



Araştırma Makalesi / Research Article

Effects of Caffeic acid Phenethyl Ester (CAPE) on Angiogenetic Biomarkers in Patients with Colon Cancer

Kolon Kanseri Hastalarda Kafeik Asit Fenetil Esterin (CAPE) Angiogenetik Biyobelirteçlerin Üzerindeki Etkileri

Funda KOSOVA¹, Zeynep KASAR², Feyzan ÖZDAL KURT³, İbrahim TUĞLU⁴

¹ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Biyokimya, Manisa, Türkiye

² Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Manisa, Türkiye

³ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Manisa, Türkiye

⁴ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Manisa, Türkiye

Öz

Amaç: Kolon ve rektum kanseri dünyada üçüncü en yaygın kanser türleridir. CAPE, nöronları oksidatif stres, apoptoz düzensizliği ve beyin iltihabı gibi çeşitli nörolojik hastalıklarının altında yatan nedenlere karşı koruma yeteneğine sahiptir. Hücre dışı matris, doku gelişimini ve homeostazı düzenler ve düzensizliği neoplastik ilerlemeye katkıda bulunur. Biz çalışmamızda, matris proteinlerinin varlığında CAPE'nin angiogenetik (VEGF, MMP, ES ve TSP-1) faktörler üzerindeki etkisini incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada kullanılan kolon karsinoma hücre dizisi Colo 205'e matris proteinlerinin varlığında CAPE ilave ettik. Hücreler toplandı ve analize kadar -80°C'de tutuldu. VEGF, MMP, ES ve TSP-1, ELISA kitleri (Millipore mCorp., Billerica, MA) kullanılarak ölçüldü.

Bulgular: Kolon kanserli hücre hatlı grup CAPE ilavesi ile karşılaştırıldığı zaman VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak düşerken, Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak arttı. Kontrolle göre CAPE + kollajen grubu karşılaştırıldığında grup VEGF, MMP, TSP ve Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak azalmaktadır. Kontrolle göre CAPE + laminin grubu karşılaştırıldığında grup VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak azalırken Endostatin seviyeleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır. Kontrolle göre laminin grubu karşılaştırıldığı zaman VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak düşerken, Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak artmaktadır.

Sonuç: ECM ve biyofiziksel özelliklerinin tümörün ilerlemesini nasıl etkilediğine ilişkin birçok cevaplanmamış soru olsa da, bu bileşenin kanser hastalarını tedavi etmede etkili bir hedef olma potansiyeli son derece yüksektir.

Anahtar Kelimeler: Kolon kanseri, VEGF, MMP, TSP, Endostatin

Abstract

Objective: Colon and rectal cancer are the third most common types in the world. CAPE can protect neurons against a variety of underlying causes of various human neurological diseases, such as oxidative stress, dysregulation of apoptosis, and brain inflammation. The extracellular matrix regulates tissue development and homeostasis, and its dysregulation contributes to neoplastic progression. In our study, we aimed to examine the effect of CAPE on angiogenetic (VEGF, MMP, ES and TSP-1) factors in the presence of matrix proteins.

Material and Methods: We added CAPE in the presence of matrix proteins to the colon carcinoma cell line Colo 205 used in this study. Cells were harvested and kept at -80°C until analysis. VEGF, MMP, ES and TSP-1 were measured using ELISA kits (Millipore mCorp., Billerica, MA).

Result: When the colon cancer cell line group was compared with Cape supplementation, VEGF, MMP, TSP levels decreased statistically, while Endostatin levels increased statistically. When the CAPE + collagen group is compared with the control group, VEGF, MMP, TSP and Endostatin levels are statistically decreased. When the CAPE + laminin group compared to the control group, VEGF, MMP, TSP levels decreased statistically, but there was no statistical difference between Endostatin levels. When the laminin group is compared with the control, VEGF, MMP, TSP levels decrease statistically, while Endostatin levels increase statistically.

Conclusion: Although there are many unanswered questions regarding how ECM and its biophysical properties affect tumor progression, the potential of this component to be an effective target for treating cancer patients is extremely high.

Keywords: Colon cancer, VEGF, MMP, TSP, Endostatin

İletişim adresi/Address for Correspondence:

Prof.Dr.Funda Kosova  <https://orcid.org/0000-0001-8070-5067>

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

Tel: +905335573629

E-mail: fundakosova@gmail.com

Geliş Tarihi/Received:21 Ocak 2023. Kabul Tarihi/Accepted: 23 Mart 2023. Çevrimiçi Yayın: Published Online: 01 Nisan 2023

GİRİŞ

Kolon ve rektum kanseri dünyada üçüncü en yaygın kanser türleridir. Kolon kanseri rektal kanserden daha sıklıktadır. Avrupa'da her yıl 250.00 civarında yeni kolon kanseri vakaları tanı almaktadır. Bunların %9'u malign çıkmaktadır. Özellikle gelir düzeyi yüksek ve endüstrileşmenin fazla olduğu yerlerde daha yaygındır. Afrika ve Asya'nın birçoğunda daha az yaygındır^{1,2}. Fiziksel aktivitenin kolorektal kansere karşı koruduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Kırmızı et, işlenmiş et, alkollü içeceklerin (erkekler ve muhtemelen kadınlar tarafından) önemli ölçüde tüketimi (günde yaklaşık 30 g'dan fazla etanol), vücut yağı ve karın yağı ve yetişkinlerde boy uzamasına neden olan faktörlerin kanıtları, ya da sonuçları, kolorektal kanser nedenleri olduğu bildirilmiştir. Kalın bağırsak kanserinin başlıca histolojik tipi, tüm kalın bağırsak tümörlerinin %90-95'ini oluşturan adenokarsinomdur. Kolloid veya müsinöz adenokarsinomlar, kalın bağırsak tümörlerinin yaklaşık %17'sini oluşturur³. Kolorektal kanser, bir hasta semptomlar gösterdiğinde veya bir tarama programının sonucu olarak teşhis edilebilir. Tıkayıcı veya perforan kanserli hastalar dışında, semptomların süresi prognoz ile ilişkili değildir⁴. Kolon kanseri, bağırsakta lokalize olduğunda oldukça tedavi edilebilir bir hastalıktır⁵. Kolon kanserinin prognozu, tümörün bağırsak duvarından penetrasyon derecesi ve nodal tutulumun varlığı veya yokluğu ile açıkça ilişkilidir. Bu iki özellik, bu hastalık için geliştirilen tüm evreleme sistemlerinin temelini oluşturur⁶. İlave parametreler sınıflandırma, anjio ve venöz invazyon ve perinöral invazyon, lenfoid inflamasyon, rezeksiyon sınırlarının tümör tutulumu Dukes ve TNM sınıflandırmalarının dikkate almadığı derecelendirir⁷. Tümör dokusunda gözlenen p53, ki-ras ve bcl-2 ekspresyonu, TGF-alfa, EGF, proliferatif indeks ve anöploid gibi diğer birçok prognostik faktör, yüksek riskli durumlarda tek veya kombine prediktifdeğerleri açısından değerlendirilmektedir^{6,8,9,10}.

Bal arısının bir ürünü olan propolis, geleneksel tıpta uzun yıllardır kullanılmaktadır. Hidrofobik bir biyoaktif polifenolik ester olan kafeik asit fenetil ester (CAPE), propolisin en kapsamlı

şekilde araştırılan aktif bileşenlerinden biridir. Birkaç çalışma, CAPE'nin antioksidan, antienflamatuar, antiviral, antifungal, antiproliferatif ve antineoplastik özellikler gibi geniş bir farmakolojik aktivite yelpazesine sahip olduğunu göstermiştir. CAPE'nin farklı nörodejeneratif bozukluklar üzerinde nöroprotektif bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu etkilerin temelinde CAPE, nöronları oksidatif stres, apoptoz düzensizliği ve beyin iltihabı gibi çeşitli insan nörolojik hastalıklarının altında yatan çeşitli nedenlere karşı koruma yeteneğine sahiptir. CAPE ayrıca diyabet, septik şok ve hepatik ensefalopati gibi sinir sistemini olumsuz etkileyen bazı hastalıklardan da koruyabilirken, çok sayıda çalışma CAPE'nin farklı nörotoksik maddelerin neden olduğu olumsuz reaksiyonlara karşı nöroprotektif etkilerini göstermiştir. CAPE'nin merkezi sinir sistemini (CNS) çeşitli CNS iskemik durumlarını ve CNS'deki CAPE anti-kanser aktivitesini takiben ikincil yaralanmadan korumadaki potansiyel rolü de gözden geçirilmiştir¹¹. Hücre dışı matris (ECM), kollajenler, proteoglikanlar/glikozaminoglikanlar, elastin, fibronektin, lamininler ve diğer birkaç glikoproteinden oluşan hücre dışı olmayan üç boyutlu bir makromoleküler ağdır. Matris bileşenleri, hücrelerin tüm doku ve organlarda bulunduğu karmaşık bir ağ oluşturan hücre yapışma reseptörlerinin yanı sıra birbirlerine bağlanır. Hücre yüzeyi reseptörleri, hayatta kalma, büyüme, göç ve farklılaşma gibi çeşitli hücre fonksiyonları düzenleyen ve normal homeostazın sürdürülmesi için hayati önem taşıyan ECM'den gelen sinyalleri hücrelere iletir. ECM, normal ve patolojik koşullar sırasında çeşitli matris bozan enzimlerin aracılık ettiği sürekli olarak yeniden yapılanmaya uğrayan oldukça dinamik bir yapısal ağdır. ECM kompozisyonunun ve yapısının kuralılaşması, çeşitli patolojik durumların gelişimi ve ilerlemesi ile ilişkilidir. Çeşitli ECM makromolekül ailelerinin sağlık ve hastalık üzerindeki etkileri de bulunmaktadır¹². Lamininler, bazal membranlarda kollajen tip IV, nidogenler, agrin ve perlekan ile birlikte bir araya getirilen büyük heterotrimerik çapraz şekilli glikoproteinlerdir^{13,14}. Her bir laminin

heterotrimeri, her biri ayrı ayrı genler tarafından kodlanan bir α , bir β ve bir γ zincirinden oluşur¹⁵. Laminin molekülleri, ECM'lerin organizasyonuna ve hücre yapışmasına katılan diğer ECM bileşenleri ve yerleşik hücrelerle olduğu kadar birbirleriyle de etkileşime girer. Lamininler, erken embriyonik gelişim ve organogenezde çok önemli roller oynarlar¹³. Kollajen, tüm hayvanlarda interstisyel ECM'lerde en bol bulunan lifli proteindir ancak aynı zamanda bazal membranlar gibi periselüler matrikslerde de bulunur¹⁶. Özellikle, çeşitli hücre tiplerinin yüzeyinde transmembran kollajenlerin keşfi ve bunların bozunma üzerine serbest kalan ve önemli hücre fonksiyonları yöneten biyoaktif peptitler içermesi, kollajen biyolojisine olan ilgimizi artırmıştır¹⁶.

Hücre dışı matriks, doku gelişimini ve homeostazi düzenler ve düzensizliği neoplastik ilerlemeye katkıda bulunur. Ekstraselüler matriks sadece üzerinde dokuların organize edildiği yapı iskelesi olarak hizmet etmez, aynı zamanda hücre büyümesini, hayatta kalmasını, göçünü ve farklılaşmasını yönlendiren ve vasküler gelişimi ve bağışıklık fonksiyonunu modüle eden kritik biyokimyasal ve biyomekanik ipuçları sağlar. Bu nedenle, tümör hücrelerindeki genetik modifikasyonlar şüphesiz maligniteyi başlatıp yönlendirirken, kanser, tümör hücrelerinin ve kanserle ilişkili stromal hücrelerin hemen hemen her davranışsal yüzünü modüle eden dinamik olarak gelişen hücre dışı bir matriks içinde ilerler¹⁷. Bizde bu bilgiler ışığında matriks proteinlerinin varlığında CAPE'nin angiogenetik (VEGF, MMP, ES ve TSP-1) faktörler üzerindeki etkisini incelemeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

CAPE uygulanması

CAPE, 10 mM olacak şekilde DMSO içinde çözülerek stok solüsyonu hazırlandı. Daha sonra hazırlanan bu stok solüsyondan 1, 0.25, 0.06, 0.015, 0.007 μ L farklı dozlarda CAPE tedavi amacıyla kolon kanser hücre dizilerine uygulandı. CAPE'nin toksik etkisi, birleşik kültürlerde doza bağlıydı ve IC50, 0.25 μ g/mL kullanıldı.

Hücre Kültürü

Bu çalışmada kullanılan kolon karsinoma hücre hattı Colo-205 ATNT firmasından temin edilerek protokole uygun şekilde çözülerek flasklara alındı. Hücre hattı DMEM F-12, %10 FCS, %1 L-glutamine ve %1 penisilin-streptomisin içeren kültür ortamında 37°C'de ve 5% CO₂'li inkübatörde kültüre edildi. Hücrelerin üremesi her 2 günde bir morfolojik olarak faz kontrast ataçmanlı inverted mikroskopta (CK40-F200, Olympus, Japonya) incelendi ve mikrofotografi ile görüntüldü. Konfluent olan hücrelerden pasaj yapılarak hücrelerin çoğaltılması sağlandı.

Matriks molekül kaplama

Toplamda 24 altı oyuklu plaka, gece boyunca 4°C'de 900 uL %2 (h/h) asetik asit (1:10 seyreltme) içinde seyreltilmiş 100 uL kollajen I ve 900 uL 1 mg/mL L fosfat tamponlu salin (PBS), pH 7.4 (1:10 dilüsyon) içinde seyreltilmiş 100 uL laminin, her bir oyuk başına 4 μ g konsantrasyonda ilave edildi. Hem laminin hem de kollajen I 6.25 μ g/cm² 2.28'de kaplandı.

ELISA Analizi

Hücre lizatlarındaki VEGF, MMP, ES ve TSP1 konsantrasyonlarını ölçmek için hücreler, 12 saat boyunca 6 oyuklu doku kültürü plakalarında 3×10^5 hücre/3 mL ortam/oyukta kültürlendi, ardından 48 saat CAPE ile işleme tabi tutuldu. Hücreler toplandı ve analize kadar -80°C'de tutuldu. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), Matriks metalloproteinazlar (MMP), Endostatin (ES) ve Trombospondin 1 (TSP-1), ELISA kitleri (Millipore mCorp., Billerica, MA) kullanılarak ölçüldü. Analiz 3 tekrarlı olarak yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Deneylerden elde edilen verileri değerlendirmede SPSS 15.0 istatistik programı kullanıldı. Gruplar arası farkın anlamlılığı Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

Pasaj yapılan hücrelerin normal şekilde üredikleri saptandı. Colo-205, kolon adenokarsinomunu taklit eden bir hücre dizinidir. Bu hücre dizininde

hücreler küçük ve yuvarlak olarak gözlemlendi. Hücrelerin kültür tabağına yapışması geç ve değişik düzeylerde gerçekleşti. Çalışmamızda matris proteinlerinin varlığında CAPE'nin ilavesiyle VEGF, MMP, ES ve TSP-1 seviyelerini ölçmek için ELISA testini kullandık.

Tablo 1. Hücre hattı gruplarına ait biyobelirteçler sunulmaktadır.

	VEGF (ng/mL)	MMP (ng/mL)	TSP (ng/mL)	Endostatin (ng/mL)
Kontrol	25,8 ±2.3	0,12 ±0.5	30,9 ±7.5	1,57 ±0.5
CAPE	24,2 ±2.1	0,07 ±0.02	25,9 ±6.5	1,73 ±0.7
CAPE+Kollojen	22,5 ±2.1	0,09 ±0.01	27,6 ±5.4	1,48 ±0.3
CAPE+Laminin	20,8 ±1.9	0,11 ±0.4	22,6 ±5.2	1,57 ±0.5
Laminin	22,5 ±1.9	0,11 ±0.5	27,6 ±6.5	1,90 ±0.8

Kolon kanserli hücre hattı grubu, Cape ilavesi ile karşılaştırıldığı zaman VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak düşerken, Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak artıyor. Kontrole göre CAPE+kollajen grubu karşılaştırıldığında grup VEGF, MMP, TSP ve Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak azalmaktadır. Kontrole göre CAPE+laminin grubu karşılaştırıldığında grup VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak azalırken Endostatin seviyeleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır. Kontrole göre laminin grubu karşılaştırıldığı zaman VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak düşerken, Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak artmaktadır.

CAPE grubu ile CAPE+kollajen grubu karşılaştırıldığında VEGF, MMP, TSP ve Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak azalmaktadır. CAPE grubu CAPE+ laminin grubu ile karşılaştırıldığında grup VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak azalırken Endostatin seviyeleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır. CAPE grubuna göre laminin grubu karşılaştırıldığı zaman VEGF, TSP seviyeleri istatistiksel olarak düşerken, MMP, Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak artıyor. CAPE+Laminin grubu Laminin grubu ile karşılaştırıldığında VEGF, TSP ve Endostatin seviyeleri yükselmekte iken MMP seviyelerinde ise istatistiksel bir fark görülmemektedir.

TARTIŞMA

Kolon kanseri Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık teşhis edilen ikinci malignite ve aynı zamanda kansere bağlı ölümlerin ikinci en yaygın nedenidir. Cerrahi birincil tedavidir ve hastaların yaklaşık %50'sinde kürle sonuçlanır^{5,8}. Ameliyat sonrası nüks önemli bir sorundur ve genellikle nihai ölüm nedenidir. Avrupa kolon kanseri tanısı alan yetişkinlerde %72'si 1 yıllık yaşam süresine %54'ü 5 yıllık yaşam süresine sahiptir. Kolon kanseri erken tanı alıp tedavi edildiğinde tedaviye daha iyi cevap vermektedir¹⁸. Kolorektal kanser çoğunlukla çevresel etkenlerden oluşur ve bu vakaların sadece %5'i kalıtsaldır. Düşük risk bölgelerinden yüksek risk bölgelerine göçen popülasyonlarda kolon kanseri riski artmaktadır.

Aynı zamanda Amerika'da doğan bir Japonya'da da beyaz ırka göre risk faktörü daha fazladır¹⁹. Kolorektal kanserin etyolojisinde en önemli faktör diyetdir. Son zamanlarda, Dünya Kanser Araştırma Fonu ve Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü²⁰ diyet, fiziksel aktivite ve kanserin önlenmesine ilişkin bilimsel literatür üzerine kapsamlı raporlarında, kolorektal kanserin çoğunlukla uygun diyetler ve ilişkili faktörlerle önlenebileceği sonucuna varmışlardır. Nişastasız sebze, meyve, folat içeren besinlerin yanı sıra balık, D vitamini içeren besinler ve ayrıca selenyum ve onu içeren besinlerin kolorektal kansere karşı koruduğuna, demir içeren besinlerin ve ayrıca peynirin, hayvansal yağ içeren besinler

ve şeker içeren besinlerinde kanserin nedenleri olduğu bildirilmiştir¹⁰. Bazı taşlı yüzük tümörleri, genellikle mukozayı tutmadan intramural olarak yayılarak linitis plastika tipi bir tümör oluşturuyor gibi görünmektedir. Epitelyal tümörlerin diğer nadir varyantları, bazen adenoakantoma olarak adlandırılan skuamöz hücreli karsinomları ve adenoskuamöz karsinomları içerir. Son olarak, glandüler yapılar veya mukus salgıları gibi başka özellikler içermeyen farklılaşmamış karsinomlar vardır³. Erken kolorektal kanser hiçbir belirti vermediğinden ve kolorektal kanserin semptomlarının birçoğu spesifik olmadığından (bağırsak alışkanlıklarında değişiklik, genel karın rahatsızlığı, belirgin bir neden olmaksızın kilo kaybı, sürekli yorgunluk), tarama programları yoluyla teşhis için agresif çabalar gereklidir. Kolorektal kanserin semptomları aralıklı karın ağrısı, mide bulantısı veya kusma – kanama, tıkanıklık veya perforasyona ikincildir. Ele gelen bir kitle sağ kolon kanserinde sık görülür. Kanama akut olabilir ve en yaygın olarak dışkı ile karıştırılmış kırmızı kan olarak ortaya çıkar. Kalın bağırsağın malign obstrüksiyonu en sık sigmoid kanseri ile ilişkilidir⁴. Karsinoembriyonik antijen (CEA) ve karbohidrat antijeni 19-9'un (CA 19-9) tedavi öncesi yükselmiş serum seviyeleri negatif bir prognostik öneme sahiptir²¹. Bir bal arısı ürünü olan propolis, bal mumu ve arı tükürük enzimleri ile karıştırılmış farklı bitki kısımlarından elde edilen reçinemsiz bir üründür ve multimilyon dolarlık bir pazarı temsil etmektedir^{22,23}. Anti-mikrobiyal, antiinflamatuar, anti-oksidan, immünomodülatör, anti-mutajenik ve karsinostatik etkileri nedeniyle uzun yıllardır geleneksel tıpta kullanılmaktadır²⁴. Propolis, arıların bitkilerden topladıkları içeriklere göre çok sayıda farklı bileşenden oluşur. Ana bileşenleri fenoller ve ilgili bileşiklerdir. Bu etkilerden hangi maddelerin sorumlu olduğunu belirlemek ve saflaştırmak için araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmaların sonuçları, kafeik asit fenetil esterinin (CAPE, fenetil 3-(3-4 dihidroksifenil) akrilat) propolise atfedilen yararlı etkilerin çoğuna aracılık eden ana bileşen olduğunu göstermiştir²⁵. CAPE, moleküle güçlü antioksidan özellikler sağlayan ve birçok biyolojik aktiviteyi etkileyebilen katekol halkası içinde hidroksil grupları bulunan bir polifenoldür. Aromatik ve

alifatik yapıdaki uzun karbon grupları nedeniyle lipofilik özelliği vardır ve bu da intraperitoneal uygulama sonrasında yeterli kan konsantrasyonuna yol açar²⁶. Celli ve ark.²⁷, CAPE'nin sıçanlarda ve insan plazmasındaki stabilitesini araştırmıştır. CAPE'nin sıçan plazmasında 6 saat sonra in vitro ve ayrıca in vivo olarak kafeik aside hidrolize uğradığı ve ana metabolit olarak kafeik asit verildiği bulunmuştur. CAPE hidrolizinden sorumlu karboksilesteraz içermediği için insan plazmasında bu tip hidroliz meydana gelmez²⁸. CAPE tarafından gösterilen geniş farmakolojik aktivite yelpazesi, çeşitli kanser modellerinde anti-proliferatif etkiler de dahil olmak üzere, antioksidan/anti-inflamatuar anti-viral/anti-fungal özelliklere kadar uzanır²⁹. Yakın tarihli bir in vivo çalışma, CAPE'nin sıçanlarda kan-beyin bariyerini geçme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir³⁰. CAPE'nin nöronları çeşitli insan nörolojik hastalıklarının ana nedenlerinden, yani oksidatif stres, apoptoz düzensizliği ve beyin iltihabından koruduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca CAPE'nin sinir sistemini doğrudan etkilemeyen diyabet, septik şok ve hepatik ensefalopati (HE) gibi bazı hastalıkların sonuçlarından koruyabildiği bulunmuştur^{29,30}. Tüm dokular ve organlar, hücre dışı matrisler (ECM'ler) adı verilen iyi organize edilmiş ağlar oluşturan hücrelerin ve hücreyel olmayan bileşenlerin bir karışımını içerir. ECM'ler, yalnızca hücrelerin gömülü olduğu fiziksel iskeleler sağlamakla kalmaz, aynı zamanda büyüme, göç, farklılaşma, hayatta kalma, homeostaz ve morfogenez dahil olmak üzere birçok hücreyel süreci de düzenler^{1,2,3}. ECM'ler, kesin bileşimi ve spesifik yapıları dokudan dokuya değişen çok çeşitli matris makromoleküllerinden oluşur. ECM'lerin ana bileşenleri, oldukça asidik ve hidratlı moleküller olan kollajenler, elastin, fibronektin (FN), lamininler, glikoproteinler, proteoglikanlar (PG'ler) ve glikozaminoglikanlar (GAG'ler) gibi lif oluşturu proteinlerdir. Çoğu dokuda, fibril oluşturan kollajen tip I ve esas olarak kırık kollajen tip II, ECM'lerin ana bileşenleridir³. ECM'ler, bileşim ve yapı bakımından farklılık gösteren iki ana tipe sınıflandırılabilir: interstisyel ve periselüler matrisler. Ara matrisler hücreleri çevrelerken periselüler

matriksler hücrelerle yakın temas halindedir. Bazal membranlar kollajen tip IV, lamininler, nidogen 1 ve 2 ve perlecan, agrin, kollajen tip XV ve kollajen tip XVIII gibi PG'lerden oluşur⁴. Bazal membranlar, esas olarak epitel hücre yapışma yerleri sağlayan bir laminin polimerinden ve genel yapıyı stabilize eden bir kollajen tip IV ağından oluşur. Her iki ağ, iki ağ birbirine bağlayan moleküler bağlayıcılar olarak işlev gören diğer bazal membran bileşenleri ile etkileşime girer⁵.

Laminin izoformlarının dağılımı dokuya özgüdür, bu da belirli lamininlerin doku fonksiyonlarına dahil olduğunu düşündürür³¹. Hücre farklılaşmasını, yapışmasını ve göçünü etkilerler ve dokuların bakımı ve hayatta kalması için hayati öneme sahiptirler. Örneğin, lamininler yaralı epitelde up-regüle edilerek epitel hücrelerinin yaralı bölgeyi örtmesi ve böylece bozulmamış epitelyumu yeniden oluşturması için yapışması ve hareket etmesi için substrat sağlar. Kan damarı büyümesine ve olgunlaşmasına katkıda bulunan endotel bazal membranlarının önemli bileşenleri oldukları için anjiyogenezde de rol oynarlar^{14,31}. Kollajen süper ailesi, omurgalılarda en az kırk altı farklı polipeptit zincirinden (α zinciri) oluşan yirmi sekiz farklı kollajen tipinden oluşur. Kollajen tip I, dokular arasında yaygın ve bol ekspresyon gösteren arketip kollajendir. Fibrillere kendi kendine birleşen mükemmel heterotrimerik üçlü sarmallar oluşturur. Kollajen tip I, dermis, kemik ve tendon gibi dokularda önemli bir yapısal elementtir³². Kollajenler yapı ve özellikleri bakımından birbirlerinden farklılık gösterirler¹⁶. Kollajen biyosentezi ve yapısı, ECM'nin yeniden şekillenmesi sırasında, tümörjenez^{16,32} dahil olmak üzere çeşitli patolojilerde belirgin şekilde değiştirilir. Artan kollajen birikimi ve çapraz bağlanma ile indüklenen ECM sertleşmesi, doku morfogenezini bozar ve malign ilerlemeye katkıda bulunur. Artan kollajen çapraz bağlanmasına LOX ve LOX benzeri enzimler aracılık eder ve integrinler ve DDR'ler gibi kollajen bağlayıcı hücre yüzeyi reseptörleri yoluyla sinyal iletimini teşvik ederek tümörün ilerlemesini destekler³².

Hücre dışı matris (ECM) gelişimi düzenler ve doku homeostazını korur. ECM, hücre büyümesini, hayatta kalmasını, hareketliliğini ve

farklılaşmasını düzenleyen farklı biyokimyasal ve biyomekanik özelliklere sahip üç boyutlu supramoleküler yapılar halinde bir araya gelen karmaşık bir makromoleküller ağından oluşur¹². ECM ayrıca doku işlevi ve mekanik bütünlük için yapısal temel sağlar, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin mevcudiyetini düzenler ve yerel mikro ortamın hidrasyonunu ve pH'ını korur³³. Tümörler sıklıkla desmoplazi gösterir ve bu fibrotik durum, ECM proteinlerinin artmış birikimi, değişmiş bir organizasyonu ve gelişmiş post-translasyonel modifikasyonları ile karakterize edilir. Kansere ilişkili ECM, bir tümörün yalnızca ayrılmaz bir özelliği değildir, aynı zamanda histopatolojisine de aktif olarak katkıda bulunur^{12,34}. Örneğin, pankreas kanseri olan hastalarda belirgin bir stromal desmoplazi görülür ve bu genellikle tümörün ilerlemesi ve kötü hastalık sonucuyla ilişkilendirilir. Benzer şekilde, MMP'ler ve kollajen çapraz bağlayıcılar gibi matrisi yeniden şekillendiren genlerin ekspresyonu meme kanseri hastaları için kötü bir prognoz öngörüsüdür³⁴. Fibroz ayrıca bir dokuyu maligniteye yatkın hale getirebilir; Anormal kollajen birikimi ile karakterize karaciğer sirozu veya kistik fibrozu olan hastalarda kanser gelişme riski yüksektir¹². Ayrıca, artan kollajen birikimi ile ilişkili olan artan mamografik yoğunluk, meme kanseri geliştirme riskinin artmasıyla ilişkilidir. Gerçekten de, MMP'ler ve yüksek mekanik stres, meme kanseri hastalarında tümör oluşumunun habercisidir. Orijinal olarak Hanahan ve Weinberg tarafından tanımlanan³³, kanserin ayırt edici özellikleri, sürekli çoğalma, büyümenin baskılanmasından kaçınma, ölüm direnci, replikatif ölümsüzlük, indüklenmiş anjiyogenez ve istila ve metastazın başlatılması dahil olmak üzere insan kanserlerinin gelişimi sırasında edinilen temel biyolojik yetenekleri kapsar. 2011'de Hanahan ve Weinberg³⁴, ortaya çıkan iki özelliği ekleyerek ayırt edici özellikleri yeniden gözden geçirdiler: düzensiz hücre metabolizma ve bağışıklık yıkımından kaçınma. Daha da önemlisi, ECM kanser belirtilerini karakterize eden aynı hücresel yanıtların çoğunu düzenler. Bu örtüşme, tümör davranışı ve terapötik müdahaleler incelenirken ECM'nin biyokimyasal ve biyofiziksel özelliklerinin ve ortaya çıkan kanser belirtileri dikkate alınması gerektiğini

düşündürür.

Matriksellüler proteinler, hücre fonksiyonlarını hücre dışı veya hücre içi olarak düzenleyebilir. Ekstrasellüler seviyede, matriksellüler proteinler hücreleri doğrudan hücresele reseptörleri ile etkileşerek veya indirekt olarak aynı kökenli reseptörlerine sundukları çözünür büyüme faktörlerini (örneğin, VEGF, FGF-2 ve latent TGF- β) bağlayarak bağlar ve böylece aktivitelerini modüle eder. Ayrıca, birkaç büyüme faktörü reseptörünün (EGFR/ErbB2, VEGFR-1 ve TGF reseptörü I (TGFRI) gibi) ^{35,36} sinyalini değiştirebilirler³⁷.

Tümör mikroçevresinde meydana gelen parakrin etkileşimler, aynı zamanda, kanserle ilişkili fibroblastlar tarafından komşu tümör hücresi ile ilişkili sinyal reseptörlerine salınan büyüme faktörlerinin aktivitesine aracılık eden ana hücreli proteinlerin ekspresyonunu da indükler ³⁸. Daha da önemlisi, bazı ana hücreli proteinlerin, tümörlerde spesifik proteinaz ekspresyonunu ve aktivitesini (MMP-2, MMP-12 gibi) yukarı regüle ettiği ve metastatik potansiyelin artmasına yol açtığı gösterilmiştir ³⁹. Hanahan ve Weinberg ve arkadaşları tümörle ilişkili hücre dışı matristen gelen biyofiziksel ve biyokimyasal ipuçlarının, bu kanser özelliklerinin her birini etkilediğini ve bu nedenle malignite için kritik olduğunu savunmaktadırlar³³. Pankreas tümörlerinden stromal fibroblastları ortadan kaldıran yakın tarihli bir çalışma, bu hücre popülasyonunun ECM bileşimi ve mekanik sertleşme üzerindeki etkilerinin tümörün ilerlemesini inhibe ettiğini düşündürmektedir⁴⁰. Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre de, Kolon kanserli hücre hatlı grup Cape ilavesi ile karşılaştırıldığı zaman VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak düşerken, endostatin seviyeleri istatistiksel olarak arttı. Kontolle göre CAPE + kollajen grubu

karşılaştırıldığında grup VEGF, MMP, TSP ve Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak azaldı. Kontrole göre CAPE + laminin grubu karşılaştırıldığında grup VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak azalırken, endostatin seviyeleri arasında istatistiksel bir fark bulunmadı. Kontrole göre laminin grubu karşılaştırıldığı zaman VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak düşerken, Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak arttı. CAPE grubu CAPE+kollajen grubu ile karşılaştırıldığında VEGF, MMP, TSP ve Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak azaldı. CAPE grubu CAPE + laminin grubu karşılaştırıldığında grup VEGF, MMP, TSP seviyeleri istatistiksel olarak azalırken Endostatin seviyeleri arasında istatistiksel bir fark bulunmadı. CAPE grubuna göre laminin grubu karşılaştırıldığı zaman VEGF, TSP seviyeleri istatistiksel olarak düşerken, MMP, Endostatin seviyeleri istatistiksel olarak arttı.

Sonuç olarak, yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz verilere göre kolon kanserli hastalara matriks proteinlerinin varlığında CAPE verildiğinde kontrole göre angiogenезin azaldığını gözlemledik. Özellikle laminin matrix proteinlerin varlığında CAPE ilavesinin kollajen matrix proteinlerin varlığında CAPE ilavesine göre daha fazla angiogenезi azalttığını gözlemledik. Yani laminin matriks proteinlerinin varlığında CAPE'nin etkisinin kolon kanserli hastalarda angiogenезi çok daha fazla azalttığını gözlemledik. ECM ve biyofiziksel özelliklerinin tümörün ilerlemesini nasıl etkilediğine ilişkin birçok cevaplanmamış soru olsa da, laminin matriks varlığında CAPE'nin kanser hastalarını tedavi etmede etkili bir hedef olma potansiyeli son derece yüksek olduğunu düşünmekteyiz.

Etik Onay: Etik onay gerekmemektedir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemektedir.

Finansal Destek:-

Ethical Approval: Not applicable

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Support: None

KAYNAKLAR

1. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB. Cancer incidence in five continents. Lyon: International Agency for Research on Cancer. Vol. VIII. IARC Scient. Publ. No. 155. 2002, 1;137(9):2060-71doi: 10.1002/ijc.29670.
2. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2002 Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC CancerBase No. 5, version 2.0. Lyon: IARC Press; 2004.

3. K.W. Kinzler, M.C. Nilbert, B. Vogelstein, et al. Identification of a gene located at chromosome 5q21 that is mutated in colorectal cancers, *Science*, 1991, 251:1366-1370. doi: 10.1126/science.1651562
4. J.R. Jass, W.S. Atkin, J. Cuzick, et al. The grading of rectal cancer: historical perspectives and a natural history reviewed in 1704 patients, *Cancer*, 1982, 49:1131-1134. doi: 10.1002/1097-0142(19820315)49:6<1131::aid-cncr2820490611>3.0.co;2-t.
5. multivariate analysis of 447 cases, *Histopathology*, 1986, 10:437-459
6. B. Eisenberg, J.J. DeCosse, F. Harford, J. Michalek, Carcinoma of the colon and rectum: the M. Steinberg, J.S. Barkin, R.S. Kaplan, D.M. Stablein, Prognostic indicators of colon tumors. The Gastrointestinal Tumor Study Group experience, *Cancer*, 1986, 57:1866-1870. doi: 10.1002/1097-0142(19860501)57:9<1866::aid-cncr2820570928>3.0.co;2-t.
7. A. Sternberg, O. Sibirsky, D. Cohen, L.E. Blumenson, N.J. Petrelli, Validation of a new classification system for curatively resected colorectal adenocarcinoma, *Cancer*, 1999, 86:782-792. doi: 10.1007/s10434-999-0161-x.
8. R.M. Olson, N.P. Perencevich, A.W. Malcolm, J.T. Chaffey, R.E. Wilson, Patterns of recurrence following curative resection of adenocarcinoma of the colon and rectum, *Cancer*, 1980, 45:2969-2974 doi: 10.1002/1097-0142(19800615)45:12<2969::aid-cncr2820451214>3.0.co;2-7.
9. G.T. Deans, T.G. Parks, B.J. Rowlands, R.A. Spence, Prognostic factors in colorectal cancer *Br J Surg*, 1992, 79:608-613
10. Roberto Labianca a, Giordano D. Beretta b, Basem Kildani b, Laura Milesi a, Federica Merlin b, Stefania Mosconi a, M. Adelaide Pessi a, Tiziana Prochilo b, Antonello Quadri a, Gemma Gatta c, Filippo de Braud d, Jacques Wils, Colon cancer, *Critical Reviews in Oncology/Hematology* Volume 74, Issue 2, May 2010, Pages 106-133 <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2010.01.010>.
11. Marwa Balaha, Barbara De Filippis, Amelia Cataldi, and Viviana di Giacomo, CAPE and Neuroprotection: A Review, *Biomolecules* 2021, 11(2), 176. doi: 10.3390/biom11020176
12. Achilleas D Theocharis 1, Spyros S Skandalis 1, Chrysostomi Gialeli 2, Nikos K Karamanos, Extracellular matrix structure, *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 1;97:4-27. doi: 10.1016/j.addr.2015.11.001.
13. M. Durbeej, Laminins, *Cell Tissue Res.*, 339 (2010), pp. 259-268
14. V. Iorio, L.D. Troughton, K.J. Hamill, Laminins: roles and utility in wound repair, *Adv. Wound Care*, 2015, 4:250-263. <https://doi.org/10.1089/WOUND.2014.0533>
15. M. Aumailley, L. Bruckner-Tuderman, W.G. Carter, R. Deutzmann, D. Edgar, P. Ekblom, J. Engel, E. Engvall, E. Hohenester, J.C. Jones, H.K. Kleinman, M.P. Marinkovich, G.R. Martin, U. Mayer, G. Meneguzzi, J.H. Miner, K. Miyazaki, M. Patarroyo, M. Paulsson, V. Quaranta, J.R. Sanes, T. Sasaki, K. Sekiguchi, L.M. Sorokin, J.F. Talts, K. Tryggvason, J. Uitto, I. Virtanen, K. von der Mark, U.M. Wewer, Y. Yamada, P.D. 1991, 251:1366-1370. doi: 10.1126/science.1651562
16. Yurchenco, A simplified laminin nomenclature, *Matrix Biol.*, 2005, 24: 326-332. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2005.05.006>
17. K.E. Kadler, C. Baldock, J. Bella, R.P. Boot-Handford, Collagens at a glance, *J. Cell Sci.*, 2007, 120:1955-1958. doi: 10.1242/jcs.03453.
18. Michael W Pickup, Janna K Mouw, and Valerie M Weaver , The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer, *EMBO Rep*. 2014, 15(12): 1243–1253. doi: 10.15252/embr.201439246.
19. F. Berrino, A.R. De, M. Sant, et al. Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995–1999: results of the EURO CARE-4 study *Lancet Oncol*, 2007, 8: 773-783 [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(07\)70245-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(07)70245-0)
20. Tomatis L. Cancer, causes, occurrence and control. Lyon: IARC Press. Publ. no. 100; 1990.
21. WCRF& AICR. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC: AICR; 2007.
22. X. Filella, R. Molina, J.J. Grau, et al., Prognostic value of CA 19.9 levels in colorectal cancer, *Ann Surg*, 1992, 216:55-59 doi: 10.1097/0000658-199207000-00008
23. Menezes da Silveira, C.C.; Luz, D.A.; da Silva, C.C.; Prediger, R.D.; Martins, M.D.; Martins, M.A.; Fontes-Júnior, E.A.; Maia, C.S. Propolis: A useful agent on psychiatric and neurological disorders? A focus on CAPE and pinocembrin components. *Med. Res. Rev* 2020. 41(2):1195-1215. doi: 10.1002/med.21757.
24. Ağrı, İ.; Erdal Ağrı, A.; Özdemir, D.; Özgür, A. Chapter 31—CAPE and Tympanosclerosis. In *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease*, 2nd ed.; Watson, R.R., Preedy, V.R., Zibadi, S., Eds.; Academic Press: Amsterdam, The Netherlands; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2018, 421–430. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813006-3.00031-3>
25. Sforcin, J.M.; Bankova, V. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *J. Ethnopharmacol.* 2011, 133, 253–260. doi: 10.1016/j.jep.2010.10.032.
26. Toreti, V.C.; Sato, H.H.; Pastore, G.M.; Park, Y.K. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* 2013, 2013, 1–13. doi: 10.1155/2013/697390
27. Göçer, H.; Gülçin, İ. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): Correlation of structure and antioxidant

- properties. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2011, 62, 821–825. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.585963>
28. Celli, N.; Dragani, L.K.; Murzilli, S.; Pagliani, T.; Poggi, A. In Vitro and in vivo stability of caffeic acid phenethyl ester, a bioactive compound of propolis. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 3398–3407. doi: 10.1021/jf063477o.
 29. Tolba, M.F.; Azab, S.S.; Khalifa, A.E.; Abdel-Rahman, S.Z.; Abdel-Naim, A.B. Caffeic acid phenethyl ester, a promising component of propolis with a plethora of biological activities: A review on its anti-inflammatory, neuroprotective, hepatoprotective, and cardioprotective effects. *IUBMB Life* 2013, 65, 699–709. doi.org/10.1002/iub.1189.
 30. Murtaza, G.; Karim, S.; Akram, M.R.; Khan, S.A.; Azhar, S.; Mumtaz, A.; Bin Asad, M.H.H. Caffeic acid phenethyl ester and therapeutic potentials. *BioMed Res. Int.* 2014, 2014:145342. doi: 10.1155/2014/145342.
 31. Ali, M.A.; Menze, E.T.; Tadros, M.G.; Tolba, M.F. Caffeic acid phenethyl ester counteracts doxorubicin-induced chemobrain in Sprague-Dawley rats: Emphasis on the modulation of oxidative stress and neuroinflammation. *Neuropharmacology* 2020, 181, 108334. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.07.007>
 32. R. Hallmann, N. Horn, M. Selg, O. Wendler, F. Pausch, L.M. Sorokin Expression and function of laminins in the embryonic and mature vasculature *Physiol. Rev.*, 2005, 85: 979-1000. doi: 10.1152/physrev.00014.2004.
 33. J. Heino, The collagen family members as cell adhesion proteins, *BioEssays*, 2007, 29: 1001-1010. doi: 10.1002/bies.20636
 34. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000, 100:57–70. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013
 35. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144:646–674.
 36. B.J. Schiemann, J.R. Neil, W.P. Schiemann, SPARC inhibits epithelial cell proliferation in part through stimulation of the transforming growth factor-beta-signaling system, *Mol. Biol. Cell*, 2003, 14: 3977-3988. doi: 10.1091/mbc.e03-01-0001
 37. M. Nozaki, E. Sakurai, B.J. Raisler, J.Z. Baffi, J. Witta, Y. Ogura, R.A. Brekken, E.H. Sage, B.K. Ambati, J. Ambati, Loss of SPARC-mediated VEGFR-1 suppression after injury reveals a novel antiangiogenic activity of VEGF-A, *J. Clin. Invest.*, 2006, 116: 422-429. doi: 10.1172/JCI26316.
 38. J.M. Lynch, M. Maillet, D. Vanhoutte, A. Schloemer, M.A. Sargent, N.S. Blair, K.A. Lynch, T. Okada, B.J. Aronow, H. Osinska, R. Prywes, J.N. Lorenz, K. Mori, J. Lawler, J. Robbins, J.D. Molkentin, A thrombospondin-dependent pathway for a protective ER stress response, *Cell*, 2012, 149: 1257-1268. doi: 10.1016/j.cell.2012.03.050.
 39. R. Kalluri, M. Zeisberg, Fibroblasts in cancer, *Nat. Rev. Cancer*, 2006, 6: 392-401 doi: 10.1038/nrc1877
 40. S. Sarkar, R.K. Nuttall, S. Liu, D.R. Edwards, V.W. Yong, Tenascin-C stimulates glioma cell invasion through matrix metalloproteinase-12, *Cancer Res.*, 2006, 66:1771-11780 <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-0470>
 41. Sugimoto H, Kahlert C, Novitskiy SV, et al. Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell.* 2014, 25:719–734 doi: 10.1016/j.ccr.2014.04.005.