

Luteolin ve Apigenin Fitokimyasallarının Meme Kanseri Üzerine Etkileri

Effects of Luteolin and Apigenin Phytochemicals on Breast Cancer

Gülcan Uysal Yeler¹, Zeynep Göktas²

Geliş tarihi/Received: 13.05.2024 • Kabul tarihi/Accepted: 16.07.2024

ÖZET

Son yıllarda fitokimyasalların sağlık ve hastalıklara karşı etkileri konusunda araştırmalar artmaktadır ve en çok araştırılan konulardan birisi kanserdir. Meme kanseri meme hücrelerinin anormal büyümesi ile karakterizedir ve hormon cevaplarına göre sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma tedavinin yönünü ve seyrini etkilemektedir. Luteolin ve apigenin flavonlar sınıfında yer alan fitokimyasallardır ve sebzelerle sıklıkla alınmaktadır. Hem luteolinin hem de apigeninin anti-kanser özellikleri araştırılmaktadır. Bu çalışmada luteolin ve apigenin fitokimyasallarının meme kanserini hangi biyokimyasal yollar üzerinden etkilediğinin derlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, luteolinin ve apigeninin apoptoz, metastaz, anjiyogenezde etkilerini inceleyen çalışmalar ile tedaviye eklenmesi ile ilgili yapılmış çalışmalar literatür taraması ile derlenmiştir. Yapılan çalışmalarla luteolinin apoptozda hem ekstrinsik hem de intrinsik yolda, apigeninin ise ekstrinsik yolda apoptozu etkileyebileceği gösterilmiştir. Luteolin ve apigeninin farklı hücrelerde farklı etkiler gösterdiği ve anjiyogenez ve metastazı etkilediği bulunmuştur. Luteolin ve apigeninin meme kanserinde moleküler düzeyde etkili olabileceği, kanser kemoterapisinde kullanılan ilaçların etkisini artırabileceği hücre ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Bu konuda daha fazla çalışmaya ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Apigenin, fitokimyasallar, luteolin, meme kanseri

ABSTRACT

In recent years, research on the effects of phytochemicals on health and disease has been increasing, and one of the most researched topics is cancer. Breast cancer is characterized by abnormal growth of breast cells and is classified according to its response to hormone. This classification affects the direction and course of treatment. Luteolin and apigenin are phytochemicals in flavones and are commonly consumed in vegetables. The anti-cancer properties of both luteolin and apigenin have been investigated. This study aimed to review the biochemical pathways through which luteolin and apigenin phytochemicals affect breast cancer. For this purpose, studies examining the effects of luteolin and apigenin on apoptosis, metastasis and angiogenesis and studies on the addition of luteolin and apigenin to treatment were compiled by reviewing the literature. Studies have shown that luteolin may affect apoptosis through both extrinsic and intrinsic pathways, while apigenin may affect apoptosis through the extrinsic pathway. Luteolin and apigenin have been found to show different effects in different cells and affect angiogenesis and metastasis. Cell and animal studies have shown that luteolin and apigenin may be effective at the molecular level in breast cancer and may increase the efficacy of drugs used in cancer chemotherapy. Further research and clinical trials are needed in this regard.

Keywords: Apigenin, breast cancer, luteolin, phytochemicals

1. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara, Türkiye • <https://orcid.org/0000-0003-2800-0240>

2. **İletişim/Correspondence:** Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara, Türkiye
E-posta: zeynep.goktas@hacettepe.edu.tr • <https://orcid.org/0000-0001-7241-8017>

GİRİŞ

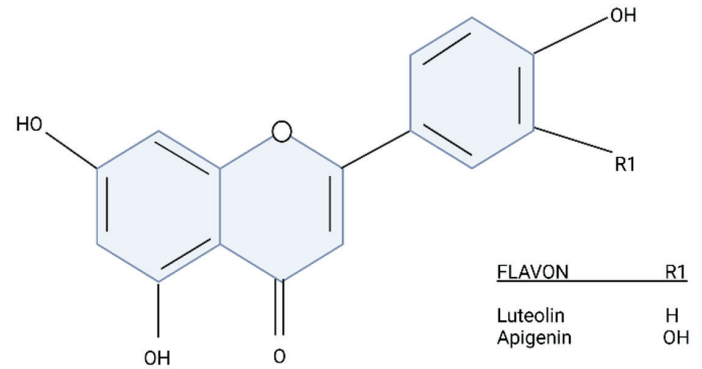
Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansının Global Kanser Gözlemevi (Global Cancer Observatory - GCO) verilerine (GLOBOCAN) göre meme kanseri 2020 yılında dünya çapında 685 bin kişinin ölümünden sorumludur ve 2040 yılında bu sayının 1 milyonu geçeceği tahmin edilmektedir (1). Türkiye’de ise meme kanseri görülme sıklığı %10,6’dır (2). Meme kanseri her iki cinsiyette görülmesine rağmen kadınlar meme kanseri için daha yüksek riske sahiptir (3).

Meme kanseri, meme hücrelerinin kontrolsüz ve anormal büyümesi ile oluşmaktadır (4). Meme kanseri üç grupta sınıflandırılmaktadır. Bunlar; hormon reseptörüne ihtiyaç duyanlar (östrojen reseptörü (ER+) veya progesteron reseptörü (PR+)), İnsan epidermal büyüme faktörü reseptör 2 (Human Epidermal Growth protein HER2+) proteini bulunanlar ve Üçlü negatif (Triple Negative) üç reseptörün de bulunmadığı kanser şeklidir. Tedavi kanser grubuna göre şekillenmektedir. Hormon reseptör pozitif hücreler daha iyi prognoza sahipken, üçlü negatif hücreler kötü prognozla ilişkilidir (4).

Erkeklerde de görülse de meme kanseri için en kuvvetli risk kadın olmaktır. Yaşın ilerlemesi, coğrafi konum, obezite, alkol kullanımı, ailede meme kanseri öyküsü, radyasyona maruz kalma, jinekolojik öykü (adet döneminin başladığı yaş ve ilk hamilelik yaşı gibi), oral kontraseptif kullanımı, hormon replasman tedavileri, tütün ve sigara kullanımı gibi bazı faktörler meme kanseri riskini arttırmaktadır (3). Ayrıca meme kanserinin etiyolojisi, patogenezi ve prognozunda beslenme önemli role sahip olabilir. Son yıllarda meme kanserinde flavonoidlerin etkisine dair yapılan araştırmalar dikkat çekmektedir (5).

Flavonoidler özellikle meyve ve sebzelerde bulunan ve fenolik bileşik içeren bitki metabolitleridir (6). Sağlığı teşvik edici özelliklere sahip olan flavonoidler çeşitli nutrasötik, farmasötik, tıbbi ve kozmetik uygulamalarda yer almaktadır. Flavonlar, flavanoller, izoflavonoidler, flavononlar, antosiyaninler gibi çeşitli

alt gruplara ayrılmaktadır. Luteolin (3,4,5,7-tetrahidroksi-flavon) ve apigenin (4,5,7, trihidroksi-flavon) flavonlar alt grubunda yer alan bileşiklerdir (Şekil 1) (6,7). Luteolinin diyetle başlıca kaynakları kereviz, pancar, Brüksel lahanası, lahana ve karnabahar, marul, ıspanak, kırmızıbiber ve kekiktir. Maydanoz, kereviz ve marul ise apigeninin başlıca kaynaklarıdır (8,9). Genel olarak sağlıklı bir diyet ortalama 2-125 mg/gün luteolin, 0.13-4 mg/gün apigenin içermektedir (10,11). Şekil 1’de luteolin ve apigeninin kimyasal yapıları görülmektedir.



Şekil 1. Luteolin ve Apigeninin kimyasal yapıları (BioRender.com sitesi üzerinden hazırlanmıştır.)

Luteolin ve apigeninin antioksidan, anti-kanserojenik ve anti-inflamatuar özellikleri ile ilgili çalışmalar mevcuttur (12-15). Bu çalışma sebzelerde sıklıkla bulunan luteolin ve apigenin flavonlarının meme kanserine olan etkilerini derlemeyi amaçlamaktadır.

MEME KANSERİ ÜZERİNE OLASI MEKANİZMALAR

Luteolin ve apigeninin meme kanseri üzerine olası etkileri apoptoz, anjiyogenez, metastaz ve tedavide etki başlıkları altında incelenmiştir.

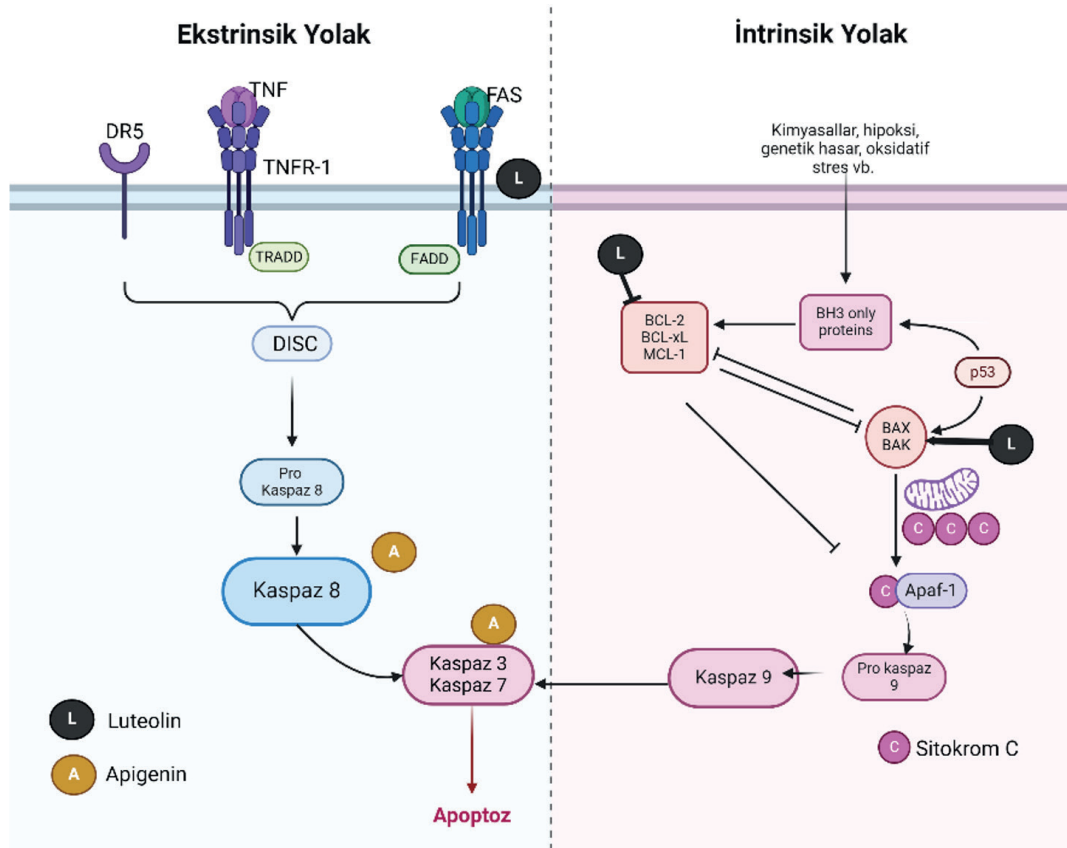
Apoptoz

Apoptoz, kelime anlamı olarak programlanmış hücre ölümünü ifade etmektedir. Apoptoz embriyonik gelişim ve yaşlanmada hücre popülasyonunun homeostatik dengesi gibi fizyolojik koşullarda ve kanser, virüslerin

neden olduğu hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi immün sistemin devreye girdiği patolojik koşullarda görevlidir. Ancak kanserde apoptoz mekanizmasında aksamalar yaşanmaktadır (16). Apoptoz mekanizmalarının aydınlatılması, meme kanserinin hem oluşum koşullarını anlamak hem de tedavi için geliştirilebilecek ilaçlar için önemlidir. Apoptoz mekanizmasında kaspaz proteinleri apoptozu başlatan ve uygulayanların merkezinde yer almaktadır. Apoptozu başlatan uygulamalar intrinsik (mitokondriyal) ve ekstrinsik (ölüm reseptörü) olarak ikiye ayrılmaktadır (Şekil 2). Ekstrinsik ölüm reseptör yolağı, ölüm reseptörleri adı verilen ve en bilinenleri Tümör Nekroz Faktör Reseptör Tip1 (TNFR1)'e Tümör Nekroz Faktör (TNF) ligandı bağlanması ve/veya hücre zarında bulunan Fas proteinine FasL ligandının bağlanması ile başlamaktadır. Bu ölüm reseptörleri,

hücre içerisinde adaptör proteinleri (TNF reseptör-ilişkili ölüm alanı-TRADD, Fas-ilişkili ölüm etki alanı-FADD) toplayan intraselüler ölüm etki alanına sahiptir. Oluşan Ligand-Reseptör-Adaptör protein kompleksi (Death-inducing signalling complex-DISC), pro-kaspaz 8'in aktivasyonunu sağlamaktadır. Aktif form olan Kaspaz-8 proteini apoptotik kaskadı başlatmaktadır. (16-18). Luteolin ve apigenin bileşiklerinin apoptoz üzerine etkilerini araştıran hücre çalışmaları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Luteolinin ekstrinsik yolda etkisini inceleyen in-vitro çalışmalarda doza bağlı olarak luteolinin Fas ve FasL ekspresyonu arttırarak apoptozu desteklediği bulunmuştur (12,19). Luteolinin Ölüm Reseptörü 5 (DR5) gibi ölüm reseptörlerinin ve kaspaz-8 ekspresyonunu arttırarak apoptotik kaskadı başlattığı gösterilmiştir (13).



Şekil 2. Apoptoz Yolakları (BioRender.com sitesi üzerinden hazırlanmıştır.)

APAF-1, apoptotik peptidaz aktive edici faktör 1; DISC, Ölüme neden olan sinyal kompleksi; DR5, Death Receptor5; FADD; Fas-ilişkili ölüm etki alanı; TNF, Tümör Nekroz Faktör; TNFR1, Tümör Nekroz Faktör Reseptör Tip1; TRADD, TNF reseptör-ilişkili ölüm alanı

Tablo 1. Luteolin ve apigeninin meme kanserinde apoptoz üzerine etkileri

Fitokimyasal	Hücre Türü	Uygulama Süre ve Dozu	Apoptoz Yolağı (Ekstrinsik/İntrinsik)		Kaynak
			Ekstrinsik	İntrinsik	
Luteolin	Üçlü negatif MDA-MB231	24-48 saat 0-40 µM/gün	Ekstrinsik	40 µM dozda Fas ve FasL mRNA ekspresyonunda artma 40 µM dozda Bax protein ekspresyonunda artma, Bcl-xL ekspresyonunda azalma ve mitokondriyal membran geçirgenliğini artırma	(12)
Luteolin	Hormon reseptör pozitif MCF-7	24-48 saat 20-60-100-140 µg/ml/gün	Ekstrinsik	100 µg/ml dozda DR5 ölüm reseptörlerinin, kaspaz-8'in ekspresyonunu artırarak kaspaz kaskadını başlatma 100 µg/ml dozda Sitokrom-c salınımı ve mitokondriyal membran potansiyeli çöküşünü indükleme, 100 µg/ml dozda Bax ekspresyonunu artırma, Bcl-2 ekspresyonunu inhibe etme	(13,23)
Luteolin - Paclitaxel	Üçlü negatif MDA-MB231	24-48 saat 0-5-10-15-35 µM/gün	Ekstrinsik	15 µM dozda Kaspaz-3 ve kaspaz-8 aktivasyonunda artma PARP ekspresyonunda azalma Fas ekspresyonunda artma 15 µM dozda Bcl-xL ekspresyonunda azalma	(19)
			İntrinsik	Bcl-2, Bax ekspresyonunda değişiklik yapmama STAT3 sinyal yolağı inhibe etme	
Apigenin	Hormon reseptör pozitif MCF-7 HER2 pozitif SK-BR-3	24-48-72 saat 10-20-40 µM/gün	Ekstrinsik	40 µM dozda Kaspaz-8 aktivasyonunda artma	(14)
			İntrinsik	Bcl-xL, Bax, Bcl-2 seviyelerinde değişiklik yapmama, Mitokondriyal transmembran potansiyelinde değişiklik yapmama	
Apigenin	Hormon reseptör-HER2 pozitif BT-474	24 saat 0-60 µM/gün	Ekstrinsik	60 µM dozda kaspaz-8 ve 40-60 µM dozda kaspaz-3 aktivasyonunda artma	(20)
			İntrinsik	Bax, Bcl-2 seviyelerinde etkisi olmama, Mitokondriyal transmembran potansiyelinde değişiklik olmama	

DR5, Ölüm Reseptörü 5; FasL, Fas Ligandı; PARP, Poli (ADP-riboz) polimeraz; STAT3, Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3; µg, mikrogram; µM, mikro molar

Apigeninin doza ve zamana bağlı olarak hormon reseptör pozitif MCF-7 ve üçlü negatif MDA-MB-231 hücrede apoptozu desteklediği, hücre canlılığında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (15). Hormon reseptör pozitif MCF-7 hücrede apigenin tedavisinin kaspaz-8 üzerinden ekstrinsik apoptozu indüklediği bulunmuştur (14). HER2-pozitif BT-474 hücrelerde kaspaz-8 ve kaspaz-3'ü up-regüle edere ekstrinsik apoptozu artırdığı tespit edilmiştir (20).

Onarılamaz genetik hasar, hipoksi, aşırı yüksek sitosolik kalsiyum (Ca²⁺) konsantrasyonları ve şiddetli oksidatif stres gibi iç uyaranlar, intrinsik yolağın başlatılmasının bazı tetikleyicileridir (16). İntrinsik yolak Bcl-2 gen ailesi proteinleri (antiapoptotik Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1; proapoptotik Bax, Bad) tarafından regüle edilmektedir. Bcl-2 gen ailesi

intrinsik apoptoz yolağında yirmiden fazla proteini kodlamaktadır ve hücrenin hayatta kalması ve ölümü arasındaki dengenin temelini oluşturmaktadır (21). Anti-apoptotik proteinler (Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1) mitokondriyal membran geçirgenliğini ve kaspaz-9, 3, 6 ve 7 aktivitelerini etkileyebilmekte böylece apoptozu inhibe ederek tümör hücrelerinin hayatta kalma süresini uzatmaktadır. Pro-apoptotik proteinler (Bax, Bad, Bak) hücre ölüm sürecini başlatmakta ya da desteklemektedir. Mitokondriyal dış membran potansiyelinde değişiklik meydana geldiğinde mitokondriyal membran boşluğunda bulunan pro-apoptotik proteinler sitoplazmaya salınarak hücre apoptozunu destekleyen bir kaspaz kaskadını tetiklemektedir (22). İntrinsik apoptoz yolağı, artan mitokondriyal geçirgenliğin ve sitokrom-c gibi proapoptotik moleküllerin sitoplazmaya salınmasının

sonucudur. Sitokrom-c apoptotik peptidaz aktive edici faktör 1 (APAF1)'e bağlanır ve bir apoptozom oluşturmak için prokaspaz-9'u görevlendirerek; kaspaz-9'u, kaspaz-9 da apoptozu indüklemek için kaspaz-3 ve kaspaz-7'yi aktive etmektedir (16,17).

MDA-MB üçlü negatif meme kanseri hücrelerine luteolin tedavisi verilmesiyle Bax protein ekspresyonunun arttığı, Bcl-xL ekspresyonunun azaldığı ve mitokondriyal membran geçirgenliğinin artarak instrinsik yolda apoptozu desteklediği gösterilmiştir (12). Hormon reseptör pozitif MCF-7 hücrede yapılan çalışmalarda luteolin tedavisi sitokrom-c salınımı ve mitokondriyal membran potansiyeli çöküşünü indüklediği, Bax ekspresyonunu arttırken, Bcl-2 ekspresyonunu inhibe ettiği bulunmuştur (13).

Apigeninin intrinsik yolda apoptozu etkisinin olup olmadığını inceleyen çalışmalarda hormon reseptör pozitif MCF-7 hücreye ve HER2 pozitif BT-474 hücreye farklı dozlarda ve sürelerde apigenin verilmiş ve mitokondriyal membran geçirgenliğinde değişiklik olmadığı; Bcl-2, Bcl-xL ve Bax seviyelerini etkilemediği öne sürülmüştür (14,20).

Metastaz

Meme kanserinde metastaz, çevreleyen dokuya invazyon ile başlamakta, intravazasyon, dolaşımda hayatta kalma ve farklı bölgede tutunma ile ilerlemektedir (24). Metastatik sürecin ilk adımı çeşitli migrasyon ve hücre adezyon moleküllerini içeren invazyondur. Lokal invazyona neden olan mekanizmalardan biri olan epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) aşaması epitel hücreler arasındaki hücre-hücre adezyonu kaybı ve mezenkimal hücre karakteri kazanımı ile oluşmaktadır. EMT transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β), Notch, wnt sinyal yollarının aktivasyonu ile başlayabilmektedir. TGF- β sinyali hücre çoğalması, farklılaşma, bağışıklık homeostazi ve yara iyileşmesi gibi birçok fizyolojik süreci düzenlemektedir. Notch sinyal yolağı transmembran ligandların ve reseptörlerin sinyal etkileşimini ortaya çıkaran hücre-hücre sinyal mekanizmasıdır. Wnt de Notch sinyal yolağı gibi birçok

organda faaliyet gösteren sinyal yolağıdır. Epitelyal belirteçlerin (E-cadherin, ZO-1) downregülasyonu ve mezenkimal belirteçlerin (vimentin, fibronektin ve N-cadherin) aşırı ekspresyonu sonucu kanser hücrelerinin invazyonu artmaktadır. Stromal hücre ile meme kanseri hücreleri arasındaki etkileşim sonucu hücre adezyon molekülleri ve extraselüler matriksi degrade eden çeşitli proteazların sekresyonu ile invazyon kolaylaşmaktadır. Ayrıca matriks metalloproteinaz proteinlerinin (MMP) sekresyonu da invazyonu desteklemektedir. Meme kanseri hücreleri lenfatik ve/veya hematojen yolla yayılabilmektedir. Lenf nodu sıklıkla ilk metastaz olan yerdir ve hastalığın evrelendirmesinde önemli rol oynamaktadır. Kan damarlarında taşınmada, makrofajlar gibi kanser dışı hücrelerin yardımı gerekmektedir; bu hücreler EGF ve koloni stimule edici faktör 1 (CSF-1) salgılayarak kanser hücrelerinin toplanmasını ve makrofajların büyümesini destekler. Dolaşımdaki tümör hücreleri uzaktaki organa ulaştığında, her organın farklı bariyerleri ile karşılaşmaktadır. Bu engellerden birisi, farklı damarlaşma yapılarının olmasıdır. Kanser hücresi ekstrasvazasyonunu destekleyen makrofaj kaynaklı başlıca faktörlerden birisi vasküler endotelial büyüme faktörüdür (VEGF) (24,25). TNF- α , interlökin (IL)1 β , IL-6 gibi proinflamatuvar stokinler de tümör mikroçevresinde bulunarak tümörün ilerlemesine ve metastazına katkı sağlamaktadır (26). Luteolin ve apigeninin metastaz üzerine etkilerini gösteren çalışmalar Tablo 2'de gösterilmiştir. Luteolinin metastaza etkisinin bakıldığı bir çalışmada nu/nu nude farede üçlü negatif MDA-MB-435 hücreler farelere kuyruk veninden enjekte edilmiş ve 5.günde luteolin 10 veya 20 mg/kg/gün dozda olacak şekilde verilmeye başlanmış, 51. gün sonunda çalışma sonlandırılmış ve akciğerleri incelenmiştir. Aynı çalışmada diğer gruba üçlü negatif MDA-MB-231 hücreler farelere kuyruk veninden enjekte edilmiş ve 5. günde luteolin 40 mg/kg/gün dozda olacak şekilde verilmeye başlanmış ve 42. günde çalışma sonlandırılmıştır. MDA-MB-435 hücreli 20 mg/kg luteolin verilen farelerde ve MDA-MB-231 hücreli 40 mg/kg luteolin verilen farelerde akciğer kolonilerinde azalma olduğu görülmüştür (27). BT-20 ve üçlü negatif

Tablo 2. Luteolin ve apigeninin meme kanserinde metastaz ve anjiyogenez üzerine etkileri

Fitokimyasal	Hücre Türü	Uygulama Süre ve Dozu	Metastaz	Etki	Kaynak
Luteolin	Üçlü negatif MDA-MB-231	24 - 48 saat 10-25-50-100 µM/gün	Migrasyon ve anjiyogenez	100 µM dozda VEGF sekresyonunda azalma ancak mRNA ekspresyonunu etkilememe	(27)
	Nu/nu nude fare 6 haftalık	10-20 ve 40 mg/kg/gün	Zenograft metastaz model (MDA-MB-435 ve MDA-MB-231)	20 mg/kg verilen MDA-MB-435 hücreli farelerde akciğer kolonilerinde azalma 40 mg/kg verilen MDA-MB-231 hücreli farelerde akciğer kolonilerinde azalma	
Luteolin	Üçlü negatif MDA-MB-231	24 - 48 ve 72 saat 10-20 ve 30 µM/gün	Migrasyon ve invazyon	MDA-MB-231 hücrelerde 30 µM ve 72 saatte migrasyon aktivitesinde azalma, invazyonu etkilememe, 30 µM dozda BT-20 hücrelerde doza-zamana bağlı migrasyon ve invazyon aktivitesinde azalma, BT-549 ve 4T1 hücrelerde 20 µM dozda migrasyon ve invazyon aktivitesinde azalma BT-20 ve MDA-MB-231 hücrelerde 10 µM luteolin EMT-ilişkili proteinde artma	(28)
	Üçlü negatif MDA-MB-486				
	Fare Üçlü negatif 4T1				
	Üçlü negatif BT-549				
	Üçlü negatif BT-20				
Luteolin	Hormon reseptör-HER2 pozitif BT-474	24-48 saat 2-10-25 µM/gün	Anjiyogenez	BT-474 hücrede 25 µM luteolin VEGF sekresyonunu azalma	(33)
	Hormon reseptör pozitif T47-D	20 mg/kg/gün	Zenograft	Farelerde VEGF ekspresyonunda azalma	
	Nude fare				
Luteolin	Üçlü negatif MDA-MB-231	48 saat 0-25-50-100 µM/gün	İnvazyon	50 µM dozda MMP2 ve MMP9 protein ekspresyonu ve protein konsantrasyonunda azalma	(31)
	Hormon reseptör pozitif MCF-7		Anjiyogenez	50 µM dozda VEGF protein ekspresyonu ve protein konsantrasyonunda azalma	
Apigenin	Hormon reseptör pozitif T47-D	18 saat 1-100 µM/gün	Anjiyogenez	100 µM dozda VEGF gen ekspresyonu ve protein konsantrasyonunda azalma	(32)
	Hormon reseptör-HER2 pozitif BT-474				
Apigenin	Üçlü negatif -MB-231	6 saat 0-50-100 µM/gün	Metastaz	20-40 µM dozda N-cadherin ekspresyonunda azalma 40 µM dozda IL-6 ekspresyonunda azalma	(26)
Apigenin	Üçlü negatif MDA-MB-231	24-48-72 saat 0-5-10-20-40 µM/gün	Migrasyon	20 µM dozda Yara iyileşmesinde artma ve transwell sistem ile migrasyonda azalma	(30)
	Üçlü negatif MDA-MB436				

IL-6, İnterlökin 6; MMP, matriks metalloproteinaz, VEGF, Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü; µM, mikro molar

MDA-MB-231 hücrelerde 10 µM luteolin tedavisi ile EMT ilişkili protein ekspresyonu incelenmiştir. BT-20 hücrelerde E-cadherin ve B-catenin (epitelyal belirteç) ekspresyonunda artış, N-catherin ve vimentin (mezenkimal belirteç) ekspresyonunda azalma

bulunmuştur. Üçlü negatif MDA-MB-231 hücrelerde luteolin tedavisinin EMT belirteç ekspresyonu etkilemediği bulunmuştur (28). Üç boyutlu model olarak hazırlanan üçlü negatif MDA-MB-231 hücre - lenf entodelyal hücre (LEC) çalışmasında 20 µM

luteolin ve 20 µM apigenin verilmesi ile zamana bağlı olarak hücrelerde MMP1 protein ekspresyonunda ve 5-20 µM apigenin ve luteolinin sitokrom P450 ailesi1 altaile A1 (CYP1A1) aktivitesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. CYP1A1 meme kanseri embolilerinin endotelial bariyeri geçmesinde görev almaktadır. Bu sonuçlara göre luteolin ve apigenin uygulamasının meme kanseri hücrelerinde endotelial bariyerden geçişi inhibe ettiği bulunmuştur (29). Apigeninin anti-metastatik süreçte etkisine dair çalışmalar kısıtlı olup, üçlü negatif MDA-MB-231 hücreye farklı dozlarda apigenin verilmesinin N-cadherin ve IL-6 ekspresyonunu azaltarak sürece etki ettiği gösterilmiştir (26). Üçlü negatif meme kanseri hücrelerinde apigenin tedavisiyle hücre canlılığında azalma görülmüştür. Migrasyon için yara iyileşme deneyi ve transwell migrasyon deneyi yapılmış ve doz arttıkça (10 ve 20 µM) ve zaman ilerledikçe (24 – 48 saat) migrasyonda azalma olduğu öne sürülmüştür (30).

Anjiyogenez

Kanserde anjiyogenez kanser hücrelerinin damar yayılışı ve yeni damarlar oluşturmalarıdır. Anjiyogenez metastazın oluşmasında ve büyümesinde önemli bir role sahiptir (25). Tümörögenizde, pro-anjiyogenik (genetik mutasyonlar, mekanik stresler, inflamatuvar süreçler, anjiyogenik protein ekspresyonu, hipoksi) ve anti-anjiyogenik faktörler arasındaki denge, pro-anjiyogenik tarafa doğru bir eğilimle bozulmaktadır. Normal fizyolojik koşulların aksine tümör damarlaşması yapısal, işlevsel ve genetik olarak farklıdır. Anormal kan damarları kanser hücrelerine oksijen sağlamakta yetersiz kalarak daha fazla pro-anjiyogenik faktör üretimine neden olmakta ve damarlaşma artmaktadır. Hipoksik koşullar hipoksi indüklenebilir faktör 1(HIF-1)'i uyararak anjiyogenik proteinlerin üretilmesini tetiklemektedir. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) ve reseptörü (VEGFR) anjiyogenez ve invazyonu stimüle etmektedir (22). Luteolin ve apigeninin anjiyogenez üzerine etkilerini gösteren çalışmalar Tablo 2'de gösterilmiştir.

Hipoksi varlığında ve yokluğunda anyijogenez belirteçlerini inceleyen bir çalışmada HER2 pozitif BT-474 hücrede doza bağlı olarak VEGF ve HIF-1a mRNA seviyelerinde azalma olduğu ve VEGF, MMP9 protein seviyelerinde azalma olduğu bulunmuştur (20). İnvazyon ve aniyogenez birliktede inceleyen bir çalışmada 50 µM luteolinin MMP2 ve MMP9 ile VEGF gen ekspresyonlarında düşüklüğe ve protein konsantrasyonlarında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (31). Progesteron ve sentetik progestinlerin VEGF gen ekspresyonu ve protein konsantrasyonunu arttırdığını gösteren hormon reseptör pozitif T47-D hücre çalışmalarında apigenin tedavisi verilmesinin VEGF ekspresyonu üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada hücrelere farklı dozlarda progestin ve apigenin verilmiştir. Sentetik progestin ve 100 µM apigenin verilen T47-D ve BT-474 hücrede VEGF ekspresyonu ve sekresyonunun azaldığı gösterilmiştir (32).

Tedavide Etki

Meme kanseri kemoterapisinde verilen ilaçlarla birlikte verilen luteolin ve apigeninin ilacın etkisine katkısı olup olmadığına dair çalışmalar bu bölümde verilmiştir.

Kanser tedavisinde kullanılan Lapatinib ile birlikte verilen luteolinin ilacın etkisini arttırdığı, apoptozu desteklediği bulunmuştur (34). Kanser kemoterapisinde kullanılan doksorubisin ile luteolin kombinasyonunun Bax ve kaspaz-3 ekspresyonunu artırırken, Bcl-2 ekspresyonunu azaltarak apoptozu sadece ilaca göre daha fazla desteklediği tespit edilmiştir (35). Üçlü negatif MDA-MB-231 hücrelerde 3-6 gün süren 10 µM apigenin ve 0.1 µM Doksorubisin tedavisinin kontrole göre yaklaşık dört kat hücre büyüme hızını azalttığı bulunmuştur. Doksorubisin ve apigenin kombinasyon tedavisinin intrinsik apoptotik yolaktaki kaspaz-9 aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. Tekli uygulamaya göre kombinasyon tedavinin kaspaz-3 aktivitesinde yaklaşık iki kat artışa neden olduğu, ekstrinsik yolakta kaspaz-8 aktivitesinde değişikliğe neden olmadığı gösterilmiştir (36). Üçlü negatif BT-20 hücrelerde rapamycin ve

luteolin tedavisi sinerjik etki göstererek migrasyon ve invazyon aktivitelerinde azalmaya ve EMT belirteçlerinde artışa neden olduğu bulunmuştur (28). T47-D hücrelerde 10 μ M luteolin hem progesterona hem de yaygın olarak kullanılan iki sentetik progestin olan noretindron ve norgestrele yanıt olarak VEGF salgılanmasını azaltırken, tek başına luteolin verilmesi VEGF sekresyonunu değiştirmemiştir (33).

Meme kanseri kemoterapisinde kullanılan Doksorubisin tedavisinin apigenin tedavisiyle birlikte etkisini inceleyen bir çalışmada, hormon reseptör pozitif MCF-7 hücrelere 48 saat süreyle 1 μ M doksorubisin + 50 μ M apigenin verilmiştir. Doksorubisin ve apigeninin ayrı ayrı uygulanmasının hücre canlılığında benzer şekilde azalmaya neden olduğu, birlikte verildiğinde ise hücre canlılığında daha fazla azalma olduğu bulunmuştur, bu durum ilaça beraber verilen apigeninin ilacın sitotoksik etkisini arttırdığını göstermektedir (37). Doksorubisin dirençli meme kanserine apigeninin etkisi incelendiğinde ise 10 μ M dozda apigeninin farklı dozlarda doksorubisin ile birlikte MCF-7 ve dirençli MCF-7R hücreye verilmesiyle hücre canlılığında daha fazla azalmaya neden olduğu, ilaca dirence karşı korumada etkili olabileceği gösterilmiştir (38). Apigeninin kemoterapide ilaca direnç varlığında etkisini inceleyen başka bir çalışmada adriamisin-dirençli MCF-7 hücrede, apigeninin (0-80 μ M) doza bağlı olarak 72 saatte proliferasyonu baskıladı, apoptozu desteklediği bulunmuştur. Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3 (STAT3) sinyal yolağını inhibe ederek VEGF ve MMP9 protein ekspresyonunda azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Bu sonuçlar ilaca direnç varlığında apigenin tedavisinin dirence karşı korumada etkili olduğunu göstermiştir (39).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Meme kanseri tüm dünyada görülme sıklığı artmakta olan bir hastalıktır ve medikal tedavinin yanında beslenme önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada sebzelerde bulunan luteolin ve apigenin fitokimyasallarının meme kanseri üzerindeki

etkilerinin derlenmesi amaçlanmıştır. Luteolinin ve apigeninin meme kanseri üzerinde etki ettiği biyokimyasal yollar incelenmiştir. Çalışma sonuçlarından luteolinin apoptozda hem ekstrinsik hem de intrinsik yolda etki gösterebildiği, apigeninin ise apoptozu ekstrinsik yolda etkilediği gösterilmiştir. Luteolin ve apigeninin farklı meme kanseri hücrelerinde farklı etkiler gösterdiği ve invazyona ve/veya migrasyona etki ederek anjiyogenez ve metastazı etkilediği bulunmuştur. Sonuç olarak luteolin ve apigeninin apoptoz, anjiyogenez ve metastazda moleküler düzeyde etkili olduğu, kanser kemoterapisinde kullanılan ilaçların etkisini arttırabileceği çalışmalarla gösterilmiştir. Çalışmalar henüz hücre ve hayvan çalışmaları üzerine yoğunlaşmış olsa da, sonuçların olumlu olduğu görülmektedir. Bu konuda daha fazla çalışmaya ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yazarlık katkısı • Author contributions: Çalışmanın tasarımı: GUY, ZG; İlgili literatürün taranması: GUY; Makale taslağının oluşturulması: GUY; İçerik için eleştirel gözden geçirme: ZG; Yayınlanacak versiyonun son onayı: GUY, ZG. • **Study design:** GUY, ZG; **Literature review:** GUY; **Draft preparation:** GUY; **Critical review for content:** ZG; **Final approval of the version to be published:** GUY, ZG.

Çıkar çatışması • Conflict of interest: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ederler. • *The authors declare that they have no conflict of interest.*

KAYNAKLAR

1. Arnold M, Morgan E, Rungay H, Mafra A, Singh D, Laversanne M, et al. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *Breast*. 2022;66:15-23.
2. World Health Organisation. Breast cancer. 2023. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer> Accessed June 17, 2024.
3. Veronesi U, Boyle P, Goldhirsch A, Orecchia R, Viale G. Breast cancer. *Lancet*. 2005;365(9472):1727-41.
4. Barzaman K, Karami J, Zarei Z, Hosseinzadeh A, Kazemi MH, Moradi-Kalbolandi S, et al. Breast cancer: biology, biomarkers, and treatments. *Int Immunopharmacol*. 2020;84:106535.

5. Hui C, Qi X, Qianyong Z, Xiaoli P, Jundong Z, Mantian M. Flavonoids, flavonoid subclasses and breast cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies. *PLoS One*. 2013;8(1):e54318.
6. Chandra SR, Diwan AD, Panche AN. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*. 2016;5:e47.
7. López-Lázaro M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Rev Med Chem*. 2009;9(1):31-59.
8. Eldridge A.L., Haytowitz D.B., Bhagwat S., Gebhardt S.E., Holden J.M., Beecher G.R., et al. Flavonoid content of vegetables: the USDA's flavonoid database. Available at: https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/80400525/Articles/EB03_VegFlav.pdf Accessed March 12, 2024.
9. Eldridge A.L., Haytowitz D.B., Bhagwat S., Gebhardt S.E., Holden J.M., Beecher G.R., et al. Flavonoid content of vegetables Available at: https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/80400525/Articles/AICR03_VegFlav.pdf Accessed March 12, 2024.
10. Wang Z, Zeng M, Wang Z, Qin F, Chen J, He Z. Dietary luteolin: a narrative review focusing on its pharmacokinetic properties and effects on glycolipid metabolism. *J Agr Food Chem*. 2021;69(5):1441-54.
11. Wang M, Firman J, Liu L, Yam K. A review on flavonoid apigenin: dietary intake, ADME, antimicrobial effects, and interactions with human gut microbiota. *BioMed Res Int*. 2019;2019:7010467.
12. Lee J, Park SH, Lee J, Chun H, Choi MK, Yoon JH, et al. Differential effects of luteolin and its glycosides on invasion and apoptosis in MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells. *Excli J*. 2019;18:750-63.
13. Park SH, Ham S, Kwon TH, Kim MS, Lee DH, Kang JW, et al. Luteolin induces cell cycle arrest and apoptosis through extrinsic and intrinsic signaling pathways in MCF-7 breast cancer cells. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2014;33(3):219-31.
14. Seo H-S, Choi H-S, Kim S-R, Choi YK, Woo S-M, Shin I, et al. Apigenin induces apoptosis via extrinsic pathway, inducing p53 and inhibiting STAT3 and NFκB signaling in HER2-overexpressing breast cancer cells. *Mol Cell Biochem*. 2012;366(1):319-34.
15. Vrhovac Madunić I, Madunić J, Antunović M, Paradžik M, Garaj-Vrhovac V, Breljak D, et al. Apigenin, a dietary flavonoid, induces apoptosis, DNA damage, and oxidative stress in human breast cancer MCF-7 and MDA MB-231 cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2018;391(5):537-50.
16. Wong RS. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011;30(1):87.
17. Kashyap D, Garg VK, Goel N. Chapter Four - Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: Role in cancer development and prognosis. In: Donev R, editor. *Adv Protein Chem Str*. 125: Academic Press; 2021. p. 73-120.
18. Carneiro BA, El-Deiry WS. Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2020;17(7):395-417.
19. Yang MY, Wang CJ, Chen NF, Ho WH, Lu FJ, Tseng TH. Luteolin enhances paclitaxel-induced apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells by blocking STAT3. *Chem Biol Interact*. 2014;213:60-8.
20. Seo HS, Jo JK, Ku JM, Choi HS, Choi YK, Woo JK, et al. Induction of caspase-dependent extrinsic apoptosis by apigenin through inhibition of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signalling in HER2-overexpressing BT-474 breast cancer cells. *Biosci Rep*. 2015;35(6).
21. Ashkenazi A, Fairbrother WJ, Levenson JD, Souers AJ. From basic apoptosis discoveries to advanced selective BCL-2 family inhibitors. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16(4):273-84.
22. Qian S, Wei Z, Yang W, Huang J, Yang Y, Wang J. The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Front Oncol*. 2022;12:985363.
23. Magura J, Moodley R, Mackraj I. The effect of hesperidin and luteolin isolated from *Eriocephalus africanus* on apoptosis, cell cycle and miRNA expression in MCF-7. *J Biomol Struct Dyn*. 2022;40(4):1791-800.
24. Kim MY. Breast Cancer Metastasis. *Adv Exp Med Biol*. 2021;1187:183-204.
25. Scully OJ, Bay BH, Yip G, Yu Y. Breast cancer metastasis. *Cancer Genomics Proteomics*. 2012;9(5):311-20.
26. Lee HH, Jung J, Moon A, Kang H, Cho H. Antitumor and Anti-Invasive Effect of Apigenin on Human Breast Carcinoma through Suppression of IL-6 Expression. *Int J Mol Sci*. 2019;20(13).
27. Cook MT, Liang Y, Besch-Williford C, Hyder SM. Luteolin inhibits lung metastasis, cell migration, and viability of triple-negative breast cancer cells. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2017;9:9-19.
28. Wu HT, Lin J, Liu YE, Chen HF, Hsu KW, Lin SH, et al. Luteolin suppresses androgen receptor-positive triple-negative breast cancer cell proliferation and metastasis by epigenetic regulation of MMP9 expression via the AKT/mTOR signaling pathway. *Phytomedicine*. 2021;81:153437.
29. Hong J, Fristiohady A, Nguyen CH, Milovanovic D, Huttary N, Krieger S, et al. Apigenin and luteolin attenuate the breaching of MDA-MB231 breast cancer spheroids through the lymph endothelial barrier in vitro. *Front Pharmacol*. 2018;9:220.
30. Li YW, Xu J, Zhu GY, Huang ZJ, Lu Y, Li XQ, et al. Apigenin suppresses the stem cell-like properties of triple-negative breast cancer cells by inhibiting YAP/TAZ activity. *Cell Death Discov*. 2018;4:105.

31. Sun DW, Zhang HD, Mao L, Mao CF, Chen W, Cui M, et al. Luteolin inhibits breast cancer development and progression in vitro and in vivo by suppressing Notch signaling and regulating MiRNAs. *Cell Physiol Biochem*. 2015;37(5):1693-711.
32. Mafuvadze B, Benakanakere I, Hyder SM. Apigenin blocks induction of vascular endothelial growth factor mRNA and protein in progestin-treated human breast cancer cells. *Menopause*. 2010;17(5):1055-63.
33. Cook MT, Liang Y, Besch-Williford C, Goyette S, Mafuvadze B, Hyder SM. Luteolin inhibits progestin-dependent angiogenesis, stem cell-like characteristics, and growth of human breast cancer xenografts. *Springerplus*. 2015;4:444.
34. Zhang L, Liu Q, Huang L, Yang F, Liu A, Zhang J. Combination of lapatinib and luteolin enhances the therapeutic efficacy of lapatinib on human breast cancer through the FOXO3a/NQO1 pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020;531(3):364-71.
35. Shi Y, Li F, Shen M, Sun C, Hao W, Wu C, et al. Luteolin prevents cardiac dysfunction and improves the chemotherapeutic efficacy of doxorubicin in breast cancer. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:750186.
36. Sudhakaran M, Parra MR, Stoub H, Gallo KA, Doseff AI. Apigenin by targeting hnRNPA2 sensitizes triple-negative breast cancer spheroids to doxorubicin-induced apoptosis and regulates expression of ABCC4 and ABCG2 drug efflux transporters. *Biochem Pharmacol*. 2020;182:114259.
37. Korga-Plewko A, Michalczyk M, Adamczuk G, Humeniuk E, Ostrowska-Lesko M, Jozefczyk A, et al. Apigenin and hesperidin downregulate DNA repair genes in MCF-7 breast cancer cells and augment doxorubicin toxicity. *Molecules*. 2020;25(19).
38. Maashi MS, Al-Mualm M, Al-Awsi GRL, Opuencia MJC, Al-Gazally ME, Abdullaev B, et al. Apigenin alleviates resistance to doxorubicin in breast cancer cells by acting on the JAK/STAT signaling pathway. *Mol Biol Rep*. 2022;49(9):8777-84.
39. Seo HS, Ku JM, Choi HS, Woo JK, Lee BH, Kim DS, et al. Apigenin overcomes drug resistance by blocking the signal transducer and activator of transcription 3 signaling in breast cancer cells. *Oncol Rep*. 2017;38(2):715-24.