



ARAŞTIRMA / RESEARCH

Investigation of the effect of gossypin on MMP-2 and MMP-9 genes in prostate cancer cells

Gossypin'in prostat kanser hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9 genleri üzerindeki etkisinin araştırılması

Ebubekir Dirican¹, İrfan Çınar²

¹Bayburt University, Health Services Vocational School, Bayburt, Turkey

²Kastamonu University Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Kastamonu, Turkey

Cukurova Medical Journal 2022;47(3):1290-1295

Abstract

Purpose: The aim of this study is to explore the effects of gossypin on matrix metalloproteinases -2 (MMP-2) and MMP-9 genes in prostate cancer cells.

Materials and Methods: PC3 cells were grown in culture and treated with three different concentrations of gossypin (25-50-100 µg/ml) and cisplatin (50 µM) as a positive control. First, RNA isolation was performed. Then, cDNA synthesis was performed and RT-PCR was used to evaluate mRNA expression levels of MMP-2 and MMP-9 genes.

Results: Gossypin decreased MMP-2 and MMP-9 mRNA expression in prostate cancer cells in a concentration-dependent manner. Three concentrations (25-50-100 µg/ml) of gossypin in PC3 cells reduced the mRNA expression of the MMP-2 gene. While the fold change value of MMP-2 gene expression was 0.3482 ± 0.040 in the 100 µg/ml gossypin group, it was 1.007 ± 0.1425 in the control group. In addition, 50 µg/ml and 100 µg/ml concentrations of gossypin decreased the mRNA expression of the MMP-9 gene. The expression level of the MMP-9 gene in prostate cancer cells was 0.4740 ± 0.038 in the 100 µg/ml gossypin administered group, while it was 1.009 ± 0.1687 in the control group. There was a positive correlation between the expressions of the MMP-2 and MMP-9 genes.

Conclusion: According to the results obtained, it is seen that gossypin reduces the expression of MMP-2 and MMP-9 genes in prostate cancer cells and the effects of gossypin on other genetic and epigenetic mechanisms in cancer need to be investigated to reveal the anti-cancer.

Keywords: Gossypin, MMP-2, MMP-9, PC-3, RT-PCR

Öz

Amaç: Bu çalışmada gossypin'in prostat kanser hücrelerinde matriks metalloproteinaz 2 (MMP-2) ve MMP-9 genlerinin mRNA ekspresyonu üzerindeki etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: PC3 hücreleri, kültür koşulları altında büyütüldü ve üç farklı konsantrasyonda (25-50-100 µg/ml) gossypin ve pozitif kontrol olarak sisplatin (50 µM) ile muamele edildi. Önce RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Daha sonra cDNA sentezi gerçekleştirildi ve RT-PCR MMP-2 ve MMP-9 genlerinin mRNA ekspresyon seviyesini değerlendirmek için kullanıldı.

Bulgular: Gossypin, prostat kanser hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9 mRNA ekspresyonunu konsantrasyona bağlı olarak azaltmıştır. PC3 hücrelerinde gossypin'in üç konsantrasyonu (25 -50-100 µg/ml) MMP-2 genin mRNA ekspresyonunu azaltmıştır. MMP-2 geni ekspresyonu kat değişim (fold change) değeri 100 µg/ml gossypin uygulanan grupta 0.3482 ± 0.040 iken, kontrol grubunda ise 1.007 ± 0.1425 olarak belirlenmiştir. Ayrıca 50 µg/ml ve 100 µg/ml gossypin dozları, MMP-9 genin mRNA ekspresyonunu azaltmıştır. MMP-9 geni ekspresyon seviyesi ise prostat kanser hücrelerinde 100 µg/ml gossypin uygulanan grupta 0.4740 ± 0.038 iken, kontrol grubunda ise 1.009 ± 0.1687 olarak belirlenmiştir. MMP-2 ve MMP-9 genlerinin ekspresyonları arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterildi.

Sonuç: Elde edilen sonuçlara göre, gossypin'in prostat kanser hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9 genlerinin ekspresyonunu azalttığı ve gossypin'in anti-kanser etkisinin ortaya çıkarılabilmesi için kanserde diğer genetik ve epigenetik mekanizmalar üzerindeki etkilerinin de araştırılmasına ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Gossypin, MMP-2, MMP-9, PC-3, RT-PCR

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Ebubekir Dirican, Bayburt University, Health Services Vocational School, Bayburt, Turkey E-Mail: dr.diricanebubekir@gmail.com, ebubekirdirican@bayburt.edu.tr

Geliş tarihi/Received: 28.06.2022 Kabul tarihi/Accepted: 18.08.2022

GİRİŞ

Prostat kanseri tüm dünyada erkek sağlığını etkileyen oldukça yaygın bir hastalıktır¹. Prostat kanseri erkekler arasında, kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir. Tekrarlayan lezyonların erken tespiti ve teşhisi, tedaviyi yönlendirmede ve prognozu iyileştirmede önemli olduğunu bilmekteyiz². Matris Metalloproteinazlar (MMP'ler), hücre gelişim ve morfogenezde önemli olan hücre dışı matris (ECM) makromolekülleridir ve yakınlarındaki büyüme faktörlerini, hücre yüzeyi reseptörlerini ve adezyon moleküllerini aktive edebilirler. MMP'ler, çinkoya bağımlı endopeptidazların ana ailesinin bir parçasıdır³. MMP'ler vücutta onkolojik patoloji de dahil olmak üzere birçok patolojik süreçte yer alır⁴. Bazı metalloproteinazlar metastaz olayında yer alırken, diğerleri tümör agresifliği-saldırganlığı seviyesi ile ilişkilendirilmiştir. MMP'lerin bazıları ya teşhis yada prognozun tespiti için belirteç olarak kullanılırlar⁵. MMP'ler metastatik kaskadın her adımında ana aktörler olduklarından ve kanser ölümlerinin çoğu metastatik lezyonlar sonucu olduğundan, tanı ve prognostik belirteçler olarak MMP'lere olan ilgi artmıştır⁶.

Gossypin, anti-inflamatuvar, antioksidan ve antikanser aktiviteler sergilediği bildirilen ve *Hibiscus vitifolius*'tan ekstrakte edilen bir flavondur^{7,8}. Gossypin'in anti-kanser etkileri arasında apoptozun indüksiyonu ve hücre invazyonunu azaltması yer almaktadır⁹. Ayrıca gossypin'in anjiyogenez, inflamasyon ve karsinogenezi baskıladığı gösterilmiştir. Fakat gossypin'in bu etki mekanizmaları tam net olarak bilinmemektedir¹⁰.

Bu çalışmada gossypin'in prostat kanser hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9 genlerinin ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Yukarıdaki bilgiler, gossypin'in anjiyonezi ve apoptozu baskılama gibi etkilerinin olduğunu yapmış çalışmaların bulguları ve diğer taraftan MMP'lerin anjiyogenez ve metastaz başta olmak üzere birçok mekanizmada karsinogenezde rol alması bu çalışmanın yapılmasına ışık tutmuştur. Bu çalışma gossypin'in prostat kanser hücrelerinde MMP'ler üzerindeki etkisini araştırarak ilk çalışma olması sebebiyle de gelecekte yapılacak *in vivo/in vitro* çalışmalara da yol gösterici olabileceğine inanıyoruz.

GEREÇ VE YÖNTEM

Prostat kanseri PC3 hücre hattı American Type

Culture Collection (ATCC, USA)'dan alınmıştır. Bu çalışma hücre hattında yapıldığı için etik kurul başvurusu gerekmemektedir. Hücre kültür deneyleri araştırmacı Dr. İrfan Çınar tarafından Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi hücre kültür laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

PC3 hücre hattı 37° C'de su banyosuna çözünmesi için bırakıldı. Sonra hücreler flaklara aktarıldı. 48 saat sonra %10 FBS içeren DMEM'de sayım yapıldıktan sonra 96 kuyucuklu plaklara ekilip %5 kanbondioksit içeren nemli bir ortamda 37° C'de inkübe edildi. 24 saat sonra çoğaltılan hücreler, literatüre göre¹¹ seçilen 25-50-100 µg/ml konsantrasyonda Sigma Aldrich firmasından alınan gossypin (CAS Number 652-78-8)) ve sisplatinle muamele edildi.

MMP2 ve MMP-9 genlerinin mRNA ekspresyon analizi

RT-PCR metodu ile MMP-2 ve MMP-9 mRNA ekspresyon deneyleri araştırmacı Dr. Ebubekir Dirican tarafından Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir.

Gen ekspresyon analizleri için 6 kuyucuklu plaklara 2x10⁵ hücre olacak şekilde ekim işlemi gerçekleştirildi. 37° C'de %5 karbondioksit olan ortamda inkübasyona bırakıldı. Gossypin ve sisplatin uygulandıktan 6 saat sonra hücreler plaklardan kaldırılıp homojenize edildi. Daha sonra EcoPURE Total RNA izolasyon kiti ile RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Kitin üretici firmasının önerilerine göre RNA izolasyon işlemi gerçekleştirildi. Kitin protokolüne göre, önce 400 µl EcoPURE Lysis/Binding buffer ile lizat hazırlandı. Sonra 400 µl %96-100 etanol ile muamele edildi. Sonra bu lizattan 700 µl'i geçmeyecek şekilde kolon-koleksiyon tüplere aktarıldı. Maksimum hızda 30 saniye santrifüj edildi. Kolon yeni bir koleksiyon tüpe alındı ve üzerine 400 µl EcoPURE Wash Buffer 1 ilave edildi. Maksimum hızda 30 saniye santrifüj edildi. Kolon yeni bir koleksiyon tüpe alındı ve üzerine 500 µl EcoPURE Wash Buffer 2 ilave edildi. Maksimum hızda 30 saniye santrifüj edildi. Kolon yeni bir koleksiyon tüpe alındı ve üzerine 200 µl EcoPURE Wash Buffer 2 ilave edildi. Maksimum hızda 2 dakika santrifüj edildi. Kolon 1.5 ml eppendorf tüpe alındı ve üzerine 50-100 µl EcoPURE Elüsyon Buffer eklenip 1 dakika inkübasyona bırakıldı. En son maksimum hızda 30 saniye santrifüj edildi. RNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflıkları spektrofotometrede

ölçüldükten sonra RT-PCR ile gen ekspresyon analizleri yapılmaya kadar -20° C'de stoklandı.

cDNA sentezi için iScript cDNA sentez kiti kullanıldı. 4 µl iScript reaction miqs, 1 µl iScript reverse transkriptaz, 100-1 µg olacak kadar RNA ve toplam hacim 20 µl olması için üzerine nükleaz free su ilave edildi. İlgili üretici firmanın önerilerine göre Sensequest-Labcyclers thermalcyclers cihazında 25° C'de 5 dakika, 46° C'de 20 dakika ve 95° C'de 1 dakika olacak şekilde reaksiyon gerçekleştirildi.

Gen ekspresyon analizi için Bio-Rad CFX-96 RT-PCR cihazı kullanıldı. 10 µl iTaq Universal SYBR Green supermix (2X), 5 µl of cDNA, 1 µl of forward ve reverse primer ve 3 µl of PCR-grade su ile reaksiyon hazırlandı. İlgili firmanın önerilerine göre RT-PCR programı ayarlanıp reaksiyon gerçekleştirildi. Tüm genlerin primerleri daha önce başka bir çalışmada kullanılmıştı ve teyit edilerek alındı (Tablo 1).¹²

Tablo 1. Primerler

Gen	İleri (forward) primer	Geri (reverse) primer
Beta actin	TCATGAAGTGTGACGTTGACATCCGT	CCTAGAAGCATTTGCGGTGCACGATG
MMP-2	CTCAGATCCGTGGTGAGATCT	CTTTGGTTCTCCAGCTTCAGG
MMP-9	ATCCAGTTTGGTGTCGCGGAGC	GAAGGGGAAGACGCACAGCT

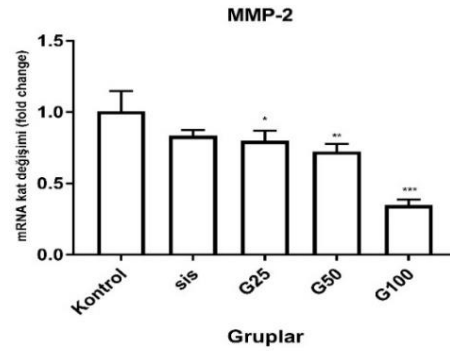
İstatistiksel analiz

Tüm istatistiksel analizler için GraphPad Prism version 8.0.1 programı kullanıldı. Sonuçların normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro-Wilk normalizasyon testi ile belirlendi. Sonuçlar Shapiro-Wilk testine göre normal dağıldığı belirlendi, 25-50-100 µg/ml gossypin doz grupları ve sisplatin (50 µM)'nin kontrol grupla kıyaslanması için One Way ANOVA testi ile post hoc olarak Dunnett testi kullanıldı. MMP-2 ve MMP-9 genlerinin korelasyon analizi için Pearson testi kullanıldı. P<0.05 ise istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

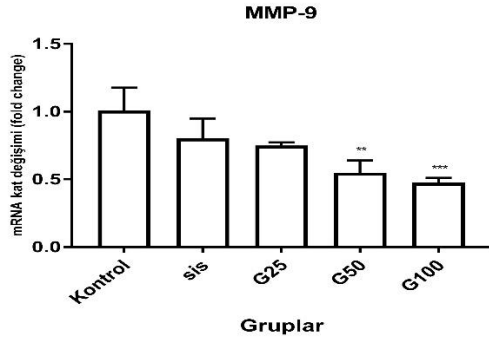
Elde edilen mRNA ekspresyon sonuçlarına göre, prostat kanser hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9 ekspresyon seviyesi 50 µg/ml ve 100 µg/ml gossypin uygulanmış gruplarda, kontrol grubuna kıyasla doza bağlı olarak anlamlı seviyede azalma belirlenmiştir. Prostat kanser hücrelerinde her iki gende en fazla azalmaya neden olan 100 µg/ml gossypin dozu olduğu görülmüştür.

Prostat kanser hücrelerinde MMP-2 geni ekspresyon seviyesi gossypin'in üç konsantrasyonu (25-50-100 µg/ml) uygulanmış olan gruplarda, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır (sırasıyla p = 0.030; p = 0.005; p < 0.001). MMP-2 geni ekspresyonu kat değişim (fold change) değeri 100 µg/ml gossypin uygulanan grupta 0.3482 ± 0.040 (ort ± sd) iken, kontrol grubunda ise 1.007 ± 0.1425 (ort ± sd) olarak belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Gossypin'in MMP-2 geni ekspresyonu üzerindeki etkisi (* diğer gruplar ve kontrol arasındaki anlamlı farklılıkları, * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.005; sis:sisplatin, G25: 25 µg/ml gossypin, G50: 50 µg/ml gossypin, G100: 100 µg/ml gossypin)

MMP-9 geni ekspresyon seviyesi prostat kanser hücrelerinde 50 µg/ml ve 100 µg/ml gossypin uygulanmış gruplarda kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azalmıştır (sırasıyla p = 0.001; p<0.001). MMP-9 geni ekspresyon seviyesi ise prostat kanser hücrelerinde 100 µg/ml gossypin uygulanan grupta 0.4740 ± 0.038 (ort ± sd) iken, kontrol grubunda ise 1.009 ± 0.1687 (ort ± sd) olarak belirlenmiştir (Şekil 2). Diğer taraftan istatistiksel olarak kontrol grubuna kıyasla anlamlı azalmaya sebebiyet vermese de gossypinin 25 µg/ml dozu uygulanan grupta MMP-9 geni ekspresyon seviyesi 0.7511 ± 0.0240 (ort ± sd) olarak belirlenmiştir (p > 0.05).



Şekil 2. Gossypin'in MMP-2 geni ekspresyonu üzerindeki etkisi (* diğer gruplar ve kontrol arasındaki anlamlı farklılıklar, ** P<0.01, *** P<0.005; sis:sisplatin, G25: 25 µg/ml gossypin, G50: 50 µg/ml gossypin, G100: 100 µg/ml gossypin)

Son olarak MMP-2 ve MMP-9 genlerinin ekspresyon seviyelerinin gossypin uygulanması ile ortaya çıkan her iki gendeki azalmadan dolayı, korelasyon analizi yapıldığında bu iki gen arasında güçlü ve anlamlı pozitif bir korelasyon olduğu belirlendi ($r = 0.762$, $p = 0.017$). Gossypin muamelesinden sonra hem MMP-2 geninde hem de MMP-9 geninde her ikisinde de ekspresyonda azalma belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Prostat kanseri en yaygın malignitelerden biridir ve erkeklerde kansere bağlı ölümlerin ikinci önde gelen nedenidir¹³. Gossypin'in prostat kanser hücrelerinde antikanser etkileri olduğu gösterilmiştir¹¹. Fakat gossypin'in prostat kanserinde MMP-2 ve MMP-9 genlerinin mRNA ekspresyonu üzerindeki etkisi daha önce araştırılmamıştır. Bu yüzden bu çalışmada, gossypin'in prostat kanser hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9 geni mRNA ekspresyonu üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Günümüzde kanser tedavisinde geleneksel ilaçların ve kemoterapi uygulamalarının yan etkilerinden dolayı doğal bileşiklerin tedavi amaçlı kullanılması için araştırmalar yapılmaktadır.

Literatürde gossypin'in hem prostat kanser hücrelerinde hem de diğer kanser türlerinde MMP-2 ve MMP-9 genleri üzerindeki etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmaması sebebiyle, sonuçlarımızı karşılaştıracığımız herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Fakat diğer gossypin dışındaki flavonoidlerin prostat kanser hücrelerinde MMP-2 ve

MMP-9 genleri üzerindeki etkileriyle ilgili çalışmalar literatürde mevcuttur.

MMP-2 ve MMP-9'un önce hem endotelial hücrelerinde hem de *in vivo* hayvan modellerinde anjiyogenik yanıtta önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir¹⁴. Daha sonra bu enzimlerin anjiyogenezdeki anahtar rolü başka çalışmalarla da doğrulanmıştır¹⁵. Bununla birlikte, MMP-2 ve MMP-9 gibi MMP'lerin aşırı ekspresyonunun, androjenden bağımsız prostat kanseri dahil olmak üzere bazı kanser hücrelerinin metastaz yapma yeteneğini arttırabileceği bildirilmiştir^{16,17}. MMP-2 ve MMP-9 prostat kanserinin metastazı ve invazyonuyla ilişkili biyo-belirteçler olarak tanımlanmıştır¹⁸.

Yang ve ark. (2022) daidzin (DDZ) flavonunun prostat kanserinde MMP-2 ve MMP-9 seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir¹⁹. Ayrıca DDZ'ye maruz kalan SNU-C2A, DU145 ve PC-3 hücrelerinde bu flavon türünün EMT sürecini tersine çevirerek hücre çoğalmasını, istilasını ve metastazı da zayıflattığını göstermişlerdir. Cai ve ark. (2020) isorhamnetin flavonoidinin DU145 ve PC3 prostat kanser hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9'un aşırı ekspresyonunu baskıladığını rapor etmişlerdir²⁰. Bu çalışmada isorhamnetin uygulamasının E-kadherinin ekspresyonunu arttırdığı, ancak mezenkimal belirteçler ise vimentin ve N-kadherinin yanı sıra MMP-2 ve MMP-9'un ekspresyonunu azalttığını göstermişlerdir. Bir başka çalışmada ise citrus (narenciye) flavonoidinin metastaz belirteçleri olan MMP-2 ve MMP-9 üzerinde inhibe edici etkileri olduğu gösterilmiştir²¹. Lewandowska ve ark. (2013) primrose (çuha çiçeği) flavonunun DU145 ve PNT1A prostat kanser hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9 geni ekspresyonunu baskıladığını göstermişlerdir. Bu çalışmada, primrosenin apoptozu arttırabileceğini ve prostat kanser hücrelerinin anjiyogenezini azaltabileceğini bildirmişlerdir²². Pratheeshkumar ve ark. (2012) luteolinin MMP-2 ve MMP-9'u baskıladığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, luteolin'in PC3 prostat kanser hücrelerinde AKT, ERK, mTOR, P70S6K, MMP-2 ve MMP-9 aktivasyonunu konsantrasyona bağlı olarak baskıladığını bildirmişlerdir²³. Shukla ve ark. (2012) apigen'in flavonunun VEGF, uPA, MMP-2 and MMP-9'u baskılayarak tümörün büyümesini ve metastazı durdurdıklarını göstermişlerdir²⁴. Shen ve ark. (2010) acacetin'in, p38 MAPK sinyal yolunu baskılayarak ve NF-kappaB veya AP-1-bağlama aktivitesini inhibe ederek MMP-2, MMP-9 ve u-PA ifadelerini azaltarak DU145 hücrelerinin invazyon ve

göç yeteneklerini inhibe edebileceğini rapor etmişlerdir²⁵. Chien ve ark. (2010) fisetin'in fosfoinositid 3-kinaz/Akt (PI3K/Akt) ve JNK sinyal yollarını baskılayarak, MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonlarını azaltarak PC-3'ün metastatik yeteneğini inhibe edebileceğini bildirmişlerdir²⁶. Vijayababu ve ark. (2006) quersetin uygulanmış PC3 hücrelerde, MMP-2 ve MMP-9 genlerinin ekspresyon seviyesini doza bağlı olarak azalttıklarını rapor etmişlerdir²⁷. Bu nedenle, kanser hücrelerinde metastaza özgü MMP'lerin inhibisyonunun, quersetin'in antikanser fonksiyonu için önemli bir hedef olabileceğini düşündüklerini belirtmişlerdir.

Bizde bu çalışmada, prostat kanser PC3 hücrelerinde gossypin'in 25 µg/ml, 50 µg/ml ve 100 µg/ml dozlarda uygulanmış olan gruplarda MMP-2 geni ekspresyon seviyesinin, kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azalmış olduğunu gösterdik. Diğer taraftan MMP-9 geni ekspresyon seviyesi ise prostat kanser hücrelerinde 50 µg/ml ve 100 µg/ml dozlarda gossypin uygulanmış gruplarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azalmış olduğu belirlendi. Bu sonuçlar bize gossypin'in birçok metastatik kanserde hem tümör hem de endotel hücrelerinde invazyona yardım eden MMP-2 ve MMP-9 genlerinin ekspresyonunu baskılamada değerli olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmanın en önemli kısıtlılığı bir proje desteğiyle gerçekleştirilmediği için gossypin'in farklı kanser türlerinde *in vivo* ve *in vitro* olarak farklı genetik/epigenetik mekanizmalar üzerindeki etkilerini araştırma şansı bulunamamıştır. Bu yüzden sadece PC3 prostat kanser hücrelerinde gossypin'in MMP-2 ve MMP-9 genleri üzerindeki etkileri araştırılabildi. Bu yüzden ileride bir proje desteğiyle gossypin'in diğer MMP'ler ve diğer genetik mekanizmalar üzerindeki etkilerini diğer kanser türlerinde de araştırılması hedeflenmektedir.

Sonuç olarak gossypin flavonoidi doza bağlı olarak prostat kanser PC3 hücrelerinde MMP-2 ve MMP-9 genlerinin ekspresyonunu düşürmüştür. Gossypin'in kanserde tedavi amaçlı kullanımı için *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların sayısının artmasına ihtiyaç vardır. Gossypin'in tedavi için uygun olan dozlarının belirlenmesi ve ilaç formunda güvenli kullanımı için içindeki tedavide önemli olan aktif moleküllerin belirlenmesi ve etki mekanizmalarının açığa çıkarılması gerekmektedir. Bu yüzden sonuçlarımızın başka çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

Yazar Katkıları: Çalışma konsepti/Tasarımı: ED, İÇ; Veri toplama: ED, İÇ; Veri analizi ve yorumlama: ED, İÇ; Yazı taslağı: ED, İÇ; İçerğin eleştirel incelenmesi: ED, İÇ; Son onay ve sorumluluk: ED, İÇ; Teknik ve malzeme desteği: ED, İÇ; Süpervizyon: ED, İÇ; Fon sağlama (mevcut ise): yok.

Etik Onay: Bu çalışma için etik kurul onayına ihtiyaç bulunmamaktadır. Hasta örneği ve deney hayvanı kullanılmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Author Contributions: Concept/Design : ED, İÇ; Data acquisition: ED, İÇ; Data analysis and interpretation: ED, İÇ; Drafting manuscript: ED, İÇ; Critical revision of manuscript: ED, İÇ; Final approval and accountability: ED, İÇ; Technical or material support: ED, İÇ; Supervision: ED, İÇ; Securing funding (if available): n/a.

Ethical Approval: There is no need for ethics committee approval for this study. The patient sample and experimental animal were not used.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support

KAYNAKLAR

1. Wang S, Wei W, Ma N, Qu Y, Liu Q. Molecular mechanisms of ferroptosis and its role in prostate cancer therapy. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2022;103732.
2. Jiang J, Tang X, Pu Y, Yang Y, Yang C, Tian Y et al. The Value of multimodality PET/CT imaging in detecting prostate cancer biochemical recurrence. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:897513.
3. Luchian I, Goriuc A, Sandu D, Covasa M. The role of matrix metalloproteinases (MMP-8, MMP-9, MMP-13) in periodontal and peri-implant pathological processes. *Int J Mol Sci*. 2022;23:1806.
4. Gonzalez-Avila G, Sommer B, Mendoza-Posada DA, Ramos C, Garcia-Hernandez AA, Falfan-Valencia R. Matrix metalloproteinases participation in the metastatic process and their diagnostic and therapeutic applications in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019;137:57-83.
5. Checchi V, Maravic T, Bellini P, Generali L, Consolo U, Breschi L et al. The role of matrix metalloproteinases in periodontal disease. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17:4923.
6. Gonzalez-Avila G, Sommer B, Mendoza-Posada DA, Ramos C, Garcia-Hernandez AA, Falfan-Valencia R. Matrix metalloproteinases participation in the metastatic process and their diagnostic and therapeutic applications in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019;137:57-83.
7. Wang L, Wang X, Chen H, Zu X, Ma F, Liu K et al. Gossypin inhibits gastric cancer growth by direct targeting of AURKA and RSK2. *Phyther Res*. 2019;33:640-50.
8. Çınar İ, Yayla M, Binnetoğlu D. Gossypinin insan hepatom (Hep-3B) hücreleri üzerinde anti-proliferatif etkisi. *Cukurova Med J*. 2020;45:1165-72.
9. Babu BH, Jayram HN, Nair MG, Ajaikumar KB, Padikkala J. Free radical scavenging, antitumor and anticarcinogenic activity of gossypin. *J Exp Clin Cancer Res*. 2003;22:581-89.

10. Kunnumakkara AB, Nair AS, Ahn KS, Pandet MK, Yi Z, Liu M et al. Gossypin, a pentahydroxy glucosyl flavone, inhibits the transforming growth factor beta-activated kinase-1-mediated NF- κ B activation pathway, leading to potentiation of apoptosis, suppression of invasion, and abrogation of osteoclastogenesis. *Blood*. 2007;109:5112-21.
11. Cinar I. Apoptosis-inducing activity and antiproliferative effect of gossypin on PC-3 prostate cancer cells. *Anticancer Agents Med Chem*. 2021;21:445-50.
12. Yang HK, Jeong KC, Kim YK, Jung ST. Role of matrix metalloproteinase (MMP) 2 and MMP-9 in soft tissue sarcoma. *Clin Orthop Surg*. 2014;6:443.
13. Lai CS, Li S, Miyauchi Y, Suzawa M, Ho CT, Pan MH. Potent anti-cancer effects of citrus peel flavonoids in human prostate xenograft tumors. *Food Funct*. 2013;4:944.
14. Genís L, Gálvez BG, Gonzalo P, Arroyo AG. MT1-MMP: Universal or particular player in angiogenesis? *Cancer Metastasis Rev*. 2006;25:77-86.
15. Itoh T, Tanioka M, Yoshida H, Yoshioka T, Nishimoto H, Itohara S. Reduced angiogenesis and tumor progression in gelatinase A-deficient mice. *Cancer Res*. 1998;58:1048-51.
16. Itoh Y, Nagase H. Matrix metalloproteinases in cancer. *Essays Biochem*. 2002;38:21-36.
17. Peng CC, Peng CH, Chen KC, Hsieh CL, Peng RY. The aqueous soluble polyphenolic fraction of psidium guajava leaves exhibits potent anti-angiogenesis and anti-migration actions on DU145 cells. *Evidence-Based Complement Altern Med*. 2011;2011:1-8.
18. Sauer C, Kappeler A, Spath M, Kaden JJ, Michel MS, Mayer D et al. Expression and activity of matrix metalloproteinases-2 and -9 in serum, core needle biopsies and tissue specimens of prostate cancer patients. *Virchows Arch*. 2004;444:518-26.
19. Yang MH, Jung SH, Um JY, Kumar AP, Sethi G, Ahn KS. Daidzin targets epithelial-to-mesenchymal transition process by attenuating manganese superoxide dismutase expression and PI3K/Akt/mTOR activation in tumor cells. *Life Sci*. 2022;295:120395.
20. Cai F, Zhang Y, Li J, Huang S, Gao R. Isorhamnetin inhibited the proliferation and metastasis of androgen-independent prostate cancer cells by targeting the mitochondrion-dependent intrinsic apoptotic and PI3K/Akt/mTOR pathway. *Biosci Rep*. 2020;40:BSR20192826.
21. Lai CS, Li S, Miyauchi Y, Suzawa M, Ho CT, Pan MH. Potent anti-cancer effects of citrus peel flavonoids in human prostate xenograft tumors. *Food Funct*. 2013;4:944.
22. Lewandowska U, Szewczyk K, Owczarek K, Hrabec Z, Podśędek A, Koziolkiewicz M et al. Flavanols from evening primrose (*Oenothera paradoxa*) defatted seeds inhibit prostate cells invasiveness and cause changes in Bcl-2/Bax mRNA ratio. *J Agric Food Chem*. 2013 ;61:2987-98.
23. Pratheeshkumar P, Son YO, Budhraj A, Wang X, Ding S, Wang L et al. Luteolin inhibits human prostate tumor growth by suppressing vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated angiogenesis. *PLoS One*. 2012;7:e52279.
24. Shukla S, MacLennan GT, Fu P, Gupta S. Apigenin attenuates insulin-like growth factor-1 signaling in an autochthonous mouse prostate cancer model. *pharm res*. 2012;29:1506-17.
25. Shen KH, Hung SH, Yin LT, Huang CS, Chao CH, Liu CL et al. Acacetin, a flavonoid, inhibits the invasion and migration of human prostate cancer DU145 cells via inactivation of the p38 MAPK signaling pathway. *Mol Cell Biochem*. 2010;333:279-91.
26. Chien CS, Shen KH, Huang JS, Ko SC, Shih YW. Antimetastatic potential of fisetin involves inactivation of the PI3K/Akt and JNK signaling pathways with downregulation of MMP-2/9 expressions in prostate cancer PC-3 cells. *Mol Cell Biochem*. 2010;333:169-80.
27. Vijayababu MR, Arunkumar A, Kanagaraj P, Venkataraman P, Krishnamoorthy G, Arunakaran J. Quercetin downregulates matrix metalloproteinases 2 and 9 proteins expression in prostate cancer cells (PC-3). *Mol Cell Biochem*. 2006;287:109-16.