



Effects of Apelin-13 on Human Prostate Cancer Lines [İnsan Prostat Kanseri Hücre Serilerinde Apelin-13'ün Etkileri]

Suat Tekin¹, Suleyman Sandal¹, Cemil Colak²

¹Department of Physiology, Inonu University Faculty of Medicine, Malatya, Turkey

²Department of Biostatistics and Medical Informatics, Inonu University Faculty of Medicine, Malatya, Turkey

Abstract

Prostate cancer is one of the most prevalent type of cancer in men. The exact solution for the treatment of different types of cancers has not been fully elucidated. Apelin secreted from adipose tissue reveals its effects by binding to APJ receptor. Obesity develops together with increased adipose tissue, and the increase of obesity related-apelin secretion is known. Obesity is a risk factor in the development of cancer, and considering both apelin and its receptor widely localized in the tissues of testis and prostate and apelin may have significant effects on prostate cancer. In the present study, 0.1, 1 and 10 nM concentrations of apelin-13 and three different testosterone concentrations (1, 10 and 100 nM) were separately applied to human prostate cancer cells with LNCaP (androgen receptor positive) and DU-145 (androgen receptor negative). Then 1, 10 and 100 nM concentrations of testosterone hormone and 10 nM dose of apelin-13 incubated for 24 h in the prostate cancer cells were administered and were allowed to incubate for 24 h. Effects of apelin-13 and testosterone on prostate cancer cells were determined using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. At the end of the experiment, DU-145 did not affected cell viability while the treatment with apelin -13 and testosterone increased the viability of LNCaP cells ($p<0.001$). The proliferation effect was strongly occurred when LNCaP cells were treated with together apelin-13 and testosterone ($p<0.001$) but, no effect was observed in DU-145 cells. In conclusion; apelin-13 had similar proliferative effects with testosterone on LNCaP cells, but had no effect on DU-145 cells. These results suggest that the effects of apelin-13 are similar to testosterone, and it realises their effects through an androgen receptor-dependent mechanism.

Key Words: Apelin, testosterone, prostate cancer, LNCaP, DU-145

(Rec.Date: Mar 14, 2014

Accept Date: Mar 31, 2014)

Corresponding Author: Suat Tekin, Department of Physiology, Inonu University Faculty of Medicine, Malatya, Turkey

E-mail: suat.tekin@inonu.edu.tr

İnsan Prostat Kanseri Hücre Serilerinde Apelin-13'ün Etkileri

Suat Tekin¹, Süleyman Sandal¹, Cemil Çolak²

¹ İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

² İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

Özet

Prostat kanseri erkeklerde görülen en yaygın kanser tiplerinden biridir. Değişik tipteki çoğu kanser türleri için kesin çözüm olabilecek bir tedavi yöntemi tam olarak geliştirilememiştir. Yağ dokudan salgılanan apelin, APJ reseptörüne bağlanarak etkilerini ortaya koymaktadır. Artan yağ doku kitlesi ile obezite gelişmekte ve obeziteye bağlı apelin salgısının da arttığı bilinmektedir. Obezitenin kanser gelişiminde bir risk faktörü olması, hem apelinin hem de reseptörünün testis ve prostat dokusunda yaygın bir şekilde bulunması apelinin prostat kanseri üzerinde önemli etkilerinin olabileceğini akla getirmektedir. Bu çalışmada ilk olarak, apelin-13'ün 0.1, 1 ve 10 nM'lik konsantrasyonları, testosteron hormonunun ise 1, 10, 100 nM'lik konsantrasyonları LNCaP (androjen reseptör pozitif) ve DU-145 (androjen reseptör negatif) insan prostat kanseri hücre serilerine ayrı ayrı uygulandı. Daha sonra testosteron hormonunun 1, 10, 100 nM'lik konsantrasyonları ile 24 saat inkübe edilen prostat kanser hücrelerine apelin-13'ün 10 nM'lik dozu uygulandı ve 24 saat inkübasyona bırakıldı. Apelin-13 ve testosteron hormonlarının prostat kanseri hücre canlılığı üzerine etkileri, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay ile belirlendi. Çalışma sonunda uygulanan apelin-13 ve testosteronun LNCaP hücre canlılığını arttırdığı ($p < 0.001$), DU-145 hücre canlılığını ise etkilemediği belirlendi. Apelin-13 ile testosteronun birlikte uygulandığı LNCaP hücre serilerinde, sadece apelin ve testosteron uygulamalarına kıyasla daha güçlü bir proliferatif etki meydana geldiği ($p < 0.001$) ancak DU-145 hücrelerinde herhangi bir etkinin olmadığı gözlemlendi. Sonuç olarak, apelin-13, LNCaP hücre serilerinde testosteronun etkisine benzer şekilde poliferasyona sebep olurken, DU-145 hücreleri üzerine herhangi bir etki göstermedi. Bu sonuçlar, apelin-13'ün etkilerini testosteronun etkisine benzer şekilde androjen reseptör bağımlı bir mekanizma üzerinden ortaya koyduğuna delil teşkil etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apelin, testosteron, prostat kanseri, LNCaP, DU-145

(Rec.Date: Mar 14, 2014)

Accept Date: Mar 31, 2014)

Corresponding Author: Suat Tekin, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye.

E-mail: suat.tekin@inonu.edu.tr

Giriş

Kanser kontrol edilemeyen hücre çoğalması ve anormal hücre yapılarının vücuda yayılması ile karakterize edilen bir hastalıktır. Dünya kanser raporu verilerine göre 2012 yılında Dünyada toplam 14,1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş ve 8,2 milyon kişide kansere bağlı ölüm olmuştur [1]. Değişik tipteki çoğu kanser türleri için kesin çözüm olabilecek bir tedavi yöntemi tam olarak geliştirilemediği ve hastalığın giderek artış göstermesinden dolayı bu yöndeki çalışmalar artarak devam etmekte ve güncelliğini korumaktadır [2-4]. Sağlık bakanlığı verilerine göre ülkemizde erkekler arasında akciğer kanserinden sonra en sık görülen kanser tipinin prostat kanseri olduğu belirtilmektedir [1]. Diyet ve hormonal faktörlerin prostat kanser gelişimini etkilediği bilinmektedir [5-8]. Yapılan çalışmalarda başta testosteron olmak üzere adrenal veya eksojen kaynaklı androjenler olmadan prostat karsinogenezinin başlamayacağı rapor edilmiştir [9]. Prostat kanseri tümörlerinden bazıları farklı hormonal yaklaşımlara yanıt verebilmekte ancak bazı tümörler (hormona dirençli) hormonal yaklaşımlara cevap vermemektedir [10]. Androjen bağımlı tümörler androjen yokluğunda gerilerken, androjen bağımsız tümörler cerrahi yada medikal kastrasyona rağmen büyümesine devam etmektedir [11]. Bu yüzden prostat kanseri tedavisinde öncelikle androjen baskılayıcı tedaviler uygulanmakta ve buna karşın ilerleyen prostat kanserleri sonrasında en sık kullanılan yöntem antiandrojenlerin geri çekilmesidir. Bu aşamadan sonra ise kanser tedavisinde ikincil hormonal tedaviler ve sitotoksik kemoterapilere yer verilmektedir [12]. Androjenler, prostata özgü faaliyetlerin düzenlenmesinden sorumlu olan tek hormon grubu değildir [13, 14]. Son zamanlarda yağ dokusunun protein sinyallerini ve adipokin adı verilen çok sayıda faktörleri salgılayarak aktif bir endokrin organ gibi çalıştığı rapor edilmiştir [15]. Artmış yağ doku kitlesi artmış adipokin salgısı ile karakterize edilmekte ve obezite ile sonuçlanmaktadır [16]. Obezite ise kanser gelişiminde bir risk faktörü olarak tanımlanmaktadır [17]. Bu durum akla adipokinler ile kanser arasında bir ilişki olabileceği fikrini getirmekte ve çalışmalar bu yönde ağırlık kazanmaktadır [18, 19]. Apelin, Tatemato ve ark. tarafından tanımlanmış bir adipokindir [20]. 77 aminoasitlik bir preprohormondan köken alan apelinin 12, 13, 36 aminoasitten oluşan farklı formlarının da olduğu bilinmektedir [21,22]. Yapılan çalışmalar sonucunda apelinin biyolojik olarak en aktif formunun 13 aminoasitten oluşan apelin-13 olduğu ve etkilerini APJ reseptörüne bağlanarak ortaya koyduğu gösterilmiştir [20,21]. İnsanlar, sıçanlar ve fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda apelin ve APJ'nin birçok dokuda varlığı tespit edilmiştir. Apelin ve APJ'ye ait

mRNA'nın özellikle yüksek konsantrasyonda beyincik, damar endoteli, kalp, akciğer, böbrek ve prostat dokusunda olduğu belirlenmiştir [20,22-25]. Hem apelininin hemde reseptörünün insan prostat dokusunda tespit edilmesi [25], vücutta artan yağ doku miktarı ile apelin sentezinin arttığının bilinmesi [26,27] ve kanser gelişiminde obezitenin bir risk faktörü olması [19,28], apelin ile prostat kanseri arasında bir ilişki olabileceğinin düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarla apelinin anjiyogenez, lenfanjiyogenez ve tümör büyümesini uyardığı gösterilmiştir [29,30]. Apelin ekspresyonundaki artışın insan kanser türlerinden bazılarının gelişimini arttırdığı bilinmektedir [29]. Apelinin değişik kanser türleriyle ilişkisi kısmen literatürde yer almakta ancak prostat kanser gelişiminde apelinin ne gibi roller üstleneceği bilinmemektedir. Bu çalışma, apelin-13'ün farklı tip insan prostat kanser hücre serilerinde, hücre canlılığını nasıl etkileyeceğini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Kimyasallar

Fetal bovine serum (Biological Industries, İsrail), penisilin-streptomisin (Biological Industries, İsrail), etil alkol (ETOH; Merck, Almanya), dimetil sülfoksit (DMSO; Merck, Almanya), apelin-13, testosteron, RPMI-1640 medyum ve diğer kimyasallar (Sigma-Aldrich, ABD) satın alındı. Deneylerin tüm safhalarında bi-distile su kullanıldı. Test edilecek apelin-13, RPMI-1640 medyumda çözülerek 0.1, 1 ve 10 nM'lik konsantrasyonları, testosteronun ise 1, 10 ve 100 nM'lik konsantrasyonları deneyde kullanılmak üzere ETOH'da çözülerek hazırlandı [4].

Hücre kültürü

Çalışmamızda androjen reseptör pozitif insan prostat kanser hücre hattı (LNCaP) ve androjen reseptör negatif insan prostat kanser hücre hattı (DU-145) kullanıldı. Çalışma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Moleküler Araştırmalar Laboratuvarında yapıldı. Tüm hücreler 25 cm² kültür flasklarında, RPMI-1640 (%10 FBS, 100U/ml penisilin ve 0.1mg/ml streptomisin ilave edilen) medyum ile beslendi. Karbondioksitli inkübatörde (%5 CO₂+%95 O₂; Panasonic Japonya), 37°C'de ve nemli ortamda tutulan hücrelerin medyumları haftada iki defa değiştirildi. Hücreler konfluent olduğunda, tripsin-EDTA solüsyonu kullanılarak flasklardan söküldü ve 96 kuyucuklu plaklara (15x10³ hücre) aktarıldı. Plaklar 24 saat süreyle inkübe edildi. Hormonlar ile muamele edilmeden önce hücrelerin canlılık oranları

%0.4 tripan mavisi kullanılarak belirlendi. Canlılık oranının %90'ın altında olduğu durumlarda deneylere başlanmadı [2,4]. Test edilecek apelin-13 hormonun 0.1, 1 ve 10 nM'lik, testosteron hormonunun 1, 10 ve 100 nM'lik konsantrasyonları ile aynı miktarlarda çözücü (ETOH) hücrelerin içinde bulunduğu kuyucuklara ayrı ayrı ilave edildi ve hücreler 24 saat süreyle 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Hormonların hücre canlılığı üzerine etkisi 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)- difenil tetrazolium bromid (MTT) assay yöntemi ile tespit edildi. Bu hormonların prostat kanser hücreleri üzerindeki etkileri ayrı ayrı belirlendikten sonra testosteron hormonunun tüm konsantrasyonları ile hücreler 24 saat inkübe edildi ve apelin-13'ün 10 nM'lik (yüksek) dozu aynı kuyucuklara eklenerek testosteron+apelin uygulamasının hücre canlılığı üzerindeki etkileri belirlendi.

MTT Assay

Sitotoksik etkiler, sitotoksitenin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan enzimatik test yöntemlerinden biri olan MTT assay ile belirlendi. Bu yöntem, MTT boyasının tetrazolium halkasını parçalayabilmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu yöntemde, MTT canlı hücrelere aktif olarak absorbe olur ve reaksiyon mitokondriyal süksinat dehidrogenaz tarafından katalize edilerek mavi-mor renkli, suda çözünmeyen formazana indirgenir. Formazan oluşumu yalnızca aktif mitokondrinin bulunduğu canlı hücrelerde görülmektedir. Bu da hücre canlılığının bir belirteci olarak kabul edilir ve spektrofotometrik olarak belirlenen değer yaşayan hücre sayısı ile ilişkilendirilir [31,32]. Steril PBS içerisinde hazırlanan stok MTT solüsyonundan, 0.5 mg/mL MTT çalışma solüsyonu hazırlandı ve 96 kuyucuklu plaklara ilave edildi. İnkübatörde 3 saat bekletildikten sonra plakalardaki hücrelerin optik dansiteleri, ELISA cihazında (Synergy HT, ABD) 550 nm dalga boyunda okundu [33]. Kontrol kuyucukları okutularak elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alındı ve bu değer %100 canlı hücre olarak kabul edildi. Çözücü ve hormon uygulanan kuyucuklardan elde edilen absorbans değerleri, kontrol absorbans değerine oranlandı ve yüzde canlılık olarak kabul edildi [3,4]. MTT denemeleri farklı günlerde en az on kez tekrar edildi [2,4].

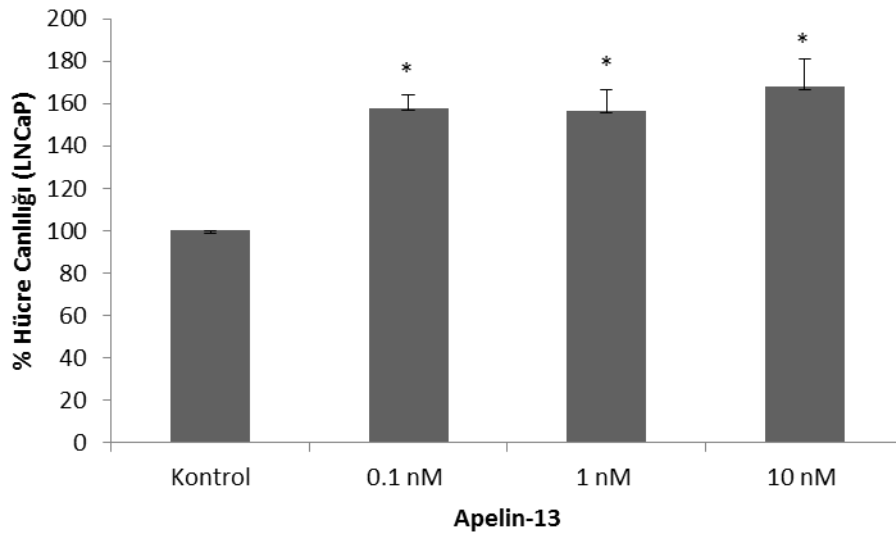
İstatistiksel Analiz

Grupların normal dağılıma uygunluğu, Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Varyansların homojenliği, Levene testi ile analiz edildi. Tek yönlü varyans analizi sonrası varyansların homojen

olmadığı gözlemlendi ve çoklu karşılaştırmalar için TAMHANE T2 testi kullanıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi.

Bulgular

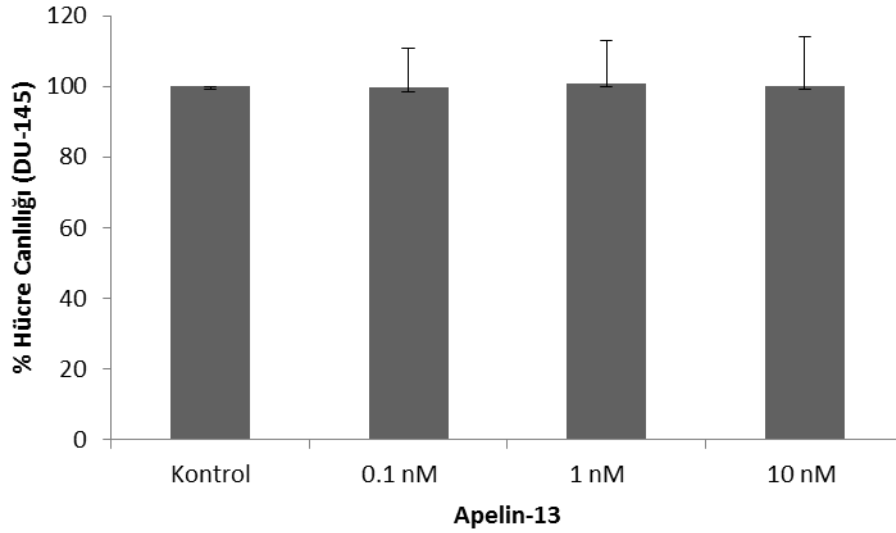
Apelin-13'ün 0.1, 1 ve 10 nM'lik konsantrasyonlarının uygulanmasından 24 saat sonra LNCaP hücrelerinin canlılık oranlarında meydana gelen % değişimler Şekil 1'de gösterilmiştir.



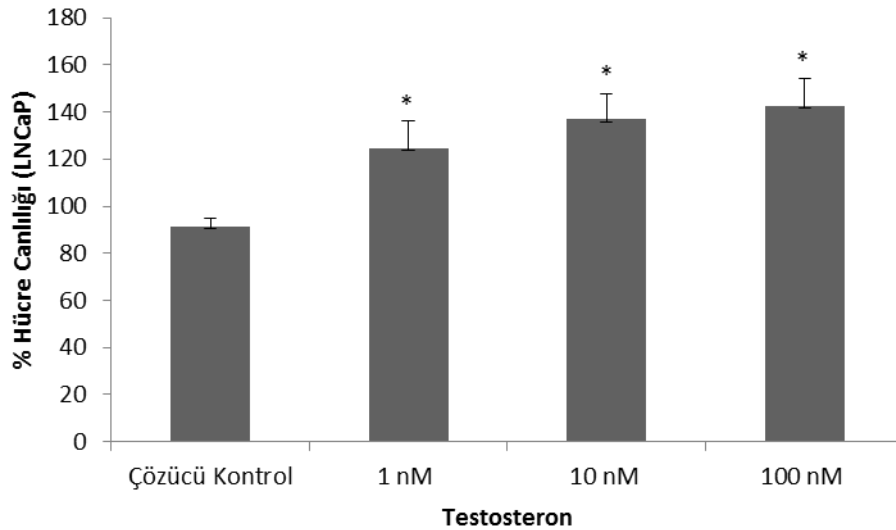
Şekil 1. Apelin-13 uygulanmasından sonra LNCaP hücrelerinin canlılığında meydana gelen % değişiklikler (Ort $\pm$ SD; * $p < 0.001$ Kontrol grubuna kıyasla diğer gruplar; TAMHANE Post Hoc Tukey HSD).

DU-145 hücrelerinin 0.1, 1 ve 10 nM'lik apelin-13 ile 24 saat inkübe edildikten sonra hücre canlılığında meydana gelen % değişimler Şekil 2'de sunulmuştur. Uygulanan apelin-13'ün tüm konsantrasyonları LNCaP hücrelerinde proliferatif bir etki gösterirken ($p < 0.001$), DU-145 hücrelerinin canlılık oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir etkinin meydana gelmediği gözlemlendi. Testosteron hormonunun 1, 10 ve 100 nM konsantrasyonları 24 saat süreyle LNCaP ve DU-145 hücre hattına uygulandı. İnkübasyon sonrası LNCaP hücrelerin canlılık oranlarında meydana gelen % değişimler Şekil 3'de, DU-145 hücrelerin canlılık oranlarında meydana gelen % değişimler Şekil 4'te gösterilmiştir. Buna göre testosteron

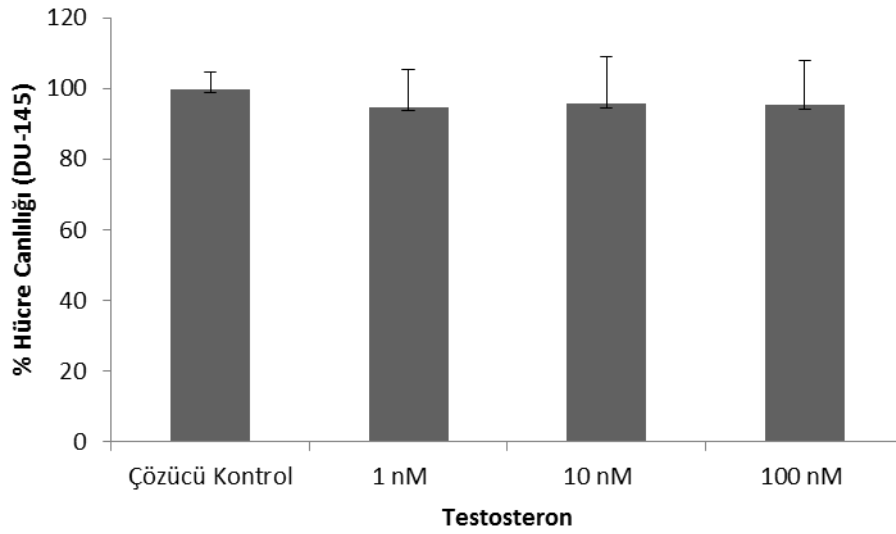
uygulanmasının LNCaP hücrelerinin canlılığını arttırdığı ($p<0.001$), DU-145 hücrelerinin canlılığında ise herhangi bir etki meydana getirmediği tespit edildi.



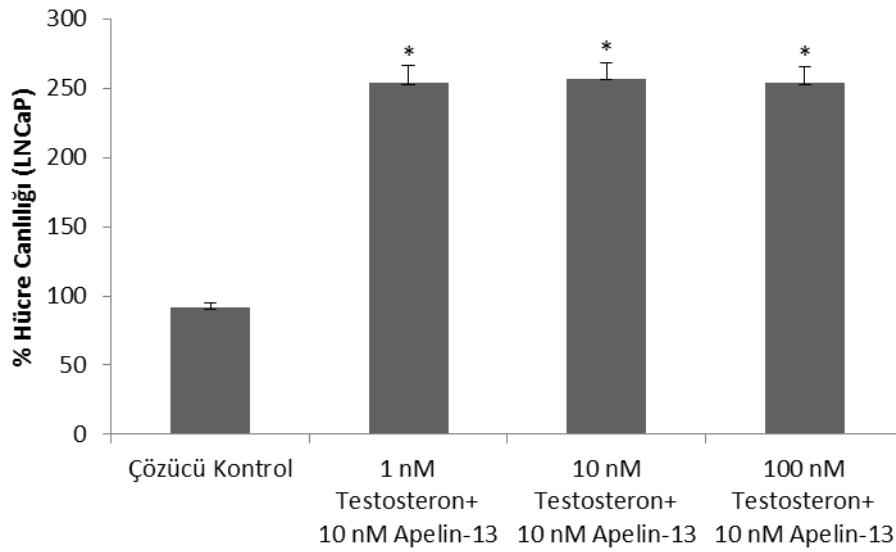
Şekil 2. Apelin-13 uygulanmasından sonra DU-145 hücrelerinin canlılığında meydana gelen % değişiklikler (Ort $\pm$ SD; $p>0.05$ Kontrol grubuna kıyasla diğer gruplar; TAMHANE Post Hoc Tukey HSD).



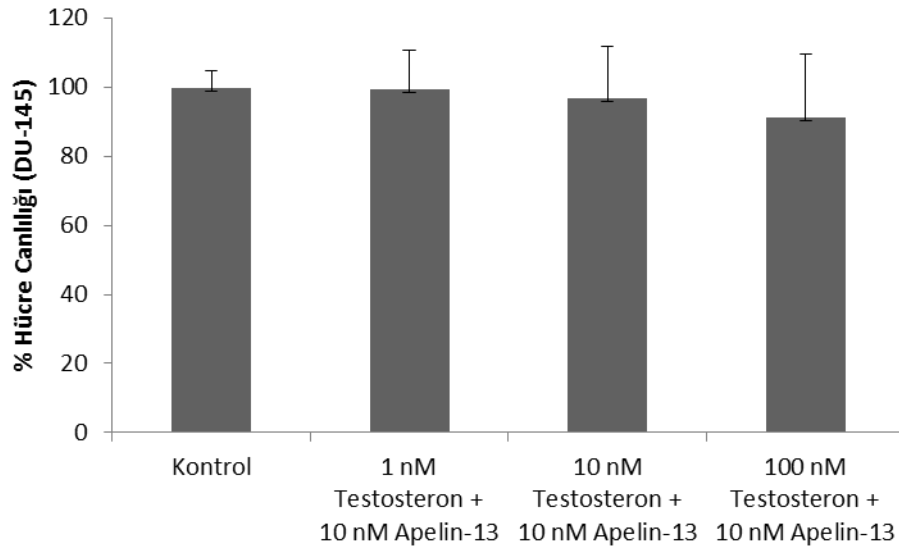
Şekil 3. Testosteron hormonunun 24 saat inkübasyon sonrası LNCaP hücrelerinin canlılığında meydana getirdiği % değişiklikler (Ort $\pm$ SD; $*p<0.001$ Kontrol grubuna kıyasla diğer gruplar; TAMHANE Post Hoc Tukey HSD).



Şekil 4. Testosteron hormonunun 24 saat inkübasyon sonrası DU-145 hücrelerinin canlılığında meydana getirdiği % değişiklikler (Ort $\pm$ SD; $p > 0.05$ Kontrol grubuna kıyasla diğer gruplar; TAMHANE Post Hoc Tukey HSD).



Şekil 5. Testosteron hormonunun 24 saat inkübasyon sonrası, 10 nM apelin-13 uygulamasının LNCaP hücrelerinin canlılığında meydana getirdiği % değişiklikler (Ort $\pm$ SD; $*p < 0.001$ Kontrol grubuna kıyasla diğer gruplar; TAMHANE Post Hoc Tukey HSD).



Şekil 6. Testosteron hormonunun 24 saat inkübasyon sonrası, 10 nM apelin-13 uygulamasının DU-145 hücrelerinin canlılığında meydana getirdiği değişiklikler (Ort $\pm$ SD; $p > 0.05$ Kontrol grubuna kıyasla diğer gruplar; TAMHANE Post Hoc Tukey HSD).

Tartışma

Kanser, hücrelerde DNA'nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalmasıdır. Prostat kanseri, genellikle 50 yaşın üzerindeki erkeklerde önemli bir sağlık sorunudur ve erkeklerde kansere bağlı ölümlerin önemli bir nedenidir [34,35]. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2010 yılında 217,730 kişi prostat kanser tanısı koyulmuş ve 32,050 kişinin prostat kanseri nedeni ile öldüğü bildirilmiştir [36]. Avrupada yıllık 190.000 civarında kişiye prostat kanseri tanısı konulduğu ve bu hastalıktan dolayı 80.000 kişinin öldüğü belirtilmektedir [37]. Ülkemizde ise erkekler arasında prostat kanseri, akciğer kanserinden sonra en fazla görülen ikinci kanser tipidir [1]. Hastalığın insidansının yüksek olması nedeniyle bu yönde yapılan çalışmalar güncelliğini korumaktadır. Prostat kanserinin ortaya çıkması ve gelişmesinde başta testosteron olmak üzere bazı hormonların rolü olduğu ve hormonların etkisi olmadan prostat kanseri olmayacağı bildirilmektedir [38]. Testosteron sadece prostat kanser gelişiminde değil aynı zamanda Benign prostat hiperplazisinin (BPH) patogeneğinde aktif rol oynamaktadır [39,40]. Prostatın büyümesi ve gelişiminin testosteron ve onun aktif metaboliti olan dihidrotestesteronun (DHT) etkisi altında gerçekleştiği ve BPH'nin oluşması için androjen reseptörlerinin DHT ile stimülasyonun gerekli olduğu

bildirilmiştir [41,42]. Bizim çalışmamızda androjen reseptör pozitif (LNCaP) ve androjen reseptör negatif (DU-145) insan prostat kanseri hücre hatları kullanılarak testosteron hormonunun 1, 10 ve 100 nM'lik konsantrasyonlarının hücre canlılığı üzerindeki etkileri belirlendi. LNCaP hücrelerinde yapılan denemelerde testosteron uygulanan gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, testosteron androjen reseptör pozitif hücre serilerinde hücre çoğalmasını arttırdığı tespit edildi. Androjen reseptör negatif hücre serilerinde ise (DU-145) testosteronun herhangi bir etki meydana getirmediği tespit edildi. DU-145 hücreleri ilaca ve hormona dirençli hücre hatları olduklarından [43] dolayı testosteron hormonunun LNCaP hücrelerinde proliferatif etkiyi androjen reseptörü üzerinden gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Yağ dokunun, aktif endokrin organ gibi birçok hormon ve sitokin salgıladığı bilinmektedir [44-46]. Yağ doku kitlesindeki artışın, kanser gelişiminde bir risk faktörü olduğu [47] ve yüksek kalorili diyetlerin kanser etiyojisinde rol oynadığı bilinmektedir [48]. Obezitenin bazı kanser formlarıyla olan ilişkisi uzun zamandır bilinmekte [49] ve obezite ile kanser arasındaki önemli bağlantılardan birinin anormal adipokin salgısı olduğu ileri sürülmektedir [50]. Mevcut literatürlerde yağ doku kaynaklı bazı hormonların kanser ile ilişkisini açıklayan çalışmalar bulunmaktadır [51-54]. Yağ doku kaynaklı bir hormon olan visfatinin, MCF-7 hücre hattı üzerinde yapılan denemeleri sonucu bu hormonun doz bağımlı olarak hücre canlılığını arttığı gösterilmiştir [51]. Catalano ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, MCF-7 meme kanseri hücre serilerinde başka bir yağ doku hormonu olan leptinin aromataz aktivitesini indüklediği, östrojen sentezini arttırdığı ve östrojen bağımlı meme kanseri progresyonuna neden olduğu gösterilmiştir [52]. Yapılan bir başka çalışmada ise leptinin meme, özofagus ve prostat kanser hücrelerinin büyümesini arttırdığı gösterilmiştir [53,54]. Bu bulgular yağ doku hormonları ile kanser arasındaki ilişkiyi giderek güçlü kılmaktadır.

Apelin hormonu ve kanser arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmaların sayısı oldukça azdır. Normal ve tümör hücrelerinde apelin gen ifadesinin karşılaştırmalı analizi yapılmış ve sonuç olarak insan tümörlerinin üçte birinde apelin gen seviyesinin arttığı gösterilmiştir [55]. Kolon kanserinin araştırıldığı bir çalışmada, insan kolon kanser hücrelerinde apelin mRNA düzeyinin fazla olduğu ve çeşitli kanser hücrelerinde apelin sentezinin olduğu rapor edilmiştir [55]. İnsan akciğer kanseri üzerinde apelinin rollerini açıklamaya yönelik bir çalışmada apelinin hücre canlılığını etkilemediği, yapılan *in vivo* denemelerde ise apelinin anjiyogenezi uyararak kanser hücrelerinin gelişimini arttırdığı gösterilmiştir [56]. Heo ve ark. insan dil

kanseri hücreleri üzerinde yapmış oldukları bir başka çalışmada, apelinin hücre canlılığını arttırdığını rapor etmişlerdir [57]. Çeşitli hücre tipleri üzerinde yapılan araştırmalarda apelin sinyallerinin hücrelerde anti-apoptotik etkiye neden olduğu bildirilmiştir [58-60]. Tüm bu bulgular apelinin prostat kanserinde de etkili olabileceği fikrini akla getirmektedir. Bizim çalışmamızda apelin-13'ün 0.1, 1 ve 10 nM'lik konsantrasyonları LNCaP ve DU-145 hücrelerine uygulandı ve apelin-13'ün LNCaP ve DU-145 hücre canlılığı üzerine olası etkileri araştırıldı. Yapılan denemelerde apelin-13, LNCaP hücre serilerinde testosteronun etkisine benzer şekilde proliferasyona sebep olurken, DU-145 hücreleri üzerine herhangi bir etki göstermedi. Bu sonuçlar bize, apelin-13'ün etkilerini testosteron hormonu gibi androjen reseptör bağımlı bir mekanizma üzerinden ortaya koyduğunu düşündürmektedir.

Sonuçlarımız apelin-13'ün insan prostat kanseri hücrelerinde testosteron hormonuna benzer şekilde hücre canlılığını arttırdığını göstermiştir. Bu artış sadece androjen reseptör pozitif hücrelerde meydana geldiğinden, etkinin androjen bağımlı bir mekanizma üzerinden gerçekleştiğini bizlere düşündürmektedir. Mekanizmanın daha iyi anlaşılması için ek ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (İBAP Proje No: 2011/180) tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu: <http://www.kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri.html> access date 11.03.2014
2. Beytur A, Tekin S, Keleştemur T, Ergin Z, Sandal S. Yeni sentezlenen bir tiyosemikarbazon türevinin prostat kanseri hücre kültürleri üzerine antikanserojenik özelliklerinin belirlenmesi: In vitro bir çalışma. F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg. 2011;25(1): 25-32.
3. Genc Z, Tekin S, Sandal S, Sekerci M, Genc M. Synthesis and DFT studies of structural and some spectral parameters of nickel(II) complex with 2-(2-hydroxybenzoyl)-N-(1-adamantyl) hydrazine carbothioamide. Research on Chemical Intermediates. 2014;1-12.

4. Koyunoğlu F, Tekin S, Konar V, Sandal S. İnsan meme kanseri hücre serileri (MCF-7) üzerine apelin-13'ün etkilerinin araştırılması: In vitro bir çalışma. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2013;1(1):23-8.
5. Whittemore AS, Kolonel LN, Wu AH, John EM, Gallagher RP, Howe GR, Burch JD, Hankin J, Dreon DM, West DW, et al. Prostate cancer in relation to diet, physical activity, and body size in blacks, whites, and Asians in the United States and Canada. J Natl Cancer Inst. 1995;87(9):652-61.
6. Hsing AW, Chokkalingam AP. Prostate cancer epidemiology. Front Biosci. 2006;11: 1388-413.
7. Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci EL. What causes prostate cancer? A brief summary of the epidemiology. Seminars in Cancer Biology. 1998;8(4):263-73.
8. Bangma CH, Kranse R, Blijenberg BG, Schröder FH. The value of screening tests in the detection of prostate cancer. Part II: Retrospective analysis of free/total prostate-specific analysis ratio, age-specific reference ranges, and PSA density. Urology. 1995; 46(6):779-84.
9. Vis AN, Schroder FH. Key targets of hormonal treatment of prostate cancer. Part 1: the androgen receptor and steroidogenic pathways. BJU Int. 2009;104(4):438-48.
10. Tunçkiran A, Bozlu B. Hormona dirençli prostat kanseri hastalarında dosetaksel, estramustin fosfat ve karboplatin kombinasyonunun Faz-2 çalışması. European Urology. 2007;51:1252-8.
11. Oh WK. Chemotherapy for patients with advanced prostate carcinoma: a new option for therapy. Cancer. 2000; 88(12 Suppl): 3015-21.
12. Calabrò F, Sternberg CN. Current Indications for Chemotherapy in Prostate Cancer Patients. European Urology. 2007;51(1):17-26.
13. Nalabolu MR, Palasamudram K, Jamil K. Adiponectin and Leptin Molecular Actions and Clinical Significance in Breast Cancer. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res. 2014; 8(1):31-40.
14. King B, Jiang Y, Su X, Xu J, Xie L, Standard J, Wang W. Weight control, endocrine hormones and cancer prevention. Exp Biol Med (Maywood). 2013;238(5):502-8.
15. Sandal S, Tekin S. Adipoz Dokudan Salgılanan Bir Hormon: Apelin. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2013;1:55-62.
16. Aktaş G, Şit M, Tekçe H. Yeni adipokinler: Leptin, Adiponektin ve Omentin. Abant Medical Journal. 2013;2(1):56-62.
17. Park SH, Chang SN, Baek MW, Kim DJ, Na YR, Seok SH, Lee BH, Kim KS, Park JH. Effects of dietary high fat on prostate intraepithelial neoplasia in TRAMP mice. Lab Anim Res. 2013;29(1):39-47.
18. Catalan V, Gomez-Ambrosi J, Rodriguez A, Fruhbeck G. Adipose tissue immunity and cancer. Front Physiol. 2013;4:275.
19. De Pergola G, Silvestris F. Obesity as a major risk factor for cancer. J Obes. 2013;2013:291546.

20. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou M-X, Kawamata Y, Fukusumi S, Hinuma S, Kitada C, Kurokawa T, Onda H, Fujino M. Isolation and Characterization of a Novel Endogenous Peptide Ligand for the Human APJ Receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1998;251(2):471-6.
21. Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, Hinuma S, Kitada C, Honda S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J Biol Chem*. 2000;275(28):21061-7.
22. Kawamata Y, Habata Y, Fukusumi S, Hosoya M, Fujii R, Hinuma S, Nishizawa N, Kitada C, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2001;1538(2-3):162-71.
23. De Falco M, De Luca L, Onori N, Cavallotti I, Artigiano F, Esposito V, De Luca B, Laforgia V, Groeger AM, De Luca A. Apelin expression in normal human tissues. *In Vivo*. 2002;16(5):333-6.
24. Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, Fujimiya M. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept*. 2001;99(2-3):87-92.
25. Klein MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology & Therapeutics*. 2005;107(2):198-211.
26. Than A, Cheng Y, Foh LC, Leow MK, Lim SC, Chuah YJ, Kang Y, Chen P. Apelin inhibits adipogenesis and lipolysis through distinct molecular pathways. *Mol Cell Endocrinol*. 2012;362(1-2):227-41.
27. Krist J, Wieder K, Kloting N, Oberbach A, Kralisch S, Wiesner T, Schon MR, Gartner D, Dietrich A, Shang E, Lohmann T, Dressler M, Fasshauer M, Stumvoll M, Bluher M. Effects of weight loss and exercise on apelin serum concentrations and adipose tissue expression in human obesity. *Obes Facts*. 2013;6(1):57-69.
28. Zelenko Z, Gallagher EJ. Diabetes and Cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014;43(1):167-85.
29. Rayalam S, Della-Fera MA, Kasser T, Warren W, Baile CA. Emerging role of apelin as a therapeutic target in cancer: a patent review. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*. 2011;6(3):367-72.
30. Picault FX, Chaves-Almagro C, Progetti F, Prats H, Masri B, Audigier Y. Tumour co-expression of apelin and its receptor is the basis of an autocrine loop involved in the growth of colon adenocarcinomas. *Eur J Cancer*. 2014;50(3):663-74.
31. Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods*. 1986;89(2):271-7.
32. Horáková Kn, Šovčíková A, Seemannová Z, Syrová D, Bušányová Kn, Drobná Z, Ferenčík M. Detection of drug-induced, superoxide-mediated cell damage and its prevention by antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001;30(6):650-64.

33. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983;65(1-2):55-63.
34. Cimino S, Sortino G, Favilla V, Castelli T, Madonia M, Sansalone S, Russo GI, Morgia G. Polyphenols: key issues involved in chemoprevention of prostate cancer. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;2012:632959.
35. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(4):212-36.
36. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*. 2010; 60(5): 277-300.
37. Boyle P, Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol*. 2005; 16(3):481-8.
38. Isaacs JT. The biology of hormone refractory prostate cancer. Why does it develop? *Urol Clin North Am*. 1999;26(2):263-73.
39. Bisson JF, Hidalgo S, Simons R, Verbruggen M. Preventive Effects of Lignan Extract from Flax Hulls on Experimentally Induced Benign Prostate Hyperplasia. *J Med Food*. 2014. [Epub ahead of print]
40. Chen G, Liu H, Cheng F. Fangjihuangqi tang improved lower urinary tract dysfunction in benign prostatic hyperplasia rats model. *J Tradit Chin Med*. 2013; 33(3):349-54.
41. Bhargava S. Increased DHT levels in androgenic alopecia have been selected for to protect men from prostate cancer. *Med Hypotheses*. 2014;82(4):428-32.
42. Ming DS, Pham S, Deb S, Chin MY, Kharmate G, Adomat H, Beheshti EH, Locke J, Guns ET. Pomegranate extracts impact the androgen biosynthesis pathways in prostate cancer models in vitro and in vivo. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;143C:19-28.
43. Uzunoglu S, Karaca B, Atmaca H, Kisim A, Karabulut B, Uslu R. Targeting Bcl-2 Protein to Enhance Chemosensitivity of Hormone Refractory Prostate Cancer Cell Line, DU-145 by a Synergistic Combination of Docetaxel and Gossypol. *Turkiye Klinikleri Tip Bilimleri Dergisi*. 2011;31(4):859-66.
44. Gimble JM. Adipose tissue-derived therapeutics. *Expert Opin Biol Ther*. 2003;3(5): 705-13.
45. Wozniak SE, Gee LL, Wachtel MS, Frezza EE. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Dig Dis Sci*. 2009;54(9):1847-56.
46. Liu Y, Song CY, Wu SS, Liang QH, Yuan LQ, Liao EY. Novel adipokines and bone metabolism. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:895045.
47. Donohoe CL, O'Farrell NJ, Doyle SL, Reynolds JV. The role of obesity in gastrointestinal cancer: evidence and opinion. *Therap Adv Gastroenterol*. 2014;7(1): 38-50.
48. Popkin BM. Understanding global nutrition dynamics as a step towards controlling cancer incidence. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(1):61-7.

49. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505): 425-32.
50. Hebbard L, Ranscht B. Multifaceted roles of adiponectin in cancer. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2014;28(1):59-69.
51. Kim JG, Kim EO, Jeong BR, Min YJ, Park JW, Kim ES, Namgoong IS, Kim YI, Lee BJ. Visfatin stimulates proliferation of MCF-7 human breast cancer cells. *Mol Cells*. 2010;30(4):341-5.
52. Catalano S, Mauro L, Marsico S, Giordano C, Rizza P, Rago V, Montanaro D, Maggiolini M, Panno ML, Ando S. Leptin induces, via ERK1/ERK2 signal, functional activation of estrogen receptor alpha in MCF-7 cells. *J Biol Chem*. 2004;279(19): 19908-15.
53. Somasundar P, Yu AK, Vona-Davis L, McFadden DW. Differential effects of leptin on cancer in vitro. *The Journal of surgical research*. 2003;113(1):50-5.
54. Arditì JD, Venihaki M, Karalis KP, Chrousos GP. Antiproliferative effect of adiponectin on MCF7 breast cancer cells: a potential hormonal link between obesity and cancer. *Horm Metab Res*. 2007;39(1):9-13.
55. Sorli SC, Le Gonidec S, Knibiehler B, Audigier Y. Apelin is a potent activator of tumour neoangiogenesis. *Oncogene*. 2007;26(55):7692-9.
56. Berta J, Kenessey I, Dobos J, Tovari J, Klepetko W, Jan Ankersmit H, Hegedus B, Renyi-Vamos F, Varga J, Lorincz Z, Paku S, Ostoros G, Rozsas A, Timar J, Dome B. Apelin expression in human non-small cell lung cancer: role in angiogenesis and prognosis. *J Thorac Oncol*. 2010;5(8):1120-9.
57. Heo K, Kim YH, Sung HJ, Li HY, Yoo CW, Kim JY, Park JY, Lee UL, Nam BH, Kim EO, Kim SY, Lee SH, Park JB, Choi SW. Hypoxia-induced up-regulation of apelin is associated with a poor prognosis in oral squamous cell carcinoma patients. *Oral Oncol*. 2012;48(6):500-6.
58. Cui RR, Mao DA, Yi L, Wang C, Zhang XX, Xie H, Wu XP, Liao XB, Zhou H, Meng JC, Yuan LQ, Liao EY. Apelin suppresses apoptosis of human vascular smooth muscle cells via APJ/PI3-K/Akt signaling pathways. *Amino Acids*. 2010;39(5): 1193-200.
59. Xie H, Yuan L-Q, Luo X-H, Huang J, Cui R-R, Guo L-J, Zhou H-D, Wu X-P, Liao E-Y. Apelin suppresses apoptosis of human osteoblasts. *Apoptosis*. 2007;12(1): 247-54.
60. Zeng XXI, Wilm TP, Sepich DS, Solnica-Krezel L. Apelin and Its Receptor Control Heart Field Formation during Zebrafish Gastrulation. *Developmental Cell*. 2007; 12(3):391-402.