



Siçanlarda, 7,12 Dimetil Benzantrazen ile Oluşturulan Yumuşak Doku Sarkomunda Genisteinin Koruyucu Rolü

Hasan GENÇOĞLU^{1, a}
Zeynep TUZCU^{1, b}
Mehmet TUZCU^{1, c}
Cemal ORHAN^{2, d}
Fatih AKDEMİR^{3, e}
İbrahim H. ÖZERCAN^{4, f}
Nurhan ŞAHİN^{2, g}
Kazım ŞAHİN^{2, h}

¹ Firat Üniversitesi,
Fen Fakültesi,
Biyoloji Bölümü,
Moleküler Biyoloji ve
Genetik Programı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Firat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Hayvan Besleme ve
Beslenme Hastalıkları
Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

³ İnönü Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi,
Su Ürünleri Yetiştiriciliği
Bölümü,
Malatya, TÜRKİYE

⁴ Firat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-7716-552X

^b ORCID: 0000-0002-5331-4893

^c ORCID: 0000-0002-1329-3143

^d ORCID: 0000-0003-4138-7689

^e ORCID: 0000-0002-5779-6631

^f ORCID: 0000-0002-8781-8838

^g ORCID: 0000-0001-9487-1154

^h ORCID: 0000-0001-9542-5244

Geliş Tarihi : 24.02.2018

Kabul Tarihi : 24.04.2018

Yazışma Adresi Correspondence

Kazım ŞAHİN
Firat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Hayvan Besleme ve
Beslenme Hastalıkları
Anabilim Dalı,
Elazığ – TÜRKİYE

ksahin@firat.edu.tr

Genistein, soya fasülyesinde bulunan biyolojik olarak en aktif izoflavondur. Genisteinin östrojenik, antiöstrojenik, anti kanserojenik ve immün regülatör özellikleri bilinmektedir. Bu çalışmada, genisteinin siçanlarda kimyasal olarak oluşturulan yumuşak doku sarkomu üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, 45 adet Wistar albino ırkı erkek siçan, her biri 15 hayvan içeren 3 deney grubuna rastgele ayrılmıştır. (i) Kontrol: Herhangi bir uygulama yapılmayan normal kontrol siçanlarından oluştu. (ii) DMBA grubu: 7,12 dimetil benzantrazen (susam yağında çözülmüş DMBA, 50 mg/kg i.p.) ile fibroid tümör oluşturulan siçanlardan oluştu. (iii) DMBA+Genistein grubu: Fibroid tümör oluşturulmak amacıyla DMBA'yı i.p. olarak ikinci gruba benzer şekilde alan ve 20 hafta boyunca genistein (400 mg/kg diyet) verilen siçanlardan oluştu. Genistein takviyesi DMBA ile kıyaslandığında fibroid tümörlerin görülme sıklığını azalttı ($P<0.01$). Genistein ile beslenen siçanlarda oluşan tümörler DMBA grubunda bulunanlardan daha küçüktü ($P<0.001$). Serum malondialdehit (MDA) ($P<0.01$), 8-izoprostan ve 4-hidroksialkenal (HAE) ($P<0.05$) düzeyleri genistein grubunda DMBA grubuna göre düşük bulundu. Gruplarda oksidatif hasarın bir göstergesi olan serum 8-OHdG konsantrasyonları, DMBA grubuna kıyasla DMBA+Genistein grubunda belirgin olarak azaldı ($P<0.05$). Bu sonuçlar, genistein takviyesinin siçanlarda DMBA kaynaklı yumuşak doku sarkomlarının gelişimini inhibe edebildiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, genistein, DMBA, wistar siçan, fibroid tümör, sarkom

Protective Role of Genistein on DMBA-induced Soft Tissue Sarcoma in Rats

Genistein is the most bioactive isoflavone of soybean. It has been known with its effects as estrogen, antiestrogen, cancer inhibitor, and immune regulator. In this study, we investigated the effects of genistein on chemically induced soft tissue sarcoma in the rats. Forty-five male Wistar albino rats were randomly allocated to 3 experimental groups containing 15 rats in each. (i) Control: Standard control animals (no treatment). (ii) DMBA: These rats received 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) (50 mg/kg body weight of DMBA dissolved in sesame oil) i.p. injected to develop fibroid tumor. (iii) DMBA+Genistein: This group received DMBA i.p. similarly as DMBA group to develop fibroid tumor as well as supplemented with genistein (400 mg/kg diet) for 20 weeks of the study duration. Genistein supplementation decreased the incidence of fibroid tumors ($P<0.01$). The tumors found in DMBA+Genistein group were smaller than those found in DMBA group ($P<0.001$). Serum MDA ($P<0.01$), 8-isoprostane and HAE levels were lower in DMBA+Genistein group than DMBA group ($P<0.05$). The concentrations of serum 8-OHdG, which is a marker of oxidative damage, in the groups were lowered in DMBA+Genistein group compared to DMBA group ($P<0.05$). These results showed that genistein supplementation is able to inhibit the development of DMBA-induced soft tissue sarcomas in rats.

Key Words: Antioxidant, genistein, DMBA, wistar rat, fibroid tumour, sarcoma

Giriş

Yumuşak doku sarkomları; fibroid, yağ, kas ve sinir gibi vücudun yumuşak dokularında başlayan, 70'den fazla malign çeşidiyle çoğu durumda teşhisi ve sınıflandırması kolay olmayan nadir ve heterojen kanser tipleri olup alt tiplerinin her biri biyolojik ve moleküler açıdan farklıdır (1-3). Bununla birlikte karaciğerde karşılaşılan karsinosarkomlar çok nadir olarak primer olup daha ziyade primerleri yumuşak doku kökenli metastatik yapılarıdır (4). Genç yetişkinler ve yirmi yaşın altındaki ergen ve çocuklar arasında yumuşak doku sarkomu, kansere bağlı ölümlerin ilk beş nedeni arasında yer almaktadır (5, 6).

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), çevreye büyük miktarlarda salınan organik kirleticilerin bir sınıfıdır. 7,12 dimetil benzantrazen (DMBA) en yaygın ve en iyi bilinen PAH olup genotoksik ve tümörejenik bir çevresel kirleticidir (7). DMBA; DNA onarımına katılan pek çok enzimde hasar meydana getirmekte, lipid peroksidasyonu ve hücre antioksidan savunma sistemlerinin tükenmesine yol açan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesini sağlamakta ve deney hayvanı modellerinde kanseri indüklemek için kullanılmaktadır (8, 9).

Genistein, özellikle soyada yüksek miktarda bulunan, 7-hidroksi-izoflavonoidlerden biri olup, biyolojik açıdan aktif, fitoöstrojen özellikli bir bitkisel metabolittir (10). İlk olarak "Boyacı katırtırnağı" (*Genista tinctoria*) bitkisinden 1899'da izole edildiği anlaşıldığından kimyasal bileşenin adı genistein olarak isimlendirilmiş ve 1928 yılında da ilk defa

kimyasal olarak sentez edilmiştir (11). Fitoöstrojenler, bitkisel kökenli östrojenler olup endokrin sistem içerisinde üretilmeyen ancak fitoöstrojenik bitkilerin tüketilmesiyle metabolizmada östradiol gibi davranarak ilgili reseptörlere bağlanıp östrojenik veya anti-östrojenik etkinlik gösteren bileşiklerdir (12). Hayvan çalışmalarından elde edilen bulgular, fare meme bezinde östrojenik yolların aktive edildiğinin ortaya konması gibi veriler sayesinde genisteinin östrojenik etkinliğini daha fazla pekiştirmiştir (13). Genistein, serbest oksijen radikallerini üreten enzimlerin ekspresyonunu zayıflatarak artmış ROS seviyelerini indirgeyebilmektedir. Bu sayede pro-inflamatuar faktörlere bağlı vasküler endotel bariyer disfonksiyonuna karşı koruyucu rol oynayarak lökosit-endotel etkileşimini inhibe eder ve ateroskleroz patogenezinde önemli bir olay olan vasküler yangıyı azaltmada da rol oynadığı bildirilmektedir (14, 15).

Asya toplumlarında dünya çapındaki en ölümcül kanser tiplerinden olan meme kanseri insidansının düşük olması, dolaylı olarak soya gibi yüksek oranda genistein içeren ürünlerin fazlaca tüketilmesine bağlanmaktadır (10, 16). Bu önemli bileşik, topoizomeraz II aktivitesini engellemek veya S6 kinaz ve tirozin kinaz inhibitörü olması gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olması nedeniyle başlıca olarak kanser progresyonunu inhibe etme yeteneği ile bilinmektedir (17, 18). Fitoöstrojenlere ait apoptotik etkinlik ve kemosenesitizasyon etkisinin bildirilmekte, ayrıca genistein ile birlikte, daidzein ve sekoizolarisiresinölün kombine kullanılmasıyla, osteosarkom hücrelerinin yaşayabilirliği üzerinde sinerjik veya ilave önleyici etki sağlanmaktadır (19). Genisteinin proliferatif sinyal inhibisyonu ve hücre ölümünün indüksiyonu yoluyla üç farklı uterus sarkomu hücre hattında kanserli hücre sayılarını belirgin olarak azalttığı ayrıca bilinmektedir (20).

Bu bilgilerin ışığı altında, bu çalışmanın amacı, DMBA uygulanan sıçanlarda diyete ilave edilen genisteinin, fibroid kökenli tümörlerin oluşumu, oksidatif hasar göstergesi olarak değerlendirilen malondialdehit (MDA), bu hasar etkisiyle açığa çıkan prostoglandin analoğu olan 8-izoprostan, protein oksidasyon belirteci 4-hidroksialkenal (HAE) ve DNA hasar belirteci 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri üzerine etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Hayvanlar ve Deneme Düzeni: Bu çalışmada, Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden temin edilen 180–200 gram ortalama ağırlık ve 8 haftalık yaşta 45 adet Wistar albino ırkı erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar çalışma süresince; 22±2 °C sıcaklık, %55±5 nem oranı ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ışık döngüsü sağlanan bir ortamda barındırıldı. Hayvanlara standart sıçan yemi ve su *ad-libitum* olarak sağlandı. Deneyde hayvanlara uygulanan tüm işlemler Fırat Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylanan rapora uygun şekilde yürütüldü.

Bir haftalık ortam adaptasyonu sağlandıktan sonra, sıçanlar rastgele her grupta 15 hayvandan oluşan 3

farklı gruba ayrıldı. (i) Kontrol: Standart sıçan yemi ile beslendi ve herhangi bir uygulama yapılmadı. (ii) DMBA: Bu gruptaki hayvanlara fibroid tümör gelişimi için çalışmanın 1. ve 30. günlerinde, susam yağı içerisinde çözülmüş halde 7,12-dimetilbenz[*a*]antrazen (DMBA), intra-peritoneal (i.p.) olarak uygulandı ve 20 hafta boyunca hayvanlar standart sıçan yemi ile beslendi. (iii) DMBA+Genistein: Çalışmanın 1. ve 30. günlerinde i.p. olarak DMBA uygulandı ve sıçanlar 20 hafta boyunca 400 mg/kg genistein içeren diyet ile beslendi (21). DMBA (Sigma Chemical, St Louis, MO), 50 mg/kg dozunda i.p. enjekte edildi (22).

Patolojik ve Histopatolojik İncelemeler: Yirmi haftalık deneysel çalışma süresi sonunda sıçanlar dekapite edilerek serum ve doku örnekleri alınmıştır. Karaciğerde karşılaşılan patoloji ve her bir hayvanda oluşmuş tümör sayıları ve tümör uzunluğu, genişliği ve yüksekliği, iki ana eksenli bir kumpas yardımı ile ölçüldü. Tümör hacmi (mm³): Hacim = $\frac{4}{3}\pi r^3$ formülü ile hesaplandı; burada "r" üç kez yapılan çap ölçümünün "mm" cinsinden ortalama yarıçapı olarak kullanıldı. Doku numuneleri %10'luk formol ile tespit edildi. Her örnekten altı kesit 5 µm boyutta kesildi ve lamlara alınarak histopatolojik analiz için standart prosedüre göre Hemotoksilen ve Eozin boyası ile boyandı (23).

Laboratuvar Analizleri: Çalışma sonunda elde edilen kan örnekleri 3000 g'de 10 dk. boyunca santrifüj edilerek serum elde edildi. Elde edilen serum numuneleri buz üzerine alındı ve ışıktan korunmak suretiyle çalışma boyunca oluşabilecek oksidatif bozulmanın önüne geçildi. Numuneler analiz edilinceye kadar -80 °C'de saklandı.

Serum malondialdehit (MDA) Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC, Shimadzu, Tokyo, Japonya) cihazı ile belirlendi. Bu amaçla; MDA ve genistein tespiti için sırasıyla; Shimadzu UV-vis SPD-10 AVP detektörü ve floresan RF-10 AxL detektörü kullanılırken faz geçişleri için C18 (ODS-3; 5 µm, 4.6 x 250 mm) kolon kullanıldı. Hareketli faz olarak 30 mM KH₂PO₄-Metanol (%82.5-17.5; v/vn%, pH 3.6) kullanılırken, akış hızı dakikada 1.2 mL seçildi. Kromatogramlar 250 nm'de izlendi ve enjeksiyon hacmi 20 µL olarak belirlendi.

8-izoprostan, 4-hidroksialkenal (HAE) ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), düzeyleri, enzime bağlı immünosorban analiz (ELISA) yöntemiyle ve üretici protokollerine göre ELISA kitleri (Oxis International, Inc; Bioxytech 8-OHdG-EIA, Assay, 8-Isoprostane Assay; Oxford Biochemical Research, HAE, Oxford, MI, USA) kullanılarak, okuyucu cihaz yardımıyla belirlendi (Eix-800; Bio Tek Instruments Inc., Vermont, USA).

İstatistiksel Analiz: Verilerin istatistiksel değerlendirilmeleri paket program (IBM SPSS 21.0) yardımıyla yapılmıştır (24). Verilerde, parametrik testlerin ön şartlarından varyansların homojenliği Levene testi ile kontrol edilirken, normallik varsayımına ise Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. Tümör insidansları Ki-kare testi ile değerlendirilirken ortalama tümör hacmi verileri için gruplar arası farklılıklar student's t-testi ile belirlenmiştir. Oksidatif hasar markörleri ise gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve gruplar

arasındaki ikili karşılaştırmalarda *post hoc* testi olarak Tukey testi kullanılmıştır. İstatiksel anlamlı farklılık için sınır değer 0.05 olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

Yirmi hafta boyunca genistein takviyesinin DMBA ile indüklenmiş fibroid sarkomlu sıçanlardaki tümör insidansı ve hacmi üzerine etkisine ilişkin sonuçlar Tablo 1'de görülmektedir. Buna göre, Kontrol grubu sıçanlarda tümöre rastlanmazken, DMBA grubundaki hayvanların 10 (%66.7) tanesinde fibroid tümörlere rastlanmıştır. Tümör rastlanan hayvan sayısı DMBA+Genistein grubunda ise 7 (%46.7) adettir. DMBA ile indüklenen gruplarda insidans açısından istatistiki olarak Ki-kare testi ile önemli bir fark belirlenmemiştir ($P<0.001$). Tümörlerin ortalama hacimleri ise DMBA verilen grupta 1.15 cm^3 olarak bulunurken, DMBA+Genistein grubunda ise 0.83 cm^3 olarak saptanmıştır ($P<0.001$).

Oksidatif hasar belirteçlerinden serum MDA seviyeleri Şekil 1-A'da görülmektedir. Buna göre DMBA grubunda MDA düzeyleri Kontrol grubuna kıyasla 2.8 kat artarken, bu oran DMBA+Genistein grubunda 1.3 kat olmuş ve genistein takviyesi DMBA grubuna kıyasla MDA düzeylerini %53 oranında indirgemıştır ($P<0.01$).

Serum 8-isoprotan konsantrasyonları Şekil 1-B'de görülmektedir. DMBA grubu 8-isoprotan düzeylerinin

Kontrol grubuna göre 3.6 kat arttığı, DMBA+Genistein grubunda ise DMBA grubuna nazaran 8-isoprotan seviyelerinin istatistiksel olarak azaldığı belirlenmiştir ($P<0.05$).

Sıçanların serum protein oksidasyon göstergesi olan 4-hidroksialkenal (HAE) düzeyleri Şekil 1-C'de gösterilmiştir. Buna göre Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HAE düzeyleri, DMBA grubunda 2.3 kat artarken ($P<0.01$), DMBA'ya kıyasla DMBA+Genistein verilen grupta bu oran %33 azalma göstermiştir ($P<0.05$).

DNA hasarının belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeylerinin sıçanların serum konsantrasyonlarındaki değişimi Şekil 1-D'de yer almaktadır. Kontrol grubuna nazaran 8-OHdG düzeyleri, DMBA grubunda 2.4 kat artmış ($P<0.01$), buna karşın DMBA grubuna nazaran DMBA+Genistein grubunda 8-OHdG düzeyinde %19 oranında bir azalma tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Karaciğer dokusunda DMBA uygulaması sonucunda oluşan histopatolojik değişim Şekil 2'de gösterilmektedir. Buna göre kontrol grubunda herhangi bir değişim gözlenmezken DMBA uygulanması sonucu fibroid kökenli belirgin mezenkimal tümör oluşumları saptanmıştır.

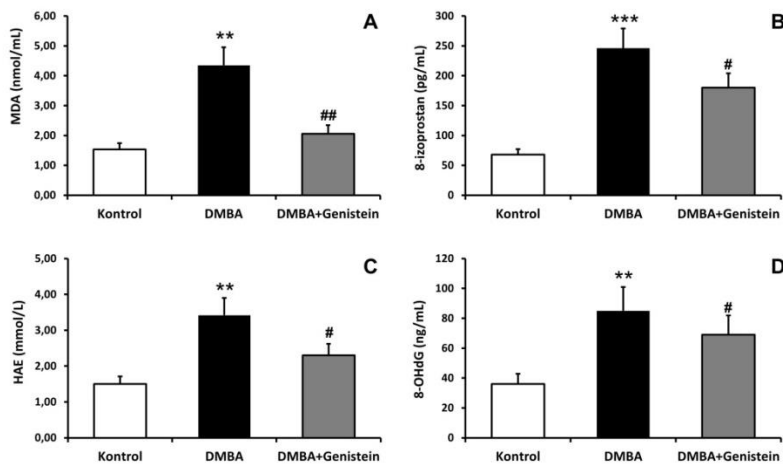
Tablo 1. Genistein uygulamasının 7,12 dimetil benzantrasen (DMBA) uygulanan sıçanlarda yumuşak doku tümör insidansı ve hacmi üzerindeki etkisi

Gruplar	Kontrol	DMBA	DMBA +Genistein	X ² --P--
Tümör insidansı*	0/15 (%0) ^b	10/15 (%66.7) ^a	7/15 (%46.7) ^a	X ² =14.937 P<0.01
Ortalama tümör hacmi (cm ³)**	-	1.15±0.31	0.83±0.07	P<0.001

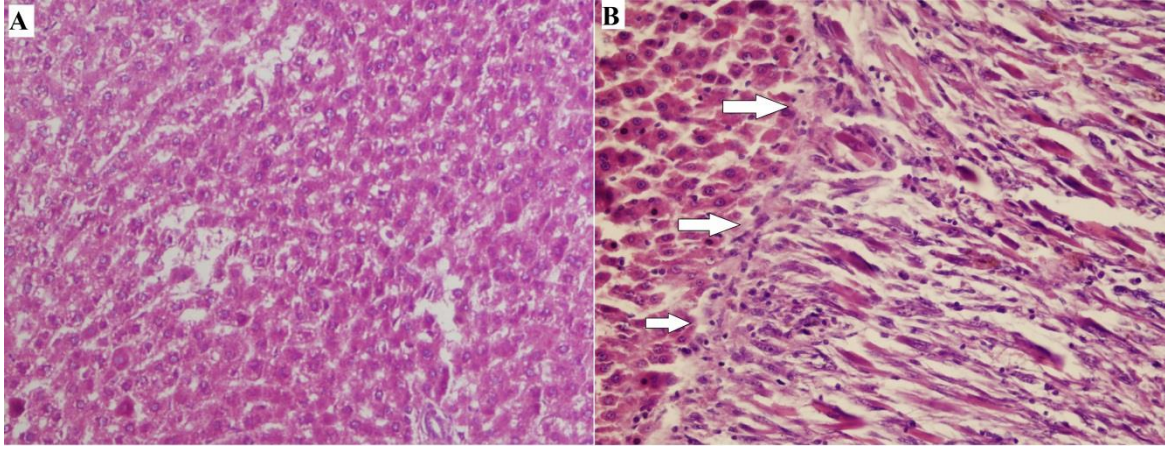
a-b: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

*Tümör insidansı verileri Ki -kare testi ile karşılaştırılmıştır ($P<0.05$).

**Ortalama tümör hacmi verileri ortalama ± standart hata olarak sunulmuş ve student's t-testi ile karşılaştırılmıştır ($P<0.05$).



Şekil 1. Genistein uygulamasının 7,12 dimetil benzantrasen (DMBA) ile indüklenmiş yumuşak doku sarkomlu sıçanlarda serum malondialdehit (MDA; Panel A), 8-isoprotan (Panel B), 4-hidroksialkenal (HAE; Panel C) ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG; Panel D) konsantrasyonları üzerine etkileri. Veriler ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırmada: ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; DMBA Grubu ile karşılaştırmada: # $P<0.05$, ## $P<0.01$ şeklindedir.



Şekil 2. 7,12 dimetil benzantrazen (DMBA) ile indüklenmiş yumuşak doku sarkomlu sıçanlarda, kontrol (A) ve DMBA (B) grubunda hematoksilin ve eozin (H&E X 200) kullanılarak elde edilen karaciğer histopatoloji mikrografları. Oklarla işaret edilen bölge tümör oluşum alanını göstermektedir.

Tartışma

Sarkomlar malign bağ dokusu tümörleri olup kemik ve yumuşak doku olarak sınıflandırılabilir. Kemik sarkom tümörleri iskeletten kaynaklı oluşurken, yumuşak doku sarkomları kan damarları, yağ ve kas gibi fibroid özellikli doku tümörleridir (25). Yumuşak doku sarkomları malign neoplazilerin %1'inden azını oluştururken, kemik sarkomları yumuşak dokuda oluşan benzerlerinin üçte biri oranında görülür ve bu tümörlerin geliştiği hastaların büyük çoğunluğu sonuçta metastatik hastalıklardan ölmektedir (26). Yumuşak doku sarkomunda oksidatif stresin meydana geldiği ve dokuların antioksidan durumunun azaldığı bildirilmektedir (27).

Fitokimyasallar, bitkilerde doğal olarak meydana gelen, 4000 kadar farklı molekülünün tanımlandığı ve çoğunlukla antioksidan özellik gösteren kimyasal bileşiklerdir (28). Etnofarmakolojik olarak, özellikle Asya toplumlarında yaygın bir kullanım alanına sahip olan genisteinin, östrojen reseptörü- β ' ya olan yüksek bağlanma afinitesi, selektif bir östrojen agonisti olması nedeniyle östrojen yanıtı kanserlerde kemoprevantif etkinliğe sahip olması ile ilişkilendirilmektedir (29, 30).

Genistein uygulamasının farelerdeki sarkomları in-vitro ve in-vivo olarak apoptoza hazırlamak ve DNA çift sarmal kırılmasını engellemek suretiyle duyarlı hale getirebildiği gösterilmiştir (31). Bir başka çalışmada ise, yüksek konsantrasyonlarda genisteinin olgunlaşmamış osteosarkom hücrelerindeki tümör teşvik edici etkisinin, kalsitriolün birlikte uygulanması sayesinde başlıca olarak sfingozin-1-fosfatın (S1P) parçalanması ile azaldığı belirtilmektedir (32). Yakın zamanlı bulgular, tümör baskılayıcı genlerdeki fonksiyon kaybı oluşumunun neden olduğu tümör gelişiminde, doğal bir epigenetik modifikatör olan genisteinin uygulanması ile DNA-metiltransferaz ve histondeasetilaz etkinliklerinin inhibe edilerek, kanserin önlenmesinde epigenetik bazda da belirgin etkinlik gösterdiği ortaya koyulmaktadır (33).

Hidroksil radikallerinin ve oksijenin çoklu doymamış yağ asitlerinde (PUFA) oluşturduğu oksidatif tahribatın

otokatalitik süreci nedeniyle lipid hasar belirteçleri olan 4-hidroksinonenal (4-HNE) ve malondialdehit (MDA) oluşur (34). Bu çalışmada DMBA etkisiyle artan MDA düzeyleri genistein takviyesiyle belirgin biçimde azaltılmıştır (Şekil 1A). Bununla birlikte, oksidatif hasar etkisiyle açığa çıkan prostoglandin analogu 8-izoprostan, protein oksidasyon belirteci 4-hidroksialkenal (HAE), ve DNA hasar belirteci 8- hidroksi- 2'- deoksiguanozin (8-OHdG) konsantrasyonları da, DMBA kaynaklı oksidatif hasarın indirgendiğinin bir göstergesi olarak Genistein+DMBA grubunda belirgin biçimde azalmıştır (Şekil 1B-D). Ayrıca elde edilen sonuçlar Genistein+DMBA grubunda, DMBA grubuna nazaran karşılaşılan tümör sayısının ve ortalama tümör hacimlerinin de küçüldüğünü göstermiştir (Tablo 1). Çalışmada benzer şekilde yapılan yakın zamanlı bir çalışmada, insan umbilikal ven endotel hücreleri (HUVEC'ler), farklı konsantrasyonlarda (10 nM, 100 nM ve 1000 nM) genistein ile ön işleme tabi tutulmuş ve daha sonra 24 saat boyunca okside-LDL'ye (50 mg/L) maruz bırakılarak oksidatif tahribat oluşturulmuştur. Genisteinin reaktif oksijen türlerini (ROS) ve MDA oluşmasını sınırladığını ve okside-LDL uyarımı ile oluşan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon (GSH) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesindeki inhibisyon etkisini iyileştirdiğini göstermiştir (35). Genisteinin arsenik toksisitesine maruz kalmış genç ve yaşlı farelerde oluşan oksidatif stres nedenli hasarı iki hayvan grubunda da önemli derecede iyileştirebildiği, ancak genisteinin koruyucu etkisinin yetişkin hayvanlarda daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir. Genisteinin bu etkinliği sağlamasında JNK3 aracılı apoptoz yolağının yanı sıra, ERK1/2 aracılı otofaji ve TNF- α ile ilişkili enflamatuvar yolakların rol oynadığı öne sürülmektedir (36). Bu çalışmaya benzer biçimde yürütölen bir başka araştırmada bu kez Japon bildircinlarında yumurtalıkta kendiliğinden gelişen yumuşak doku tümörleri olan leyomyomlara karşı genisteinin etkinliği incelenmiş ve çalışmaya benzer şekilde fibroid leyomyomların insidansının ve boyutunun, bildircinlar genistein takviyesi aldığında azaldığı ortaya konmuştur (37). Çalışmada ayrıca bu çalışmaya benzer

olarak ölçülen oksidatif stres parametreleri MDA, 8-izoprostan, HAE ve 8-OHdG seviyeleri de genistein takviyesiyle azalmıştır. Başka bir araştırmada (22), genistein ile likopen kombine edilerek uygulanmış ve dişi Wistar sıçanlarda DMBA ile oluşturulan göğüs kanseri gelişiminin baskılandığı, ayrıca MDA, 8-isoprostane ve 8-OHdG düzeylerinde çalışmamızdaki sonuçlara paralel biçimde belirgin bir azalma olduğu ortaya konmuştur. Aynı çalışmada ayrıca tümör oranları ve hacimleri de benzer şekilde ölçülmüş ve sonuçta ortaya çıkan verilerin, bu çalışmada elde edilenlere benzer şekilde DMBA grubuna göre azaldığı ve bu düşüşün en belirgin biçimde likopen+genistein grubunda meydana geldiği gözlenmiştir. Kanser hücrelerinin gelişimine karşı hücre döngüsünde düzenleyici ve apoptotik rol oynadığı bildirilen genisteinin kanseri inhibe edici özelliği sayesinde DMBA karsinojeni verilen gruplarda daha fazla metabolize edilmesi beklenebilir (38). Genisteinin yüksek konsantrasyonda uygulanması halinde hücre proliferasyonunu inhibe ederek, insan uterus düz kas hücrelerinde apoptozu indüklediği ve insan uterus leyomyomlarına karşı da otofaji oluşumu sağlamak gibi

farklı hücre ölüm yollarını da aktive edebilmek suretiyle etkinlik gösterebildiği de bildirilmiştir (39).

Bu çalışmada DMBA uygulanarak yumuşak doku kaynaklı sarkomların oluşturulduğu erkek sıçanlarda antioksidan etkili bir fitoöstrojen olan genistein uygulanmasının; tümör oluşumu ile ortalama boyutları üzerindeki etkisi, ayrıca serumda oksidatif stres göstergesi parametreler olan MDA, prostoglandin analogu 8-izoprostan, HAE ve DNA hasar belirteci 8-OHdG konsantrasyonlarında oluşturduğu değişimler ortaya konulmuştur. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, sıçanlarda diyetle belirli dozda alınan genisteinin fibroid tümörlerin ortalama miktar ve boyutlarını azalttığı için, kimyasal olarak uyarılmış kanserin gelişimine karşı önemli bir koruma sağladığını göstermektedir. Sonuçlar aynı zamanda, genisteinin oksidatif stres belirteçlerinin seviyelerini düşürdüğü ve böylece metabolik antioksidan mekanizmaları etkinleştirerek koruyucu rol oynadığını düşündürmektedir. Genisteinin besinsel takviyesinin benign ve malign kanser türlerine karşı koruyucu veya tedavi edici moleküler mekanizmalarının belirlenebilmesi için hücre kültürü, model hayvanlar ve klinik düzeyde daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. CA Cancer J Clin 2008; 58: 71-96.
- Banerjee RA, Bandopadhyay DE, Abilash VG. Epidemiology, pathology, types and diagnosis of soft tissue sarcoma: A Research Review. Asian J Pharm Clin Res 2013; 6: 18-25.
- Dancsok AR, Asleh-Aburaya K, Nielsen TO. Advances in sarcoma diagnostics and treatment. Oncotarget 2017; 8: 7068-7093.
- Weitz J, Klimstra DS, Cymes K, et al. Management of primary liver sarcomas. Cancer 2007; 109: 1391-1396.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. CA Cancer J Clin 2016; 66: 7-30.
- In GK, Hu JS, Tseng WW. Treatment of advanced, metastatic soft tissue sarcoma: latest evidence and clinical considerations. Ther Adv Med Oncol 2017; 9: 533-550.
- Sharma V, Paliwal R, Janmeda P, Sharma S. Chemopreventive efficacy of Moringa oleifera pods against 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene induced hepatic carcinogenesis in mice. Asian Pac J Cancer Prev 2012; 13: 2563-2569.
- Abedin Z, Sen S, Field J. Aldo-keto reductases protect lung adenocarcinoma cells from the acute toxicity of B [a] P-7, 8-trans-dihydrodiol. Chem Res Toxicol 2011; 25: 113-121.
- Karabulut AB, Karadağ N, Gurocak S, et al. Apricot attenuates oxidative stress and modulates of Bax, Bcl-2, caspases, NFκ-B, AP-1, CREB expression of rats bearing DMBA-induced liver damage and treated with a combination of radiotherapy. Food Chem Toxicol 2014; 70: 128-133.
- Barnes S, Peterson G, Grubbs C, Setchell K. Potential role of dietary isoflavones in the prevention of cancer. Adv Exp Med Biol 1998; 354: 135-147.
- Walter ED. Genistin (an Isoflavone Glucoside) and its Aglucone, Genistein, from Soybeans. J Am Chem Soc 1941; 63: 3273-3276.
- Yıldız F. Phytoestrogens in Functional Foods. 1st Edition, Taylor & Francis Ltd, Boca Raton, FL, USA, 2005.
- Hilakivi-Clarke L, Andrade JE, Helferich W. Is soy consumption good or bad for the breast? J Nutr 2010; 140: 2326-2334.
- Rimbach G, Weinberg PD, de Pascual-Teresa S, et al. Sulfation of genistein alters its antioxidant properties and its effect on platelet aggregation and monocyte and endothelial function. Biochim Biophys Acta 2004; 1670: 229-237.
- Si H, Liu D. Phytochemical genistein in the regulation of vascular function: new insights. Curr Med Chem 2007; 14: 2581-2589.
- He FJ, Chen JQ. Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms. Food Sci Hum Welln 2013; 31: 146-161.
- Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, et al. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. J Biol Chem 1987; 262: 5592-5595.
- Pavese JM, Farmer RL, Bergan RC. Inhibition of cancer cell invasion and metastasis by genistein. Cancer Metastasis Rev 2010; 29: 465-482.
- Dutta S, Kharkar PS, Sahu NU, Khanna A. Molecular docking prediction and in vitro studies elucidate anti-cancer activity of phytoestrogens. Life Sci 2017; 185: 73-84.
- Yeh CC, Fan Y, Jiang L, et al. Genistein Suppresses Growth of Human Uterine Sarcoma Cell Lines via Multiple Mechanisms. Anticancer Res 2015; 35: 3167-3173.

21. Onderci M, Sahin K, Sahin N, et al. The effect of genistein supplementation on performance and antioxidant status of Japanese quail under heat stress. *Arch Anim Nutr* 2004; 58: 463-471.
22. Sahin K, Tuzcu M, Sahin N, et al. Inhibitory effects of combination of lycopene and genistein on 7, 12-dimethyl benz(a)anthracene-induced breast cancer in rats. *Nutr Cancer* 2011; 63: 1279-1286.
23. Gürocak S, Karabulut AB, Tuzcu M, et al. Combinatorial effect of zoledronic acid and irradiation on the prevention of DMBA-induced precancerogenic changes in the mammary tissues of rats. *J Cancer Res Ther* 2016; 12: 645-649.
24. IBM SPSS. IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.
25. Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F. (Eds.): World Health Organization. Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Soft Tissue and Bone. Lyon. IARC Press, 2002.
26. Dorfman HD, Czerniak B. Bone cancers. *Cancer* 1995; 75: 203-210.
27. Nathan FM, Singh VA, Dhanoa A, Palanisamy UD. Oxidative stress and antioxidant status in primary bone and soft tissue sarcoma. *BMC Cancer* 2011; 11: 382.
28. Lee GA, Hwang KA, Choi KC. Roles of dietary phytoestrogens on the regulation of epithelial-mesenchymal transition in diverse cancer metastasis. *Toxins* 2016; 24; 8: 162.
29. Pelekanou V, Leclercq G. Recent insights into the effect of natural and environmental estrogens on mammary development and carcinogenesis. *Int J Dev Biol* 2011; 55: 869-878.
30. Rodríguez-Landa JF, Cueto-Escobedo J, Puga-Olguín A, et al. The Phytoestrogen Genistein Produces Similar Effects as 17 β -Estradiol on Anxiety-Like Behavior in Rats at 12 Weeks after Ovariectomy. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 9073816.
31. Liu XX, Sun C, Jin XD, et al. Genistein sensitizes sarcoma cells in vitro and in vivo by enhancing apoptosis and by inhibiting DSB repair pathways. *J Radiat Res* 2016; 57: 227-237.
32. Engel N, Adamus A, Schauer N, et al. Synergistic Action of Genistein and Calcitriol in Immature Osteosarcoma MG-63 Cells by SGLP1 Up-Regulation. *PloS one* 2017; 12: e0169742.
33. Sundaram MK, Ansari MZ, Mutery AA, et al. Genistein induces alterations of epigenetic modulatory signatures in human cervical cancer cells. *Anticancer Agents Med Chem* 2017; (in Press).
34. Pérez-Matute P, Zulet MA, Martínez JA. Reactive species and diabetes: counteracting oxidative stress to improve health. *Curr Opin Pharmacol* 2009; 9: 771-779.
35. Zhang H, Zhao Z, Pang X, et al. MiR-34a/sirtuin-1/foxo3a is involved in genistein protecting against ox-LDL-induced oxidative damage in HUVECs. *Toxicol Lett* 2017; 277: 115-122.
36. Saha S, Sadhukhan P, Mahalanobish S, Dutta S, Sil PC. Ameliorative role of genistein against age dependent chronic arsenic toxicity in murine brains via the regulation of oxidative stress and inflammatory signaling cascades. *J Nutr Biochem* 2017; 55: 26-40.
37. Sahin K, Akdemir F, Tuzcu M, et al. Genistein suppresses spontaneous oviduct tumorigenesis in quail. *Nutr Cancer* 2009; 61: 799-806.
38. Banerjee S, Li Y, Wang Z, Sarkar FH. Multi-targeted therapy of cancer by genistein *Cancer Lett* 2008; 269: 226-242.
39. Castro L, Gao X, Moore AB, et al. A high concentration of genistein induces cell death in human uterine leiomyoma cells by autophagy. *Expert Opin Environ Biol* 2016; 5: 1-19.