angiogenesis and vasculogenesis in vitro, *Biomaterials*, 2010,3,8596-8607

<http://edergi.cbu.edu.tr/ojs/index.php/cbusbed> isimli yazarın CBU-SBED başlıklı eseri bu Creative Commons Alıntı-Gayriticari4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

