



**T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**LEPTİN'E MARUZ BIRAKILAN PC-3 PROSTAT KANSERİ
HÜCRELERİNDE SİNNAMALDEHİT ETKİSİNİN PI3K/MAPK
SİNYAL İLETİM YOLAKLARI ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI**

Amra HALUGIC ŞEN

MUĞLA-2023

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**LEPTİN'E MARUZ BIRAKILAN PC-3 PROSTAT KANSERİ
HÜCRELERİNDE SİNNAMALDEHİT ETKİSİNİN PI3K/MAPK
SİNYAL İLETİM YOLAKLARI ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI**

Amra HALUGIC ŞEN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK

*Bu tez, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından
22/142/03/3/4 kod numaralı proje ile desteklenmiştir.*

MUĞLA-2023

TEZ ONAYI

Amra HALUGIC ŞEN tarafından hazırlanan “Leptin'e Maruz Bırakılan PC-3 Prostat Kanseri Hücrelerinde Sinnamaldehit Etkisinin PI3K/MAPK Sinyal İletim Yolakları Üzerinden Araştırılması” başlıklı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programında, Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK

(İmza)

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Türker ÇAVUŞOĞLU

(İmza)

Bakırçay Üniversitesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Gürkan YİĞİTTÜRK

(İmza)

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Tez savunma tarihi: 18.05.2023

Bu tez Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programında, Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirmektedir.

Prof. Dr. Müesser ÖZCAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan metinleri sahiplerinden yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricinde YÖK Ulusal Tez Merkezi / MSKÜ Açık Erişim Sisteminde erişime açılabilir.

- ☐ Tezimle ilgili patent başvurusu yapılacağından veya patent alma süreci devam ettiğinden Enstitü Yönetim Kurulu kararı ile tezimin mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl erişime açılmasının ertelenmesini talep ediyorum.
- ☐ Tezimde yeni teknik, materyal ve metotlar kullanıldığından ve henüz makaleye dönüşmemiş olduğundan Enstitü Yönetim Kurul kararı ile mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay tezimin erişime açılmasının ertelenmesini talep ediyorum.

18.05.2023

(İmza)

Amra HALUGIC ŞEN

ETİK BEYAN

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Leptin'e Maruz Bırakılan PC-3 Prostat Kanseri Hücrelerinde Sinnamaldehit Etkisinin PI3K/MAPK Sinyal İletim Yolakları Üzerinden Araştırılması” isimli çalışmada tezin planlanmasından yazımına kadar tüm süreçlerde etik ilkelere bağlı kaldığımı, tezime ilişkin bilgi ve belgeleri akademik ve bilimsel etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezimde kullandığım tüm görsel ve yazılı materyallerin kaynağını gösterdiğimi, yararlandığım eserlerin tümünün kaynaklar bölümünde yer aldığını, tezimin Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

18.05.2023

(İmza)

Amra HALUGİC ŞEN

TEŞEKKÜR

Hayatta çok az insan Tesla gibi insanlık için bu kadar büyük adımlar atma fırsatı bulmuş olsa da hepimiz insanlık için küçük ama kendimiz ve çevremizdeki insanlar için büyük adımlar atıyoruz.

Başarılı adımlarım ve özellikle belki de bu en büyük adım için hayatımdaki insanlara minnettarım.

Kelimelerle yazılmış sayfalar, yolculuğumda kendinden bir parça veren herkese teşekkür etmeye çok az yer veriyor.

Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK'e yüksek lisans tezim boyunca mentorluk ve mesleki rehberlik yaptığı, yüksek lisans tezimin hazırlanmasındaki özverili yardımları ve kariyerinden edindiği bilgi ve tecrübeyi aktararak çalışmalarımı teşvik ettiği için teşekkür ederim. Fakültenin değerli dekanı Prof. Dr. Haşim OLGUN başkanlığında, bilgilerini bana aktaran tüm hocalarıma; Doç. Dr. Hülya ELBE, Dr. Öğr. Üyesi Gürkan YİĞİTTÜRK'e teşekkür ederim.

Laboratuvar uygulamamı yaptığım laboratuvarın uzman ekiplerine; Doç. Dr. Yelda DERE, Mehmet ERTEMUR, Arş. Gör. Dr. Volkan YAŞAR ve çok değerli dostum Süleyman BAKAR'a teşekkür ederim. Ayrıca bana destek olan hocalarım; Prof. Dr. Sabri KÖSEOĞLU, Prof. Dr. Harun ÜÇÜNCÜ, Dr. Öğr. Üyesi Şehbal YEŞİLBAŞ ve arkadaşım Dr. Kerim Can ÇAKICI' ya teşekkür ederim.

Bende araştırma ruhunu harekete geçiren, kendi eğitimime yatırım yapma bilincini uyandıran, Bosna Hersekli hocalarım Prof. Dr. Amina Kozarić, Prof.Dr. Šekib Sokolović, Doç. Dr. Zahid Lepara ve diğerlerine özel teşekkürlerimi sunarım.

Araştırma çalışmalarımda ve yüksek lisans tezimi yazarken yokluğumdan dolayı gösterdikleri sabır, destek ve anlayış için kızım Mayra Nur'a ve eşim Burak'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tüm bu yıllar boyunca koşulsuz desteğim ve sığınağım olan ve olmaya devam eden aileme, kız kardeşime, eşimin ailesine, arkadaşlarıma sonsuz minnettarım.

Seçim kolay olmadığında bile beni yüreklendirdikleri, geniş düşünmeye, uzaklara bakmaya, zamanında hareket etmeye teşvik ettikleri için onlara teşekkür ediyorum.

Her zaman yanımda ve benim için her başarıyı tamamlayan onlar.

Son olarak, yeni bir çağın zorluklarıyla yüzleşirken yüksek öğrenimin her alanında mükemmele ulaşmak için öğrenmenin bir hak, bir ayrıcalık, bir özgürlük ve sabır olduğu ve bunun da kaliteye sürekli odaklanmayı, ders çalışmayı ve kendini incelemeyi gerektirdiğinin mesajını vermek istiyorum.

“Bu proje Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 22/142/03/3/4 proje numarası ile desteklenmiştir” MSKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne desteği için teşekkür ederim.

LEPTİN'E MARUZ BIRAKILAN PC-3 PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNDE SİNNAMALDEHİT ETKİSİNİN PI3K/MAPK SİNYAL İLETİM YOLAKLARI ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmada, tarçın kabuğunun ana bileşeni olan sinnamaldehitin PC-3 prostat kanseri hücrelerinde leptin ile oluşturulan obezite modelinde, hücre canlılığı, hücre ölümü, hücre morfolojisi ve PI3K/MAPK sinyal iletim yolları üzerindeki etkisinin in vitro olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Erkeklerde ikinci en sık ölüm nedeni olan prostat kanserinin etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Obezitenin prostat kanseri de dahil olmak üzere kolon, meme ve endometriyal kanser gibi çeşitli kanser türleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Leptin adipositlerden salgılanan ve iştahı kontrol eden bir proteindir. Açlık durumunda plazma leptin seviyeleri düşer. Ancak obezlerde kan leptin seviyeleri yüksek olduğu halde iştahlarının azalmadığı, leptin sinyaline karşı duyarsızlaştıkları, leptin direnci geliştiği gözlenmiştir. Sinnamaldehit tarçının kabuğunda bulunan bir fitokimyasaldır. İnsan sağlığı üzerinde antienflamatuvar, antimikrobiyal ve antioksidan etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Pek çok kanserin tedavisinde kanser hücrelerini hedef alan akıllı ilaç tedavilerini geliştirmek için araştırmalar yapılmaktadır. Kanser gelişimi sırasında aktive olan sinyal yollarının inhibe edilmesi durumunda hedefe yönelik tedavi protokolleri geliştirilebilir. PI3K (phosphatidylinositol-3-kinases) yolağı hücre canlılığı, farklılaşması ve proliferasyonunda rol oynamaktadır. MAPK (mitogen-activated protein kinases) bazı transkripsiyon faktörlerini aktive ederek hücre siklusunu etkiler. Bu çalışmada PC-3 insan prostat kanser hücre hattı kullanıldı. Kontrol, leptin, sinnamaldehit, leptin+sinnamaldehit ve leptin+ çözücü olmak üzere beş çalışma grubu oluşturuldu. H-E boyama ile hücre morfolojisi incelemesi, anneksin V ile apoptoz analizi ve PI3K/MAPK sinyal yolağı analizi yapıldı. Çalışmamızda sinnamaldehitin PC-3 hücrelerinde, hücre morfolojisini değiştirdiğini, apoptozu indüklediğini ve özellikle PI3K sinyal yolağı inhibisyonu yaptığını; leptin ile obezite modeli oluşturulmuş hücrelerde ise hücre morfolojisinde değişiklik ve apoptotik etkiyi aynı şekilde gösterdiğini ancak PI3K sinyal yolağı inhibisyonu üzerindeki etkisini kaybettiğini gözledik.

Anahtar Kelimeler: Prostat kanseri, Leptin, Sinnamaldehit, PI3K, MAPK

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CINNAMALDEHYDE ON LEPTIN-EXPOSED PC-3 PROSTATE CANCER CELLS VIA PI3K/MAPK SIGNAL TRANSDUCTION PATHWAYS

ABSTRACT

In this study, we examined the effect of cinnamaldehyde, the main component of cinnamon bark, on cell viability, cell death, cell morphology, and PI3K/MAPK signal transduction pathways in PC-3 prostate cancer cells by inducing obesity in vitro. The etiology of prostate cancer, which is the second leading cause of death in men, is not fully understood. Obesity has been shown to be associated with various types of cancer such as colon, breast and endometrial, including prostate cancer. Leptin is a protein secreted from adipocytes and it controls appetite. In the fasting state, plasma leptin levels decrease. However, it has been observed that obese people have high levels of leptin in their blood, but their appetite is not suppressed. They become insensitive to the leptin signal and leptin resistance develops. Cinnamaldehyde is a phytochemical found in the bark of cinnamon and its anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant effects on human health has been shown. Researches was conducted in order to develop smart drug therapies that target cancer cells in the treatment of many cancers. Targeted therapy protocols that inhibit signaling pathways which activated during cancer development can be developed. The PI3K (phosphatidylinositol-3-kinase) pathway plays a role in cell viability, differentiation and proliferation. The MAPK (mitogen-activated protein kinase) induces the activation of some transcription factors and affects the cell cycle. The PC-3 cell line of human prostate cancer was used in the study. Five study groups were formed as control, leptin, cinnamaldehyde, leptin+cinnamaldehyde and leptin+solvent. Cell morphology analysis with H-E staining, apoptosis analysis with annexin V and PI3K/MAPK signal pathway analysis were performed. In our study, we observed that cinnamaldehyde alters the morphology of the PC-3 prostate cancer cells, induces apoptosis and inhibits PI3K signaling pathways in particular. When administered with leptin, cinnamaldehyde showed the same morphologic and apoptotic effect but lost its effect on inhibition of PI3K signaling pathway.

Keywords: Prostate cancer, Leptin, Cinnamaldehyde, PI3K, MAPK

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Prostat Anatomisi	5
2.2. Prostat Embriyolojisi.....	6
2.3. Prostat Histolojisi	7
2.4. Prostat Fizyolojisi	12
2.4.1. Hormon Kontrolü	13
2.4.2. Prostatın İmmünolojik Özelliği	13
2.5. Prostat Histofizyolojisi.....	13
2.6. Prostat Patolojisi	14
2.6.1. Prostatit.....	14
2.6.2. Benign Prostat Hiperplazisi (Nodüler Hiperplazi)	15
2.7. Prostat Kanseri	16
2.7.1 Gleason Puanlama Sistemi	17
2.7.2. Risk Faktörleri	19
2.8. Obezite	24
2.9. Leptin	25
2.10. Tarçın	27
2.10.1 Sinna maldehit	28
3. YÖNTEM	31
3.1. Araştırma Modeli	31
3.2. Araştırma Evren ve Örneklemi/Araştırma Materyali.....	31
3.2.1 Hücre Hattının Üretilmesi	31
3.2.2. Hücrelerin pasajlanması	31

3.2.3.Sinnamaldehyit Stok Solüsyonunun Hazırlanması	32
3.2.4. Deney gruplarının oluşturulması	32
3.3. Veri Toplama Araçları	32
3.3.1. WST-1 Hücre Canlılık Analizi.....	32
3.3.2. Morfolojik Analiz.....	33
3.3.3 Anneksin V Analizi	34
3.3.4. PI3K/MAPK Analizi	34
3.4. Veri Toplama Süreci	36
3.5. Deneysel Kurgu.....	36
3.6. İstatiksel Analiz.....	36
3.7. Etik Onay	36
3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları	36
4. BULGULAR.....	38
4.1. WST analizi ile Sinnamaldehyit IC ₅₀ Bulguları.....	38
4.2. Morfolojik Analiz Bulguları	39
4.3. Anneksin V Apoptoz Analizi Bulguları.....	42
4.4. PI3K/MAPK Aktivasyon Analizi Bulguları	43
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	49
6.1. Sonuçlar	49
6.2. Öneriler	50
KAYNAKLAR	51
EKLER	63
Ek 1: ETİK KURUL ONAYI	63
Ek 2: KURUM İZİN ONAYI	64
Ek 3: ÖZ GEÇMİŞ.....	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AR	Androjen Reseptörü
A549	Adenokarsinom insan alveolar bazal epitel hücreleri
ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
B3LYP	Becke, 3-parametre, Lee–Yang–Parr" yöntemi
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
Bcl-XL	B-cell lymphoma-extra large
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
BMI	Mody Mass Index
BPH	Benign prostat hipertrofisinin
BRCA1	Breast Cancer 1
BRCA2	Breast Cancer 2
COX-2	Siklooksijenaz-2
CRP	C reaktif proteindir
CVD	Kardiyovasküler hastalık
DHT	Dihidrotestosteron
DFT	Density-functional theory (yoğunluk fonksiyonel teorisi
DU145	Cell line from prostate carcinoma, with moderated metastatic potential
EC4.3.1.24	Phenylalanine ammonia-lyase
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
F – FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
F- FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
FBS	Fetal Bovine Serum- fetal sığır serumu
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
HepG2	Hepatocyte carcinoma
IFN_γ	interferon gamma

IC50	İnhibitör konsantrasyonunun
KLK	Kalikrein (Kimyasal bileşen)
LEPR	Leptin reseptör
M1	Muskarinik reseptör 1
M2	Muskarinik reseptör 2
M3	Muskarinik reseptör 3
MCF-7	Michigan Kanser Vakfı-7'nin kısaltması
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinazlar
MGF	Mitojenik büyüme faktörlerinin
NIH-CPSI	Ulusal Sağlık Enstitüleri Kronik Prostatit Semptom İndeksi
Ob-R	Leptin transmembran reseptörleri
PCa	Prostat Kanseri
PI3K	Phosphoinositide 3-kinases
PIA	Proliferatif inflamatuvar atrofi
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinazlar
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
PAP	Prostatik asit fosfataz
PIN	Prostat intraepitelyal neoplazisi
PSA	Prostata özgü antijen
ROS	Reaktif oksijen türlerinin
SMC	Düz kas hücreleri
TNFα	Alpha- tümör nekrosis faktör alpha
T	Testosteron
TCM	Traditional Chinese Medicine.
WHO	(World Health Organisation) Dünya Sağlık Örgütü
WST-1	Suda çözünür tetrazolyum tuzu
ZIP1	Major Zink Transporter

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Erkek genital sistemi	4
Şekil 2.2. Prostat anatomisi.....	6
Şekil 2.3. Seminal veziküller, prostat ve bulboüretral bezlerin gelişimi.....	7
Şekil 2.4. Prostatın histolojik zonları.	10
Resim 2.1. Prostat histolojisi. H-E, insan, X10.....	10
Resim 2.2 Prostat histolojisi. H-E, insan, X40.....	11
Resim 2.3. Prostat histolojisi. H-E, insan, X20.....	11
Şekil 2.5. Prostat büyümesi	17
Şekil 2.6. Tarçının insan sağlığına etkileri.....	28
Şekil 2.7. Sinnamaldehitin kimyasal yapısı	28
Resim 3.1. WST-1 testi için 96 kuyulu plakalar içerisinde hazırlanan PC3 hücreleri	33
Resim 3.2. PC3 hücrelerinin Hematoksilen-Eozin boyanması	34
Resim 3.3. Muse™ Cell Analyzer	35
Şekil 3.1. Çalışma planının şema ile gösterimi	36
Şekil 4.1. Sinnamaldehit artan dozlarının hücre canlılığı üzerine 24 saat sonundaki etkileri ve IC ₅₀ dozu hesaplaması	38
Şekil 4.2. Sinnamaldehit dozlarının canlılık konsantrasyon grafiği	38
Şekil 4.3. Çalışma gruplarına ait PC-3 hücrelerinin H-E boyama fotoğrafları. 20X	39
Şekil 4.4. Çalışma gruplarına ait PC-3 hücrelerinin Anneksin-V apoptoz analizleri	41
Şekil 4.5. Çalışma gruplarına ait PC-3 hücrelerinin PI3K/MAPK aktivasyon analizi	41

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. PC-3 hücrelerinin PI3K/MAPK aktivasyon analizi.	44
--	-----------



1. GİRİŞ

Prostat kanseri özellikle 50 yaşından sonra görülme sıklığı artan ve erkeklerde akciğer kanserinden sonra en fazla görülen ikinci kanserdir. Prostat kanserinin etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte yaş, ırk, aile hikayesi, hormon seviyeleri ve çevresel etkilerin rolü olduğu kabul edilmektedir. Prostat kanserine yakalanan pek çok hasta prostatektomi, radyoterapi, kemoterapi ve hormon terapisi gibi tedavilere iyi yanıt vermektedir. Ancak bazıları ise bu tedavilere direnç göstermekte lokal invazyon ve metastatik lezyonlarla kötü prognoz göstermektedir (Fujita vd, 2019). Obezite vücut kitle indeksinin 30kg/m^2 den büyük olması durumudur ve kanser gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Fazla miktarda bulunan yağ doku metabolik ve endokrin aktivitelerin bozulmasına neden olmaktadır (Renehan vd, 2008). Adipositlerin sentezleyip salgıladığı çeşitli mediatörler immün sistemi aktive ederek sistemik inflamasyona neden olur. Kronik inflamasyon kanser oluşumunda majör etiyolojik faktörlerdendir. İnflamatuvar hücreler, normal hücrelerde DNA mutasyonlarına yol açan reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna yol açmaktadır. Prostatektomi örneklerinin histolojik incelemelerinde hem benign hem de malign dokularda kronik inflamasyon görülmüştür (Fujita vd, 2019). Adipositlerle birlikte kültüre edilen prostat kanseri hücrelerinde proliferasyon, farklılaşma, büyüme ve sitokin ekspresyonu gözlenmiştir. Adipositlerden salgılanan çeşitli faktörlerin prostat kanser hücre davranışını değiştirmesi söz konusu olmaktadır. Leptin de bunlardan birisidir. Leptin 16kDa ağırlığında bir adipokindir. Leptin adipositlerden salgılanan bir proteindir ve en önemli işlevi iştah kontrolüdür. Hipotalamusa etki ederek besin alınımlarını baskılayan bir hormondur. Açlık durumunda plazma leptin düzeyleri düşer. Yemekten sonra ise artarak iştahı azaltır. Ancak pek çok obez kişide kan leptin düzeyleri yüksek olduğu halde iştahlarının baskılanmadığı görülmüştür. Bunun nedeni beyinin leptin sinyaline karşı duyarsızlaşması ve leptin rezistansının gelişmesidir (Izquierdo vd, 2019). Yüksek leptin seviyeleri ile prostat kanseri ilişkisini araştıran çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Leptinin anjiogenezi artırdığı, bunun da kanserin ilerlemesine, invazyonuna ve metastazına neden olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca leptin-bağımlı büyüme faktörü sekresyonu prostat kanser hücrelerinin migrasyonuna neden olmaktadır. Prostat kanser hücrelerinin leptine verdikleri proliferasyon yanıtında PI3-K sinyal yolağının rol aldığı gösterilmiştir. Bu sinyal yolaklarında oluşabilecek değişiklikler hem obezite, diabet ve insülin rezistansı

gelişmesinde hem de prostat kanseri gelişiminde kritik öneme sahiptir (Fantuzzi vd, 2005, Mistry vd, 2007).

Günümüzde pek çok kanser çeşidinin tedavisinde olduğu gibi prostat kanseri için de fitokimyasalların etkileri araştırılmakta ve kanser hücrelerini hedef alan akıllı ilaç tedavilerini geliştirmek için araştırmalar yapılmaktadır. Bu yaklaşımlar içinde kanser sinyal yollarının hedeflenmesi vardır. C-Met, PI3K/AKT/MTOR, hedgehog, Src kinaz yolağı bunlardandır. PI3K (phosphatidylinositol 3-kinases) hücre siklusunun düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir hücre içi sinyal iletim yolağıdır ve farklı kanser tiplerinin gelişmesinde önemli olduğu gösterilmiştir. Bu yolak hücre canlılığı, farklılaşması, proliferasyonu, büyümesi, metabolizması, migrasyon ve angiogenesisde rol oynamaktadır. Apoptozun azalmasına ve proliferasyon artışına neden olur. Bunu çeşitli mekanizmalarla yapar. Bunlar içinde Bcl-2 ailesi üyeleri BAD ve BAX, NF-kappa-B ve p53 antagonisti Mdm2 vardır. PI3K inhibitörlerinin kanser tedavisi amacıyla kullanılması gündemdedir. İdealalısib FDA onayı alan ilk PI3K inhibitörü olmuştur. Özellikle kronik lenfositik lösemi ve bazı lenfomalarda kullanılmaktadır. MAPK (mitogen-activated protein kinases) yolağı hücre yüzeyinden çekirdeğe sinyal iletimi yapan ana yolaklardan birisidir. MAPK bazı transkripsiyon faktörlerinin aktive olmasına neden olur ve hücre siklusunu etkiler (Antonarakis, Wozney ve ES, 2014).

Tarçın pek çok kültürde baharat olarak kullanılan bir bitkidir. Ayrıca şifa verici etkileri ile de kullanılmaktadır. Tarçının kabuğundan yaprağından ve köklerinden uçucu yağlar elde edilmektedir. Bu yağlar monoterpen hidrokarbonlar içerir. Kabuğunda sinnamaldehit, yapraklarında eugenol ve köklerinde camphor yoğun olarak bulunmaktadır. Cinnamomum Zeylanicum kabuğunda içeriğin %49.9'unu sinnamaldehit oluşturur. Sinnamaldehitin, fitokimyasal özellikleri yaygın olarak araştırılmıştır. İnsan sağlığı üzerinde anti-inflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan etkileri, kan basıncı, kan kolesterol, lipid ve glukoz seviyelerini düşürücü etkileri, antitümör ve antikanser etkileri gösterilmiştir. Sinnamaldehitin prostoglandinlerin oluşumunu sağlayan siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimini kuvvetli olarak inhibe ettikleri gösterilmiştir. Ayrıca proinflamatuvar transkripsiyon faktörü olan NF-kappa B inhibisyonu ve lipopolisakkarite bağlı nitrik oksit inhibisyonu ile antiinflamatuvar etki gösterdiği ortaya konmuştur. Antitümör ve antikanser etkilerinin antiinflamatuvar etkileri yanında antioksidan etkileri ile de yakından ilgisi bulunmaktadır. Lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.

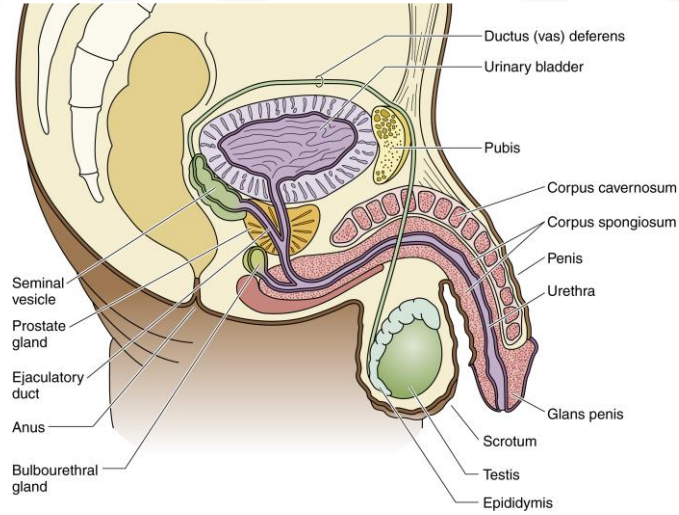
Sinnamaldehitin retiküloendotelyal sistemi aktive ettiği, tümör nekrosis faktör alpha (TNF-alpha) ve interferon gamma (IFN_γ) gibi sitolitik mediatörlerin üretimini indüklediği, perforin ve granzyme B ve C seviyelerini artırarak apopitoza neden olduğu gösterilmiştir. Çeşitli büyüme faktörlerini baskıladığı da gösterilmiştir (Gruenwald vd, 2010, Sadeghi vd, 2019).

Bu çalışmanın amacı; tarçın kabuğunun ana bileşeni olan sinnamaldehitin, in vitro ortamda leptine maruz bırakılan PC-3 prostat kanseri hücreleri üzerindeki etkisinin, hücre canlılığı, apoptoz ve hücre morfolojisi ile PI3K/MAPK yolaklarında oluşacak olan değişiklikler üzerinden araştırılmasıdır.



2. GENEL BİLGİLER

Canlıların neslini devam ettirmesine üreme adı verilir. Bu amaçla dişi ve erkeklerde özelleşmiş organlar genital sistemleri oluşturur. Erkek genital sistemi bir çift gonad, genital kanallar, eklenti bezleri ve penisten oluşur ve temel işlevleri sperm üretimi, transferi ve dışarı atılmasıdır. Erkek genital sistemi iç ve dış genital organlar olarak iki gruba ayrılır; testis, epididimis, duktus deferens, vesicula seminalis, duktus ejaculatorius ve prostatı (glandula prostatica) içeren iç genital organlar ve skrotum ile penisi içeren dış genital organlar olarak (Ak Güven, 2019). Erkek genital sisteminin eşleşmemiş bir aksesuar yapısı olan insan prostatı, pelvik diyafram ile periton boşluğu arasındaki subperitoneal bölgede yer alan en büyük erkek aksesuar bezidir. (McNeal vd, 1986). Erkek genital organlarının en büyük eklenti bezidir. Kestane şeklinde, boyu 3 cm, genişliği 4 cm, kalınlığı 2 cm ve ortalama ağırlığı 20 gr'dır. Prostat salgısı, ejakülatın büyük bir bölümünü oluşturur. Prostat salgısının alkali yapısı ovumun uygun pH değerinde fertilizasyonu için önemlidir. Prostatın değerlendirilmesi ve incelenmesi amacıyla tanımlanmasında, anatomik, embriyolojik, fizyolojik, histolojik ve patolojik özelliklerini incelemek gerekmektedir (Ak Güven, 2019).



Kaynak: Gartner, 2021

Şekil 2.1. Erkek genital sistemi

2.1. Prostat Anatomisi

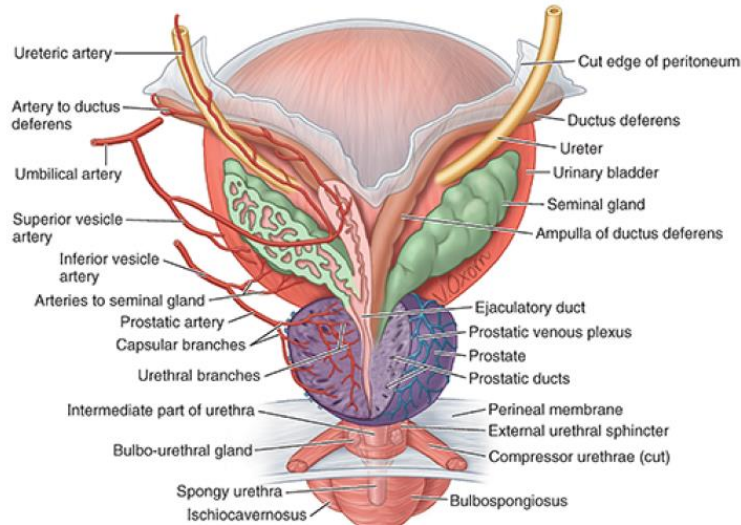
Prostat embryonal hayatta Wolff kanalının alt ucunda meydana gelen çıkıntılardan menşeyini alır. Şekil bakımından bir kestaneye benzer. Büyüklüğü şahsa göre çok değişik olmakla beraber, ortalama olarak yüksekliği 2.5-3 cm genişliği 4 cm ve kalınlığı (önden arkaya) 2.5 cm. kadardır. Prostat urogenital diafragma'nın üstünde, mesanenin altında, pubis simfizinin arkasında ve rektumun önünde bulunur. Basis denilen geniş kısmı yukarıya bakar ve mesanenin arka alt yüzü ile komşudur. Tepesi aşağıya bakar ve ürogenital diyafragma ile komşudur. Tepenin biraz önünde üretra, prostattan çıkar. Arka yüz rektumla komşudur. Ön yüz pubis simfizinden 1-1.5 cm kadar arkada bulunur ve burada *musculus puboprostaticus* ve *ligamentum puboprostaticum* ile pubis kemiğine bağlıdır. Yanlarda prostat, *musculus levator ani* ile komşudur. Bu komşuluklardan da anlaşıldığı gibi, prostat pelvisin içinde ve en alt kısmında bulunur ve tamamiyle periton boşluğunun dışında kalır. Periton genellikle prostata kadar inmez. Yalnız nadiren mesanenin arka-alt yüzünün yukarı kısmını örten periton ductus deferensler arasında aşağıya doğru uzanır ve prostata kadar inebilir.

Prostat dört kısma ayrılır. *Partes laterales* veya *lobus dexter et sinister* denilen yan parçalar, bezin yan ve arka kısımlarını yapar. Arkada iki yan parça *isthmus prostatae* denilen dar bir parça ile birleşirler. Bu parçaya *lobus medius* da derler. Üretranın önünde ön parça (*pars praeurethralis*) dar ve genellikle yan parçalara nisbeten küçüktür (Şekil 2.1.). Prostatın çeşitli parçaları dışarıdan az-çok belli olmakla beraber, bezin içinde bunları birbirinden ayıran bariz sınırlar yoktur.

Prostat dıştan sağlam bağ dokusundan yapılmış bir kapsülle sarılmıştır. Arkada kapsülle rektum arasında, yukarıda gevşek, aşağı kısımda sıkı bağ dokusu bulunur. Önde pubis kemiğinden uzanan *musculus puboprostaticus* ve *ligamentum puboprostaticum* kapsülün ön kısmına yapışır. Kapsülün ön kısmı, arka ve yan kısımlara nisbeten daha gevşektir. Prostat kısmen tubuloalveolar bezlerden (*substantia glanularis*), kısmen bu bezlerin arasını dolduran ara dokudan yapılmıştır. Bezlerin sayısı 30-40 tane olup, kanalları kısmen birleşerek, kısmen ayrı ayrı olarak bazıları *colliculus seminalis* üzerinde, bazıları bu kabartının yanlarında bulunan oluklarda görülen 15-20 tane delikle açılırlar. Prostat bezleri, kanallarında bir miktar salgıyı depo ederler ve ejakulasyon sırasında ara dokuda bulunan kasların kasılmasıyla buradaki salgı üretraya akıtılır. Prostat salgısı

hacim bakımından ejakulatın en büyük kısmını yapar. Bazik reaksiyon gösterir ve içinde bulunan spermin denilen bir maddeden ileri gelen spesifik keskin bir kokusu vardır. Prostat salgısında yuvarlak konsantrik çizgiler gösteren ve nişasta granüllerine benzer yuvarlak cisimler bulunurlar. Prostat cisimleri adı verilen bu granüller 2-2.5 mm. kutrunda olup yaşlı erkeklerde daha fazla görülürler.

Prostatın ara dokusu, *substantia muscularis* çok sayıda düz kas lifleri ve elastiki lifler bulundurur. Bez dokusu ile ara doku arasındaki oran şahsa ve yaşa göre değişir ve 5:1 ile 2:1 arasındadır. *Pars prostatica urethrae* 'de mukoza altında bulunan düz kas lifleri boşaltıcı kanalların son kısımlarını sararlar ve bunların tonusu kanalları sıkıştırarak salgının akmasına engel olur. Ejakülasyon sırasında ara dokuda bulunan kas lifleri kasılır, üretra mukozası altında bulunan ve boşaltıcı kanalların ağızlarını saran lifler gevşer. Bu şekilde aynı zamanda bezler sıkıştırılmış ve boşaltıcı kanallar açılmış olur. Prostat arter dallarını *arteria vesicalis inferior* ve *arteria rectalis inferior*dan alır. Venleri *plexus vesicopudendalis*e dökülürler (Odar, 1979).



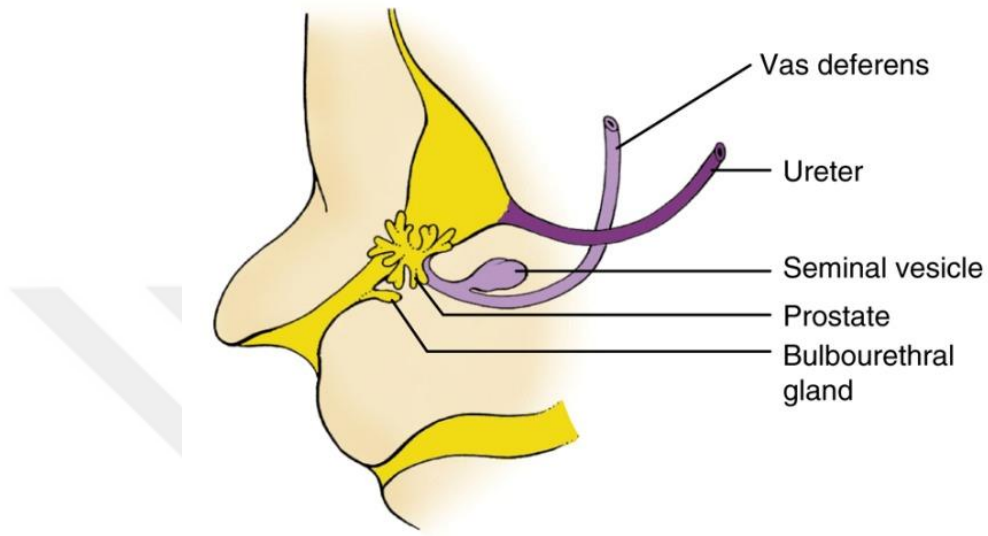
Kaynak: Moore, 2023

Şekil 2.2. Prostat anatomisi

2.2. Prostat Embriyolojisi

Erkek üreme sisteminin üç aksesuar bezi- seminal veziküller, prostat ve bulboüretral bezler, renal tübüller ve üretra arasındaki bağlantı yakınında gelişir. Prostat 10. Haftada üretranın prostatik kısmından endodermal evajinasyon kümesi olarak büyümeye başlar ve çevreleyen mezenkime doğru büyür. Bu prostat büyümesinin, testosteronun dihidrotestosterona dönüşümüne bağlı olarak çevredeki mezenkim

tarafından indüklendiği düşünülmektedir. Prostat kümesi başlangıçta en az beş bağımsız prostatik kordon oluşturur. 11. haftada bu kordonlar gelişerek asinüsleri oluşturur ve lümen kazanır. Testosteron seviyelerinin yükseldiği 13.- 15. Haftalarda prostat salgı üretmeye başlar. Prostatın endodermden gelişen kısmını çevreleyen mezenkimden prostatın düz kasları ve bağ dokusu gelişir (Şekil 2.3)



Kaynak: Schoenwolf,2021

Şekil 2.3. Seminal veziküller, prostat ve bulboüretal bezlerin gelişimi.

Prostat büyüdükçe, prostatın hemen altındaki üretradan bir çift bulboüretalbez (veya Cowper bezi) gelişir (Schoenwolf, 2021).

2.3. Prostat Histolojisi

Pelviste mesanenin altında yer alan en büyük yardımcı genital bez olan prostat üretranın ilk bölümünü çevreler. Küçük drenaj kanalları prostatik üretraya açılan 30-50 adet birleşik tubuloalveoler bezden oluşur. Prostat, düz kas lifleri bakımından zengin bir fibroelastik bağ dokusu kapsülü ile çevrilidir. Kapsülden ayrılan bağ dokusu septalar organın içine doğru ilerleyerek lobları oluşturur. Bezleri çevreleyen stroma da kapsül gibi çok sayıda düz kas lifi içeren fibroelastik bir bağ dokusudur. Prostatın ana işlevi, seminal sıvının içeriğine eklenen şeffaf, hafif alkali bir sıvı salgılamaktır. Prostat salgısı ejakülatın bir parçasıdır, bu salgı seröz lipidler açısından zengindir, ayrıca proteolitik enzimler, asit fosfataz, fibrinolizin, çinko, amilaz ve sitrik asit içerir (Eşrefoğlu, 2016).

Prostat sekresyonu, ejakülatın dışı genital sistemine ulaşmasından sonra içeriğindeki fibrinolizin sayesinde likefiye (sıvılaşma) olmasını sağlar. Prostattaki salgı

işlemini üstlenen prostatik bez epitelinin büyümesi ve salgılaması dihidrotestosteron (DHT) hormonu ile düzenlenir. İçeriğini boşaltım kanalları aracılığıyla prostatik üretraya iletir. Prostatik üretra organın merkezinde oldukça gevşek bir bağ dokusu içine yerleşiktir. Prostat içindeki bezlerin 15-30 adet uzun kanalla açıldığı prostatik üretra, çok katlı değişici epitele sahiptir ve genellikle yarım ay şeklindedir.

Bezler 3 konsantrik tabaka halinde düzenlenmiştir. İçte bir mukozal tabaka, arada submukozal tabaka ve esas prostatik bezleri içeren bir periferik tabaka bulunur. Mukozal tabaka bezleri direkt üretraya salgılama yaparken, diğer iki tabaka ise prostatik sinüslere açılan kanallara sahiptir. Prostat bezlerinin epiteli genellikle tek katlı prizmatiktir ancak aktiflik durumuna göre çok katlı yassı ya da yalancı çok katlı prizmatik yamalar olabilir.

- Mukozal zon: Periüretral mukoza bezlerini içerir. Bezler kanallar olmaksızın direkt üretraya açılır.
- Submukozal zon: Periüretral submukozal bezleri içerir. Periüretral submukozal bezler kısa kanallarla üretranın posterior duvarında üretral yarımayın her bir kenarında yerleşmiş prostatik sinüslere açılırlar. Benign prostat hipertrofisinin (BPH) çoğunlukla gözlendiği bölge burasıdır.
- Periferik zon: Prostat bezlerinin çoğunluğunu periferik olarak bu zona yerleşmiş ve esas bezler olarak adlandırılan dallanmış birleşik bezler oluşturur.

Esas bezler, üretranın posterior duvarında üretral yarımayın kenarlarına yerleşmiş olan prostatik kanallara açılan uzun kanallara sahiptirler (Resim 2.1,2.2.,2.3.) Burası prostat kanserinin köken aldığı başlıca bölgedir. Hücreler salgı hücrelerinin karakteristiği olan bol granüler ER, iyi gelişmiş Golgi kompleksi, çok sayıda lizozom ve salgı granülleri içerir. Epitelden asit fosfataz, fibrinolizin, sitrik asit, serin proteaz ve prostata özel antijen salgılanır. Bezlerin lümeninde kalsifiye glikoprotein yapılardan oluşan korpora amylecea (prostat taşı = konkretion) görülebilir. Kesitlerde iç içe konsantrik lameller olarak görülürler ve salgı materyalinin hücresel fragmanların etrafında çökmesiyle oluştuğlarına inanılır. Kısmen kalsifiye olabilirler (Eşrefoğlu, 2016; Ross ve Pawlina, 2006). İki mm çapa kadar ulaşır ve yaşlanmayla birlikte artış gösterirler. Yetişkin prostat parankimi, anatomik ve klinik olarak farklı dört merkezi bölgeden oluşur (Şekil 2.4.).

- Merkezi bölge,

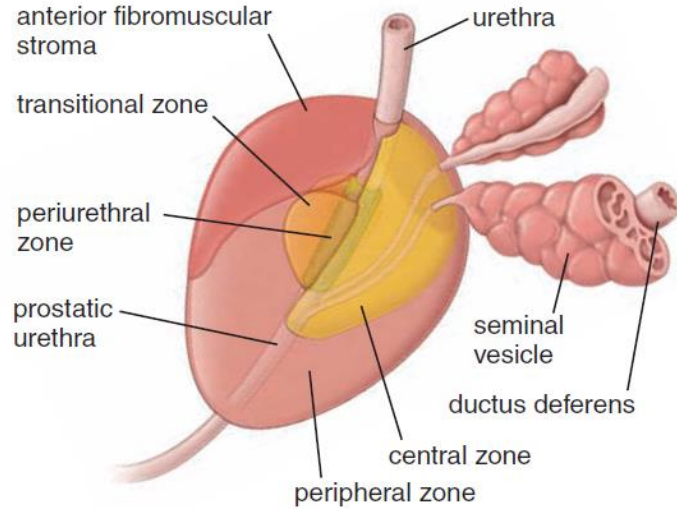
- Periferik bölge,
- Transizyonel bölge,
- Periüretal bölge

Merkezi bölge: Santral bölge, glandüler dokunun % 25'ini oluşturur. Ejakulatuar kanalı çevreler. İnflamasyon ve kanser oranı düşüktür. Diğer zonlardan farklı olarak epitel hücreler hafif bazofilik sitoplazmalı ve büyük nükleusludur, nükleus seviyeleri farklılık gösterir.

Periferik bölge: Prostat bez yapısının %70'ini oluşturan bu bölge merkezi bölgeyi de çevreler. Bezin posteriyör ve lateral parçasında yerleşiktir. Enflamasyona en yatkın olan bölge burasıdır. Ayrıca prostatik kanserlerin çoğu bu bölgeden kaynaklanır.

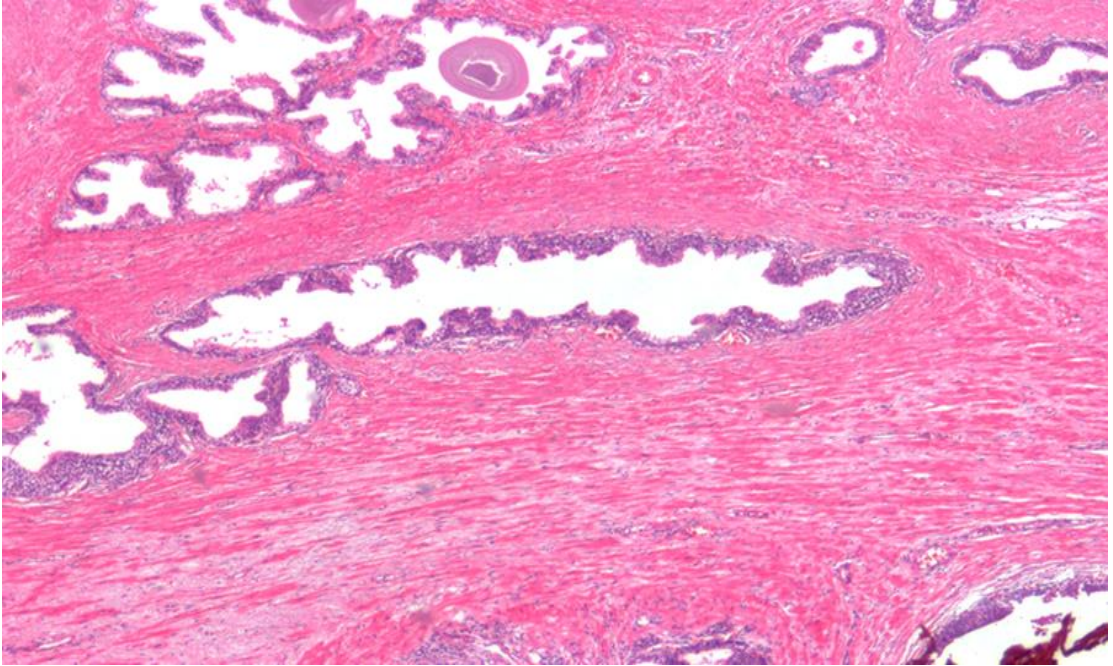
Transizyonel bölge: Prostatik üretrayı çevreler. Prostatik üretrayı çevreler. Prostatik bez dokusunun %5'ini oluşturur. Buradaki bezler mukozal bezlerdir. Yaşlanmayla birlikte parankimal hücrelerinin aşırı bölünmesi (hiperplazi), epitelyal hücrelerde nodüler kitleler oluşumuna yol açar. Bu nodüllerin prostatik üretrayı baskılaması idrar akışının azalmasına sebep olur. Bu durum BPH olarak bilinmektedir.

Periüretal bölge: Mukozal ve submukozal bezler içeren kısımdır. Transizyonel bölgede yaşlanmaya bağlı hipertrofi görüldüğünde bu bölgede de stromal alanda artış görülebilir. Benign prostat hipertrofisinin ileri evrelerinde bu zonda stromal dokunun patolojik büyümesi gözlenebilir. Transizyonel zonun glandüler nodülleriyle birlikte bu büyüme üretral basının artmasına ve mesanede fazla idrar retansiyonuna neden olur. Bez epiteli, testosteron ve adrenal androjenler gibi seks hormonlarından etkilenir. Başlıca prostatın stroma hücrelerinde bulunan 5-alfa redüktaz enzimi testosteronu, DHT'na çevirir. DHT prostatın stromal ve bez epitel hücreleri için mitojenik olan büyüme faktörlerinin ekspresyonunu indüklemek üzere sitozole ve çekirdekteki androjen reseptörlerine bağlanır. DHT'nin etkisi testosterondan 30 kat daha fazladır ve androjen reseptörünün etkinliğini de artırır. Aynı zamanda DHT normal prostat epitelinin büyümesini ve BPH'de ve androjen bağımlı prostat kanserinde proliferasyonu ve büyümeyi stimüle eder (Kuruş, 2020).



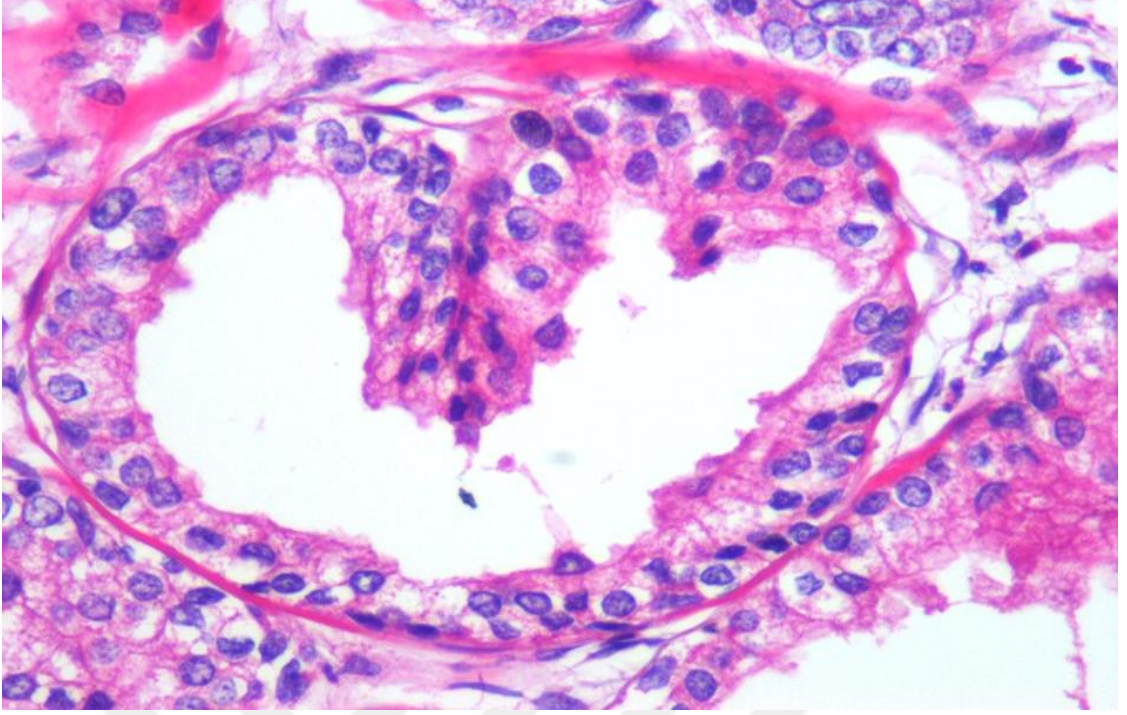
Kaynak: Pawlina, 2016

Şekil 2.4. Prostatın histolojik zonları.



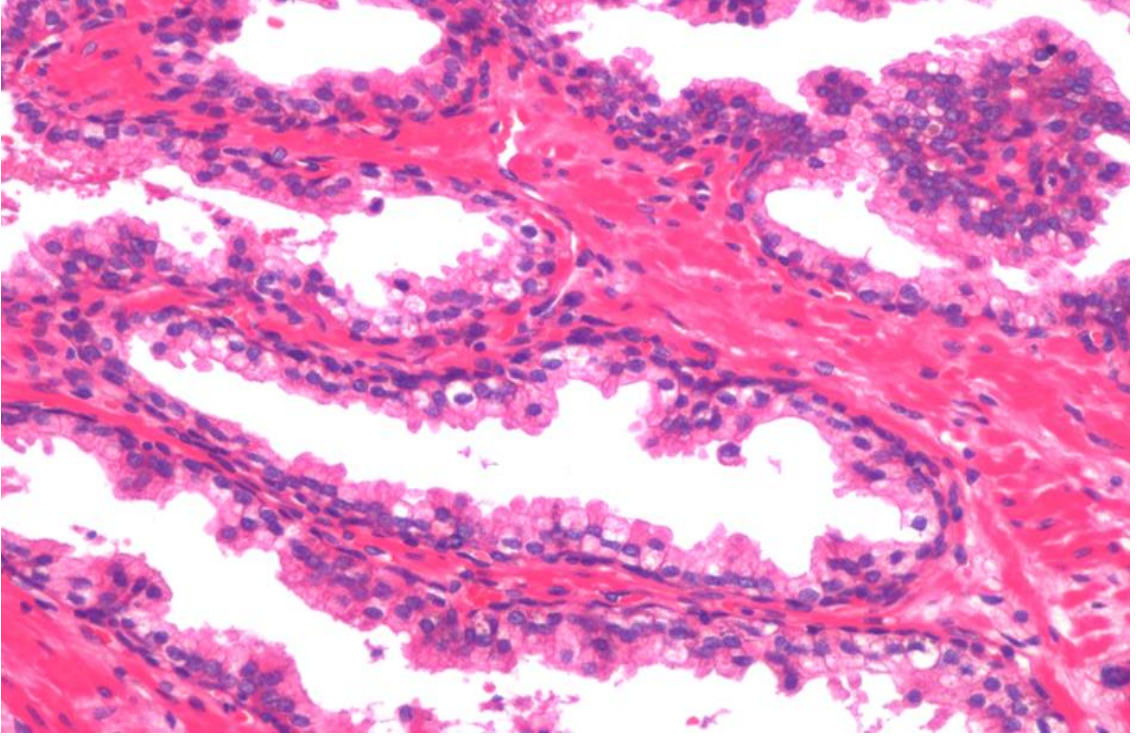
MSKÜ Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivi. Prof. Dr. Yelda DERE'nin izniyle

Resim 2.1. Prostat histolojisi. H-E, insan, X10



MSKÜ Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivi. Prof. Dr. Yelda DERE'nin izniyle

Resim 2.2 Prostat histolojisi. H-E, insan, X40



MSKÜ Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivi. Prof. Dr. Yelda DERE'nin izniyle

Resim 2.3. Prostat histolojisi. H-E, insan, X20

Prostattan salgılanan maddeler:

- Prostatik asit fosfataz (PAP),

- Fibrinolizin,
- Sitrik asit
- Prostat spesifik antijen (PSA).

Prostatın epitel hücreleri, enzimler, özellikle PAP, fibrinolizin ve sitrik asit üretir. Ayrıca PSA olarak bilinen bir serin proteaz salgırlar. Enzimler asinoslara salgılanır. Asinosa verilen salgı, prostatın fibromüsküler dokusunun kasılması ile ejakulasyon sırasında prostat üretrasına pompalanır. Salgıdaki fibrinolizin, semeni sıvılaştırmaya yarar (Pawlina ve Ross, 2006) Sağlıklı insanlar düşük serum PSA konsantrasyonuna sahiptir.

Kan dolaşımında bulunan PSA karaciğer tarafından üretilir. Prostat tarafından üretilen sadece prostat sekresyonunda bulunur. PCa'da serum PSA konsantrasyonu arttığı görülür. Bu prostat bezi tarafından üretilen fazla miktardaki PSA'nın dolaşıma geçmesiyle oluşur. Yüksek PSA seviyeleri, PCa hücrelerinin artan aktivitesi ile doğrudan ilişkilidir. Kandaki artan PAP ve PSA seviyeleri, PCa varlığının ve ilerlemesinin belirteçleri olarak kabul edilir. (Pawlina ve Ross, 2006).

2.4. Prostat Fizyolojisi

Prostat bezi kalsiyum, sitrat iyonu, fosfat iyonu, pıhtılaşma enzimi ve fibrinolizin içeren ince, süte benzer bir sıvı salgılar. Emisyon sırasında, prostat bezinin kapsülü, vas deferensin kasılmalarıyla eş zamanlı olarak kasılır. Böylece ince sütümsü prostat sıvısı, semen kütesine eklenir. Prostat sıvısının hafif alkali özelliği, ovumun başarılı bir şekilde döllenmesi için çok önemli olabilir. Çünkü vas deferens sıvısı, spermin metabolik ürünleri ve sitrik asit varlığında göreceli olarak asit özelliktedir. Bu nedenle spermin fertilite özelliği baskılanabilir. Ayrıca kadınların vajinal salgıları da asittir (pH=3.5-4) Sperm, ortam pH'ı 6.0 ila 6.5'a ulaşana kadar uygun bir şekilde hareketlilik göstermez. Sonuç olarak prostat sıvısının, diğer ejakulat sıvılarını nötralize etmesi ve bu yolla spermin hareket ve fertilizasyon yeteneğini artırması olasıdır Prostat salgısı pH'ın yaklaşık 7.5'a ulaşmasını sağlar. Prostat salgısı semenin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır. Prostat salgısında bulunan bir pıhtılaşma enzimi, seminal vezikülden gelen fibrinojeni etkileyerek zayıf bir fibrin pıhtısı oluşturur. Bu olay uterus serviksinde, vajinanın derinliklerinde semenin tutunmasına yardım eder. Pıhtı sonraki 15-30 dakika içinde, prostattan gelen profibrinolizinden oluşan fibrinolizinlerle çözünür ve eritilir.

Pıhtının çözülmesiyle birlikte, spermelerin yeniden yüksek hareketlilik kazandığı görülür. (Guyton ve Hall, 2013)

Prostat stroması, yapısal önemine ek olarak, glandüler gelişim ve hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde de rol oynar ve prostat içindeki prostat inflamatuvar yanıtında da önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Prostat yüksek çinko içeriğine sahiptir ve spermi enfeksiyondan koruyabilir. Çinko başta infertilite olmak üzere birçok nedenden dolayı önemlidir (Terlecki ve Ryan, 2020).

2.4.1. Hormon Kontrolü

Kanda bulunan testosteronun büyük bir kısmı albümin ve seks hormonu bağlayıcı globulin gibi proteinlere bağlı haldedir ve ancak %2'si prostata difüze olabilmekte ve büyük bir kısmı DHT'ye dönüştürülmektedir. Dihidrotestosteronun prostata bağlanma afinitesi, androjen reseptörü için testosterondan daha yüksektir (Terlecki ve Ryan, 2020).

2.4.2. Prostatın İmmünolojik Özelliği

Prostat, immünolojik olarak yetkin bir organ olarak akciğerlere ve bağırsaklara benzer şekilde lenfositler, makrofajlar ve mast hücreleri içerir. Prostat dokusundaki bağışıklık reaksiyonları büyük olasılıkla seks hormonlarından etkilenir ve inflamasyon duyarlılığını etkileyebilir. Lenfositler sitokin salgılar ve hem stromada hem de epitelde büyümeyi düzenleyebilir (Terlecki ve Ryan, 2020).

2.5. Prostat Histofizyolojisi

Epitelyal aktivite androjen stimülasyonuna bağlıdır. Stromanın fibromusküler hücreleri içinde testosteronun (T) aktif formu olan DHT'nin rolü özellikle önemlidir. Yalnızca stromal hücreler, T'yi DHT'ye dönüştüren bir enzime (5-alfa-redüktaz) sahiptir. DHT, sitoplazmadaki reseptörüne bağlanır ve genleri aktive ettiği ve mitojenik büyüme faktörlerinin (MGF) sentez sürecini uyardığı nükleusa gider. Stromal hücrelerden gelen DHT komşu epitel hücrelerinde MGF sentezini uyarır. MGF daha sonra epitelyal ve stromal hücrelerin hücre membranının yüzeyinde bulunan reseptörlerine etki ederek büyüme ve proliferasyona neden olur (Šamija vd, 2009).

2.6. Prostat Patolojisi

Prostat, en önemlileri periferik ve metastatik kısımlar olmak üzere birkaç kısma ayrılabilir. Proliferatif lezyon tipleri de her bölge için farklıdır. Örneğin, hiperplastik lezyonlar birincil olarak dahili metastatik alanlarda meydana gelirken, karsinomlar (%70-80) periferik alanlarda meydana gelir. Normal bir prostatın iki hücre tabakasına sahip bir bezi vardır. Kalın epitelyumun bazal tabakasının üzerinde sütunlu bir salgı epitel hücreleri tabakası bulunur. Prostatı çevreleyen stroma, düz kas ve fibröz dokudan oluşur.

Prostatın patolojik lezyonları üç grup altında incelenebilir; Enflamatuvar, hiperplazi ve neoplastik hastalıklar. Her üçü de prostatın bir miktar büyümesine neden olur. Prostat üretrayı çevrelediğinden, önemli prostat büyümesine neden olan herhangi bir lezyon üretra lümenini kolayca daraltabilir. Bu nedenle prostat hastalıkları kendilerini üriner semptomlarla gösterir. Bu semptomlar çeşitlidir. Genellikle sık idrara çıkma, noktüri ve idrara yapmakta zorluk sayılabilir (Robbins, 2014).

2.6.1. Prostatit

Prostat inflamasyonları akut veya kronik olabilir. Bakteriyolojik incelemeler ve transrektal prostat mesajı sonucu elde edilen prostat sekresyonlarının incelenmesine göre daha ileri bir sınıflama yapılabilir. Bakteriyel prostatitin en sık sebebi *E. Coli*'dir. Prostatit dört kategoriye ayrılır:

- I. Akut bakteriyel prostatit (%2-5). Akut idrar yolu enfeksiyonlarıyla benzer mikroorganizmalar neden olur.
- II. Kronik bakteriyel prostatit (%2-5). Sıklıkla idrar yolları enfeksiyonlarına neden olan patojenlerden kaynaklanır.
- III. Kronik non-bakteriyel prostatit veya kronik pelvik ağrı sendromu (%90-95). Lokal semptomlara rağmen idrar yolu patojenlerinin saptanmadığı bir durumdur.
- IV. Asemptomatik enflamatuvar prostatit (insidansı bilinmiyor). İdrar yolu patojenleri bulunmamasına rağmen prostat salgılarında tesadüfen lökositler tespit edilir (Robbins, 2014).

Prostatit klinik özellikleri

Klinik olarak, akut bakteriyel prostatitte ateş, titreme ve idrar yapma zorluğu (dizüri) görülür ve bir komplikasyon olarak sepsis ortaya çıkabilir. Rektal muayenede

prostat hassastır. Kronik bakteriyel prostatit genellikle tekrarlayan asemptomatik epizodlarla tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları ile ilişkilidir. Sırt ağrısı, dizürü, perine ve suprapubik bölgede rahatsızlık ile kendini gösterir. Hem akut hem de kronik bakteriyel prostatit antibiyotiklerle tedavi edilir. Kronik bakteriyel olmayan prostatitin (kronik pelvik ağrı sendromu) tanısı zordur. Bu hastalarda, Ulusal Sağlık Enstitüleri Kronik Prostatit Semptom İndeksi (NIH-CPSI) çalışmasına göre, rektal muayene, idrar tahlili ve idrar ile prostat sıvısı toplama işlemi tamamlanmalıdır. Bu örnekleme yöntemi, mesane ve üretranın kirlenmesini önlemek ve enfeksiyon yokken (beyaz kan hücrelerinin varlığında) prostattaki iltihabı belirlemek için kullanılır (Robbins, 2014).

2.6.2. Benign Prostat Hiperplazisi (Nodüler Hiperplazi)

İyi huylu prostat hiperplazisi (BPH) çok yaygın bir durumdur ve prostat içinde büyük, belirgin nodüllerin gelişmesi ile karakterizedir. 40 yaşın üzerindeki birçok erkekte görülür. Sıklık yaşla birlikte artar ve 80'lerde %90'a ulaşır. BPH, hem epitelyal hem de stromal elementlerin proliferasyonu ile karakterize edilir ve bazı vakalarda idrar yolu obstrüksiyonuna yol açan glandüler genişleme vardır. BPH'nin nedenleri tam olarak anlaşılamamış olsa da, androjene bağlı olarak epitel ve stromal elemanların aşırı çoğalmasının BPH gelişiminde önemli bir rol oynadığı görülür. BPH ergenlikten önce testisleri alınmış erkeklerde ve androjenik aktiviteyi bloke eden kalıtsal bir bozukluğu olan erkeklerde görülmez. Prostatta testosterondan 5 α -redüktaz tip 2'nin etkisiyle sentezlenen dihidrotestosteron (DHT), BPH'nin ana aracısıdır. DHT, prostat epitelyal ve stromal hücrelerin büyümesini ve hayatta kalmasını destekleyen genlerin ekspresyonunu düzenleyen nükleer androjen reseptörüne bağlanır. Testosteron ayrıca androjen reseptörlerine bağlanır ve büyümeyi uyarır, ancak DHT on kat daha güçlüdür. Prostat büyümesine bağlı alt üriner sistem obstrüksiyonu semptomları, prostat düz kasının α -adrenerjik reseptör aracılı kasılması ile şiddetlenebilir (Robbins, 2014).

Prostat nodülleri yaklaşık 60-100g arasındadır. Nodüller karakteristik olarak üretra çevresinden kaynaklanır. Bu dağılım periferik bölgeleri tutan prostat kanseri ile zıttır. Nodüllerin gerçek bir kapsülü olmamasına rağmen çevresindeki parankimin kompresyonu nedeniyle kesitte iyi sınırlıdır. Hiperplazinin mikroskopta primer olarak glandüler proliferasyon sonucu oluştuğu görülür.

2.7. Prostat Kanseri

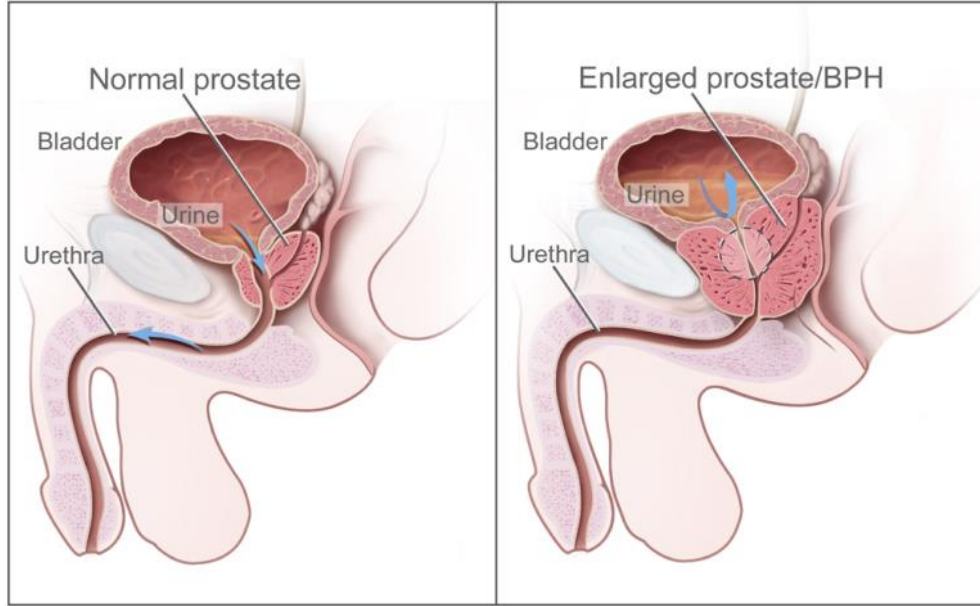
Prostat kanseri (PCa), özellikle yaşılanan nüfusa sahip gelişmiş ülkelerde dünya çapında yaygın bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Erkeklerdeki kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırayı alır. 50 yaşın üzerinde görülür ve 75 yaş civarı en yüksek sıklığa ulaşır.

Son yıllarda PCa insidansındaki hızlı artış, kısmen erken teşhis için tanı prosedürlerinin gerekli kılmaktadır (rektal muayene- prostat spesifik antijen (PSA) testi, transrektal ultrason, manyetik rezonans ve Gleason skoru). Gizli prostat kanserinin yaygın olduğu ve çok sayıda teşhis edilmemiş vakanın ölümden sonra keşfedildiği görülmektedir.

Prostat kanseri teşhisi kolay olmayabilir. Üç farklı şekilde karşımıza çıkabilir:

- 1) Klinik prostat kanseri (klinik teşhisin mümkün olduğu semptomatik vakalar),
- 2) Gizli prostat kanseri (birincil lezyon küçük veya gizli kalır, ancak metastazlar klinik olarak kendini gösterir),
- 3) Latent prostat kanseri (belirti ve semptomlarla klinik olarak tanınmaz). Latent form genellikle benign prostat hiperplazisi nedeniyle prostatın transüretal rezeksiyonunda beklenmedik bir bulgu olarak veya asemptomatik hastalarda tarama ile tespit edilir (Boyle, Maisonneuve ve Napalkov, 2005).

Semptomlar tümörün anatomik büyüklüğü ve yayılımına dayanır. En sık görülen şikayetler idrar yapmada güçlük, sık idrara çıkma ve noktüridir ve tüm bu belirtiler prostat hipertrofisinden de kaynaklanabilir. Hastalığın ileri evresi, üriner retansiyon ve sırt ağrısı ile kendini gösterebilir, çünkü aksiyal iskelet kemik metastatik hastalığının en yaygın bölgesidir (Rawla, 2019). Evre A: tümör asemptomatiktir ve ancak prostatektomi materyalinin histolojik incelenmesi sırasında tespit edilir. Evre A1 yavaş progresyon hızı nedeniyle hastaların çok azında çok küçük bir oranda öldürücüdür. Evre A2 lezyonlar daha kötüdür ve tedavi edilmemiş hastaların %20'sinde uzak metastazla ölüme yol açar. Evre B'de rektal muayene ile tanı koyulabilir. Hastaların yaklaşık %80'i evre C veya D olarak başvurur. Genellikle dizüri, idrar akımında yavaşlama ya da idrar retansiyonu gibi şikayetleri vardır. Perine ve rektumda ağrı geç semptomlar olarak görülür. Evre D de ise kemik metastazına bağlı kemik ağrısı ile başvurabilir (Robbins, 2014).



Kaynak: Prostate Cancer Prevention (PDQ®): Patient Version. 2022

Şekil 2.5. Prostat büyümesi

Prostat kanseri doğrudan, lenfatikler ve venler yoluyla yayılır. Lokal yayılımı sıklıkla vezikula seminalisleri ve mesane tabanını tutar. Rektum duvarına uzanımı nadirdir. Bölgesel lenf nodlarına metastaz erken olur ve çoğunlukla vasküler yayılımdan öncedir. En sık görülen hematojen metastaz şekli kemik metastazıdır. Kemiklerdeki metastatik lezyonlar osteoplastik (destrüktif) ya da daha sıklıkla osteoblastik (kemik oluşturan) olabilir (Robbins, 2014).

Prostat kanseri insidansı yaşla birlikte artar (Ferlay vd, 2019). Her ne kadar 50 yaşın altındaki 350 erkekten sadece 1'i prostat kanseri tanısı alacak olsa da (Perdana vd, 2016) 50 ile 59 yaş arasındaki her 52 erkekte görülme sıklığı artmaktadır. 65 yaş üstü erkeklerde insidans oranı yaklaşık %60'dır (NCI, Bethesda, MD, 2016).

2.7.1 Gleason Puanlama Sistemi

PCa tanı ve tedavisinde biyokimyasal iki marker, prostatik asit fosfataz (PAP) ve prostat spesifik antijen (PSA) değerlidir. İkisi de hem normal hem de neoplastik prostat epiteli tarafından yapılır. PAP serum düzeyleri, tümörleri kapsülü aşmış ya da metastaz yapmış hastalarda yükselir, fakat lokalize hastalığın tanısında faydası yoktur. PSA yüksekliği ise hem lokalize hem de ilerlemiş PCa da görülür. Serum seviyeleri BPH'de de yükselir ama daha az orandadır.

PCa'nın yayılımını belirleyebilmek için evreleme yapılır. PCa da evreleme amacıyla;

- 1) Primer tümörün boyutu,
- 2) Yakın lenf düğümü tutulumu,
- 3) Metastaz olup olmadığı,
- 4) Tanı sırasındaki PSA değeri ve
- 5) Gleason puanlamasına bakılır.

Gleason puanlaması (skoru) kanserin hızlı büyüme ve yayılma olasılığına göre sınıfını göstermektedir. Gleason skoru, güvenilir ve öngörülebilir histolojik derecelendirme sistemidir ve ilk olarak patolog Dr. Donald Gleason tarafından 1960'larda tanımlanmıştır. Prostat kanserinin tüm patolojik tanımları için evrensel olarak kabul edilir (Montironi vd, 2016). 2016 yılında, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), eski Gleason skorlama sistemi ile klinik deneyime dayanan ve Gleason skorları daha düşük olan hastalarda klinik sonuçlarda çok az fark olduğunu, ancak daha yüksek derecelerde daha farklı olduğunu öne sürerek yeni bir sınıflandırma sistemi önerdi. Böylece Gleason skorlaması güncellendi (Chen ve Zhou, 2016).

Gleason skoru, diğer kanserlerin çoğunu tanımlayan hücre özelliklerinden daha çok prostattaki bezlerin mikroskopik düzenine veya modeline dayanır.

Gleason paterninde;

- 1) Bezin hemen hemen normal bir mikroskopik görünümde izlenmesi, normal salgı görünümünde tümoral doku görülmesi,
- 2) Salgı bezleri arasında artmış bağ doku görülmesi,
- 3) Belirgin olarak bezin kenarlarına infiltrasyon görülmesi,
- 4) Malign salgı bezlerine ait düzensiz kütlelerin görülmesi,
- 5) Salgı bezi görüntüsünün nadiren görülmesidir (Gleason ve Mellinger, 1974, Evans vd, 2016).

Gleason skoru her zaman sayılar şeklinde iki skor ve ardından bir toplam skor içerir. Gleason derecelendirmesinde öncelik her zaman 1'den 5'e kadar olan ilk sayıdır ve ikinci sayı, ikincil biçimde de 1'den 5'e derecelendirilir. Bu nedenle, Gleason'a göre mutlak en iyi ve en düşük risk, Gleason $1 + 1 = 2$ olsun ve en kötü yüksek dereceli patoloji

Gleason 5 + 5 = 10 olacaktır. Gerçek hayatta, bu histolojik uç noktalar neredeyse hiç görülmez (Pierorazio vd, 2013). Sadece bir Gleason skoru veya paterni görülürse, Gleason skoru, Gleason 3 + 3 = 6'daki gibi tekrarlanan ve toplanan aynı Gleason skorundan oluşacaktır; en sık bulunan Gleason skorudur (Epstein vd, 2017). Düşük dereceli tümörler, 3 + 3 = 6 veya daha düşük herhangi bir Gleason skoru olacaktır (Pierorazio vd, 2013). Orta dereceli kanser, Gleason skoru 3 + 4 = 7 olacaktır. (Pan vd, 2000). 4 + 3 = 7 veya daha yüksek bir Gleason skoru, yüksek dereceli kanser olarak kabul edilir (Pierorazio vd, 2013).

Prostat kanserinin diğer önemli mikroskopik histolojik özellikleri ve göstergeleri şunları içerir: (Shen ve Abate-Shen, 2010). Glandüler büyümenin infiltratif paterni;

- Bazal hücre tabakasının olmaması
- Büyük nükleoluslara sahip atipik olarak büyümüş hücre çekirdekleri
- Artan mitotik figürler
- İntraluminal ince mavi müsin
- Pembe amorf salgı
- İntraluminal kristaloidler
- Bitişik yüksek dereceli prostat intraepitelyal neoplazisi (yüksek dereceli PIN)

2.7.2. Risk Faktörleri

Prostat kanserinin kesin nedeni bilinmemektedir. Sıklığı yaş ile artmaktadır. Yaşlanmayla ortaya çıkan endokrin değişikliklerden kaynaklandığı öne sürülmektedir. Prostat kanseri genç erkeklerde nadirdir ve risk yaşla birlikte artar. Hastalığa yakalanma ihtimali 50 yaşından sonra keskin bir şekilde artar. 45 yaşından önce kanser nadirdir ve hastaların dörtte üçü 65 yaş ve üzerindedir (Jha vd, 2014). Orşiektomi ile bu tümörlerin baskılanması endokrin değişikliklerin önemini desteklemektedir.

Hastalığa yakalanma ihtimalini artıran başka risk faktörleri de vardır. Bunlardan bazıları kontrol edilebilir, ancak aile öyküsü gibi bazıları ise değiştirilemez. Bir veya daha fazla risk faktörüne sahip birçok erkekte hastalık gelişmezken, herhangi bir risk faktörü olmasa da PCa gelişebilir (Robbins, 2014).

İrk ve etnik köken

Prostat kanseri bölgesel ve ulusal farklılıklara göre, ayrıca ırk ve etnik gruplarına göre farklılıklar göstermektedir.

Afrikalı Amerikalılar en yüksek insidansa sahipken, Doğu Asyalılar en düşük oranlara sahiptir. Yerli Amerikalılarda da nadir görülmektedir. PCa siyah ırkta tüm yaş gruplarında beyaz ırktan daha yüksek bir insidans oranına sahiptir ve aynı zamanda daha agresif seyretmektedir. Afrika kökenli erkeklerde PCa riski iki kat fazladır. Etnik gruplar arasındaki risk farklılıkları, testosteron metabolizmasında yer alan enzimlerden sorumlu genlerin alellerindeki farklılıklardan kaynaklanabilir. PCa orşiektomi geçirmiş erkeklerde özellikle de puberte öncesi orşiektomi geçirmiş erkeklerde görülmemesi, androjenlerin prostat kanseri etiyolojisinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Androjenler, prostat büyümesi ve işlevi için gereklidir ve deney hayvanlarında PCa'ya neden olabilirken, androjen ablasyonu genellikle PCa remisyonu ile ilişkilidir. Ekolojik çalışmalar, serum testosteron seviyeleri, özellikle DHT ile Afrikalı Amerikalılar, Kafkasyalılar ve Japon erkekler arasında PCa riski arasında bir ilişki bulmuştur (Gann, 2002).

Genetik

Herhangi bir hastalığın çoğunlukla genetikten kaynaklanma olasılığı yüksektir. Bazen PCa'nın nedeninin belirsiz olduğunun ve genetik arka planın, etnik köken ve aile geçmişinin PCa riskine katkıda bulunabilir. Birinci derece akrabasında (baba veya erkek kardeş) PCa olan erkekler, genel popülasyona göre iki kat daha fazla risk taşır.

Etkilenen erkek kardeşte risk, etkilenen babadan daha fazla artar. Birinci derecede etkilenen iki akrabası olan erkeklerin riski 5 kat daha fazladır. Ailede PCa öyküsü yüksek olan hastalar, daha genç yaşta ve daha lokal olarak ilerlemiş hastalığı olan kansere sahip olma eğilimindedir. Ayrıca radikal prostatektomiden sonra daha yüksek biyokimyasal nüks riskine sahiptirler. BRCA1 ve BRCA2'deki mutasyonlar prostat kanseri ile ilişkilidir (Barfeld, East, Mills ve Zuber, 2014; Benafif ve Eeles, 2016; Bruner vd, 2003; Petrovics, Srivastava ve Tan, 2018).

Diyet

Birçok vitamin takviyesi PCa riskini artırabilir veya azaltabilir. Bazı araştırmalar, batılı bir diyet yemenin PCa'ya neden olabileceğini kanıtlamıştır. Trans yağ asitleri,

doymuş yağ veya karbonhidrat alımı ile PCa arasındaki ilişki üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bazı araştırmalar, ekstra kalsiyum alımının ilerlemiş PCa ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca doymuş yağ ve süt ürünlerinden zengin bir diyet de riski artırır. PCa teşhisi konduktan sonra tam yağlı süt tüketimi, özellikle aşırı kilolu erkeklerde, nüks riskinin artırabilir (Freedland vd, 2008; Aronson, Lin ve Freedland, 2015; Pettersson vd, 2012; Song vd, 2013).

Düşük D vitamini seviyeleri de PCa gelişme riskini artırabilir. Balık tüketiminin PCa'dan ölümü azaltabileceği, ancak insidans oranını etkilemediği yönünde çalışmalar vardır. Bazı çalışmalarda, vejetaryen bir diyetin PCa oranlarını azalttığını desteklemekle birlikte, kesinlik göstermemektedir. Folik asit takviyeleri de araştırılmış ancak PCa gelişme riskini etkilediği gösterilememiştir (Schenk vd, 2014; Catsburg vd, 2012; Tantamango-Bartley vd, 2016; Vollset vd, 2013).

Enfeksiyon

Birçok enfeksiyon, PCa gelişimi ile ilişkilendirilebilir. Klamidya, gonore veya sfiliz enfeksiyonlarının PCa geliştirme riski bulunmaktadır (Hayes vd, 2000; Sfanos vd, 2012).

Enflamasyon

Kötü huylu veya iyi huylu tüm süreçlere ek olarak, vücudun savunma mekanizmasının bir parçası olarak enflamasyon gelişir ve iyileşme sürecinde önemli bir rol oynar. Vücut bir davetsiz misafir algıladığında, ondan kurtulmak için biyolojik bir tepki verir. Patojenler; bakterileri, virüsleri ve enfeksiyonlara neden olan diğer organizmaları içerir. Bazen vücut yanlışlıkla kendi hücrelerini veya dokularını zararlı olarak algılar, çünkü böyle bir reaksiyon tip 1 diyabet gibi otoimmün hastalıklara yol açabilir ve enflamasyon bazı metabolik sendromlar gibi çok çeşitli kronik hastalıklara da neden olabilir. Bu kronik hastalıklar içinde Tip 1 ve 2 diyabet, kalp hastalıkları ve obezite sayılabilir. Bu kişilerin vücutlarında genellikle daha yüksek düzeyde inflamatuvar belirteçler bulunur.

Enflamasyon esasında koruyucu bir yanıttır. Temel amacı organizmayı hem hücre hasarının nedenlerinden (mikroorganizma ve toksinler gibi), ve sonuçlarından korumaktır.

Akut ve kronik olmak üzere iki tip enflamasyon vardır.

Akut inflamasyon, akut veya kısa süreli inflamasyonu içeren bir yaralanma veya hastalığı ifade eder. Organizmada patojen tespit edildiğinde, bağışıklık sistemi bir dizi reaksiyon başlatır; dokular plazmada protein biriktirir, bu da sıvı birikmesine ve şişmeye yol açar. Akut inflamasyonun beş temel belirtisi vardır:

1. Ağrı; sürekli veya yalnızca bir kişi etkilenen bölgeye dokunduğunda ortaya çıkabilir.
2. Kızarıklık; bölgede sıkışan kan akışının artması nedeniyle oluşur.
3. İşlev kaybı; eklem hareketlerinde, nefes almada, koku alma duyusunda vb. olası zorluklar.
4. Sıvı birikirse, şişlik gelişebilir.
5. Isı; Artan kan akışı, etkilenen bölgede sıcaklık artışına neden olabilir.

Bu belirtilerin her zaman mevcut olmadığı, bazen iltihabın semptomsuz "sessiz" olduğu belirtilmelidir. Kişi ayrıca yorgun hissedebilir, genellikle iyi olmayabilir ve ateşi olabilir. Akut inflamasyon belirtileri, nedene bağlı olarak saatler veya günler içinde ortaya çıkabilir. Bazı durumlarda, ciddi iltihaplanma meydana gelebilir. Nasıl geliştiği ve ne kadar sürdüğü, nedene, vücudun hangi bölümünün etkilendiğine ve bireysel faktörlere bağlıdır. Akut inflamasyon durumuna yol açabilecek bazı faktörler ve enfeksiyonlar şunlardır; akut bronşit, apandisit ve "-itis" ile biten diğer hastalıklar, tırnak batması, soğuk algınlığı veya gripten kaynaklanan boğaz ağrısı, fiziksel travma veya yara.

Akut inflamasyon belirtileri birkaç gün, subakut inflamasyon ise 2-6 hafta sürer. Kronik inflamasyon aylar hatta yıllar sürebilir veya diyabet, kardiyovasküler hastalık (CVD), romatoid artrit ve diğer eklem hastalıkları, alerjiler, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), psöriasis gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olabilir. Semptomlar hastalığa bağlı olarak değişiklik gösterir, ağrı ve yorgunluk da içerebilir.

Vücutta enflamasyon olup olmadığını belirlemek için biyobelirteçler olarak bilinen maddelerin seviyeleri tetkik edilir. C reaktif protein (CRP) gibi. CRP seviyeleri yaşlılarda ve kanser ve obezite gibi rahatsızlıkları olanlarda daha yüksek olma eğilimindedir. Enflamasyon, fiziksel bir faktör bir bağışıklık tepkisini tetiklediğinde

ortaya çıkar, ancak bu mutlaka bir enfeksiyon olduğu anlamına gelmez, ancak bir enfeksiyon iltihaplanmaya neden olabilir. Akut iltihaplanma, arı sokması veya toz, yaralanmalar, enfeksiyonlar gibi maddelere maruz kalmayla oluşabilir.

Bir kişi aşağıdakilere sahipse kronik inflamasyon gelişebilir:

- Aşırı duyarlılık ve alerjik durumlarda görülebilir
- Maruz kalma; bazen endüstriyel bir kimyasal gibi tahriş edici bir maddeye düşük seviyede uzun süre maruz kalmak kronik enflamasyona neden olabilir.
- Otoimmün bozukluklar; Bağışıklık sistemi, psöriyazisde olduğu gibi normal sağlıklı dokuya saldırır.
- Otoenflamatuar hastalıklar; Genetik bir faktör, Behçet hastalığında olduğu gibi bağışıklık sisteminin çalışmasını etkiler.
- Kalıcı akut inflamasyon – Bazı durumlarda, insanlar akut inflamasyondan tam olarak kurtulamayabilir ve bazen kronik inflamasyona yol açabilir.

Kronik inflamasyon riskini artırabilecek kişiye bağlı faktörlerde bulunabilir. Bunlar: yaş, obezite, sağlıklı yağlar ve ilave şeker açısından zengin bir diyet, sigara kullanımı, düşük seks hormonları, stres, uyku sorunları. Enflamasyon ile ilişkili uzun süreli hastalıklar ise, astım, kronik peptik ülser, tüberküloz, romatoid artrit, periodontitis, ülseratif kolit ve Crohn hastalığı, sinüzit vb dir.

Kronik veya tekrarlayan enflamasyon, karaciğer, özofagus, mide, kolon ve mesane kanserleri dahil olmak üzere insanlarda birçok kanserin gelişiminde önemli bir rol oynar. Prostat dokularında uzun yıllardır enflamatuar değişiklikler fark edilmekte ve inflamasyonun PCa gelişimine katkıda bulunup bulunmayacağı konusu araştırılmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar PCa patogeneğinde prostat enflamasyonunun rolü olduğunu göstermektedir (Nelson vd, William, 2020). PCa'lı erkeklerde radikal prostatektomi ile ve BPH için prostat iğne biyopsisi ve transüretral rezeksiyon numunelerinin çoğunda enflamatuar değişiklikler mevcuttur. Prostatit genellikle semptomlarla ilişkili olmadığı için prostatit prevalansı bilinmemektedir ve PCa ile olan ilişkisini ortaya koymak zordur. 40 ila 79 yaş arasındaki erkeklerin yaklaşık %9'u veya

daha fazlası, prostat üretra yakınındaki enfeksiyona atfedilebilecek pelvik kızarıklık ve ağrı (klinik/sempomatik prostatit sendromu olarak adlandırılır) semptomları bildirir (Roberts vd, 1998). Sempomatik prostatit ataklarının çoğunda, spesifik enfeksiyöz ajanları tespit edilemeyebilir. Bununla birlikte, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların prostat kanseri riskini artırdığı görülmektedir (Sutcliffe, 2010).

Mevcut hipotezler, enflamasyonun PCa gelişimini hızlandırabileceği üzerine de yoğunlaşmıştır. Prostat kanserinin epidemiyolojisi, PCa'nın moleküler patogenezinde rol alan genlerin araştırılmasını da zorunlu kılmaktadır. Dünyada PCa riskinin yüksek olduğu ve düşük olduğu bölgelerde prostat enflamasyonunun yaygın olup olmadığının araştırılması bu konuda kesin sonuç vermemiştir. Buna karşın, proliferatif enflamatuvar atrofi (PIA) lezyonlarının, yüksek riskli PCa bölgelerindeki erkeklerde düşük riskli bölgelerdeki erkeklere göre daha yaygın olduğunu göstermektedir (Sutcliffe, 2010).

2.8. Obezite

Dünya çapında, erkek popülasyonda obeziteye bağlı gelişen kronik inflamasyon durumunun neden olduğu agresif bir PCa mortalitesi riski vardır. Obezite, vücut kitle indeksi (BMI)>30kg/m² aşırı vücut yağı olarak tanımlanır. Meme, endometriyal, kolon, pankreas ve prostat kanseri dahil olmak üzere birçok kanser türünün başlangıcı ve ilerlemesi için bilinen bir risk faktörüdür (Tchio Mantho vd, 2017).

Birçok kanserin insidansı ve mortalitesi, obezite de dahil olmak üzere başlıca katkıda bulunan faktörlerle birlikte giderek artmaktadır. Son on yılda, çok sayıda epidemiyolojik çalışma, obezitenin prostat kanseri de dahil olmak üzere birçok kanser türünden kaynaklanan artan risk ve ölüm ile ilişkili olduğunu ileri sürmüştür (Renehan vd, 2008).

Obezitede fazla miktarda bulunan yağ doku metabolik ve endokrin aktivitelerin bozulmasına neden olur. Adipositlerin sentezleyip salgıladığı çeşitli mediatörler, immün sistemi aktive ederek sistemik ienflamasyona neden olur. Yağ dokusundan salgılanan ana hormonlardan biri, yağlanma seviyeleri ve BMI ile ilişkili olduğu gösterilen leptindir (Farooqi ve O'Rahilly, 2009; Havel, 2000).

PC ve obezite arasındaki bağlantı çok yönlüdür. Adipositlerle birlikte kültüre edilen PCa hücrelerinde proliferasyon, farklılaşma, büyüme ve sitokin ekspresyonu gözlenmiştir. Birçok çalışma, obezitenin hastalığın ilerlemesine de neden olabileceğini ve PC'nin artması ve yayılmasındaki ana faktörlerin leptin hormonunun yanı sıra insülin, seks hormonları ve büyüme hormonu olduğunu ileri sürmektedir (Banks, DiPalma ve Farrell, 1999; Cioffi vd,1996).

İnsan vücudunda, hasarlı dokuları onarmak için sürekli olarak yeni hücreler oluşturulur. Normalde hücre çoğalması ve ölümü dengeli bir şekilde gerçekleşir. Kanserli koşullarda büyüme, bölünme ve ölüm düzensizdir. Bunun sonucunda, vücutta anormal bir kitle oluşabilir. Apoptoz, patolojik veya normal koşullarda araştırılan bir süreçtir (Wong, 2011). Bu sürecin çeşitli patolojik durumlardaki önemli rolü nedeniyle, yeni tedavilerin keşfi için ilgili mekanizmalarını anlamak önemlidir. Kanserde hücre bölünmesi ile ölüm arasında bir dengesizlik vardır. Aslında, ölüm sinyallerinin eksikliği nedeniyle kesin hücre ölümü gerçekleşmez (Begley ve Ellis, 2012; Simonian vd, 2018).

2.9. Leptin

Leptin, yağ dokusu tarafından salgılanan bir protein hormonudur. Leptin reseptörüne (LEPR) ligand olarak bağlanarak iştahı ve enerji tüketimini düzenler (Hsiao ve Lin, 2021). Leptin, hormon sentezinin yanı sıra kan basıncı, üreme, osteogenez, hematopoez, anjiyogenez ve bağışıklığı içeren süreçleri modüle etmede önemli bir rol oynar (Charchour vd, 2020). Ayrıca leptinin, enerji metabolizması, nörovasküler hastalıklar veya obezite gibi birçok endokrin hastalık ve metabolizma ile ilgili hastalıkların patofizyolojisinde rol aldığı bulunmuştur (Garcia-Castano vd, 2019; Pham ve Park, 2020). LEPR tarafından kodlanan leptin reseptörü, tip 1 sitokin reseptör ailesinin bir üyesidir ve birçok malign kanser türünün patogeneğinde anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (Hsiao ve Lin, 2021). Leptin sinyal yollarındaki değişiklikler, kanser hücrelerinde spesifik sinyal yollarının aktivasyonu yoluyla maligniteleri indükleyebilir (Gonzalez-Perez, Mullen ve R, 2016). Son araştırmalar, leptin reseptörlerinin prostat kanseri, over kanseri, meme kanseri, karaciğer kanseri, akciğer kanseri ve diğer birçok kanser türünde yüksek oranda eksprese edildiğini göstermektedir (Howard, Pidgeon ve Reynolds, 2010). Çeşitli deneysel araştırmalar, leptin-leptin reseptör sinyalleşmesinin, hücre proliferasyonu, metastaz, anjiyogenez ve kemorezistans dahil olmak üzere kanser

progresyonu ile ilişkili çeşitli süreçleri teşvik etmedeki önemli rolünü vurgulamıştır (Saxena vd, 2007; Chen, 2007).

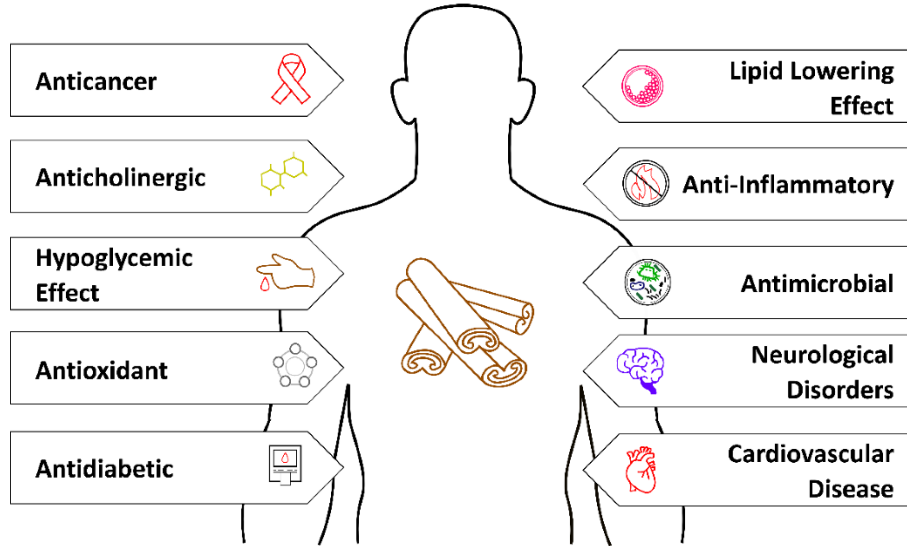
Leptin en yüksek seviyede salgılanan ve en iyi karakterize edilen adipokindir. Adipositler tarafından visseral yağ birikimi ve adiposit kitlesi ile doğru orantılı olarak salgılanır. En önemli işlevi iştah kontrolüdür. Hipotalamusa etki ederek besin alınımını baskılayan bir hormondur. Açlık durumunda plazma leptin düzeyleri düşer. Yemekten sonra ise leptin seviyeleri artarak, iştahı azaltır. Ancak pekçok obez kişinin normal veya zayıf insanlara göre daha yüksek serum leptin seviyelerine sahip oldukları gösterilmiştir. Kan leptin düzeyleri yüksek olduğu halde iştahlarının baskılanmadığı görülmüştür. Bunun nedeni beyinin leptin sinyaline karşı duyarsızlaşması ve leptin rezistansının gelişmesidir (Izquierdo vd, 2019). Yüksek leptin seviyeleri ile PCa ilişkisini araştıran çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. İlerlemiş ve yüksek dereceli prostat kanserli hastalarda dolaşımdaki serum leptin düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (Al Refai, Kamel ve Nassir, 2020). Leptinin angiogenezi artırdığı, bunun da kanserin ilerlemesine, invazyonuna ve metastazına neden olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca leptin-bağımlı büyüme faktörü sekresyonu PCa hücrelerinin migrasyonuna neden olmaktadır. Prostat kanser hücrelerinin leptine verdikleri proliferasyon yanıtında PI3-K sinyal yolağının rol aldığı gösterilmiştir. Bu sinyal yollarında oluşabilecek değişiklikler hem obezite, diabetes ve insülin rezistansı gelişmesinde hem de prostat kanseri gelişiminde kritik öneme sahiptir (Mistry vd, 2007, Fantuzzi, 2005).

Leptin transmembran reseptörleri (Ob-R) yaklaşık altı izoforma sahiptir; uzun leptin reseptörü (Ob-Rb) en baskın olanıdır. Leptin bağlanması, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) sinyal iletim zincirini uyarır (Banks, vd, 2000). İn vitro çalışmalar, prostat kanseri hücre dizilerinde leptinin mitojenik rolünü göstermiştir (Somasundar vd, 2003). Leptinin, androjene dirençli PCa hücre hatlarında (DU145 ve PC-3) endotel hücre proliferasyonunu teşvik ettiği gösterilmiştir ve bu bulgu da leptinin PCa'da anjiyogenez, ilerleme ve metastaz indüksiyonunda anahtar rolü olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, obez hastalarda olduğu gibi yüksek leptin seviyelerine uzun süreli maruz kalma, artan PCa riskinin ve/veya PCa agresifliğinin olası bir nedenidir (Noda vd, 2015). Yüksek leptin ve Ob-R (tip 1 sitokin reseptörü) ekspresyon seviyeleri rapor edilmiştir. Leptin, PCa'da benign prostat hiperplazisi (BPH) dokusuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Hoon Kim vd, 2008).

2.10. Tarçın

Günümüzde pek çok kanser çeşidinin tedavisinde olduğu gibi prostat kanseri için de fitokimyasalların etkileri araştırılmakta ve kanser hücrelerini hedef alan akıllı ilaç tedavilerini geliştirmek için araştırmalar yapılmaktadır. Bu yaklaşımlar içinde kanser sinyal yollarının hedeflenmesi vardır. C-Met, PI3K/AKT/MTOR, hedgehog, Src kinaz yolağı bunlardandır. PI3K (phosphatidylinositol 3-kinases) hücre siklusunun düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir hücre içi sinyal iletim yolağıdır ve farklı kanser tiplerinin gelişmesinde önemli olduğu gösterilmiştir. Bu yolak hücre canlılığı, farklılaşması, proliferasyonu, büyümesi, metabolizması, migrasyon ve angiogenesisde rol oynamaktadır. Apoptozun azalmasına ve proliferasyon artışına neden olur. Bunu çeşitli mekanizmalarla yapar. Bunlar içinde Bcl-2 ailesi üyeleri BAD ve BAX, NF-kappa-B ve p53 antagonisti Mdm2 vardır. PI3K inhibitörlerinin kanser tedavisi amacıyla kullanılması gündemdedir. Idealisib, FDA onayı alan ilk PI3K inhibitörü olmuştur. Özellikle kronik lenfositik lösemi ve bazı lenfomalarda kullanılmaktadır. MAPK (mitogen-activated protein kinases) yolağı hücre yüzeyinden çekirdeğe sinyal iletimi yapan ana yolaklardan birisidir. MAPK bazı transkripsiyon faktörlerinin aktive olmasına neden olur ve hücre siklusunu etkiler (Antonarakis ve Wozney, 2014).

Fitokimyasalların antikanser potansiyelinin incelenmesi, günümüz araştırmalarının önemli alanlarından biridir (Chakraborty ve Dutta, 2018). Herhangi bir potansiyel antikanser bileşiğinin en belirgin sonucu, kanser hücresi canlılığındaki değişikliklerdir. Bazı çalışmalar, tarçının çeşitli kanser hücrelerine karşı güçlü antiproliferatif potansiyelini göstermiştir (Schoene vd, 2005). Tarçın, farmasötik müstahzarlar, kozmetikler, aromatik baharatlar ve tatlandırıcılar (yiyecek ve içeceklerde) ve kimya endüstrisinde yaygın olarak kullanılan önemli bir geleneksel bitkisel ilaçtır ve önemli bir ekonomik değere sahiptir (Kong ve Wu, 2013).



Kaynak: Błaszczyk N, Rosiak A, Kałużna-Czaplińska J. 2021

Şekil 2.6. Tarçının insan sağlığına etkileri

Çok eski zamanlardan beri baharat olarak yemeklerde ve geleneksel olarak bitkisel ilaçlarda kullanılan tarçın bileşiklerinin biyoaktivitesi, bu bileşikler ile ilgili biyolojik ve tıbbi araştırmalar için geniş bir alan açmıştır (Hoskins, 1984). Son zamanlarda, tarçının malignite gelişimi ile ilgili moleküler yönüne dahil olan karmaşık mekanizmaların aydınlatılması, önemli bir araştırma alanı haline geldi (Schoene vd, 2005).

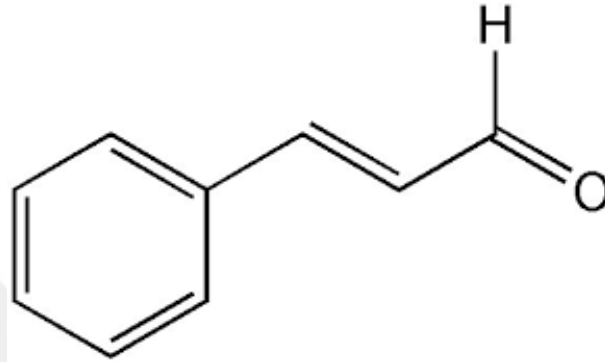
2.10.1 Sinnamaldehit

Tarçının kabuğundan yaprağından ve köklerinden uçucu yağlar elde edilmektedir. Bu yağlar monoterpen hidrokarbonlar içerir. Kabuğunda sinnamaldehit, yapraklarında eugenol ve köklerinde camphor yoğun olarak bulunmaktadır. Cinnamomum Zeylanicum kabuğunda içeriğin %49.9'unu sinnamaldehit oluşturur.

Sinnamaldehytin, fitokimyasal özellikleri yaygın olarak araştırılmıştır. İnsan sağlığı üzerinde anti-inflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan etkileri, kan basıncı, kan kolesterol, lipid ve glukoz seviyelerini düşürücü etkileri, antitümör ve antikanser etkileri gösterilmiştir. Sinnamaldehitin prostoglandinlerin oluşumunu sağlayan siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimini kuvvetli olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca proinflamatuvar transkripsiyon faktörü olan NF-kappa β inhibisyonu ve lipopolisakkarid induced nitrik oksit inhibisyonu ile antiinflamatuvar etki gösterdiği ortaya konmuştur. Antitümör ve antikanser etkilerinin antiinflamatuvar etkileri yanında antioksidan etkileri ile de

yakından ilgisi bulunmaktadır. Lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Sinnamaldehitin retiküloendotelial sistemi aktive ettiği, tümör nekrosis faktör alpha (TNF-alpha) ve interferon gamma (IFN γ) gibi sitolitik mediatörlerin üretimini indüklediği, perforin ve granzyme B ve C seviyelerini artırarak apoptoza neden olduğu gösterilmiştir. Çeşitli büyüme faktörlerini baskıladığı da gösterilmiştir (Li vd, 2008).

Sinnamaldehytin en ekonomik üretim yöntemi tarçın kabuğunun buharla damıtılmasıdır (NCBI, 2022).



Kaynak: Usai F, Di Sotto A.,2023

Şekil 2.7. Sinnamaldehitin kimyasal yapısı

Sinnamaldehyt (C₉H₈O) ve türevleri, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa tarafından aroma verici maddeler olarak onaylanmıştır. Ayrıca, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi (JECFA, 2000) ciddi güvenlik endişeleri bulunmadığını tespit etmiştir (WHO, 2001).

Sinnamaldehyt, s-cis ve s-trans olmak üzere iki konformasyonel izomerde bulunur. Sinnamik asidin s-trans izomeri, tatlandırıcılarda kullanılmaktadır (Burdock ve Fenaroli's, 2019).

2.10.2. Trans-Sinnamaldehyt

S-trans izomeri (trans-sinnamaldehyt), fesleğen, tarçın, melaleuca bracteata, alpinina galanga, peru balzamu, storax ve kakao yaprakları, meyveler (çilek) gibi doğal kaynaklardan sentezlenebilir ve izole edilebilir. (Kong vd, 2013).

S-trans sinnamaldehit, ağaç kabuğu yağı ekstraktının en bol bulunan bileşenidir (Liu, 2013). "Cis" karşılığı doğada bulunmaz; bu nedenle "trans" genellikle adından

çıkarılır. Sinnamaldehit, kimyasal allerjendir. Sinnamaldehitin allerjen etkisi, artan histamin salınımı ve hücre aracılı bağışıklık yoluyladır (NCBI, 2022).

Trans-sinamik asit türevlerinin, akciğer kanseri hücrelerinin (A549), meme kanseri hücrelerinin (MCF-7), MCF-10A ve prostat kanseri hücrelerinin (PC3) ve melanoma proliferasyonunu ile tümör büyümesini inhibe edebileceğini gösteren çalışmalar vardır (Bair Cabello ve Lamore, 2009; Liu vd, 2020). Sinnamaldehit ayrıca, anti-apoptotik protein Bcl-XL'nin ekspresyonunu azaltarak HepG2 hepatoma hücreleri üzerinde önemli bir antikanser etkisine sahiptir (Ng ve Wu, 2011). Trans sinnamaldehit, anormal PC3 hücrelerinde PI3K/MAPK sinyal yolağını indükleyerek, hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir (Warsito vd, 2021).

3. YÖNTEM

3.1. Araştırma Modeli

Bu çalışma “in vitro” bir araştırma olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmada PC-3 insan prostat kanseri hücre hattı kullanılmıştır. PC-3 hücrelerinde leptin ile obezite modeli oluşturulmuş ve sinnamaldehitin etkileri araştırılmıştır.

3.2. Araştırma Evren ve Örneklemi/Araştırma Materyali

Deneyler Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı hücre kültürü laboratuvarında gerçekleştirildi. Bu araştırmada kullanılan PC-3 insan prostat kanseri hücresi Amerikan Hücre Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection, ATCC, Manassas, VA, USA)’den temin edildi.

PC-3 prostat kanseri hücreleri deney süresince 37 °C ve %5 CO₂ koşullarını sağlayan bir inkübatörde (MCO-18AC-PE, Panasonic) tutuldu. Deneylerde obesite modeli oluşturmak için leptin (L4146, Sigma-Aldrich, USA) ve olası etkilerini araştırmak için sinnamaldehit (C80687, Sigma-Aldrich, USA) kullanıldı.

3.2.1 Hücre Hattının Üretilmesi

PC3 prostat kanseri hücre hattı %10 fetal bovin serum (FBS) ve %1 antibiyotik (penisilin 100 U/ml streptomisin 100 µg/µl) içeren RPMI-1640 (CP22-5029, Capricorn Scientific) mediumla, steril 75 cm² flaska (SPL-Life sciences Co.Ltd,Korea) ekilerek, 37 °C’de % 5 CO₂’li inkübatörde kültüre edildi.

3.2.2. Hücrelerin pasajlanması

Çoğalan hücreler %90 doygunluğa ulaştıktan sonra pasajlama yapıldı. Hücrelere 37°C’de 3 ml %0.05 Trypsin-EDTA (CP21-4265, Capricorn Scientific) solüsyonu uygulanarak yüzeyden ayrılmaları sağlandı. İnverted mikroskop altında inceleme yapılarak hücrelerin tabandan ayrıldığı gözlemlendi. Trypsin-EDTA çözeltisi ile süspanse edilen hücreler, 15 ml’lik bir falcon tüpüne aktarıldı. Trypsini inhibe etmek için ortamdaki tripsin miktarının 4 katı besiyeri ilave edildi, homojen dağılım için hücreler pipetlendi ve 300 g’de 5 dk santrifüj edildi (Nuve, NF 800R). Santrifüj sonrası süpernatant atıldı. Hücre

pelleti üzerine.15 ml taze besiyeri ilave edildi ve yavaş pipetleme ile pelet çözündürüldü. Hücreler 75 cm² flaska ekilerek 37 °C'de %5 CO₂'li inkübatörde kültüre edildi.

3.2.3.Sinnamaldehit Stok Solüsyonunun Hazırlanması

On µl sinnamaldehit (C80687, Sigma-Aldrich, USA) (d=1,05g/mL, 132.16g/mol) 1000 µl %60 etanol içerisinde çözülerek sinnamaldehit stok solüsyonu hazırlandı. Etanol solüsyonu PBS ile dilue edildi Çalışmada kullanılan farklı konsantrasyondaki sinnamaldehit solüsyonları, stok solüsyondan RPMI-1640 besiyeri ile seyreltilerek hazırlandı. Stok çözeltisinden uygun dilüsyonlar yapılarak 5, 10, 20, 40, 80 µg/µl konsantrasyonlarda dozlar hazırlandı.

3.2.4. Deney gruplarının oluşturulması

Çalışmada 5 deney grubu oluşturuldu. Bunlar;

Grup 1: Kontrol grubu: PC-3 hücreleri 72 saat RPMI 1640 içinde kültüre edildi.

Grup 2: Sinnamaldehit grubu: PC-3 hücreleri 48 saat RPMI 1640 içinde kültüre edildikten sonra 42µg/ml (IC₅₀) sinnamaldehit eklenerek 24 saat daha kültüre edildi ve 72 saate tamamlandı.

Grup 3: Leptin grubu: 100 ng/µl leptin içeren RPMI 1640 içerisinde PC3 hücreleri 72 saat kültüre edildi.

Grup 4: Leptin + çözücü grubu: RPMI 1640 içerisinde PC-3 hücrelerine 100 ng/ml leptin uygulandı. 48 saat kültüre edildikten sonra 150µl çözücü(etanol) eklendi. 24 saat daha kültüre edilerek 72 saate tamamlandı.

Grup 5: Leptin+sinnamaldehit grubu: RPMI 1640 içinde PC-3 hücrelerine 100 ng/ml leptin uygulandı. 48 saat kültüre edildikten sonra 42µg/ml sinnamaldehit eklendi ve 24 saat daha kültüre edilerek 72 saate tamamlandı.

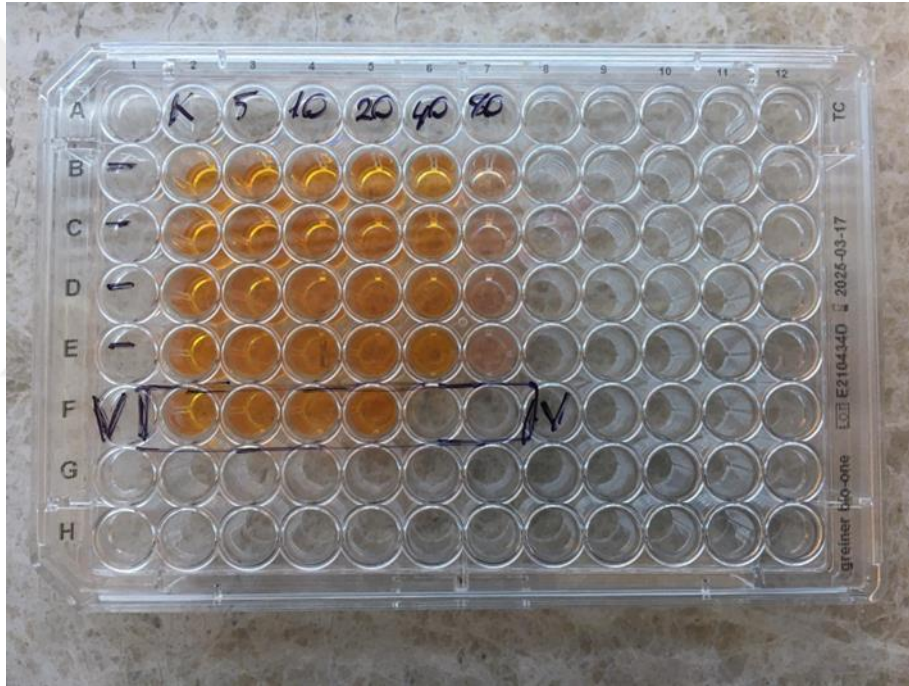
Sinnamaldehit dozuna hücre canlılık analizi ile tespit edilen IC₅₀ dozuna göre karar verildi. Leptin dozu, Yiğittürk vd, (2022)'ye göre belirlendi.

3.3. Veri Toplama Araçları

3.3.1. WST-1 Hücre Canlılık Analizi

WST-1 hücre canlılık analizi, canlı hücrelerden tetrazolyum tuzlarının salınmasına bağlı renk değişimini ölçen ve hücresel sitotoksisiteyi ölçmek için kullanılan

bir testtir. Çalışmamızda WST-1 testi sinmalaldehitin PC3 prostat kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini belirlemek için kullanıldı. Doksan altı kuyucuklu plakaların, her kuyucuğuna 100 µl besiyeri içinde yaklaşık 6×10^3 hücre ekildi ve CO₂' li inkübatörde 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra eski besiyeri pipetle uzaklaştırıldı. Kuyucuklara 5, 10, 20, 40 ve 80 µg/µl sinmalaldehit konsantrasyonu içeren 100 µl besiyeri eklendi ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. (Resim 3.1.) Sonrasında her bir kuyucuğa 10 µl WST-1 solüsyonu (Abbkine, China) eklenerek 3 saat 37 °C' de bekletildi. Absorbans değerleri mikropilaka okuyucuda (SpectraMax i3, Molecular Devices) 450 nm'de ölçüldü. Sinmalaldehit uygulama gruplarının absorbans değerleri kontrol grubu ile karşılaştırılarak canlılık yüzdesi hesaplandı. İnhibitör konsantrasyonu (IC₅₀) değeri grafiği çizilerek hesaplandı.

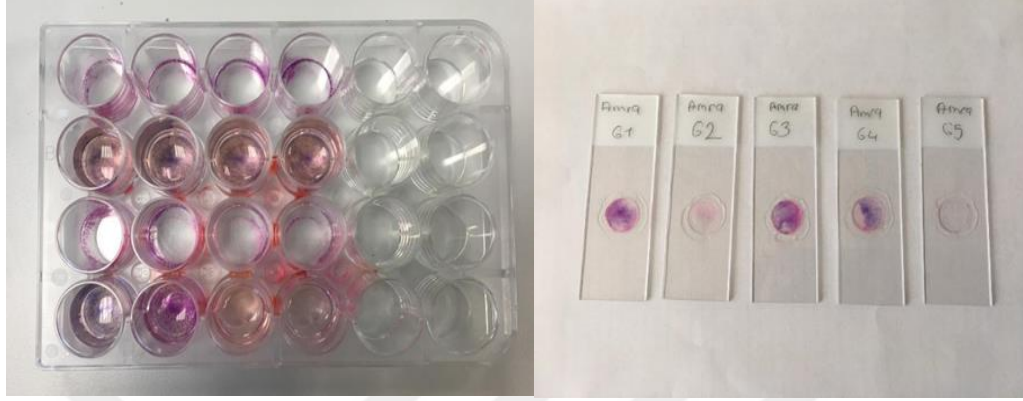


Şekil 3.1. WST-1 testi için 96 kuyulu plakalar içerisinde hazırlanan PC3 hücreleri

3.3.2. Morfolojik Analiz

Yirmi dört kuyucuklu kültür kabının her bir kuyucuğuna steril yuvarlak 12 mm çapında lameller yerleştirildi. Kültür ortamında çoğaltılan PC-3 hücreleri 4×10^3 hücre/kuyu olacak şekilde lameller üzerine ekildi ve deney gruplarında belirtildiği şekilde ve dozlarda ilaç uygulamaları yapılarak, inkübasyon süresi 72 saate tamamlandı. Deney sonunda kültürdeki besiyeri uzaklaştırılarak, PBS ile yıkandı ve %4'lük paraformaldehit ile 30 dakika fikse edildi. Fiksasyondan sonra 3 kez distile su ile yıkanan kuyulara 2 dakika hematoksin uygulanı. Çeşme suyu ile yıkanan hücrelere eozin eklenerek 3 dk

bekletildi. Sonrasında kuyucuklar distile su ile yıkanarak lameller kültür kabından alınıp lam üzerine aköz kapatma maddesi (Invitrogen, USA) ile kapatıldı (Resim 3.2). Lameller Nikon Eclipse 80i (Nikon Instruments, Tokyo, Japan) araştırma mikroskobu ile incelenerek fotoğraflandı.



Resim 3.2. PC3 hücrelerinin Hematoksilen-Eozin boyanması

3.3.3 Anneksin V Analizi

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için Anneksin V analizi uygulandı. Bu yöntemle propidium iyodür ve Annexin V-FITC kullanılarak canlı, apoptotik ve nekrotik hücreler belirlenmektedir. 6 kuyucuklu plakalara yaklaşık 15×10^4 hücre/kuyu ekildi ve deney gruplarında belirtildiği şekilde ve dozlarda ilaç uygulamaları yapılarak, inkübasyon süresi 72 saate tamamlandı. Gruplara grup 6 olarak pozitif kontrol grubu eklendi. Bu grupta analizden 6 saat önce bir kuyucuğa 10 µl staurosporin eklendi ve analiz saatine kadar inkübatörde bekletildi. Tüm grupların besiyerleri uzaklaştırdıktan sonra hücreleri tabandan kaldırmak için 100 µl tripsin eklendi ve ardından 5 dakika etüve yerleştirildi. Daha sonra kuyulara 1 ml besiyeri eklendi ve plaklardaki hücre karışımları ependorf tüplerine alınarak 300g'de 5 dakika santrifüj edildi. Hücre peletine 100µl PBS eklenerek yeniden süspanse edildi. Bu hücre süspanسیونunun üzerine 100µl Muse™ Anneksin V hücre reaktif solüsyonu eklendi ve 15 dk karanlıkta beklemeye bırakıldı. Anneksin V prosedürüne göre Muse™ Cell Analyser cihazında ölçümler yapıldı (Resim 3.3.). Muse analysis software ile hücre yüzdeleri analiz edildi.

3.3.4. PI3K/MAPK Analizi

PI3K/MAPK Dual sinyal yollarının analizi için Muse PI3K Activation Dual Detection Assay Kit (MCH2000104, Merck, Germany) kullanıldı. 6 kuyucuklu plakalara yaklaşık 15×10^4 hücre/kuyu ekildi ve deney gruplarında belirtildiği şekilde ve dozlarda

ilaç uygulamaları yapılarak, inkübasyon süresi 72 saate tamamlandı. Tüm grupların inkübasyondan sonra besiyeri ortamdan uzaklaştırılarak hücreleri tabandan kaldırmak için kuyucuklara 100 µl tripsin eklendi ve ardından 5 dakika 37 °C’ de bekletildi. Hücreler eppendorflara alınarak 300g’de 5 dakika santrifüj edildi. Daha sonra süpernantant atılarak pellet üzerine 50µl test tamponu ve 50µl fiksasyon tamponu eklendi. Eppendorflar 10 dk buz üzerinde inkübe edildi. Ardından 300g’de 5 dk santrifüj yapıldı. Süpernatant döküldü ve pellet üzerine 100 µl permabilizasyon solüsyonu eklendi. On dakika buz üzerinde inkübe edilip tekrar 300g de 5 dk santrifüj işlemi yapıldı. Oluşan süpernatant döküldü ve pellet üzerine 90 µl test tamponu ve 10 µl antikor kokteyl karışımı (5 µl anti-phospho-Akt Alexa Fluor 555 konjuge antikor ve 5µl Anti-Akt/PKB, PECy5 konjuge antikor) eklendi. Eppendorflar 30 dk karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletildi ve üzerine 100 µl daha test tamponu ilave edildi. Sonrasında tekrar 300g de 5 dk santrifüj yapıldı. Son olarak süpernatant döküldü ve pellet üzerine 200 µl test tamponu eklendi. ArdındaMuse™ Cell Analyzer cihazında ölçüm gerçekleştirildi (Resim 3.3.). Muse analysis software ile hücre yüzdeleri analiz edildi.



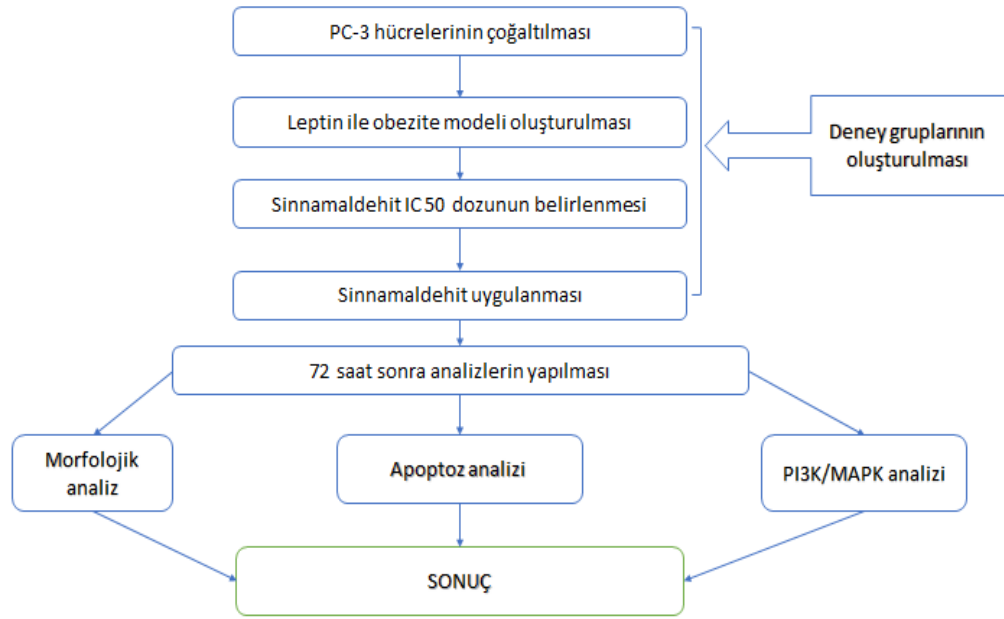
Resim 3.3. Muse™ Cell Analyzer

3.4. Veri Toplama Süreci

Çalışma, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı hücre kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın laboratuvar deneyleri 15 iş günü sürmüştür. Veriler, morfolojik analiz Anneksin-V apoptoz analizi ve PI3K/MAPK analizi ile toplanmış ve değerlendirilmiştir.

3.5. Deneysel Kurgu



Şekil 3.1. Çalışma planının şema ile gösterimi

3.6. İstatiksel Analiz

Bu çalışmada istatiksel analiz çalışması yapılmamıştır.

3.7. Etik Onay

Tez çalışmamız, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu'nun 25.06.2021 tarih ve 210124/143 sayılı kararı ile uygun bulunmuştur (Protokol no:210124, Karar no:143) (Ek 1).

3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları

Bu çalışmada in vitro ortamda PC-3 prostat kanseri hücreleri, leptine maruz bırakılarak obezite modeli oluşturulmuştur. Bu model üzerine sinamaldehit etkisi araştırılmıştır.

Bu çalışmanın sınırlılıkları;

- i) obezite modelinin farklı bir metotla karşılaştırılamamış olması
- ii) ileri analizlerin yapılamamış olmasıdır.



4. BULGULAR

4.1. WST analizi ile Sinnamaldehit IC₅₀ Bulguları

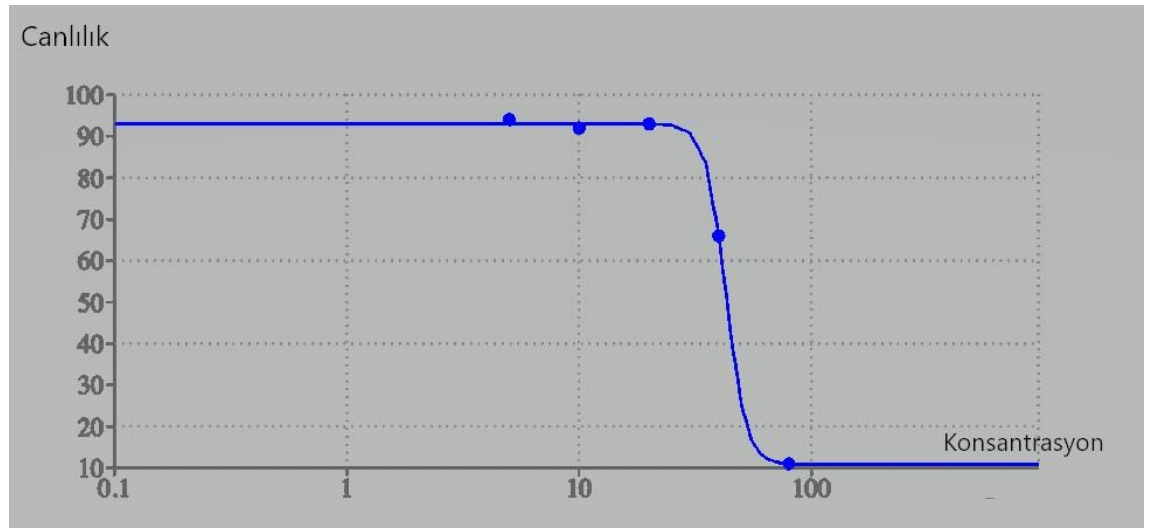
WST-1 testi ile sinnamaldehit sitotoksitesi absorbans sonuçları değerlendirilmiştir. PC3 hücrelerine 5, 10, 20, 40, 80 µg/µl sinnamaldehit uygulamasından 24 saat sonra WST-1 analizi yapıldı ve IC₅₀ dozu belirlendi (Şekil 4.1 ve 4.2).

K	100
5	94
10	92
20	93
40	66
80	11

$$Y = \text{Min} + \frac{\text{Max} - \text{Min}}{1 + \left(\frac{X}{\text{IC}_{50}} \right)^{\text{Hill coefficient}}}$$

$$Y = 10.8505 + \frac{93.012 - 10.8505}{1 + \left(\frac{X}{42.9201} \right)^{10.1302}}$$

Şekil 4.1. Sinnamaldehit artan dozlarının hücre canlılığı üzerine 24 saat sonundaki etkileri ve IC₅₀ dozu hesaplaması



Sinnamaldehyit IC₅₀ dozu 42 µg/µl olarak hesaplandı.

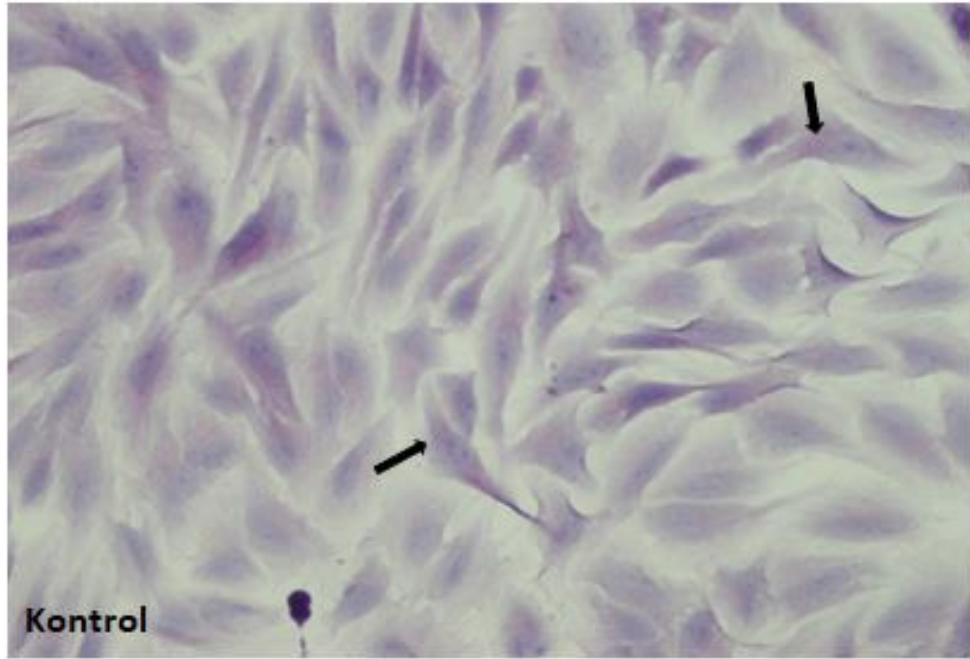
Şekil 4.2. Sinnamaldehit dozlarının canlılık konsantrasyon grafiği

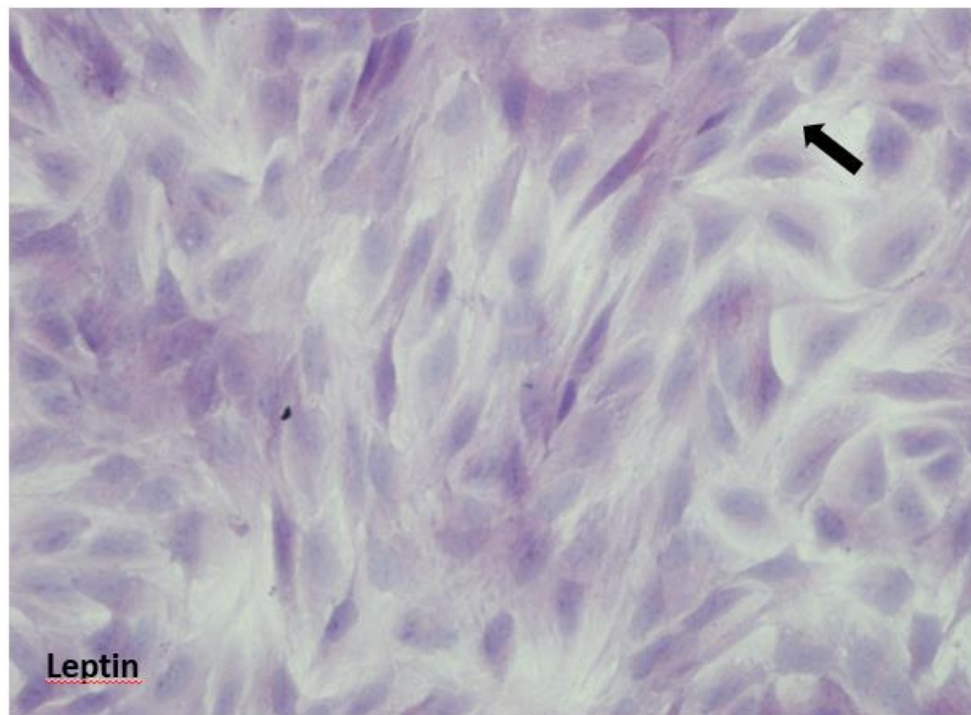
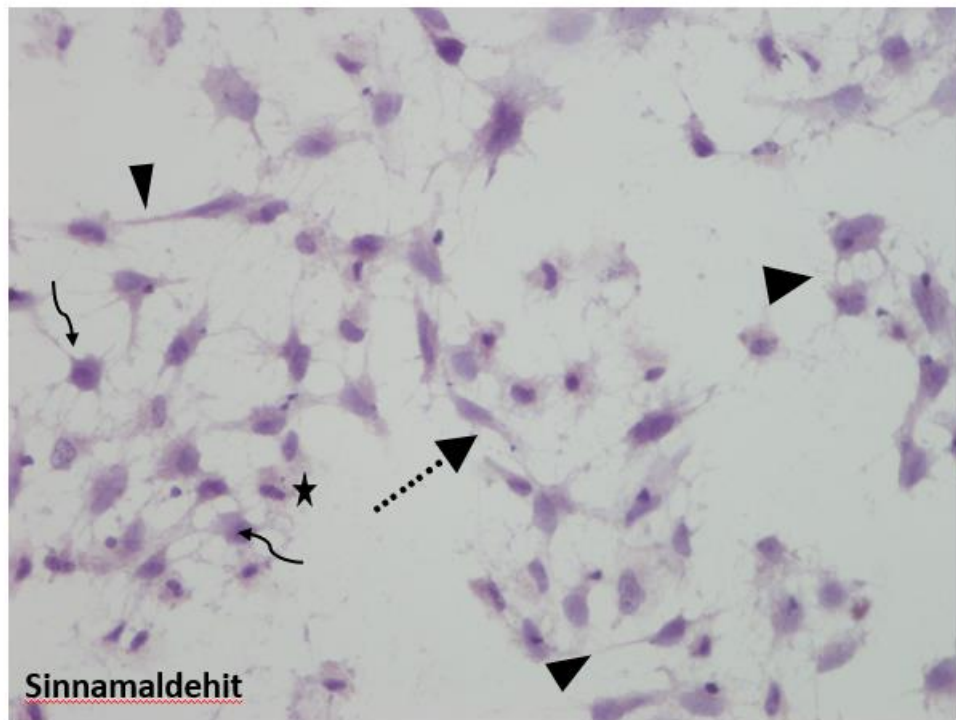
4.2. Morfolojik Analiz Bulguları

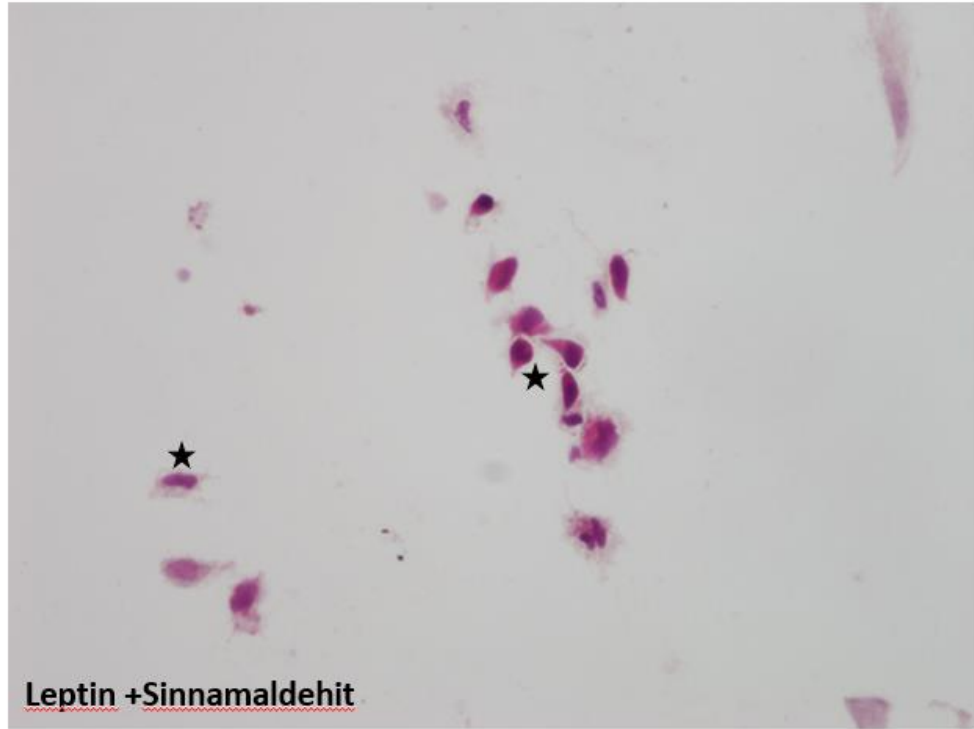
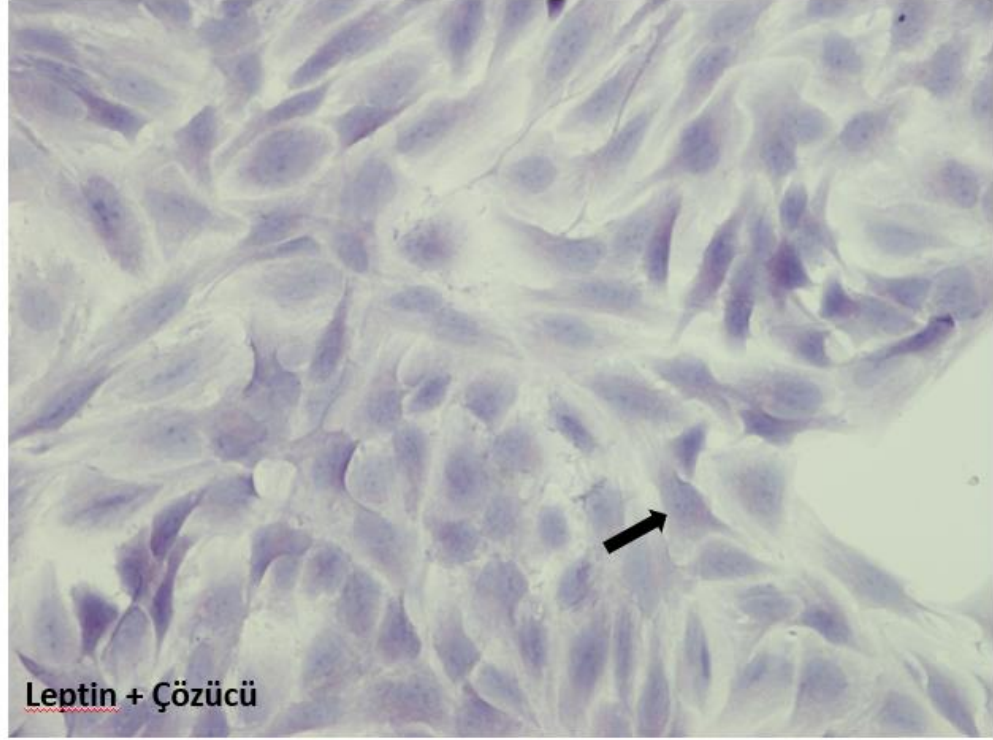
H-E ile yapılan boyama sonrasında mikrosKontrol, Leptin ve Leptin+Çözücü gruplarındaki PC-3 hücreleri epitelyal morfolojide, eşit boyutlarda ve büyük nükleuslu olarak izlendi (Şekil 4.2.).

Sinnamaldehit grubunda hücre morfolojileri yıldızsı ve iç şekillidir. Dentrit benzeri ince ve çok sayıda uzantı görülmektedir.

Sinnamaldehit ve Leptin+Sinnamaldehit gruplarında hücre sayısı belirgin şekilde az ve hücre nükleusları heterokromatik yapıdadır. Hücre ve nükleus boyutları azalmıştır. Yoğunlaşmış genetik materyale sahip ve piknoid nükleuslu apoptotik hücreler görülmektedir.





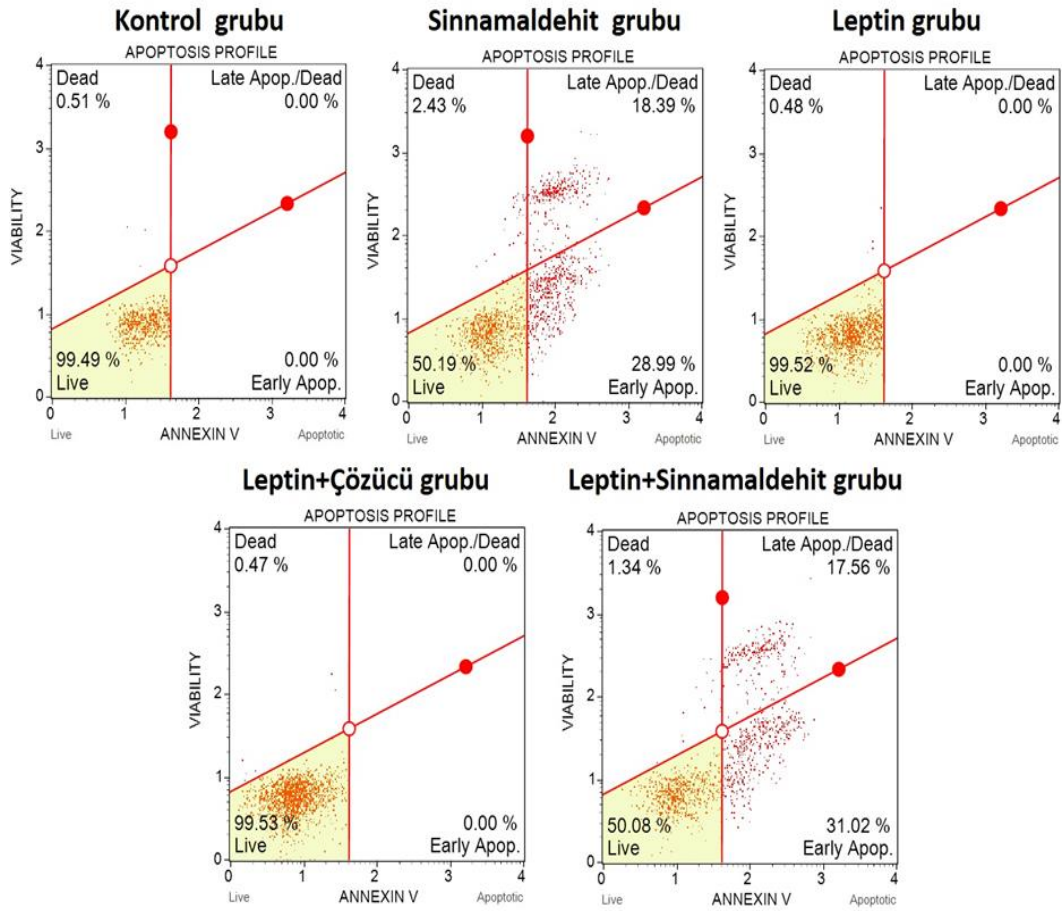


Siyah ok: epitelyal morfolojiye sahip hücreler, Eğri ok: yıldız şekilli hücre, Noktalı ok: iğ şekilli hücre, ok başı: dentrit benzeri kısa ve çok sayıda uzantı, yıldız: piknoid nukleuslu apoptotik hücreler.

Şekil 4.3. Çalışma gruplarına ait PC-3 hücrelerinin H-E boyama fotoğrafları. 20X

4.3. Anneksin V Apoptoz Analizi Bulguları

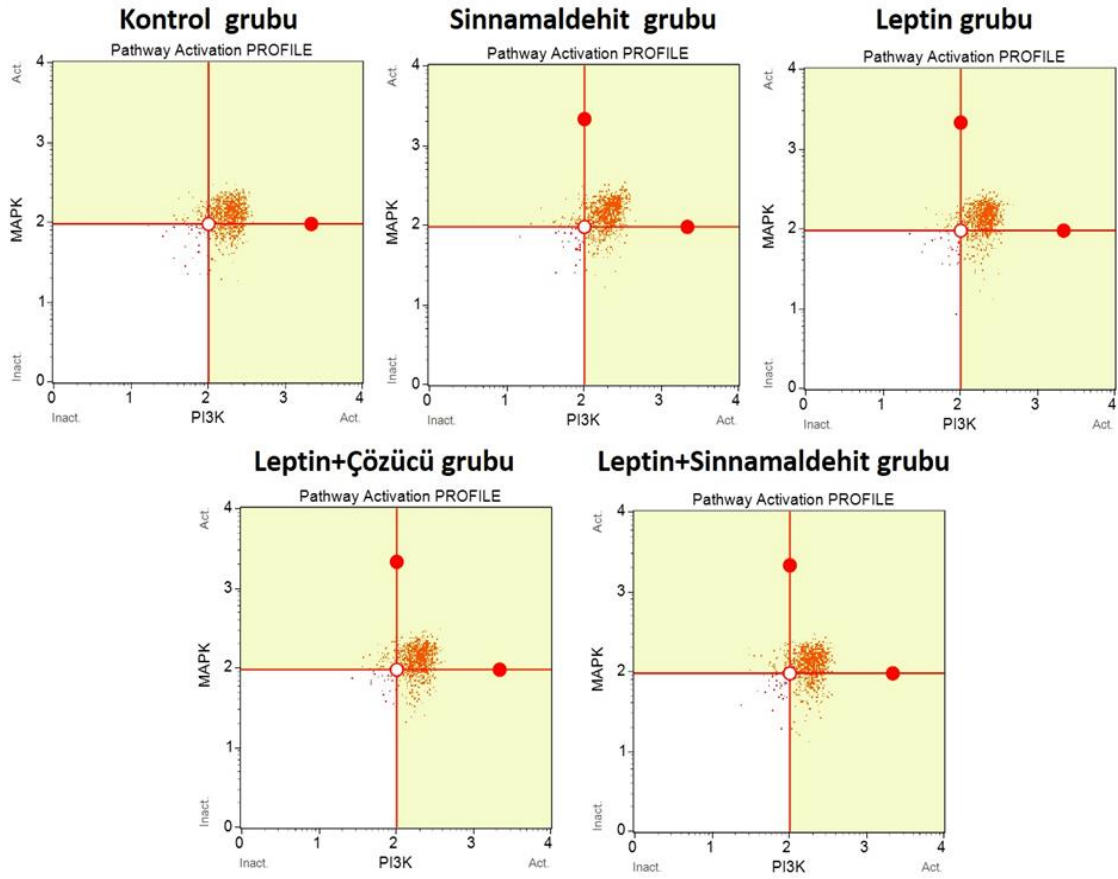
Çalışma gruplarında erken apoptotik, geç apoptotik ve ölü hücrelerin tespiti için uygulanan Anneksin-V apoptoz analizi bulguları Şekil 4.3’de sunulmaktadır. Kontrol, leptin ve leptin+Çözücü grubunda erken veya geç apoptoza rastlanmadı. Sinnamaldehitin ise apoptozu belirgin biçimde artırdığı gözlemlendi. Sinnamaldehit grubunda %50.19 canlı hücre, % 28.99 erken apoptoz, % 18.39 geç apoptoz ve % 2.43 ölü hücre saptandı. Leptin+Sinnamaldehit grubunda ise %50.08 canlı hücre, % 31.02 erken apoptoz, % 17.56 geç apoptoz ve % 1.34 ölü hücre gözlemlendi.



Şekil 4.4. Çalışma gruplarına ait PC-3 hücrelerinin Anneksin-V apoptoz analizleri

4.4. PI3K/MAPK Aktivasyon Analizi Bulguları

Çalışma gruplarında PC-3 hücrelerinin PI3K/MAPK aktivasyon analizi bulguları Şekil 4.4. ve Tablo 4.1.'de görülmektedir. MAPK aktivasyonu gösteren hücrelerin leptin grubunda (%3.50) kontrol grubuna (%4.90) göre azaldığı, sinnamaldehit (%4.50) ve leptin+sinnamaldehit grubunda (%4.50) değişmediği gözlemlendi. PI3K aktivasyonu gösteren hücrelerin Leptin (%15.40), sinnamaldehit(%15.50) gruplarında kontrol grubuna(%21.70) göre azaldığı, leptin+sinnamaldehit grubunda(%20.60) bu azalmanın sınırlı kaldığı izlendi. Dual analizde ise değerlerin leptin(%78) ve sinnamaldehit(%76.7) gruplarında kontrol grubuna(%69.70) göre artış gösterdiği, leptin+sinnamaldehit grubunda(%71.10) bu artışın sınırlı kaldığı gözlemlendi.



Şekil 4.4. Çalışma gruplarına ait PC-3 hücrelerinin PI3K/MAPK aktivasyon analizi

Tablo 4.1. PC-3 hücrelerinin PI3K/MAPK aktivasyon analizi.

	Kontrol grubu	Sinnemaldehit grubu	Leptin grubu	Leptin+ çözücü grubu	Leptin+ Sinnemaldehit grubu
Negatif Hücreler	3.70	3.30	3.10	2.69	3.80
MAPK aktivasyonu	4.90	4.50	3.50	4.59	4.50
Dualpathway aktivasyonu	69.70	76.70	78	74.35	71.10
PI3K aktivasyonu	21.70	15.50	15.40	18.36	20.60

Tabloda görülen de değerler hücre yüzdesi % olarak verilmiştir.

5. TARTIŞMA

Obezite çağımızın en önemli sorunlarından birisidir ve neden olduğu inflamasyon nedeniyle pekçok hastalığın etiyopatogenezinde rol oynamaktadır. Adipoz doku günümüzde aktif sekresyon yapan bir doku olarak kabul edilmekte ve sekresyonları aracılığı ile vücudun iştah kontrolü, enerji kullanımı, insülin duyarlılığı, kemik metabolizması vb fizyolojik ve patolojik olayları kontrol eden etkenlerden biri olarak görülmektedir (Fantuzzi, 2005). Kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet gibi kanser gelişiminin de obezite ile ilişkili olabileceğine dair çalışmalar vardır ve prostat kanserin de obezitenin rolü üzerinde durulmaktadır. Prostat kanserinin diyetle alınan yağ ve kalori miktarı ile ilişkili olduğu ve ayrıca yüksek grade prostat tümörlerinde obezitenin önemli olduğu üzerinde durulmaktadır (Cannarella vd, 2021; Mistry vd, 2007; Ribeiro vd, 2006).

Leptin, adipoz doku tarafından salgılanan bir proteindir ve öncelikle iştah ile enerji tüketimini düzenlemek için leptin reseptörünün (LEPR) bir ligandı olarak işlev görür (Hsiao ve Lin, 2021). Son araştırmalar, leptin reseptörlerinin prostat kanseri, over kanseri, meme kanseri, karaciğer kanseri, akciğer kanseri gibi birçok kanser türünde yüksek oranda eksprese edildiğini göstermektedir (Garofalo vd, 2006; Howard, 2010; Ishikawa vd, 2004). Obez insanların normal veya zayıf insanlara göre daha yüksek serum leptin seviyelerine sahip oldukları gösterilmiştir. İlerlemiş ve yüksek dereceli prostat kanserli hastalarda dolaşımdaki serum leptin düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (Al Refai, Kamel ve Nassir, 2020).

Araştırmamızda PC-3 prostat kanseri hücrelerine leptin vererek obez kişilerdeki yüksek leptin seviyelerini model olarak kullandık. Araştırmamızda kullandığımız PC-3 hücreleri androjen reseptörü içermez androjenden bağımsız olarak büyürler. Agresif özellik gösterirler. Obezite modeli oluşturmak amacıyla PC-3 hücrelerine 100 ng/ml leptin uygulaması yapıldı.

Bütün dünyada baharat ve çesni olarak kullanılan tarçının sağlık üzerinde yararlı etkileri olduğu kabul edilmektedir. İnsan sağlığı üzerinde anti-inflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan etkileri, antitümör ve antikanser etkileri gösterilmiştir

(Gruenwald vd, 2010). Tarçın yağının ana aktif bileşeni olan sinnamaldehit, farklı alanlarda kanıtlanan birçok biyolojik etkiye sahiptir. Örneğin sinnamaldehit, kanser hücrelerinin apoptozunu indükleyerek insan oral skuamöz hücreli karsinomun ilerlemesini inhibe etmektedir (Chang vd, 2017). Ek olarak sinnamaldehit, kanserli dokularda vasküler endotelial büyüme faktörü ve hipoksi ile indüklenebilir faktör- α seviyelerini azaltarak melanomun ilerlemesini azaltmakta ve böylece yeni kan damarlarının oluşumunu engellemektedir (Zhou vd, 2014).

Günümüzde kanser tedavisi için fitokimyasalların etkileri araştırılmaktadır. Kanser hücrelerini hedef alan akıllı ilaç tedavilerini geliştirmek için araştırmalar yapılmaktadır. Bu yaklaşımlar içinde kanser sinyal yollarının hedeflenmesi vardır. Biz de araştırmamızda PI3K/MAPK sinyal yolağını inceledik. PI3K (phosphatidylinositol 3-kinases) hücre siklusunun düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir hücre içi sinyal iletim yolağıdır ve farklı kanser tiplerinin gelişmesinde önemli olduğu gösterilmiştir. Bu yolak hücre canlılığı, farklılaşması, proliferasyonu, büyümesi, metabolizması, migrasyon ve angiogenesiste rol oynamaktadır. Apoptozun azalmasına ve proliferasyon artışına neden olur. PI3K inhibitörlerinin kanser tedavisi amacıyla kullanılması hedeflenmiş ve idealisib FDA onayı alan ilk PI3K inhibitörü olmuştur. MAPK (mitogen-activated protein kinases) yolağı hücre yüzeyinden çekirdeğe sinyal iletimi yapan ana yollardan birisidir. MAPK bazı transkripsiyon faktörlerinin aktive olmasına neden olur ve hücre siklusunu etkiler (Antonarakis ve Wozney, 2014).

Çalışmamızda leptin ile obezite modeli oluşturarak, bu model üzerine sinnamaldehit etkisini araştırdık. Sinnamaldehitin etki dozunu belirlemek için WST-1 analizini kullandık ve sinnamaldehit IC₅₀ dozunu 42 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ olarak hesapladık.

Hücrelerin morfolojisini incelediğimizde leptinin H-E ile boyanmış hücrelerde kontrol grubunda benzer hücre morfolojisi gösterdiğini gördük. Leptinin apoptoz üzerine bir etkisi de gözlenmedi. Leptin grubunda MAPK aktivasyonu ve PI3K aktivasyonu gösteren hücrelerin azaldığı, gözlendi. Dual analizde ise aktivasyon gösteren hücrelerin arttığı görüldü. Banks vd, 2000'ne göre leptin bağlanması, MAPK sinyal iletim zincirini uyarmaktadır. *In vitro* çalışmalar, PCa hücrelerinde leptinin mitojenik rolünü belgelemiştir (Miyazaki vd, 2008; Onuma vd, 2003; Somasundar vd, 2003). Literatür incelendiğinde leptinin, DU-145 ve PC-3 gibi hücre hatlarında proliferasyon, invazyon

ve metastaz ile ilgili bir dizi büyüme faktörünün ekspresyonunu arttırdığı görülmektedir (Frankenberry vd,2004). Garofalo vd, (2006) leptinin kanserli olmayan meme epiteli ile karşılaştırıldığında meme kanserinde önemli ölçüde eksprese edildiğini göstermiştir (Garofalo vd, 2006) Benzer bulgular çeşitli yayınlarla gösterilmiştir (Ishikawa vd, 2004; Revillion vd, 2006).

Çalışmamızda sinnamaldehitin PC-3 hücre morfolojisini değiştirdiği ve hücre sayısını azalttığı gözlemlendi. Kontrol grubunda büyük çekirdekli, büyük ve yuvarlak şekilli hücreler olarak izlenirken, sinnamaldehit grubunda hücre morfolojileri yıldızsı ve iğ şeklinde görüldü. Dentrit benzeri ince ve çok sayıda uzantı görüldü ki hücre morfolojisinin değişmesine ve ölüme gitmesine neden olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca piknoid çekirdekli apoptotik hücreler görüldü.

Sinnamaldehyt uygulamasının apoptozu artırdığı gözlemlendi. Anneksin V ile kontrol grubunda %99.49 bulunan canlılık oranının, sinnamaldehit grubunda %50.19'a düştüğü gözlemlendi. Leptin + sinnamaldehit grubunda da bu oran %50.08 olarak tespit edildi. Sinnamaldehyt kanser hücrelerinde apoptoza neden olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Yufei vd, (2020), Li vd, (2020) sinnamaldehidin meme kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini, sitoplazmik morfolojiyi değiştirdiğini, MDA-MB-231 hücrelerinin apoptozunu desteklediğini ve MDA-231 hücrelerinde apoptotik etkilerini göstermiştir (Li vd, 2020; Yufei vd, 2020) Bizim çalışmamızda bu çalışmalarla uyumlu sonuçlar vermiştir. Bozic vd, (2006), 2009'ne göre sinnamaldehit, seks hormonu biyosentezinin son aşamasında yer alan 17-beta-hidroksisteroid dehidrojenaz tip 5'i inhibe ederek androjen ve östrojen sentezini inhibe etmekte ve sinnamik asitler umut verici kanser terapileri olabileceği üzerinde durmuşlardır (Bozic vd, 2006).

MAPK aktivasyonu gösteren hücrelerin yüzdesi sinnamaldehit grubunda (4.5) kontrol grubuna (4.9) göre hafif bir azalma gösterdi. PI3K aktivasyonu gösteren hücrelerin yüzdesi sinnamaldehit grubunda (15.50) kontrol grubuna (21.7) göre belirgin azalmış bulundu. Sinnamaldehyt PI3K aktivitesi gösteren hücrelerin yüzdesinde azalmaya neden olması çalışmamız açısından önemli bir bulgudur. Çünkü PI3K inhibitörleri kanser tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Wang vd, (2022), over kanseri progresyonunu PI3K/AKT yolu üzerinden baskıladığını raporlamıştır (Wang vd, 2022).

Hueng vd, (2020), sinnamaldehitin osteosarkomu Wnt/ β -Catenin ve PI3K/Akt sinyal yolları üzerinden baskıladığını bildirmiştir. Biz de çalışmamızda benzer bulguyu PC-3 hücrelerinde gözledik. Çalışmamız bu çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (Hueng vd, 2020).

Çalışmamızda leptin + sinnamaldehit grubunda, PC-3 hücre morfolojisi sinnamaldehit grubuna benzer şekilde izlendi. Hücre sayısını azaldığı hem hücre hem de çekirdek boyutlarının küçüldüğü gözlemlendi. Sinnamaldehit grubuna benzer şekilde piknoid çekirdekli apoptotik hücreler görüldü. Sadece sinnamaldehit uygulanmış grupla leptin + sinnamaldehit grubunda benzer değişiklikler gözlemlendi. Leptin + sinnamaldehit grubunda (canlı hücre %50,08) Anneksin V ile kontrol grubuna (canlı hücre %99,49) göre belirgin apoptoz gözlemlendi. Leptin + sinnamaldehit grubunda MAPK ve PI3K aktivasyonunun kontrol grubunda göre değişmediği, dual yolak aktivasyonunda kontrol grubu ile farklılık göstermediği gözlemlendi.

Çalışmamız PC-3 hücrelerinde sinnamaldehitin leptin ile birlikte uygulanmış olması nedeniyle özgün bir çalışma olarak planlanmıştı. Hücre morfolojileri açısından ve apoptoz açısından değerlendirdiğimizde leptin tek başına hücre morfolojisini değiştirmediyi ve apoptoza neden olmadığını gözledik. Sinnamaldehit belirgin apoptoz oluşturdu ve sinnamaldehitin etkisi leptine bağlı olarak değişmedi.

PI3K ve MAPK kinaz yolları üzerinde leptin ve sinnamaldehit ayrı ayrı baskılayıcı etki göstermekle birlikte, beraber verildiklerinde leptinin sinnamaldehitin etkisini engellediğini gözledik.

Çalışmamızda sinnamaldehitin androjen reseptörü içermeyen agresif karakter gösteren PC-3 prostat kanseri hücrelerinde apoptozu indüklediği ve özellikle PI3K sinyal yolağı inhibisyonu yaptığı sonucuna vardık. Leptin ile obezite modeli oluşturulmuş hücrelerde apoptotik etkiyi aynı şekilde gösterdiği ancak PI3K sinyal yolağı inhibisyonu üzerindeki etkisini ise kaybettiğini gözledik. Çalışmamızın verileri incelendiğinde farklı leptin doz ve süreleri ile ve ayrıca, proinflatuvar ve antiinflatuvar mediatörlerin de araştırılacağı yeni araştırmalar planlanmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Çalışmamızda leptin ile obezite modeli oluşturarak, bu model üzerine sinnamaldehit etkisini araştırdık.

Leptinin H-E ile boyanmış hücrelerde hücre morfolojisinde bir farklılık oluşturmadi. Leptinin apoptoz üzerine bir etkisi de gözlenmedi. Leptin grubunda MAPK aktivasyonu ve PI3K aktivasyonu gösteren hücrelerin azaldığı, gözlendi. Dual analizde ise aktivasyon gösteren hücrelerin arttığı görüldü.

Çalışmamızda sinnamaldehitin PC-3 hücre morfolojisini değiştirdiği ve hücre sayısını azalttığı gözlendi. Kontrol grubunda büyük çekirdekli, büyük ve yuvarlak şekilli hücreler olarak izlenirken, sinnamaldehit grubunda hücre morfolojileri yıldızsı ve iğ şeklinde görüldü. Dentrit benzeri ince ve çok sayıda uzantı görüldü ki hücre morfolojisinin değişmesine ve ölüme gitmesine neden olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca piknoid çekirdekli apoptotik hücreler görüldü.

Sinnamaldehit uygulamasının apoptozu artırdığı gözlendi. Anneksin V ile kontrol grubunda %99.49 bulunan canlılık oranının, sinnamaldehit grubunda %50.19'a düştüğü gözlendi. Leptin + sinnamaldehit grubunda da bu oran %50.08 olarak tespit edildi.

Sinnamaldehit MAPK aktivasyonu gösteren hücrelerin yüzdesinde hafif bir azalma gösterdi. PI3K aktivasyonu gösteren hücrelerin yüzdesi ise sinnamaldehit grubunda belirgin olarak azalmış bulundu. Sinnamaldehitin PI3K aktivitesi gösteren hücrelerin yüzdesinde azalmaya neden olması çalışmamız açısından önemli bir bulgudur. Çünkü PI3K inhibitörleri kanser tedavisi amacıyla kullanılmaktadır.

Leptin+sinnamaldehit grubunda, PC-3 hücre morfolojisi sadece sinnamaldehit uygulanmış gruba benzer değişiklikler gösterdi. Leptin + sinnamaldehit grubunda Anneksin V ile belirgin apoptoz gözlendi. Leptin + sinnamaldehit grubunda MAPK ve

PI3K aktivasyonun kontrol grubunda göre değişmediği, dual yolak aktivasyonunda kontrol grubu ile farklılık göstermediği gözlemlendi.

Çalışmamızda sinnamaldehitin androjen reseptörü içermeyen agresif karakter gösteren PC-3 prostat kanseri hücrelerinde apoptozu indüklediği ve özellikle PI3K sinyal yolağı inhibisyonu yaptığı sonucuna vardık. Leptin ile obezite modeli oluşturulmuş hücrelerde apoptotik etkiyi aynı şekilde gösterdiği ancak PI3K sinyal yolağı inhibisyonu üzerindeki etkisini ise kaybettiğini gözledik.

6.2. Öneriler

Çalışmamızın verileri incelendiğinde farklı leptin doz ve süreleri ile ve ayrıca, proinflatuvar ve antiinflatuvar mediatörlerin de araştırılacağı yeni araştırmalar planlanabilir.

KAYNAKLAR

- Adam Felman (2020, 13 Mayıs). Medical News Today. <https://www.medicalnewstoday.com/articles/248423>
- Abbasalipourkabir R (2022). Anticancer Effects of Cinnamaldehyde Through Inhibition of ErbB2/HSF1/LDHA Pathway in 5637 Cell Line of Bladder Cancer. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, 22(6), 1139–1148. DOI. 10.2174/1871520621666210726142814
- Arthur F. Dalley, Anne M.R. Agur (2023). Moor's clinical oriented anatomy (Ninth Edion). Philadelphia PA. Wolters Kluwer.s. 1476-1479.
- Banks AS, Davis SM, Bates SH ve Myers MG, Jr (2000). Activation of downstream signals by the long form of the leptin receptor. *The Journal of biological chemistry*, 275(19), 14563–14572. DOI. 10.1074/jbc.275.19.14563
- Banks WA, DiPalma CR ve Farrell CL (1999). Impaired transport of leptin across the blood-brain barrier in obesity. *Peptides*, 20(11), 1341–1345. DOI. 10.1016/s0196-9781(99)00139-4
- Barfeld SJ, East P, Zuber V ve Mills IG (2014). Meta-analysis of prostate cancer gene expression data identifies a novel discriminatory signature enriched for glycosylating enzymes. *BMC medical genomics*, 7, 513. DOI. 10.1186/s12920-014-0074-9
- Begley CG ve Ellis LM (2012). Drug development: Raise standards for preclinical cancer research. *Nature*, 483(7391), 531–533. DOI. 10.1038/483531a
- Benafif S ve Eeles R (2016). Genetic predisposition to prostate cancer. *British medical bulletin*, 120(1), 75–89. DOI. 10.1093/bmb/ldw039
- Błaszczak N, Rosiak A, Kałużna-Czaplińska J (2021). The Potential Role of Cinnamon in Human Health. *Forests*. 2021; 12(5):648. DOI. 10.3390/f12050648
- Boyle P, Maisonneuve P ve Napalkov P (1996). Incidence of prostate cancer will double by the year 2030: the argument for. *European urology*, 29 Suppl 2, 3–9. DOI. 10.1159/000473828
- Brozic P, Golob B, Gomboc N, Rizner TL ve Gobec S (2006). Cinnamic acids as new inhibitors of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 5 (AKR1C3). *Molecular and cellular endocrinology*, 248(1-2), 233–235. DOI. 10.1016/j.mce.2005.10.020

- Bruner DW, Moore D, Parlanti A, Dorgan J ve Engstrom P (2003). Relative risk of prostate cancer for men with affected relatives: systematic review and meta-analysis. *International journal of cancer*, 107(5), 797–803. DOI. 10.1002/ijc.11466.
- Burdock GA (2009). Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients (6th ed.). CRC Press. DOI. 10.1201/9781439847503.
- Byers T ve Sedjo RL (2015). Body fatness as a cause of cancer: epidemiologic clues to biologic mechanisms. *Endocrine-related cancer*, 22(3), R125–R134. DOI.10.1530/ERC-14-0580
- Cabello CM, Bair WB, Lamore SD, Ley S, Bause AS, Azimian S ve Wondrak GT (2009). The cinnamon-derived Michael acceptor cinnamic aldehyde impairs melanoma cell proliferation, invasiveness, and tumor growth. *Free radical biology & medicine*, 46 2, 220-31.
- Calle EE ve Kaaks R (2004). Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nature reviews. Cancer*, 4(8), 579–591. DOI. 10.1038/nrc1408
- Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K ve Thun MJ (2003). Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *The New England journal of medicine*, 348(17), 1625–1638. DOI. 10.1056/NEJMoa021423
- Cannarella R, Condorelli RA, Barbagallo F, La Vignera S ve Calogero AE (2021). Endocrinology of the Aging Prostate: Current Concepts. *Frontiers in endocrinology*, 12, 554078. DOI. 10.3389/fendo.2021.554078
- Catsburg C, Joshi AD, Corral R, Lewinger JP, Koo J, John EM, Ingles SA ve Stern MC (2012). Polymorphisms in carcinogen metabolism enzymes, fish intake, and risk of prostate cancer. *Carcinogenesis*, 33(7), 1352–1359. DOI. 10.1093/carcin/bgs175
- Chang WL, Cheng FC, Wang SP, Chou ST ve Shih Y (2017). Cinnamomum cassia essential oil and its major constituent cinnamaldehyde induced cell cycle arrest and apoptosis in human oral squamous cell carcinoma HSC-3 cells. *Environmental toxicology*, 32(2), 456–468. DOI.10.1002/tox.22250
- Charchour R, Dufour-Rainfray D, Morineau G, Vatieer C, Fellahi S, Vigouroux C, Genoux A, Capeau J, Lacorte JM, Collet C, Cuerq C, Bastard JP ve groupe de travail RIHN Adipokines (2020). Rôles biologiques à multiples facettes de la leptine [Multifaceted biological roles of leptin]. *Annales de biologie clinique*, 78(3), 231–242. DOI.10.1684/abc.2020.1560
- Chen C, Chang YC, Liu CL, Liu TP, Chang KJ ve Guo IC (2007). Leptin induces proliferation and anti-apoptosis in human hepatocarcinoma cells by up-regulating cyclin D1 and down-regulating Bax via a Janus kinase 2-linked pathway. *Endocrine-related cancer*, 14(2), 513–529. DOI. 10.1677/ERC-06-0027

- Chen N ve Zhou Q (2016). The evolving Gleason grading system. *Chinese journal of cancer research = Chung-kuo yen cheng yen chiu*, 28(1), 58–64. DOI.10.3978/j.issn.1000-9604.2016.02.04
- Chiang YF, Chen HY, Huang KC, Lin PH ve Hsia SM (2019). Dietary Antioxidant Trans-Cinnamaldehyde Reduced Visfatin-Induced Breast Cancer Progression: In Vivo and In Vitro Study. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(12), 625. DOI. 10.3390/antiox8120625
- Cioffi JA, Shafer AW, Zupancic TJ, Smith-Gbur J, Mikhail A, Platika D ve Snodgrass HR (1996). Novel B219/OB receptor isoforms: possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. *Nature medicine*, 2(5), 585–589. DOI.10.1038/nm0596-585
- Deveci E, Tel Çayan G, Duru ME. In vitro Antidiabetic Activity of Seven Medicinal Plants Naturally Growing in Turkey. *European Journal of Biology*. 2020;79(1):23-28. DOI.10.26650/EurJBiol.2020.0011
- Dutta A ve Chakraborty A (2018). Cinnamon in Anticancer Armamentarium: A Molecular Approach. *Journal of toxicology*, 2018, 8978731. DOI.o10.1155/2018/8978731
- Epstein JI, Amin MB, Reuter VE ve Humphrey PA (2017). Contemporary Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: An Update With Discussion on Practical Issues to Implement the 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *The American journal of surgical pathology*, 41(4), e1–e7. DOI.10.1097/PAS.0000000000000820
- Evans JC, Malhotra M, Cryan JF ve O'Driscoll CM (2016). The therapeutic and diagnostic potential of the prostate specific membrane antigen/glutamate carboxypeptidase II (PSMA/GCPII) in cancer and neurological disease. *British journal of pharmacology*, 173(21), 3041–3079. DOI.10.1111/bph.13576
- Eşrefoğlu M (2016). Özel Histoloji. İkinci Baskı. Ankara: İstanbul Tıp Kitabevi. s. 350-351.
- Fadl F, Abdalla S, Ishaq A ve Umar Y (2022). DFT Study of the Molecular Structure, Conformational Preference, Spectroscopic and Vibrational Analysis of Cinnamic Acid and Cinnamaldehyde. *Journal of the Mexican Chemical Society*. DOI. 10.29356/jmcs. V 66i4.1757
- Fantuzzi G (2005). Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 115(5), 911–920. DOI.10.1016/j.jaci.2005.02.023
- Farooqi IS ve O'Rahilly S (2009). Leptin: a pivotal regulator of human energy homeostasis. *The American journal of clinical nutrition*, 89(3), 980S–984S. DOI. 10.3945/ajcn.2008.26788C

- Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A ve Bray F (2021). Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International journal of cancer*, 10.1002/ijc.33588. Advance online publication. DOI.10.1002/ijc.33588.
- Frankenberry KA, Somasundar P, McFadden DW ve Vona-Davis LC (2004). Leptin induces cell migration and the expression of growth factors in human prostate cancer cells. *American journal of surgery*, 188(5), 560–565. DOI.10.1016/j.amjsurg.2004.07.031
- Freedland SJ, Mavropoulos J, Wang A, Darshan M, Demark-Wahnefried W, Aronson WJ, Cohen P, Hwang D, Peterson B, Fields T, Pizzo SV ve Isaacs WB (2008). Carbohydrate restriction, prostate cancer growth, and the insulin-like growth factor axis. *The Prostate*, 68(1), 11–19. DOI.10.1002/pros.20683
- Fujita K, Hayashi T, Matsushita M, Uemura M ve Nonomura N (2019). Obesity, Inflammation, and Prostate Cancer. *Journal of clinical medicine*, 8(2), 201. DOI.10.3390/jcm8020201.
- Gann PH (2002). Risk factors for prostate cancer. *Reviews in urology*, 4 Suppl 5(Suppl 5), S3–S10.
- García-Castaño A, Madariaga L, Pérez de Nanclares G, Ariceta G, Gaztambide S ve Castaño L (2019). Novel mutations associated with inherited human calcium-sensing receptor disorders: A clinical genetic study. *European journal of endocrinology*, 180(1), 59–70. DOI.10.1530/EJE-18-0129
- Garofalo C, Koda M, Cascio S, Sulkowski, M, Kanczuga-Koda L, Golaszewska J, Russo A, Sulkowski S ve Surmacz E (2006). Increased expression of leptin and the leptin receptor as a marker of breast cancer progression: possible role of obesity-related stimuli. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 12(5), 1447–1453. DOI.10.1158/1078-0432.CCR-05-1913
- Gleason DF ve Mellinger GT (1974). Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *The Journal of urology*, 111(1), 58–64. DOI.10.1016/s0022-5347(17)59889-4
- Gürsel Ak G (2019). Systema Genitale Masculinum (Erkek Üreme Sistemi), Üreme Sistemi (Systema Genitalia): Samsun, OMÜ SHMYO ANATOMİ. <https://docplayer.biz.tr/205548018-Omu-shmyo-ureme-sistemi-anatomi-systema-genitalia-ogr-gor-dr-gursel-ak-guven.html>
- Haluçi Sen A, Çetinavcı D, Yiğittürk G, Yazıcı A, Elbe H, Öztürk F (2023). Phenformin Inhibits the Proliferation of MCF-7 and MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cell Lines. *Med Records*. 2023; 5(1): 103-6. DOI.10.37990/medr.1137136

- Havel PJ (2000). Role of adipose tissue in body-weight regulation: mechanisms regulating leptin production and energy balance. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 59(3), 359–371. DOI.10.1017/s0029665100000410
- Hayes RB, Potters LM, Strickler H, Rabkin C, Pope V, Swanson GM, Greenberg RS, Schoenberg JB, Liff J, Schwartz AG, Hoover RN ve Fraumeni JF, Jr (2000). Sexual behaviour, STDs and risks for prostate cancer. *British journal of cancer*, 82(3), 718–725. DOI.10.1054/bjoc.1999.0986
- Hong SH, Ismail IA, Kang SM, Han DC ve Kwon BM (2016). Cinnamaldehydes in Cancer Chemotherapy. *Phytotherapy research: PTR*, 30(5), 754–767. DOI.10.1002/ptr.5592
- Hoon Kim J, Lee SY, Myung SC, Kim YS, Kim TH ve Kim MK (2008). Clinical significance of the leptin and leptin receptor expressions in prostate tissues. *Asian journal of andrology*, 10(6), 923–928. DOI.10.1111/j.1745-7262.2008.00438.x
- Hoskins JA (1984). The occurrence, metabolism and toxicity of cinnamic acid and related compounds. *Journal of applied toxicology: JAT*, 4(6), 283–292. DOI.10.1002/jat.2550040602
- Howard JM, Pidgeon GP ve Reynolds JV (2010). Leptin and gastro-intestinal malignancies. *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 11(12), 863–874. DOI.10.1111/j.1467-789X.2010.00718.x
- Huang Y, Chen J, Yang S, Tan T, Wang N, Wang Y, Zhang L, Yang C, Huang H, Luo J ve Luo X (2020). Cinnamaldehyde Inhibits the Function of Osteosarcoma by Suppressing the Wnt/ β -Catenin and PI3K/Akt Signaling Pathways. *Drug design, development and therapy*, 14, 4625–4637. DOI.10.2147/DDDT.S277160
- Ishikawa M, Kitayama J ve Nagawa H (2004). Enhanced expression of leptin and leptin receptor (OB-R) in human breast cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 10(13), 4325–4331. DOI.10.1158/1078-0432.CCR-03-0749
- Izquierdo AG, Crujeiras AB, Casanueva FF ve Carreira MC (2019). Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later?. *Nutrients*, 11(11), 2704. DOI.10.3390/nu11112704
- Jha GG, Anand V, Soubra A ve Konety BR (2014). Challenges of managing elderly men with prostate cancer. *Nature reviews. Clinical oncology*, 11(6), 354–364. DOI.10.1038/nrclinonc.2014.71
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (2000: Geneva, Switzerland), World Health Organization ve Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2001). Evaluation of certain food additives and contaminants: fifty-fifth report of the Joint

FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42388>

- Kamel HFM, Nassir AM ve Al Refai AA (2020). Assessment of expression levels of leptin and leptin receptor as potential biomarkers for risk of prostate cancer development and aggressiveness. *Cancer medicine*, 9(15), 5687–5696. DOI.10.1002/cam4.3082
- Kumay V, Abbas Abul, Aster J (2014). Robins Temel Patoloji. (Dokuzuncu baskidan çeviri). Sitki Tuzlali, Mine Güllüoğlu, Uğur Çevikbaş (Çeviri Editörü). İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri.Philadelphia PA: Elsevier. s 663-665.
- Kuruş M (ed.) (2020). Histoloji: Hücre, Doku, Sistemler, Teknikler-Moleküller-Laboratuvar-Klinik Yönleriyle Yaklaşımlar. Ankara: Akademisyen Kitabevi A.Ş. s. 35-37
- Lamb CJ ve Rubery PH (1975). A spectrophotometric assay for trans-cinnamic acid 4-hydroxylase activity. *Analytical biochemistry*, 68(2), 554–561.DOİ.10.1016/0003-2697(75)90651-x
- Lidia S, Anders A, Barnard JJ, Bieniosek FM, Dorf MA, Faltens A, Friedman A, Gilson EP, Greenway WG, Grote DP, Jung J, Katayanagi T, Logan BG, Lee CW, Leitner M, Ni P, Pekedis A, Regis M, Roy PK, Seidl PA ve Waldron WL (2009). Heavy ion fusion science virtual national laboratory 3rd quarter 2009 milestone report: Upgrade Plasma Source Configuration And Carry Out Initial Experiments. Characterize Improvements In Focal Spot Beam Intensity. Lawrence Berkeley National Laboratory.
- Yan-qun Li, De-xin Kong, Hong Wu, Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC–MS and FTIR spectroscopy, *Industrial Crops and Products*, Volume 41, 2013, Pages 269-278, ISSN 0926-6690, DOI.10.1016/j.indcrop.2012.04.056
- Li Q, Zhang Q, Wang M, Zhao S, Ma J, Luo N, Li N, Li Y, Xu G ve Li J (2008). Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha disrupt epithelial barrier function by altering lipid composition in membrane microdomains of tight junction. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 126(1), 67–80. DOI. 10.1016/j.clim.2007.08.017
- Lin PH, Aronson W ve Freedland SJ (2015). Nutrition, dietary interventions and prostate cancer: the latest evidence. *BMC medicine*, 13, 3. DOI. 10.1186/s12916-014-0234-y.
- Lin TC ve Hsiao M (2021). Leptin and Cancer: Updated Functional Roles in Carcinogenesis, Therapeutic Niches, and Developments. *International journal of molecular sciences*, 22(6), 2870. DOI. 10.3390/ijms22062870
- Liu Y, An T, Wan D, Yu B, Fan Y ve Pei X (2020). Targets and Mechanism Used by Cinnamaldehyde, the Main Active Ingredient in Cinnamon, in the Treatment of Breast Cancer. *Frontiers in pharmacology*, 11, 582719. DOI. 10.3389/fphar.2020.582719

- Yan-qun Li, De-xin Kong, Hong Wu, Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC–MS and FTIR spectroscopy, *Industrial Crops and Products*, Volume 41, 2013, Pages 269-278, ISSN 0926-6690, DOI.10.1016/j.indcrop.2012.04.056.
- McNeal JE, Bostwick DG, Kindrachuk RA, Redwine EA, Freiha FS ve Stamey TA (1986). Patterns of progression in prostate cancer. *Lancet (London, England)*, 1(8472), 60–63. DOI. 10.1016/s0140-6736(86)90715-4
- Mehnert A, Lehmann C, Graefen M, Huland H ve Koch U (2010). Depression, anxiety, post-traumatic stress disorder and health-related quality of life and its association with social support in ambulatory prostate cancer patients. *European journal of cancer care*, 19(6), 736–745. DOI. 10.1111/j.1365-2354.2009.01117.x
- Mirko Šamiija and associates. (2009). Prostate cancer, the most variable malignancy. University Hospital Centre Zagreb. Croatia. Erişim Adresi: http://www.pentapco.com/CEOC2016/BOOK_OF_ABSTRACTS.pdf
- Mistry TD ve Randeva HS (2007). Obesity and prostate cancer: a role for adipokines. *European urology*, 52(1), 46–53. DOI.10.1016/j.eururo.2007.03.054.
- Miyazaki T, Bub JD ve Iwamoto Y (2008). c-Jun NH(2)-terminal kinase mediates leptin-stimulated androgen-independent prostate cancer cell proliferation via signal transducer and activator of transcription 3 and Akt. *Biochimica et biophysica acta*, 1782(10), 593–604. DOI. 10.1016/j.bbadis.2008.07.005
- Montironi R, Santoni M, Mazzucchelli R, Burattini L, Berardi R, Galosi AB, Cheng L, Lopez-Beltran A, Briganti A, Montorsi F ve Scarpelli M (2016). Prostate cancer: from Gleason scoring to prognostic grade grouping. *Expert review of anticancer therapy*, 16(4), 433–440. DOI. 10.1586/14737140.2016.1160780
- Mullen M ve Gonzalez-Perez RR (2016). Leptin-Induced JAK/STAT Signaling and Cancer Growth. *Vaccines*, 4(3), 26. DOI. 10.3390/vaccines4030026
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 637511, Cinnamaldehyde. Erişim adresi: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cinnamaldehyde>. Erişim Tarihi: June 5, 2023.
- Ng LT ve Wu SJ (2011). Antiproliferative Activity of Cinnamomum cassia Constituents and Effects of Pifithrin-Alpha on Their Apoptotic Signaling Pathways in Hep G2 Cells. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2011, 492148. DOI. 10.1093/ecam/nep220
- Noda T, Kikugawa T, Tanji N, Miura N, Asai S, Higashiyama S ve Yokoyama M (2015). Long-term exposure to leptin enhances the growth of prostate cancer cells. *International journal of oncology*, 46(4), 1535–1542. DOI. 10.3892/ijo.2015.2845

- Onuma M, Bub JD, Rummel TL ve Iwamoto Y (2003). Prostate cancer cell-adipocyte interaction: leptin mediates androgen-independent prostate cancer cell proliferation through c-Jun NH2-terminal kinase. *The Journal of biological chemistry*, 278(43), 42660–42667. DOI. 10.1074/jbc.M304984200
- Odar İV (1979). Anatomi: İç organlar, Hazım, Solunum, Ürogenital, Sirkülasyon Sistemleri ve İç Salgı Bezleri, İkinci Baskı. Ankara: İstanbul Tıp Kitabevi.s.321-323
- Pan CC, Potter SR, Partin AW ve Epstein JI (2000). The prognostic significance of tertiary Gleason patterns of higher grade in radical prostatectomy specimens: a proposal to modify the Gleason grading system. *The American journal of surgical pathology*, 24(4), 563–569. DOI. 10.1097/00000478-200004000-00011.
- PDQ Screening and Prevention Editorial Board. Prostate Cancer Prevention (PDQ®): Patient Version. 2022 May 6. In: PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002-. Erişim Adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65819/>
- Perdana NR, Mochtar CA, Umbas R ve Hamid AR (2016). The Risk Factors of Prostate Cancer and Its Prevention: A Literature Review. *Acta medica Indonesiana*, 48(3), 228–238.
- Pettersson A, Kasperzyk JL, Kenfield SA, Richman EL, Chan JM, Willett WC, Stampfer MJ, Mucci LA ve Giovannucci EL (2012). Milk and dairy consumption among men with prostate cancer and risk of metastases and prostate cancer death. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 21(3), 428–436. DOI. 10.1158/1055-9965.EPI-11-1004.
- Pham DV ve Park PH (2020). Recent insights on modulation of inflammasomes by adipokines: a critical event for the pathogenesis of obesity and metabolism-associated diseases. *Archives of pharmacal research*, 43(10), 997–1016. DOI. 10.1007/s12272-020-01274-7
- Pierorazio PM, Walsh PC, Partin AW ve Epstein JI (2013). Prognostic Gleason grade grouping: data based on the modified Gleason scoring system. *BJU international*, 111(5), 753–760. DOI. 10.1111/j.1464-410X.2012.11611.x.
- Popov AM, Artyukov AA, Krivoshapko ON, Shtoda YP, Glazunov VP, Kozlovskaya EP ve Rutsikova TA (2012). Полифункциональные Фармакологические Свойства Пептидов Коллагена Из Морских Иглокожих.
- Rawla P (2019). Epidemiology of Prostate Cancer. *World journal of oncology*, 10(2), 63–89. DOI. 10.14740/wjon1191.

- Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF ve Zwahlen M (2008). Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet (London, England)*, 371(9612), 569–578. DOI. 10.1016/S0140-6736(08)60269-X
- Révillion F, Charlier M, Lhotellier V, Hornez L, Giard S, Baranzelli MC, Djiane J ve Peyrat JP (2006). Messenger RNA expression of leptin and leptin receptors and their prognostic value in 322 human primary breast cancers. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 12(7 Pt 1), 2088–2094. DOI. 10.1158/1078-0432.CCR-05-1904
- Ribeiro R, Lopes C ve Medeiros R (2006). The link between obesity and prostate cancer: the leptin pathway and therapeutic perspectives. *Prostate cancer and prostatic diseases*, 9(1), 19–24. DOI.10.1038/sj.pcan.4500844
- Roberts RO, Lieber MM, Rhodes T, Girman CJ, Bostwick DG ve Jacobsen SJ(1998). Prevalence of a physician-assigned diagnosis of prostatitis: the Olmsted County Study of Urinary Symptoms and Health Status Among Men. *Urology*, 51(4), 578–584. DOI. 10.1016/s0090-4295(98)00034-x.
- Ross MH, Pawlina W (2016). Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas: İlişkili Hücre Biyolojisi ve Moleküler Biyoloji ile. (Yedinci baskıdan çeviri). Baykal B (Çeviri Editörü). Ankara. Palme Yayıncılık. s. 706-709.
- Sadeghi S, Davoodvandi A, Pourhanifeh MH, Sharifi N, ArefNezhad R, Sahebnaasagh, R., Moghadam, S. A., Sahebkar, A., ve Mirzaei, H. (2019). Anti-cancer effects of cinnamon: Insights into its apoptosis effects. *European journal of medicinal chemistry*, 178, 131–140. DOI. 10.1016/j.ejmech.2019.05.067
- Samuel-Mendelsohn S, Inbar M, Weiss-Messer E, Niv-Spector L, Gertler A ve Barkey RJ (2011). Leptin signaling and apoptotic effects in human prostate cancer cell lines. *The Prostate*, 71(9), 929–945. DOI. 10.1002/pros.21309
- Saxena NK, Sharma D, Ding X, Lin S, Marra F, Merlin D ve Anania FA (2007). Concomitant activation of the JAK/STAT, PI3K/AKT, and ERK signaling is involved in leptin-mediated promotion of invasion and migration of hepatocellular carcinoma cells. *Cancer research*, 67(6), 2497–2507. DOI. 10.1158/0008-5472.CAN-06-3075
- Schenk JM, Till CA, Tangen CM, Goodman PJ, Song X, Torkko KC, Kristal AR, Peters U ve Neuhouwer ML (2014). Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and risk of prostate cancer: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 23(8), 1484–1493. DOI. 10.1158/1055-9965.EPI-13-1340.

- Schoene NW, Kelly MA, Polansky MM ve Anderson RA (2005). Water-soluble polymeric polyphenols from cinnamon inhibit proliferation and alter cell cycle distribution patterns of hematologic tumor cell lines. *Cancer letters*, 230(1), 134–140. DOI. 10.1016/j.canlet.2004.12.039
- SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013 [Internet]. National Cancer Institute, Bethesda, MD. 2016. Erişim Adresi: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/. Erişim Tarihi: 04 February 2019.
- Sfanos KS ve De Marzo AM (2012). Prostate cancer and inflammation: the evidence. *Histopathology*, 60(1), 199–215. DOI. 10.1111/j.1365-2559.2011.04033.x
- Shen MM ve Abate-Shen C (2010). Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes & development*, 24(18), 1967–2000. DOI. 10.1101/gad.1965810.
- Shoenwolf, Bleyl, Brauer, Francis West (2021). Larsen's Human Embriology(Sixth edition). PA: Elsevier. s. 962-982.
- Simonian M, Mosallayi M ve Mirzaei H (2018). Circulating miR-21 as novel biomarker in gastric cancer: Diagnostic and prognostic biomarker. *Journal of cancer research and therapeutics*, 14(2), 475. DOI. 10.4103/0973-1482.175428
- Somasundar P, Yu AK, Vona-Davis L ve McFadden DW (2003). Differential effects of leptin on cancer in vitro. *The Journal of surgical research*, 113(1), 50–55. DOI. 10.1016/s0022-4804(03)00166-5
- Song Y, Chavarro JE, Cao Y, Qiu W, Mucci L, Sesso HD, Stampfer MJ, Giovannucci E, Pollak M, Liu S ve Ma J (2013). Whole milk intake is associated with prostate cancer-specific mortality among U.S. male physicians. *The Journal of nutrition*, 143(2), 189–196. DOI. 10.3945/jn.112.168484.
- Sutcliffe S (2010). Sexually transmitted infections and risk of prostate cancer: review of historical and emerging hypotheses. *Future oncology (London, England)*, 6(8), 1289–1311. DOI. 10.2217/fon.10.95.
- Tan SH, Petrovics G ve Srivastava S (2018). Prostate Cancer Genomics: Recent Advances and the Prevailing Underrepresentation from Racial and Ethnic Minorities. *International journal of molecular sciences*, 19(4), 1255. DOI. 10.3390/ijms19041255.
- Terlecki Ryan P (2020). “The Prostate – Most Diseased Organ in the Male Body”. <https://grandroundsinurology.com/the-prostate-most-diseased-organ-in-the-male-body/>

- Tchio-Mantho CI, Harbuzariu A ve Gonzalez-Perez RR (2017). Histone deacetylases, microRNA and leptin crosstalk in pancreatic cancer. *World journal of clinical oncology*, 8(3), 178–189. DOI. 10.5306/wjco.v8.i3.178
- Tantamango-Bartley Y, Knutsen SF, Knutsen R, Jacobsen BK, Fan J, Beeson WL, Sabate J, Hadley D, Jaceldo-Siegl K, Penniecook J, Herring P, Butler T, Bennett H ve Fraser G (2016). Are strict vegetarians protected against prostate cancer?. *The American journal of clinical nutrition*, 103(1), 153–160. DOI. 10.3945/ajcn.114.106450.
- Usai F ve Di Sotto A (2023). *trans*-Cinnamaldehyde as a Novel Candidate to Overcome Bacterial Resistance: An Overview of In Vitro Studies. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(2), 254. DOI. 10.3390/antibiotics12020254
- Vollset SE, Clarke R, Lewington S, Ebbing M, Halsey J, Lonn E, Armitage J, Manson JE, Hankey GJ, Spence JD, Galan P, Bønaa KH, Jamison R, Gaziano JM, Guarino P, Baron JA, Logan RF, Giovannucci EL, den Heijer M, Ueland PM, B-Vitamin Treatment Trialists' Collaboration (2013). Effects of folic acid supplementation on overall and site-specific cancer incidence during the randomised trials: meta-analyses of data on 50,000 individuals. *Lancet (London, England)*, 381(9871), 1029–1036. DOI. 10.1016/S0140-6736(12)62001-7
- Vucenik I ve Stains JP (2012). Obesity and cancer risk: evidence, mechanisms, and recommendations. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1271(1), 37–43. DOI. 10.1111/j.1749-6632.2012.06750.x
- Wang Y, Li Y, Wang L, Chen B, Zhu M, Ma C, Mu C, Tao A, Li S, Luo L, Ma P, Ji S ve Lan T (2022). Cinnamaldehyde Suppressed EGF-Induced EMT Process and Inhibits Ovarian Cancer Progression Through PI3K/AKT Pathway. *Frontiers in pharmacology*, 13, 779608. DOI. 10.3389/fphar.2022.779608
- William G. Nelson, Emmanuel S. Antonarakis, H. Ballentine Carter, Angelo M. De Marzo and Theodore L. DeWeese, Abeloff's Clinical Oncology DOI. 10.1016/B978-0-323-47674-4.00081-5.
- Wong RS (2011). Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *Journal of experimental & clinical cancer research: CR*, 30(1), 87. DOI. 10.1186/1756-9966-30-87
- Wozney JL ve Antonarakis ES (2014). Growth factor and signaling pathways and their relevance to prostate cancer therapeutics. *Cancer metastasis reviews*, 33(2-3), 581–594. DOI. 10.1007/s10555-013-9475-z.
- Wu CE, Zhuang YW, Zhou JY, Liu SL, Wang RP ve Shu P (2019). Cinnamaldehyde enhances apoptotic effect of oxaliplatin and reverses epithelial-mesenchymal transition and stemness in hypoxic colorectal cancer cells. *Experimental cell research*, 383(1), 111500. DOI. 10.1016/j.yexcr.2019.111500

- Yu C, Li YL, Liang M, Dai SY, Ma L, Li WG, Lai F ve Liu XM (2020). Characteristics and hazards of the cinnamaldehyde oxidation process. *RSC advances*, 10(32), 19124–19133. DOI. 10.1039/c9ra10820c
- Zu Y, Yu H, Liang L, Fu Y, Efferth T, Liu X ve Wu N (2010). Activities of ten essential oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 cancer cells. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 15(5), 3200–3210. DOI. 10.3390/molecules15053200
- Zhou L, Lu Y, Yang G ve Wu J (2014). Research on tumorigenicity of cinnamaldehyde in melanoma cell lines and its mechanism. *Tumour biolog: the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 35(6), 5717–5722. DOI. 10.1007/s13277-014-1757-8



EKLER

Ek 1: ETİK KURUL ONAYI

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI

Protokol No : 210124

Karar No : 143

Araştırma Yürütücüsü	Arş. Gör. AMRA HALUGİÇ
Kurumu / Birimi	MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ / HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
Araştırmanın Başlığı	Leptine maruz bırakılan PC-3 prostat kanseri hücrelerinde sinnamaldehit etkisinin PI3K/MAPK sinyal iletim yolları üzerinden araştırılması
Başvuru Formunun Etik Kurula Geldiği Tarih	07.05.2021
Başvuru Formunun Etik Kurulda İncelendiği Tarih	İlk İnceleme Tarihi : 26.05.2021 1. Düzeltme Tarihi : 16.06.2021
Karar Tarihi	25.06.2021

KARAR : UYGUNDUR

AÇIKLAMA :Beyan edilen veri formlarının dışına çıkılmaması şartıyla araştırmanın uygulanabilirliği konusunda bilimsel araştırmalar etiği açısından bir sakınca yoktur.

Prof.Dr. Haşim OLGUN
Başkan

Prof.Dr. Kılıçhan BAYAR
Üye

Prof.Dr. Nevin AKDOLUN BALKAYA
Üye

Prof.Dr. Özcan SAYGIN
Üye

Doç.Dr. Ahmet Salih SÖNMEZDAĞ
Üye

Doç.Dr. Cem ŞAHİN
Üye

Prof.Dr. Süleyman Cüneyt KARAKUŞ
Üye

Ek 2: KURUM İZİN ONAYI

28.04.2021

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURULUNA

MSKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans programı öğrencisi 194405Y001 numaralı Amra HALUGIC, Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK danışmanlığında, “Leptin’e maruz bırakılan PC-3 prostat kanseri hücrelerinde sinnamaldehit etkisinin PI3K/MAPK sinyal iletim yolları üzerinden araştırılması” başlıklı tez projesini yürütecektir.

Araştırma sırasında Anabilim Dalı’mız laboratuvarlarının kullanılmasında sakınca yoktur.

Gereğini arz ederim.

Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı Başkanı

Ek 3: ÖZ GEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Amra Halugic Şen
Yabancı Dili	: İngilizce,Almanca,Boşnakça,Sırpça,Hırvatça
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)	: Yüksek Lisans Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2019
Lise	: Medical High School – Jezero (2006)
Lisans	: Faculty of science (Ekology) 2009/ İnternational University of Sarajevo (Genetic and Bioengineering) 2014
Yüksek Lisans	: Yüksek Lisans Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2019
Çalıştığı Kurum / Kurumlar ve Yıl	: İnternational University of Sarajevo 2017 Policlinic Bahçeci,Sarajevo 2016 Polgün Waterparks & Attractions 2022 Coante Quartz Surfaces 2022/23
Yayınları (SCI ve diğer)	: Halugić Şen, A., Çetinaıci, D., Yiğittürk, G., Yazici, A., Elbe, H., ve Öztürk, F. (2022). Phenformın İnhibits The Proliferation Of Mcf-7 And Mda-Mb-231 Human Breast Cancer Cells. Medical Records.
Sertifikalar ve Kurslar	: Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi TÖMER (Türkçe / B2).

The İnstitute of health science of MUGLA SITKI KOÇMAN UNİVERSİTY-September 30th – 01st October 2021 in The Applied course for Molecular Reaseach Methods.

“Certifikate of Use of Experimental Animals”
Muğla Sıtkı Koçman University, 18.01.2021-
28.01.2021 and Qualified category A
certificate.

