

DENEYSSEL ARAŞTIRMA

## ***Apium graveolens* Ekstraktlarının Prostat Kanseri LNCaP Hücre Hattında BCL-2, BCL-XL, BAX ve p53 Protein Seviyeleri Üzerine Etkisi**

### **Effect of *Apium graveolens* Extracts on BCL-2, BCL-XL, BAX, and p53 Protein Levels in Prostate Cancer LNCaP Cell Line**

Tülay AKAN<sup>1</sup>, Halit Buğra KOCA<sup>2</sup>, Tülay KÖKEN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

<sup>2</sup>Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

T.A. 0000-0002-6222-315X, H.B.K. 0000-0002-5353-3228, T.K. 0000-0001-5510-9415.

Sorumlu Yazar: Tülay AKAN (tulay\_akan@yahoo.com)

#### ÖZET

**Amaç:** Prostat kanseri LNCaP hücrelerinde, *Apium graveolens* (kereviz) bitkisinin etanolik ekstraktlarının doza ve zamana bağlı olarak hücre canlılığı ve apoptotik süreçte görev alan BCL-2, BCL-XL, BAX ve p53 proteinleri ile BAX/BCL-2 oranı üzerinden apoptotik etkilerinin araştırılmasıdır.

**Gereç ve Yöntem:** LNCaP hücreleri, *Apium graveolens*'in 0, 1500, 2000, 2500 µg/mL etanolik ekstraktlarının 24 ve 48 saat ayrı ayrı olarak uygulandığı 4 gruba ayrıldı. Uygulama sonunda hazırlanan hücre lizatından; BCL-2, BCL-XL, BAX ve p53 protein seviyeleri ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü ve BAX/BCL-2 oranı ayrıca hesaplandı.

**Bulgular:** *Apium graveolens* ekstrakt uygulamaları, BCL-2 protein düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadı. BCL-XL, BAX, p53 düzeyleri ve BAX/BCL-2 oranı ise kontrol grubuna göre uygulama doz ve süresine bağımlı olarak anlamlı olarak yüksek bulundu.

**Sonuç:** *Apium graveolens* prostat kanserinin tedavisinde potansiyel bir ajan olarak apoptotik ve anti-kanser etkinlik göstermektedir. Kerevizde yer alan çeşitli fitokimyasal bileşiklerin prostat kanserine karşı olası anti-kanser etkileri üzerine yapılan araştırmalar artırılmalıdır.

**Anahtar Sözcükler:** LNCaP, *Apium Graveolens*, Apoptoz, BCL-2, p53.

#### ABSTRACT

**Objective:** The study investigates the apoptotic effects of ethanolic extracts of *Apium graveolens* (celery) on cell viability and the proteins involved in the apoptotic process (BCL-2, BCL-XL, BAX, and p53) as well as the BAX/BCL-2 ratio in prostate cancer LNCaP cells, depending on dose and time.

**Material and Method:** LNCaP cells were divided into 4 groups to which 0, 1500, 2000, 2500 µg/mL ethanolic extracts of *Apium graveolens* were applied separately for 24 and 48 hours. At the end of the application, BCL-2, BCL-XL, BAX and p53 protein levels were measured from the prepared cell lysate using ELISA method and BAX/BCL-2 ratio was also calculated.

**Results:** *Apium graveolens* extract treatments did not cause a statistically significant change in BCL-2 protein levels. However, the levels of BCL-XL, BAX, and p53 proteins, as well as the BAX/BCL-2 ratio, were found to be significantly increased compared to the control group, depending on the treatment dose and duration.

**Conclusion:** *Apium graveolens* demonstrates apoptotic and anti-cancer activity as a potential agent in the treatment of prostate cancer. Research on the potential anti-cancer effects of various phytochemical compounds found in celery against prostate cancer should be increased.

**Keywords:** LNCaP, *Apium Graveolens*, Apoptosis, BCL-2, p53.

Prostat kanseri, dünya çapında tahminen 1,5 milyon yeni vaka ve 397.000 ölüme neden olmakta olup, 45 ila 60 yaş arasındaki orta yaşlı erkeklerde en sık görülen ikinci kanser türü olmasının yanı

sıra, kansere bağlı ölümlerin de beşinci önde gelen nedenidir (1). Androjen reseptör sinyalindeki duyarlılık değişimleri, prostat bezinin gelişimi, aktivitesi ve homeostazında bozulmalara ve kansere neden olabilmektedir. Prostat kanserleri, androjen uyarımına verdiği yanıtta göre androjen bağımlı ve kast-

rasyona dirençli (andojen bağımsız) olarak kategorize edilebilir. Bu ayrım, seçilecek tedavinin belirlenmesinde oldukça önemlidir. Androjen duyarlılığına, androjen reseptörlerindeki mutasyonlar neden olur. Androjen reseptör mutasyonları ilk olarak androjen duyarlı bir hücre hattı olan LNCaP hücrelerinde bildirilmiştir. Prostat kanseri tedavi seçenekleri arasında, hormonal tedavi (androjen yoksunluğu ve anti-hormon tedavisi), radyoterapi, kemoterapi, kriyoterapi, cerrahi ve gen terapileri yer almaktadır. Fakat hastalığın henüz etkin bir tedavisi bulunmamaktadır (2).

Apoptoz, kanserin ilerlemesini önlemede kritik bir rol oynar. Artan kanıtlar, apoptoz ve kanser evrelerinde p53 yoluyla B hücreli lenfoma 2' nin (BCL-2) önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur (3). Prostat epitel hücrelerinde apoptoz, mitokondriyal (içsel) veya ölüm reseptörü (dışsal) aracılı yollarla indüklenebilir. İçsel apoptoz yolu, sıkı bir şekilde BCL-2 proteinleri tarafından düzenlenir. BCL-2 ailesi üyeleri arasında BCL2, BCL2L1/BCL-XL, MCL1, BAX, BAK, BAD, BCL2L1/BIM, BBC3/PUMA, PMAIP1/NOXA, BIK ve BID yer alır; bu proteinler hem normal prostat dokusunda hem de prostat kanserinde ekspres edilir (4). BCL-2 ailesinin üyeleri, anti-apoptotik (BCL-2, BCL-XL, MCL-1) ve pro-apoptotik (BCL-2 homoloji (BH) alanı (BH1, BH2, BH3, BH4) paylaşan; BAX, BAK, BAD, BIM, NOXA, PUMA) proteinler olarak işlevlerine göre alt bölümlere ayrılır. Prostat kanserinde; pro-apoptotik BCL-2 proteinleri; mitokondriyal dış zarın geçirgenliğinin bozulmasına neden olarak kaspaz aktivasyonu yoluyla ya da anti-apoptotik aile üyelerinin nötralizasyonu yoluyla dolaylı olarak apoptozu teşvik eder. Prostat kanserinde, içsel apoptotik yolu hedefleyen BH3 mimetiklerinin, tümöre özgü ajanlarla birleştirilmesi, spesifik olarak kanser hücrelerinde apoptozu indüklenmesine ve apoptoza duyarlılığın artmasına yol açarak hastalığın tedavisi için başarılı bir yol sağlayabilir. Fakat klinik çalışmalar devam etmektedir (5).

TP53 geninin ürünü olan p53 proteini de kontrol noktalarında önemli katkı sağlayan bir diğer proteindir. p53, hücre döngüsünün durdurulmasında değişken şekilde işlev gören genleri aktive ederek çoklu stres ve hücre hasar sinyallerini alan bir tümör baskılayıcı ve pleotropik transkripsiyon faktörü olarak bilinir. Hücre DNA hasarını tamir edemezse, p53 apoptozu indükler. p53 tarafından indüklenen apoptoza BCL-2 ailesi aracılık eder (6).

Prostat kanseri hücrelerinin çoğalmasını/tümör büyümesini engellediği, prostat kanseri hücrelerinin apoptozunu desteklediği, bu hücrelerdeki kanser ile ilişkili spesifik sinyal yollarını düzenlediği çeşitli in vivo ve in vitro çalışmalarla keşfedilen; deniz canlıları ve mikroorganizmalardan elde edilen doğal bileşikler, bitkilerden izole edilen; alkaloid, flavonoid, terpenoid, polifenol, lignan gibi çeşitli fitokimyasallar, geleneksel tıbbi kullanımı olan ve

yenilebilir bitkisel kaynaklardan (baharatlar, sebzeler veya meyvelerden elde edilen D vitamini, nar ve çay polifenolleri gibi) elde edilen bitkisel ekstratlar ve nutrasotikler anti-prostat müdahaleleri için umut verici adaylar olarak kabul edilebilir. Bu doğal bileşikler özellikle, içsel ve dışsal apoptotik yolda yer alan proteinlerin aktivasyonunu değiştirerek, bu proteinler aracılı kaspaz kaskadlarını indükleyerek, AKT/mTOR yolu, MAPK yolu, NF-κB yolu, Ca<sup>2+</sup> yolu ve JAK/STAT yolunu hedefleyerek, anti-neoplastik ajanlar olarak etki eder ve hücre döngüsünü durdurarak etkilerini gösterebilirler (7).

*Apium graveolens* (Kereviz), Apiaceae familyasına ait, Avrupa genelinde ve Afrika ile Asya'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yetişen tek yıllık veya çok yıllık, besinsel olarak tüketilen bir bitkidir. Kereviz fitokimyasal bileşikler arasında bulunan; anti-kanser özelliklere sahip; apigenin, limonen, selinen, fukumarin glikozitler, flavonoidler, A ve C vitaminleri nedeniyle geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır (8). Farmakolojik aktiviteleri anti-kanser, anti-oksidan, anti-diyabetik, anti-inflamatuar, hepatoprotektif ve anti-hiperkolesterolemiden anti-hipertansif etkiye kadar değişmektedir. Yapılan çalışmalar, *Apium graveolens*'in yaprak, kök ve tohumlarından elde edilen ekstraktların, prostat, rabdomiyosarkom, mide ve oral kanserler gibi çeşitli kanser türlerinin yaşayabilirliğini azaltma ve apoptozunu indükleme yeteneğini göstermiştir (9).

Bu çalışmada, *Apium graveolens* bitkisinin etanolik ekstraktlarının, insan prostat kanseri LNCaP hücrelerinin canlılığı üzerine doz ve zaman bağımlı etkilerinin belirlenmesi; ayrıca içsel apoptotik yolun üyeleri olan BCL-2, BCL-XL, BAX proteinleri ile BAX/BCL-2 oranı ve yolun aktivatörlerinden p53 proteini üzerinden anti-kanserojen ve apoptotik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Böylece prostat kanseri hücrelerinde, *Apium graveolens* ekstraktları ile hedeflenen terapötik potansiyelin keşfi prostat kanseri tedavisinde yeni stratejiler geliştirmeye olanak sağlayacaktır. Planlanacak daha ileri in vivo ve in vitro çalışmalar ile ekstraktların BCL-2 homoloji alanı 3 (BH3) mimetikleriyle ve diğer kemoterapötik ajanlarla kombine kullanımının ise yararlanımı arttırması olasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### LNCaP Hücre Hattı Kültürünün Hazırlanması

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilen LNCaP hücreleri, %10'luk fetal sığır serumu ve %1 Penisilin/Streptomisin ile desteklenmiş kültür medyumumu (Roswell Park Memorial Institute 1640 Medium) içerisinde kültüre edildi. 37°C, %95 hava, %5 CO<sub>2</sub> ve %100 nem koşullarında inkübasyona alındı.

### ***Apium graveolens* Etanolik Ekstraktının Hazırlanması**

Kurutularak toz haline getirilen *Apium graveolens* bitkisinin kök kısımları Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi'nde (AÜ-BİBAM) %70'lik etanol ile 12 saat ekstrakte edildi. Ekstraksiyon sonrası fazla etanol vakumlama, fazla su liyofilizasyon ile uzaklaştırılarak kurutma işlemi yapıldı. Ekstrenin verimi değerlendirildi ve %44,45 olarak bulundu. Etanol ekstraktı, uygulamadan hemen önce dimetil sülfoksit (DMSO) (%0,5 oranında) içerisinde taze olarak çözüldü. Kontrol grubuna da besiyerine aynı konsantrasyonda DMSO eklendi.

### **Deney Gruplarının Oluşturulması**

Daha önce yapmış olduğumuz çalışmada kullanmış olduğumuz IC50 değeri uygulama dozuna (2840 µg/mL) göre belirlenmiş olan etanolik ekstrakt dozları (0, 1500, 2000 ve 2500 µg/mL) mevcut çalışmamızda da tercih edildi (10). LNCaP hücrelerine *Apium graveolens* bitkisinin zamana bağımlı etkilerini görebilmek için hücreler, 24 saat ve 48 saat boyunca uygulama yapılan 2 grup, doza bağımlı etkilerini görebilmek için belirlenen ekstrakt konsantrasyonlarının uygulandığı 4 gruba ayrıldı. Buna göre 24 saat ve 48 saatlik ayrı ayrı uygulama yapılan gruplar aşağıdaki gibi oluşturuldu:

1. Grup: Kontrol grubu, sadece besiyeri
2. Grup: 1500 µg/mL ekstrakt, (24 ve 48 saat)
3. Grup: 2000 µg/mL ekstrakt, (24 ve 48 saat)
4. Grup: 2500 µg/mL ekstrakt, (24 ve 48 saat)

Deney, 2 bağımsız tekrar ve 3'er teknik tekrar olmak üzere n=6 olacak şekilde gerçekleştirildi.

### **ELISA Yöntemi ile BCL-2, BCL-XL, BAX ve p53 Proteinlerinin Ölçümü**

Hücreler, *Apium graveolens*'in etanolik ekstraktlarının 0, 1500, 2000, 2500 µg/mL konsantrasyonlarını içeren kültür ortamına her bir kuyucuğa 1x10<sup>5</sup> hücre gelecek şekilde ekilerek 24 ve 48 saat olmak üzere inkübe edildi. Uygulama sonrası, hücre kültüründen medium uzaklaştırılarak soğuk fosfat taponlu tuzlu su (PBS) ile yıkama işlemi yapıldı. Üzerine soğuk 1 mM 0,5 mL fenilmetilsülfonil florür (PMSF) eklenen hücreler 5 dk buz üzerinde bekletilerek lizis edildi. Lizis sonrası başka bir tüpe alınan hücrelere buz üstünde sonikasyon işlemi uygulandı. Homojenize edilen örnekler, hücre süpernatantının ayrıştırılması için 10 dk. boyunca +4°C'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant başka bir tüpe aktararak deney gününe kadar (3 gün) -80°C'de muhafaza edildi. BCL-2 ve p53 ölçümleri için Invitrogen marka Human BCL-2 ve

p53 ELISA Kitleri (Thermo Fisher Scientific 168 Third Avenue Waltham, MA USA 02451), BCL-XL ve BAX ölçümleri için Sunred marka Human BCL-XL ve BAX ELISA kitleri (Jufengyuan Road, Baoshan District, Shanghai, China) kullanıldı. ELISA plakasının her bir oyuğunda yüz mikrolitre çözünür fraksiyon kullanılarak, absorbans okuması için ChemWell 2910 marka (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA) ELISA okuyucu cihazı kullanıldı. Sonuçlar canlı hücre sayılarıyla oranlanarak ng/mL olarak verildi. Elde edilen BAX ve BCL-2 protein sonuçlarına göre BAX/BCL-2 oranı hesaplandı.

### **İstatistik**

Tüm veriler her gruptaki altı bağımsız deneyden elde edildi ve medyan (IQR) olarak sunuldu. Gruplar arasında fark olup olmadığı Kruskal-Wallis testi ile belirlendi. Farklılığı yaratan grup ya da grupların belirlenmesi için Dunn testi uygulandı. Verilerin analizi SPSS 24 (IBM Corporation, Chicago, Illinois, ABD) istatistik programı ile gerçekleştirildi. p < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### **BULGULAR**

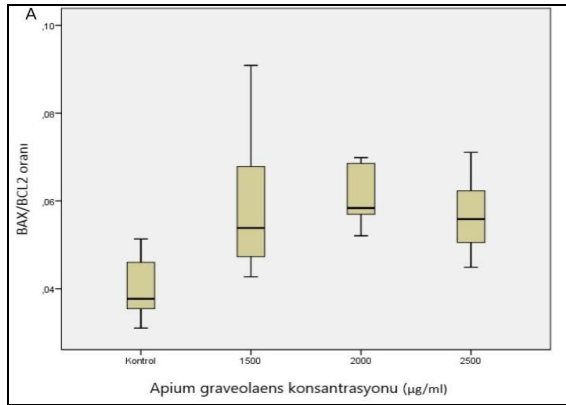
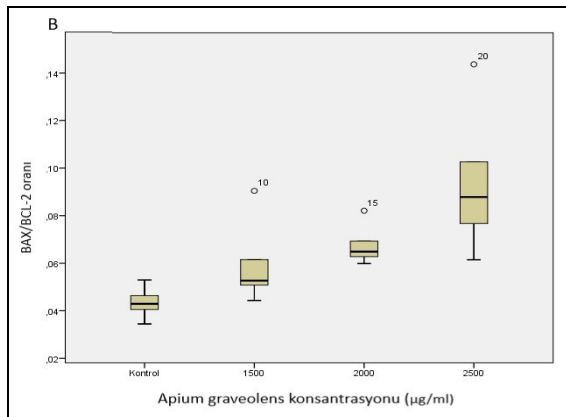
LNCaP hücrelerinin, 0, 1500, 2000, 2500 µg/mL konsantrasyonlarındaki *Apium graveolens* ekstraktları ile 24 ve 48 saat muamelesi sonrası ölçülen BCL-2, BCL-XL, BAX ve p53 düzeyleri ve gruplar arasındaki karşılaştırmalar Tablo 1'de gösterilmiştir. LNCaP hücrelerine *Apium graveolens* ekstraktlarının 24 ve 48 saatliğine uygulaması BCL-2 düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmamıştır. 2500 µg/mL ekstrakt konsantrasyonlarının 48 saatlik uygulaması, BCL-XL düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttırmıştır (p = 0,012). 2000 µg/mL konsantrasyonundaki *Apium graveolens* ekstraktının LNCaP hücrelerine 24 saat uygulanması sonucunda BAX düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (p = 0,001). Benzer şekilde, 2500 µg/mL konsantrasyonunun 24 saatlik uygulanması p53 düzeyinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı artışa neden olmuştur (p = 0,001). 2000 ve 2500 µg/mL konsantrasyonlardaki *Apium graveolens* ekstraktlarının LNCaP hücrelerine 48 saat uygulanması sonucunda ölçülen BAX (p = 0,022 ve p < 0,001, sırasıyla) ve p53 (p = 0,017 ve p = 0,017, sırasıyla) düzeyleri, kontrol grubuna göre, doza ve zamana bağımlı olarak anlamlı biçimde artmıştır (Tablo 1).

**Tablo 1.** *Apium graveolens* ekstraktının farklı konsantrasyonlarının LNCaP hücreleri deney gruplarına 24 ve 48 saat boyunca uygulanması sonrası BCL-2, BCL-XL, BAX ve p53 proteinleri ölçüm sonuçları.

Uygulama süreleri	Deney grupları	BCL-2 (ng/mL)	BCL-XL (ng/mL)	BAX (ng/mL)	p53 (ng/mL)
		Medyan (IQR)	Medyan (IQR)	Medyan (IQR)	Medyan (IQR)
24 saat	Kontrol	33,31 (7,08) <sup>a</sup>	6,90 (2,20) <sup>a</sup>	1,27 (0,25) <sup>a</sup>	40,89 (3,74) <sup>a</sup>
	1500 µg/mL	27,60 (7,85) <sup>a</sup>	7,94 (2,93) <sup>a</sup>	1,52 (0,30) <sup>a</sup>	44,00 (14,17) <sup>a</sup>
	2000 µg/mL	27,62 (5,37) <sup>a</sup>	8,80 (2,33) <sup>a</sup>	1,67 (0,10) <sup>b</sup>	48,20 (11,75) <sup>a,b</sup>
	2500 µg/mL	27,61 (5,58) <sup>a</sup>	8,31 (1,93) <sup>a</sup>	1,54 (0,16) <sup>a</sup>	67,20 (8,66) <sup>b</sup>
48 saat	Kontrol	26,39 (5,15) <sup>a</sup>	6,99 (1,61) <sup>a</sup>	1,15 (0,15) <sup>a</sup>	48,36 (8,47) <sup>a</sup>
	1500 µg/mL	27,31 (10,48) <sup>a</sup>	7,80 (2,04) <sup>a,b</sup>	1,46 (0,27) <sup>a,b</sup>	86,43 (58,69) <sup>a,b</sup>
	2000 µg/mL	26,22 (7,74) <sup>a</sup>	8,85 (2,40) <sup>a,b</sup>	1,67 (0,26) <sup>b</sup>	117,17 (43,54) <sup>b</sup>
	2500 µg/mL	22,99 (7,83) <sup>a</sup>	9,39 (3,12) <sup>b</sup>	2,09 (0,71) <sup>b</sup>	115,02 (26,16) <sup>b</sup>

BCL-2: B hücreli lenfoma 2, BCL-XL: B-hücreli lenfoma-ekstra büyük, BAX: BCL-2-İlişkili X-proteini, p53: protein 53, IQR: interquartile range (24 ve 48 saat için, aynı sütunda farklı harfler gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir).

BAX/BCL-2 oranı ise 2000 µg/mL ekstrakt konsantrasyonunun 24 ve 48 saatlik, 2500 µg/mL ekstrakt konsantrasyonunun 48 saatlik uygulaması sonrası kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükselmiştir (sırasıyla p = 0,017; p = 0,042; p = 0,001) (Şekil 1A, B).

**Şekil 1A.** *Apium graveolens* konsantrasyonlarının BAX/BCL-2 oranı üzerine etkileri (24 saat).**Şekil 1B.** *Apium graveolens* konsantrasyonlarının BAX/BCL-2 oranı üzerine etkileri (48 saat).

## TARTIŞMA

Prostat kanseri, 2020 yılı itibarıyla 112 ülkede erkeklerde en sık görülen kanser türü olup, tüm erkek kanserlerinin %15'ini oluşturmaktadır. Erkeklerde kanser kaynaklı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer alır (11). Prostat kanseri, ilerleyici doğası nedeniyle henüz etkin olarak tedavi edilememektedir. Prostat kanserinin bu yüksek görülme sıklığı, sosyo-ekonomik yükünün ve dolayısıyla tedavi maliyetlerinin diğer kanserlere göre daha hızlı artışına neden olmaktadır (12, 13). Prostat kanseri, dolaşımdaki androjenler tarafından yönlendirilen endokrinle ilişkili bir malignitedir. Birinci basamak sistemik tedavi, anti-androjenler ve androjen reseptör aktivitesi inhibitörleri tarafından total androjen blokajıdır (14). LNCaP hücre dizisi, bir lenf nodu metastazından elde edilen insan prostat adenokarsinom hücrelerinden türetilmiş androjene duyarlı bir hücre dizisidir. Bu da LNCaP hücrelerini, prostat adenokarsinomu aktivitesinin araştırılması gibi onkoloji amaçları için kullanışlı hale getirmiştir (15).

Doğal ürünler içerikleri ile çeşitli anti-kanser ilaçlar, ilaç kombinasyonları ve kemoterapi stratejileri gibi etkiler sunabilen en zengin kaynaklardan biridir. Bitkilerin anti-kanser aktivitesi, ekstraktlarda bulunan fitokimyasal bileşenlerle bağlantılıdır. Yaklaşık 1000 bitki türünün anti-kanser özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Halihazırda kullanılan anti-kanser ilaçların %60'ından fazlasının bitkiler, mikroorganizmalar ve deniz organizmaları gibi farklı doğal kaynaklardan izole edildiği rapor edilmiştir. Son birkaç on yıl boyunca bitkisel ilaçların faydalı biyolojik etkileri, hedef hücrelerle doğrudan ve güçlü etkileşimleri, sağlıklı hücrelere daha az toksisiteyi nedeniyle kullanımları önemli ölçüde artmıştır. Bu bitkisel ürünler, prostat kanserini daha az yıkıcı ve tedavi edilebilir hale getirmek için umut verici kimyasal ajanlar sunabilen yüksek çeşitliliğe sahip kaynaklardır. Son yıllarda, birçok doğal ürün ve özüt in vitro ve/veya in vivo olarak bilimsel

olarak araştırılmıştır ve potansiyel anti-prostat kanseri ajanları olabilecekleri ileri sürülmüştür (16). Fitokimyasallar, kanser hücrelerinin radyo ve kemo-terapi gibi anti-kanser tedavilere tepkisini ve yararlanımını önemli ölçüde artırır. Ayrıca, hücre apoptozu ve çoğalması, kanser istilası ve metastatik hastalık dahil olmak üzere karsinogenesinin her aşamasını hedef alarak, yan etkisi ve maliyeti düşük güçlü anti-kanserojen ajanlar olarak aktivite gösterirler (17).

Apiaceae familyasının çeşitli üyeleri arasında yer alan kereviz uzun zamandır anti-tümör ve kemopreventif potansiyele sahip çok sayıda ikincil metaboliti biyosentezleme konusunda dikkate değer bir yetenek gösteren, yenilebilir ve sağlık açısından birçok faydalı ve nutrasötik özellikleri nedeniyle şifalı bir bitkidir (18). *Apium graveolens* bitkisinin içerdiği flavonoidler, ftalidler, kumarinler, polifenoller, terpenoidler ve poliasetilenlerin geniş kapsamlı anti-kanser ve kemopreventif özelliklere sahip olduğu rapor edilmiş ve bu nedenle kereviz tüketiminin bazı kanserlere karşı koruma sağladığı varsayılmıştır (10, 19, 20) Kereviz bitkisinin kayda değer biyolojik profiline rağmen, apoptotik potansiyelleri sınırlı sayıda araştırılmış ve çoğunlukla tohumlara odaklanılmıştır. Mevcut çalışmamız, farklı konsantrasyonlardaki *Apium graveolens* etanolik ekstraktlarının, LNCaP hücrelerinde doza ve zamana bağımlı olarak BCL-2 düzeyinde gruplar arasında anlamlı bir fark yaratmasa da, BAX ve p53 düzeyleri ile BAX/BCL-2 oranında kontrol grubuna göre artışa yol açarak apoptotik ve antiproliferatif aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

Apoptoz, ökaryotik hücrelerde sıkı bir şekilde kontrol edilen, düzensizliği hücrenin hayatta kalmasını etkileyen, programlanmış hücre ölümüdür. Ancak birçok malign hücre, anti-apoptotik ve pro-apoptotik faktörlerin ekspresyonunu etkileyerek apoptozdan kaçmak için bazı mekanizmalar geliştirir (21). Apoptoz mekanizmasında görevli protein ve moleküllerin, düzensiz ekspresyon ve fonksiyonu, çok sayıda insan tümörünün gelişmesine ve ilerlemesine neden olur, dolayısıyla bu proteinler, ilaç keşfinin umut verici hedefleri olarak kabul edilir ve şu anda klinik deneylerde incelenmektedir. BCL-2 ailesinin proteinleri, hücre ölümü mekanizmalarının işleyişinde anahtar rol oynarlar ve nekroz, otofaji, apoptoz gibi farklı yollar ile hücre ölümünü modüle ederler (22, 23). BCL-2 protein ailesinin pro ve anti-apoptotik alt sınıfları arasındaki hassas denge, apoptoza duyarlılığı düzenler. Bu nedenle, BCL-2 ailesinin proteinleri, çeşitli insan kanserlerinin ilerlemesinde rasyonel terapötik hedeflerdir. Prostat kanseri tedavisinde, pro-apoptotik BCL-2 ailesi üyelerini taklit eden proteinler olan BH3 mimetikleri (örn. venetoklaks), yeni potansiyel tedavi yolları olarak klinik öncesi çalışmalarda önemli ilgi toplamıştır. Ayrıca prostat kanserinde, BCL-2 proteinleri androjen direnci, kemorezistans ve radyasyon tedavisine dirençle ilişkilendirilmiştir (24-26).

Prostat kanseri hücrelerinde çeşitli bitkisel ürünlerin etkilerinin araştırıldığı çalışmaları incelediğimizde: Kurkuminin, LNCaP hücrelerinde konsantrasyona bağlı bir şekilde, BCL-2, BCL-XL ve XIAP'yi aşağı regüle ederek (27, 28); alternolün, in vitro ve in vivo prostat kanseri tümör hücrelerinde BCL-2'nin ekspresyonunu azaltarak (29); narın suyu ve perikarpında bulunan polifenollerin androjene bağımlı LNCaP hücreleri ile PC3 ve DU145 hücrelerinde antiproliferatif, anti-invaziv ve antimetastatik etkiler uyandırarak BCL-2 proteinlerinin modülasyonu yoluyla apoptozu indüklediği (30) gösterilmiştir. Prostat kanseri hücreleri olan PC-3 ve DU145'in kerevizin de içerdiği bir flavon olan Apigenin ile tedavisi, apoptoz inhibitörleri BCL-XL ve BCL-2'de azalma ve BAX'ta artış meydana getirerek apoptoz yoluyla anti-kanser etkiler göstermiştir (31). Quercetin, anti-inflamatuar, anti-oksidan ve anti-kanser etkileri kabul edilmiş olan bir flavonoiddir. Bu etkileri quercetinin, kanser hücresinin hayatta kalmasını engelleyerek ve anti-apoptotik yolları zayıflatarak prostat kanserini baskılayabileceğini göstermektedir (32).

LAPC4, LAPC9 ve LNCaP hücrelerinde (33) ve prostat tümörlerinde (34) androjen reseptör sinyali ve BCL-2 ekspresyonu arasında negatif, BCL-X arasında ise pozitif (35) bir korelasyon rapor edilmiştir. LNCaP hücrelerinde androjen bağımlılığının BCL-2 düzeylerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; androjene duyarlı insan LNCaP prostat kanseri hücre hattının androjen bağımsızlığına ilerlemesi için öncelikle BCL-2'nin yukarı regülasyonunun gerekli olduğunu gösterilmiştir (36) Prostat kanseri hücrelerinde yapılan deneyler, androjen reseptörünün BCL-X promotörüne bağlandığını ve BCL-X ekspresyonunun androjen reseptörüne bağımlı düzenlendiğini (37), prostat kanseri hücrelerinde BCL-X ekspresyonunun androjene bağımlılığı olduğunu ortaya koymuştur (38). Biz çalışmamızda *Apium graveolens*'in farklı dozlardaki ekstraktlarının BCL-2 aktivitesinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı gözlemlenmiştir. Mevcut verilere göre bu durumu, kullanılan prostat kanseri hücre hatlarının androjen bağımlı olup olmamasına bağlamak mümkündür. Öte yandan, BCL-2 protein düzeyinde değişiklik olmaması aynı zamanda diğer anti-apoptotik belirteç olan BCL-XL de artış olması; *Apium graveolens* etanolik ekstraktlarının LNCaP hücrelerinde pro-apoptotik moleküller olan BAX ve p53 düzeylerinde yarattığı artışla apoptozu teşvik ettiğini göstermektedir.

Tümör baskılayıcı gen; p53, DNA veya serbest radikal hasarı gibi çok sayıda hücresel strese yanıt olarak hem apoptozu hem de hücre döngüsünü düzenler. Ölüm reseptörleri, BAX ve PUMA gibi BCL-2 proteinlerini düzenleyerek ekstrinsik yolu ve mitokondriyal apoptozu indükler. p53'ün mutasyonu, apoptozu inhibe ederek kanser hücrelerinin süresiz olarak çoğalmasına yardımcı olur. Prostat kanserinde, p53 mutasyonları erken, iyi diferansiyel

durumda nadirdir ancak metastatik hastalık veya hormondan bağımsız tümörler ilerledikçe daha sık hale gelir (39, 40). Yapılan çalışmalarda; cislikopen ile tedavi edilen prostat kanseri hücrelerinde TP53 ve BAX'ın aşırı ekspresyonu, BCL-2'nin aşağı regülasyonu sayesinde (41), *Moringa oleifera* metanolik yaprak ekstraktının DU145 hücrelerinde pro-apoptotik BAX mRNA ekspresyonunun yukarı regülasyonu ve anti-apoptotik BCL-2 mRNA ekspresyonunun aşağı regülasyonu ile (42), kurkuminin ise LNCaP hücrelerinde pro-apoptotik genler BİM, BAX, BAK, p53'ün seviyelerinin artışına neden olarak (43) apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Mevcut çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarımıza göre *Apium graveolens* etanolik ekstraktları da içerdiği fitokimyasallar ile LNCaP hücrelerinde pro-apoptotik moleküller olan BAX ve p53 protein düzeylerinde artışa neden olarak apoptozu yol açmıştır.

BAX ve BCL-2'nin zıt fonksiyonları olduğundan BCL-2'nin BAX'a oranı hücre apoptozunu değerlendirmek için önemli bir indekstir. Bir ölüm sinyalinin ardından BCL-2'ye göre daha yüksek BAX seviyeleri, hücrelerin apoptozu duyarlılığını artırabilir. İnsan prostat kanseri PC-3 hücrelerinin Peperomin E ile tedavisinin (44), LNCaP ve PC3 hücrelerinde keçi boynuzu ekstrakt uygulamasının (45) bizim sonucumuzla benzer şekilde BAX/BCL-2 oranını yukarı regüle ettiği belirtilmiştir. Ayrıca bir başka çalışmada, BAX/BCL-2 oranındaki artışın androjen bağımsız 104-R1 LNCaP hücrelerinin büyümesini baskıladığı bulunmuştur (36).

*Apium graveolens*'in, rabdomiyosarkom hücre hatlarının büyüme inhibisyonu üzerinde konsantrasyona bağlı bir etki gösterdiği (46), hepatoselüler karsinomda anti-oksidan enzim aktivitesinde ve kaspaz-3 seviyesinde artışa, inflamatuvar sitokinlerde azalmaya neden olduğu (47), insan mide kanseri BGC-823 hücrelerinde Siklin A, CDK2 ve BCL-2 gibi hücre döngüsü ve apoptozla ilişkili proteinlerin hepsini aşağı regüle ettiği, oysa BAX'ı yukarı regüle ettiği (48), LNCaP hücrelerinde ise parçalanmış poli (ADP-riboz) polimeraz üzerinden apoptotik etki ve vasküler endotel büyüme faktörünü aşağı düzenle-

yerek anjiyogenezi engellediği (10) ve böylece anti-kansorejen etkinliği çeşitli kanser tiplerinde çalışılmıştır. Fakat yine de pek çok toplumda tüketilen şifalı bir bitki olan *Apium graveolens*'in kök, tohum, yaprak kısımlarının ve etken maddelerinin her birinin kanserin farklı sinyal yollarının aydınlatılabilmesi için ayrı ayrı değerlendirilmesi, anti-kanser ve apoptotik etkinliğinin ayrıntılı olarak ortaya konması mortalite oranı yüksek ve tedavisi zorlu bir hastalık olan prostat kanseri gibi malignitelerde büyük katkı sağlayacaktır.

Yakın zamanda kerevizin LNCaP hücrelerinde, kaspaz-3, -8, -9 ve APAF-1 protein düzeyleri üzerine etkinliğini araştırdığımız çalışmamızda, bitkinin apoptotik etkinliğine dair yeni kanıtlar elde ettik (49). Mevcut çalışmamızda ise kerevizin LNCaP hücreleri üzerine BCL-2 proteinleri ve p53 aracılığıyla anti-kanser etkilerini göstermeyi amaçladık. Çalışmamızın kısıtlılıkları arasında, *Apium graveolens*'in apoptotik etkinliğinin farklı tipteki prostat kanseri hücrelerinde gösterilmemiş olması ve total apoptotik etkinliğini gösterebileceğimiz histokimyasal bir tekniğin eksikliği yer almaktadır. Çeşitli fitokimyasalları ile oldukça etkin ve yenilenebilir bir bitki olan kerevizin, tek başına veya kemoterapötik ajanlarla kombinasyon halinde kullanımının yararlı etkilerini göstermek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

#### Sonuç

*Apium graveolens* ekstraktları LNCaP hücrelerinde doz ve zamana bağımlı olarak BAX/BCL-2 oranı ile BAX ve p53 protein düzeylerini yukarı regüle ederek apoptozu indüklemiş ve anti-kanser etkilerini göstermiştir.

Prostat kanserini önlemek ve tedavi etmek amacıyla terapötik olarak etkin gıdaların, örneğin kerevizin, tüketimi kanser hücrelerinde apoptoz indüksiyonuna dayalı anti-kanser etkiler ortaya koyabilmektedir. Kereviz bitkisinde bulunan çeşitli fitokimyasalların prostat kanseri ile ilişkili mekanizmalardaki spesifik rolleri ayrı ayrı değerlendirilmelidir ve doğal ürünlerin kanser tedavisindeki potansiyel etkinlikleri daha ayrıntılı olarak incelenmelidir.

**KAYNAKLAR**

- Bray F, Laversanne M, Sung H et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2024; 74: 229-263. doi: 10.3322/caac.21834.
- Sekhoacha M, Riet K, Motloung P, Gumenku L, Adegoke A, Mashele, S. Prostate cancer review: Genetics, diagnosis, treatment options, and alternative approaches. *Molecules* 2022; 27: 5730. doi: 10.3390/molecules27175730.
- Rahman N, Khan H, Zia A et al. Bcl-2 modulation in p53 signaling pathway by flavonoids: A potential strategy towards the treatment of cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 22: 11315. doi: 10.3390/ijms222111315.
- Ali A, Kulik G. Signaling pathways that control apoptosis in prostate cancer. *Cancers* 2021; 13: 937. doi: 10.3390/cancers13050937.
- Westaby D, Jimenez-Vacas JM, Padilha A et al. Targeting the intrinsic apoptosis pathway: a window of opportunity for prostate cancer. *Cancers* 2021; 14: 51. doi: 10.3390/cancers14010051.
- Torrealba N, Rodríguez-Berriguete G, Vera R et al. Homeostasis: apoptosis and cell cycle in normal and pathological prostate. *Aging Male* 2020; 23: 335-345. doi: 10.1080/13685538.2018.
- Bai B, Chen Q, Jing R et al. Molecular basis of prostate cancer and natural products as potential chemotherapeutic and chemopreventive agents. *Front Pharma* 2021; 12: 738235. doi: 10.3389/fphar.2021.738235.
- Kooti W, Daraei N. A review of the antioxidant activity of celery (*Apium graveolens*L). *J Evid Based Complementary Altern Med* 2017; 22: 1029-34. doi: 10.1177/2156587217717415.
- Hartono T, Sandra F, Hayuningtyas RA, Jauhari S, Sudiono J. Potential anticancer properties of *Apium graveolens* Linn. against oral cancer. In Widyanman AS, Rizal MI, Roeslan MO, Marpaung CD (Editors). *Quality Improvement in Dental and Medical Knowledge, Research, Skills and Ethics Facing Global Challenges*. 1. Baski, London, CRC Press 2024: 407-413. doi: 10.1201/9781003402374
- Koken T, Koca B, Ozkurt M, Erkasap N, Kus G, Karalar M. *Apium graveolens* extract inhibits cell proliferation and expression of vascular endothelial growth factor and induces apoptosis in the human prostatic carcinoma cell line LNCaP. *J Med Food* 2016; 19: 1166-71. doi: 10.1089/jmf.2016.0061.
- James ND, Tannock I, N'Dow J et al. The Lancet Commission on prostate cancer: planning for the surge in cases. *Lancet* 2024; 27: 1683-722. doi: 10.1016/S0140-6736(24)00651-2.
- Sekhoacha M, Riet K, Motloung P, Gumenku L, Adegoke A, Mashele, S. Prostate cancer review: Genetics, diagnosis, treatment options, and alternative approaches. *Molecules* 2022; 27: 5730. doi: 10.3390/molecules27175730.
- Gupta J, Abdulsahib WK, Jalil AT et al. Prostate cancer and microRNAs: New insights into apoptosis. *Pathology-Research and Practice* 2023; 245: 154436. doi: 10.1016/j.prp.2023.154436.
- Kallifatidis G, Hoy JJ, Lokeshwar BL. Bioactive natural products for chemoprevention and treatment of castration-resistant prostate cancer. *Semin Cancer Biol* 2016; 41:160-9. doi: 10.1016/j.semcancer.2016.06.003.
- Botelho MA, Queiroz DB. Testosterone Nanoemulsion Prevents Prostate Cancer: PC-3 and LNCaP Cell Viability In Vitro. *International J Molecular Sci* 2024; 25: 7729. doi: 10.3390/ijms25147729
- Hazafa A, Iqbal MO, Javaid U et al. Inhibitory effect of polyphenols (phenolic acids, lignans, and stilbenes) on cancer by regulating signal transduction pathways: A review. *Clinical and Translational Oncology* 2022; 24: 432-45. doi: 10.1007/s12094-021-02709-3.
- Mazurakova A, Samec M, Koklesova L et al. Anti-prostate cancer protection and therapy in the framework of predictive, preventive and personalised medicine - comprehensive effects of phytochemicals in primary, secondary and tertiary care. *EPMA J* 2022; 13: 461-86. doi: 10.1007/s13167-022-00288-z.
- Ahmed SST, Fahim JR, Youssif KA et al. Comparative study of the chemical composition and anti-proliferative activities of the aerial parts and roots of *Apium graveolens* L. (celery) and their biogenic nanoparticles. *South African J Botany* 2022; 151: 34-45. doi: 10.1016/j.sajb.2021.11.002
- Acimovic MG, Rat MM, Tesevic VV, Dojcincovic NS. Anticancer properties of Apiaceae. In Petropoulos SA, Ferreira ICFR, Barros L (Editors). *Phytochemicals in Vegetables: A Valuable Source of Bioactive Compounds*. 1. Baski, UAE, Bentham Science 2018; 236-55.
- Khairullah AR, Solikhah, TI, Ansori ANM et al. Review on the pharmacological and health aspects of *Apium graveolens* L. or celery: an update. *Syst Rev Pharm* 2021; 12: 606-12. doi:10.31838/srp.2021.1.87
- Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019; 20: 175-93. doi: 10.1038/s41580-018-0089-8.

22. Yip K, Reed J. Bcl-2 family proteins and cancer. *Oncogene* 2008; 27: 6398-406. doi: 10.1038/onc.2008.307.
23. Zhu M, Liu D, Liu G, Zhang M, Pan F. Caspase-Linked Programmed Cell Death in Prostate Cancer: From Apoptosis, Necroptosis, and Pyroptosis to PANoptosis. *Biomolecules* 2023; 13: 1715. doi: 10.3390/biom13121715.
24. Carneiro BA, El-Deiry WS. Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2020; 17: 395-417. doi: 10.1038/s41571-020-0341-y.
25. Soliman L, De Souza A, Srinivasan P et al. The role of BCL-2 proteins in the development of castration-resistant prostate cancer and emerging therapeutic strategies. *Am J Clin Oncol* 2021; 44: 374-82. doi: 10.1097/COC.0000000000000829.
26. Wolf P. BH3 mimetics for the treatment of prostate cancer. *Front Pharmacol* 2017; 8: 557. doi: 10.3389/fphar.2017.00557.
27. Shankar S, Srivastava RK. Involvement of Bcl-2 family members, phosphatidylinositol 3'-kinase/AKT and mitochondrial p53 in curcumin (diferulolylmethane)-induced apoptosis in prostate cancer. *Int J Oncol* 2007; 30: 905-18. doi:10.3892/ijo.30.4.905
28. Wahab NAA, Lajis NH, Abas F, Othman I, Naidu R. Mechanism of anti-cancer activity of curcumin on androgen-dependent and androgen-independent prostate cancer. *Nutrients* 2020; 12: 679. doi: 10.3390/nu12030679.
29. Xu H, Zhou Z, Li B. "Natural compound Alteranol as a novel therapeutic for prostate cancer treatment. *Am J Clin Experiml Urology* 2020; 8: 76. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7364364/pdf/ajceu0008-0076.pdf>. 15.02.2024.
30. Albrecht M, Jiang W, Kumi-Diaka JJ et al. Pomegranate extracts potently suppress proliferation, xenograft growth, and invasion of human prostate cancer cells. *J Med Food* 2004; 7: 274-83. doi: 10.1089/jmf.2004.7.274.
31. Shukla S, Fu P, Gupta S. Apigenin induces apoptosis by targeting inhibitor of apoptosis proteins and Ku70-Bax interaction in prostate cancer. *Apoptosis* 2014; 19: 883-94. doi: 10.1007/s10495-014-0971-6.
32. Ghafouri-Fard S, Shabestari FA, Vaezi S et al. Emerging impact of quercetin in the treatment of prostate cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2021; 138: 111548. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111548.
33. Li Q, Deng Q, Chao H-P et al. Linking Prostate Cancer Cell AR Heterogeneity to Distinct Castration and Enzalutamide Responses. *Nat Commun* 2018; 9: 3600. doi: 10.1038/s41467-018-06067-7.
34. Bonkhoff H, Fixemer T, Remberger K. Relation between Bcl-2, Cell Proliferation, and the Androgen Receptor Status in Prostate Tissue and Precursors of Prostate Cancer. *Prostate* 1998; 34: 251-8. doi: 10.1002/(sici)1097-0045(19980301)34:4<251::aid-pros2>3.0.co;2-k.
35. Castilla C, Congregado B, Chinchón D, Torrubia FJ, Japón MA, Sáez C. Bcl-XL Is Overexpressed in Hormone-Resistant Prostate Cancer and Promotes Survival of LNCaP Cells via Interaction with Proapoptotic Bak. *Endocrinol* 2006; 147: 4960-7. doi: 10.1210/en.2006-0502.
36. Lin Y, Fukuchi J, Hiipakka RA, Kokontis JM, Xiang J. Up-regulation of Bcl-2 is required for the progression of prostate cancer cells from an androgen-dependent to an androgen-independent growth stage. *Cell Res* 2007; 17: 531-6. doi: 10.1038/cr.2007.12.
37. Sun A, Tang J, Hong Y et al. Androgen Receptor-Dependent Regulation of Bcl-XL Expression: Implication in Prostate Cancer Progression. *Prostate* 2008; 68: 453-61. doi: 10.1002/pros.20723.
38. Lamb LE, Zarif JC, Miranti CK. The Androgen Receptor Induces Integrin A61 to Promote Prostate Tumor Cell Survival via NF-KB and Bcl-XL Independently of PI3K Signaling. *Cancer Res* 2011; 71: 2739-49. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2745.
39. Jeong SH, Kim HH, Park MY et al. Flavones: The Apoptosis in Prostate Cancer of Three Flavones Selected as Therapeutic Candidate Models. *International J Mol Sci* 2023; 24: 9240. doi: 10.3390/ijms24119240.
40. Wang X, Simpson ER, Brown KA. p53: Protection against Tumor Growth beyond Effects on Cell Cycle and Apoptosis. *Cancer Res* 2015; 75: 5001-7. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0563.
41. Soares NDCP, Machado CL, Trindade BB et al. Lycopen extracts from different tomato-based food products induce apoptosis in cultured human primary prostate cancer cells and regulate TP53, Bax and Bcl-2 transcript expression. *Asian Pac J Cancer Prev* 2017; 18: 339-45. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.2.339.
42. Khan F, Pandey P, Jha NK, Jafri A, Khan I. Antiproliferative effect of *Moringa oleifera* methanolic leaf extract by down-regulation of Notch signaling in DU145 prostate cancer cells. *Gene Reports* 2020; 19: 100619. doi:10.1016/j.genrep.2020.100619.
43. Termini D, Den Hartogh DJ, Jaglanian A, Tsiani, E. Curcumin against prostate cancer: current evidence. *Biomolecules* 2020; 10: 1536. doi: 10.3390/biom10111536.

44. Li Y, Pan J, Gou, M. The anti-proliferation, cycle arrest and apoptotic inducing activity of peperomin E on prostate cancer PC-3 cell line. *Molecules*. 2019; 24: 1472. doi: 10.3390/molecules24081472.
45. Khazaei F, Bozorgi M, Khazaei M. Anticancer Effect of Carob Bean Extract on Human Prostate Cancer Cell Lines: Apoptosis Induction and Bax/Bcl-2 Ratio Improvement. *Middle East J Cancer* 2023; 14: 363-9. doi: 10.30476/mejc.2022.93823.1704.
46. Al-Jumaily RMK. Evaluation of anticancer activities of crude extracts of *Apium graveolens* L. seeds in two cell lines, RD and L20B in vitro. *Iraqi J Cancer Med Genet* 2010; 3: 18-23. doi: 10.29409/ijcmg.v3i2.40
47. Lyngdoh A, Baruah TJ, Sharan RN, Kma L. Inhibitory Potential of *Apium graveolens* L. Extract on Inflammation in Diethylnitrosamine-induced Hepatocellular Carcinoma in Mice. *Pharmacognosy Magazine* 2023; 19: 736-50. doi: 10.1177/0973129623117093.
48. Gao LL, Feng L, Yao ST et al. Molecular Mechanisms of Celery Seed Extract Induced Apoptosis via S Phase Cell Cycle Arrest in the BGC-823 Human Stomach Cancer Cell Line. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 2601-6.
49. Koca HB, Köken T, Akan T. *Apium Graveolens* Ekstraktlarının LNCaP Hücrelerinde Kaspaz-3,-8,-9 ve Apaf-1 Üzerine Etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2024; 25: 300-6. doi: 10.18229/kocatepetip.1340255.