

Meşe Palamudunun (*Quercus coccifera* L.) Farklı Kısımlarının A549, MCF-7 ve HeLa İnsan Kanser Hücrelerine Karşı Antikanser, Antiproliferatif ve Laktat Dehidrojenaz Enzim Aktiviteleri

Sevgi GEZİCİ 

Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Science and Literature, Kilis 7 Aralık University, Kilis, Turkey

<https://orcid.org/0000-0002-4856-0221>

✉: drsevgigezici@gmail.com

ABSTRACT

Bu çalışmada, Meşe palamudunun (*Q. coccifera*) dış-kabuk, külah ve iç kısmından elde edilen özütlerin; A549, MCF-7, HeLa kanser hücreleri ve kanserli olmayan HUVEC hücrelerine karşı potansiyel antikanser, antiproliferatif ve nekrotik kapasiteleri araştırılmıştır. Analizler sonucunda, meşe palamudunun farklı kısımlarından elde edilen ekstraktların en düşük konsantrasyonda dahi antikanser ve antiproliferatif etkiye sahip oldukları ortaya konulmuştur. Palamut meyvesinin külah kısmından elde edilen etanol özütleri, 5.04 ± 0.02 ile 18.04 ± 0.16 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişen IC_{50} değerleriyle, diğer kısımlarından elde edilen özütlerden daha yüksek antikanser aktivite göstermiştir. En yüksek oranda sitotoksik aktivite MCF-7 hücrelerine karşı gözlenirken; en düşük sitotoksik aktivite ise A549 hücrelerinde gözlenmiştir. Antikanser ve antiproliferatif aktivite sonuçlarının aksine, en yüksek LDH aktivitesi HeLa hücrelerinde belirlenmiştir. MTT ve tripan mavisi analiz sonuçlarıyla uyumlu olarak, en yüksek LDH salınım kapasitesi külah kısmından elde etanol özütlerinde saptanmıştır. Bu çalışma; meşe palamudunun, kanser hücrelerinde hücre büyümesini konsantrasyon ve zamana bağlı olarak engelleme potansiyeline sahip olduğunu ortaya koyan, özgün bir çalışmadır.

Research Article

Article History

Received : 21.06.2019

Accepted : 01.08.2019

Keywords

Q. coccifera L.,
Meşe palamudu,
Antikanser,
Antiproliferatif,
Sitotoksosite

Anticancer, Antiproliferative and Lactate Dehydrogenase Enzyme Activities of Different Parts of Acorn (*Quercus coccifera* L.) against A549, MCF-7 and HeLa Human Cancer Cells

ÖZET

In this study, potential anticancer antiproliferative and necrotic capacities of the extracts obtained from shell, cup and shelled acorn parts of acorn (*Q. coccifera*) were investigated against A549, MCF-7, HeLa cancer cells and non-tumorous HUVECs. As a result of the analysis, it was proved that the different parts obtained from the acorns have anticancer and antiproliferative effects, even at the lowest concentration. The ethanol extracts obtained from the cup parts of acorn showed higher anticancer activity with IC_{50} values ranging from 5.04 ± 0.02 to 18.04 ± 0.16 $\mu\text{g/mL}$ than the extracts from other parts. The highest rate of cytotoxic activity was observed against MCF-7 cells, whilst the lowest cytotoxic activity was observed against A549 cells. In contrast to anticancer and antiproliferative activity results, the highest LDH activity was determined in HeLa cells. In accordance with the MTT and trypan blue assay results, the highest LDH release capacity was found in the ethanol extracts obtained from the cup part. This is an original study that reveals acorn has the potential to inhibit cell growth in the cancer cells depending on concentration and time.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 21.06.2019

Kabul Tarihi : 01.08.2019

Anahtar Kelimeler

Q. coccifera L.,
Acorn,
Antikanser,
Antiproliferatif,
Cytotoxicity

To Cite : Gezici S 2019. Meşe Palamudunun (*Quercus coccifera* L.) Farklı Kısımlarının A549, MCF-7 ve HeLa İnsan Kanser Hücrelerine Karşı Antikanser, Antiproliferatif ve Laktat Dehidrojenaz Enzim Aktiviteleri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22 (Ek Sayı :2): 374-381. DOI: 10.18016/ksutarimdog.v22i49454.580285

GİRİŞ

Dünya üzerinde yaklaşık 300 farklı takson ile temsil edilen *Quercus* (Fagaceae) cinsi ülkemizde doğal olarak yetişmekte olup, bu taksonlardan beş tanesi ülkemiz için endemiktir. Ülkemizde “Meşe” olarak bilinen *Quercus* türleri genel olarak mobilya yapımında ve inşaat malzemesi olarak kullanılmaktadır. Kermes meşesi olarak anılan *Quercus coccifera* L. türü ise Akdeniz iklim kuşağına uyum sağlamış bir meşe türü olup, bölgede yaygın şekilde yayılış göstermektedir (Ozcan ve Bayçu, 2005; Senol ve ark., 2018). Meyveleri insan ve hayvan gıdası olarak kullanılan kermes meşesinin farklı bitki kısımları yüzyıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde halk ilacı olarak kullanılmakta, bitkinin meyvelerinin; sahip olduğu antimikrobiyal, antiülser, antihelmintik, antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitelerinden dolayı, Anadolu Halk Hekimliğinde hemoroit, şeker hastalığı ve böbrek taşı rahatsızlıklarında kullanıldığı belirtilmektedir (Akcan ve ark., 2017; Sohretoglu ve ark., 2007). Çeşitli tıbbi ve etnobotanik kullanımlarının yanı sıra palamut adı verilen meşe meyveleri kavrulup öğütüldükten sonra farklı aroması ile kahve şeklinde de tüketilmektedir (Gezici ve Sekeroglu, 2019a).

Kermes meşesinin farklı bitki kısımlarının fitokimyasal yapısı ve biyolojik aktivitesi üzerinde yapılan son çalışmalar, bitkinin meyvesi, kabuk kısmı ve yapraklarında çok sayıda bileşiğin varlığını ortaya koymuştur. HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) ve ESI-MS (elektrosprey iyonizasyonunu kütle spektrometrisi) ile yapılan bir çalışmada, bitkinin meyve ve yapraklarında 41 farklı bileşik tespit edilmiş, ana bileşiklerin gallik asit türevleri, sakkaritler ve flavonoidler olduğu ortaya konulmuştur. Bu çalışmalar kapsamında tespit edilen gallotanelerin ise meşe bitkilerine özgü fitokimyasallar olduğu ve bu bileşiklerin özellikle kalp koruyucu potansiyelinin bulunduğu belirtilmiştir (Molina-García ve ark., 2018). Kermes meşesinin farklı kısımlarının halk hekimliğinde yanık ve yara iyi edici olarak kullanıldığı bilinmekte olup, bitkinin dallarından özütlenen ekstrelerinin yara iyi edici özelliği, gelişmiş fibroblast proliferasyonu, yara kapanma hızı, kollojen sentezi, antibakteriyel aktivite ve iltihap giderici özellikleri temelinde bilimsel olarak ta ispatlanmıştır (Anlas ve ark., 2019).

Tıbbi ve aromatik bitkiler ve bunlardan elde edilen ekstre, uçucu yağ ve diğer biyoaktif bileşenlerin; antikanser, antiproliferatif, antioksidant ve nöroprotektif potansiyellerini ortaya koymaya yönelik çok sayıda çalışma laboratuvarımızda gerçekleştirilmiş olup (Akgunlu ve ark., 2016; Belkhodja ve ark., 2017; Gezici ve ark., 2017; Sekeroglu ve ark., 2017; Gundogdu ve ark., 2018;

Karik ve ark., 2018; Sekeroglu ve ark., 2018; Senol ve ark., 2018; Gezici, 2018, 2019; Gezici ve Sekeroglu, 2019a; 2019b; Shida ve ark., 2019), meşe palamudunun (*Q. coccifera* L.) dış kabuk, külâh ve iç kısımlarından elde edilen ekstraktların toplam polifenolik içerikleri, *in vitro* antioksidan kapasiteleri ve nöroprotektif aktiviteleri de önceki çalışmalarımızda tespit edilmiştir (Senol ve ark., 2018; Gezici ve Sekeroglu, 2019b).

Meşe palamudunun (*Q. coccifera* L.) farklı kısımları ile yapmış olduğumuz önceki çalışmalarımızdan elde edilen veriler ve daha önce ilgili bitki kısmının herhangi bir biyolojik aktivitesini ortaya koymaya yönelik çalışmaların gerçekleştirilmemiş olması nedeniyle; bu çalışmada meşe palamudunun olası antikanser, sitotoksik, antiproliferatif ve laktat dehidrojenaz aktivitelerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bitki Materyali

Meşe palamudu, Türkiye'nin Doğu Akdeniz Bölgesi'nde bulunan Kilis ilinden Kasım-Aralık aylarında yabancı *Q. coccifera* L. ağaçlarından ve çalılardan toplanmıştır. Bitki materyalinin taksonomik olarak tanımlanması Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Biyoloji Bölümü tarafından, Davis (1982) Türkiye Florası'na göre yapılmış olup; bitki materyali Biyoloji Bölümü Herbaryum'unda saklanmaktadır.

Numune ve Ekstrelerin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan özütleri hazırlamak için, meşe palamudu dış kabuk, külâh ve meyvenin iç kısmı olmak üzere üç ayrı kısım olarak çalışmaya dâhil edilmiştir. Her bir kısım ayrı ayrı olarak laboratuvar ortamında kurutulmuş ve her bir numuneden 40'ar gram alınarak etanol ve distile su ile oda sıcaklığında maserasyon yöntemi ile özütlemeye tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon işlemi daha önceki yayınlarda belirtilen prosedüre göre yapılmıştır (Gezici ve ark., 2017; Gezici ve Sekeroglu, 2019a). Meşe palamudunun farklı kısımlarından iki farklı çözücü ile toplamda altı ekstrakt elde edilmiş olup, ekstraktların yüzde özüt verimlilikleri (% a/a) Çizelge 1'de verildiği gibidir. Elde edilen özütler -20°C derin dondurucuda muhafaza edilmiş ve farklı konsantrasyonlarda DMSO ile çözümlenerek analizlerde kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Hücre Hatları ve Kültür Koşulları

Meşe palamudunun kabuk, külâh ve iç kısmından elde edilen ekstrelerinin sitotoksik, antiproliferatif ve laktat dehidrojenaz enzim aktiviteleri Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonundan (ATCC, ABD) elde edilen insan kanser hücre hatlarına karşı test edilmiştir

Çalışmaya dâhil edilen hücre hatları; insan akciğer karsinomu (A549), meme adenokarsinoması (MCF-7), rahim ağzı kanseri (HeLa) hücreleri ve malign olmayan insan umbilikal ven endotel hücre (HUVEC)'leridir. A549 ve HeLa hücreleri, %10 (h/h) FBS, %1 antibiyotik (%100 U / ml penisilin / 100ug / ml streptomisin) ve %1 L-glutamin içeren RPMI-1640 besiyerinde kültüre alınırken; HUVEC ve MCF-7 hücreleri ise DMEM besiyerinde kültür ortamına alınmıştır. Hücre kültür ortamları ve koşulları, Gezici ve ark. (2017), Gezici (2018) ve Gezici (2019) tarafından daha önce belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Meşe palamudunun (*Q. coccifera* L.) özüt verimliliği

Meşe Palamudunun Kısımları	Ekstraksiyon	Özüt verimliliği (%a/a)
Dış Kabuk	EtOH	0.83
	dH ₂ O	1.21
Külâh Kısmı	EtOH	0.58
	dH ₂ O	6.68
İç Kısmı	EtOH	3.41
	dH ₂ O	12.56

Antikanser Aktivitenin Belirlenmesi

Bitki ekstratlarının antikanser aktiviteleri daha önce Mosmann (1983) tarafından belirlenen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemde, 5×10^3 hücre yoğunluğuna ulaşan hücreler 200 ul besiyeri içeren ortamda 24 saat 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve meşe palamudunun farklı kısımlarının etanol ve sulu özütleri 10 ile 200 ug/mL arasında değişen konsantrasyonlarda ayrı ayrı kuyucuklara eklenmiştir, 37 °C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra, her bir kuyucuğa MTT çözeltisi ilave edilerek, 37 °C'de 4 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve spektrofotometrede (Thermo Lab 408 Multiskan) 570 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Her bir özüt ve her bir hücre hattı için ayrı ayrı IC₅₀ (ug/mL) değerlerini hesaplanmıştır.

Antiproliferatif Aktivitenin Belirlenmesi

Meşe palamudu ekstratlarının antiproliferatif potansiyellerini ortaya koymak amacıyla, Strober (2015) tarafından ortaya konulan Trypan Blue Exclusion metodu uygulanmıştır. Bu metotta kullanılan kimyasallar ve analiz koşulları Gezici (2018) ve Gezici (2019) yayınlarında belirtildiği gibi olup, meşe palamudunun farklı kısımlarının etanol ve sulu ekstratları 10, 50, 100 ve 200 ug /mL konsantrasyonlarında A549, MCF-7 ve HeLa kanser hücrelerine karşı analiz edilmiştir. Tripan mavisi uygulama sonrası, her bir hücre hattındaki hücrelerin canlılıkları doz ve zamana bağlı olarak mikroskopik

olarak belirlenmiş ve otomatik hücre sayım cihazında (Cedex XS Analyzer) sayılmıştır.

Laktat Dehidrojenaz (LDH) Aktivitesinin Belirlenmesi

Laktat dehidrojenaz (LDH) enzim salınım aktivite analizleri, Al-Qubaisi ve ark. (2011) tarafından tarif edilen yöntemle yapılmış olup, tüm kimyasallar ve koşullar Gezici (2018) tarafından belirtildiği gibidir. Kısacası bu yöntemde, 2×10^4 hücre / kuyucuk yoğunluğuna ulaşan hücreler, MTT yönteminde olduğu gibi 10, 50, 100 ve 200 ug /mL konsantrasyonlarında meşe palamudu ekstratları ile sırasıyla 24, 48 ve 72 saat boyunca inkübe edilmiş ve daha sonra bir ELISA mikropilaka spektrofotometre okuyucu (Thermo Lab systems 408 Multiskan) kullanılarak 340 nm dalga boyunda absorbans verileri elde edilmiştir. Ortamdaki LDH salım yüzdesi, aynı kuyucuktaki hücre lizatındaki toplam LDH ile karşılaştırılarak hesaplanmış ve her bir özüt konsantrasyon ve muamele zamanına bağlı olarak her bir hücre hattı için IC₅₀ (ug/mL) değerlerini hesaplanmıştır.

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada yer alan bütün analizler birbirinden bağımsız üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. Üç tekrarlı analizlerden elde edilen verilerin ortalaması ve standart sapma (ortalama \pm SS) olarak ifade edilmiştir. IC₅₀ değerlerini hesaplamak için doğrusal regresyon analizi yapılmıştır. P <0.05 istatistiksel olarak önemli kabul edilirken, p <0.01 ise istatistiksel olarak çok önemli olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Antikanser Aktivite Bulguları

Q. coccifera L. (meşe palamudu) bitkisinin kabuk, külâh ve iç kısmından elde edilen ekstratlarının doz ve zamana bağlı olarak sitotoksik ve antikanser aktivitelerinin belirlenmesi için MTT yöntemi uygulanmış olup, analizlerde doksorubisin pozitif kontrol olarak kullanılırken, DMSO ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Meşe palamudu ekstratlarının A549, MCF-7 ve HeLa kanser hücrelerine karşı 48 saatlik bir muamele sonrasında elde edilen antikanser aktivite sonuçları, IC₅₀ değerleriyle Çizelge 2'de verilmiştir.

MTT analiz sonuçlarından görüldüğü üzere, meşe palamudu farklı kısımları ile birlikte test edilen kanser hücrelerine karşı güçlü sitotoksik aktivite göstermiş olup, külâh kısmından elde edilen özütler 5.04 ± 0.02 ile 18.04 ± 0.16 ug/mL (200ug/mL konsantrasyonda) arasında değişen IC₅₀ değerleriyle, diğer kısımlardan elde edilen ekstratlara göre daha yüksek bir sitotoksik aktivite sergilemiştir. Test edilen meşe palamudu kısımları, uygulanan doz miktarı ile doğru orantılı olarak değişmekle birlikte, en yüksek doz konsantrasyonunda MCF-7 hücre hattına karşı en

yüksek seviyede antikanser aktivite gösterirken
(5.04±0.02 – 21.34±0.04 µg/mL arasında değişen IC₅₀)

Çizelge 2. *Q. coccifera* L. (Meşe palamudu) kısımlarının A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerine karşı antikanser aktivitesi

Hücre Hatları	Bitki Kısım		Ekstrakt konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$) ^a			
			10 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$
A549	Dış Kabuk	EtOH	45.13 \pm 0.12**	37.16 \pm 0.08**	33.55 \pm 1.10*	23.10 \pm 0.18**
		dH ₂ O	65.04 \pm 0.46*	40.82 \pm 1.06*	32.78 \pm 0.48**	29.12 \pm 1.14**
	Külâh Kısım	EtOH	34.09 \pm 0.11**	26.18 \pm 0.17**	21.09 \pm 1.08**	14.08 \pm 1.12*
		dH ₂ O	53.02 \pm 1.05**	47.05 \pm 1.02**	40.12 \pm 0.03*	19.12 \pm 0.16**
	İç Kısım	EtOH	38.41 \pm 0.18**	36.06 \pm 0.15**	27.14 \pm 0.02*	18.04 \pm 1.09**
		dH ₂ O	58.17 \pm 0.15**	46.18 \pm 0.92**	31.04 \pm 1.17*	20.15 \pm 0.08**
MCF-7	Dış Kabuk	EtOH	35.46 \pm 1.04**	28.94 \pm 0.04*	18.02 \pm 1.01**	10.68 \pm 0.16**
		dH ₂ O	42.01 \pm 1.04**	38.96 \pm 0.08**	29.65 \pm 1.12*	21.34 \pm 0.04**
	Külâh Kısım	EtOH	24.68 \pm 0.06**	19.01 \pm 1.05*	8.42 \pm 0.12**	5.04 \pm 0.02**
		dH ₂ O	41.02 \pm 0.07*	35.25 \pm 1.02**	25.01 \pm 0.18**	15.01 \pm 0.16**
	İç Kısım	EtOH	32.90 \pm 0.09**	26.04 \pm 0.12**	13.61 \pm 0.14**	7.06 \pm 0.46**
		dH ₂ O	47.26 \pm 1.12*	35.18 \pm 0.08**	26.60 \pm 0.03*	17.98 \pm 1.04**
HeLa 2	Dış Kabuk	EtOH	40.02 \pm 0.11**	34.18 \pm 0.54**	23.10 \pm 0.51**	18.24 \pm 0.12**
		dH ₂ O	60.02 \pm 0.08*	45.88 \pm 0.68**	28.04 \pm 0.96*	12.69 \pm 0.46**
	Külâh Kısım	EtOH	32.10 \pm 1.06**	18.69 \pm 0.13**	12.15 \pm 0.05**	9.48 \pm 0.13**
		dH ₂ O	36.28 \pm 0.21**	42.04 \pm 1.04**	29.09 \pm 0.38**	11.05 \pm 0.18*
	İç Kısım	EtOH	37.06 \pm 1.18**	30.14 \pm 0.12**	17.02 \pm 0.01**	10.62 \pm 0.16**
		dH ₂ O	49.12 \pm 1.01*	37.04 \pm 0.15*	20.64 \pm 0.08**	18.78 \pm 0.26**
Doksorubisin ^b			6.89 \pm 1.02	3.01 \pm 0.08	2.26 \pm 0.05	1.78 \pm 0.15
DMSO (dimetil sülfoksit) ^c			0	0	0	0

^a Veriler IC₅₀ \pm SS olarak ifade edilmiştir (n=3).

^b Doksorubisin, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

^c DMSO; dimetil sülfoksit, negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

**P değeri <0.01 ise istatistiksel olarak çok önemli, *P değeri <0.05 ise önemli olarak kabul edilmiştir.

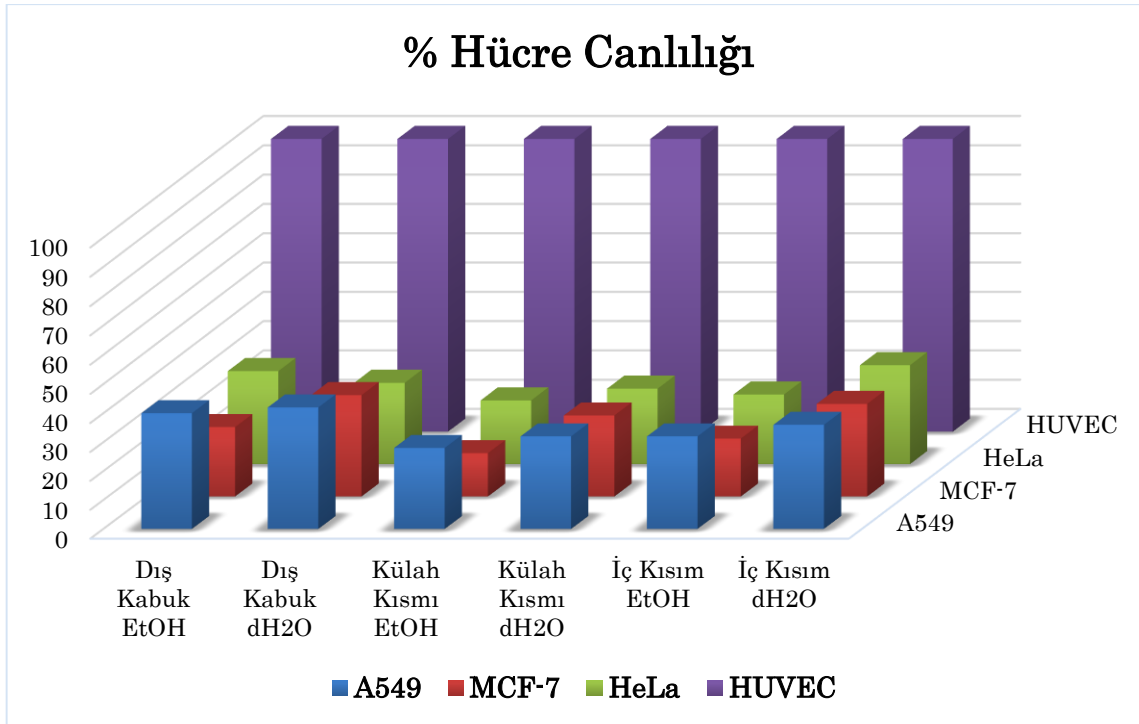
değeri); A549 hücre hattına karşı en düşük seviyede aktivite göstermiştir ($IC_{50}= 14.08\pm 1.12 - 29.12\pm 1.14$ $\mu\text{g/mL}$). Meşe palamudunun dış kabuk kısmından elde edilen su özütlerinin antikanser aktivitesi en düşük olarak saptanmakla birlikte; çalışmaya dâhil edilen hücre hatlarına göre antikanser aktivitesine bakıldığında, A549 hücre hattına karşı en düşük antikanser aktivite ($IC_{50}= 29.12\pm 1.14$ $\mu\text{g/mL}$) gözlenirken, ilgili kısımdan elde edilen su özütlerinin HeLa hücrelerine karşı 12.69 ± 0.46 $\mu\text{g/mL}$ IC_{50} değeriyle en yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 2).

Antiproliferatif Aktivite Bulguları

Meşe palamudunun farklı kısımlarından su ve etanol çözücülerini ile elde edilen ekstraktlarının uygulanan doz ve uygulama süresine bağlı olarak antiproliferatif aktivitelerinin belirlenmesi Tripkan mavisi deneyine göre yapılmıştır. Ekstrelerin farklı konsantrasyonlarına bağlı olarak sırasıyla 24, 48, 72 saat muamele sonrasında mikroskop altında canlı ve cansız hücreler gözlenerek hücre sayımları

yapılmıştır. En yüksek ekstre uygulama dozu olan 200 $\mu\text{g/mL}$ ile 48 saat muamele sonrasında A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerinde elde edilen hücre canlılık (%) yüzdesi Şekil 1'de gösterildiği gibidir. A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerinde belirlenen yüzde hücre canlılıkları malign olmayan HUVEC hücreleri ile kıyaslanmıştır.

Şekil 1'de görüldüğü üzere, antiproliferatif aktivite sonuçları, MTT analiz sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Meşe palamudunun farklı kısımlarından elde edilen ekstraktlar, doz ve zamana bağlı olarak test edilen her üç kanser hücre hattına karşı %15 ile %42 arasında değişen hücre canlılık yüzdesiyle, hücre canlılığını azaltıcı ve hücre büyümesini engelleyici yönde etki göstermiştir. Hücre canlılığında en yüksek oranda azalma meşe palamudunun külâh kısmından elde edilen etanol özütlerinde MCF-7 hücrelerine karşı belirlenirken; dış kabuk kısmından elde edilen su özütlerinde A549 hücrelerine karşı en düşük oranda hücre canlılığında azalma gözlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerinde yüzde (%) hücre canlılığı

* Hücreler 200 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda ekstrakt ile 48 saat süre ile muamele sonucunda veriler alınmıştır.

** HUVEC hücreleri kontrol hücreler olarak kullanılmış olup, hücre canlılıkları %100 olarak kabul edilmiştir.

Laktat Dehidrojenaz (LDH) Aktivite Bulguları

LDH enzimi, piruvatın laktata dönüşümünde rol oynayan sitoplazmik bir enzimdir ve hücre zarının hasar görmesi durumunda nekrotik hücre zarlarından salınmaktadır. Bu nedenle LDH enzim salınım miktarı, hücrelerde meydana gelen nekrotik hasar ve ölümlerin bir belirteci olarak kullanılmaktadır. A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerinden LDH

enzim salınım aktivitesi, 10, 50, 100 ve 200 $\mu\text{g/mL}$ olmak üzere farklı konsantrasyonlarda meşe palamudu ekstraktları ile sırasıyla 24, 48 ve 72 saat muameleden sonra IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) değerleri açısından zamana bağlı olarak Çizelge 3'de verilmiştir. LDH aktivite analizinde, malign olmayan HUVEC hücreleri kontrol hücre hattı olarak ve doksorubisin ise standart sitotoksik ajan olarak kullanılmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 3. *Q. coccifera* L. (Meşe palamudu) kısımlarının A549, MCF-7 ve HeLa insan kanser hücrelerine karşı LDH salınım aktivitesi

Bitki Kısım	Ekstraksiyon	Süre	IC ₅₀ (µg/mL) değerleri ^a		
			A549	MCF-7	HeLa
Dış Kabuk	EtOH	24 saat	46.20 ± 1.08**	37.12 ± 0.02**	30.03 ± 1.01*
		48 saat	49.16 ± 0.13*	45.24 ± 0.18*	46.12 ± 0.10**
		72 saat	62.45 ± 1.02**	42.66 ± 0.62**	48.06 ± 0.06**
	dH ₂ O	24 saat	52.04 ± 1.10**	48.02 ± 0.34*	38.16 ± 0.37**
		48 saat	55.02 ± 0.14**	41.04 ± 0.47**	46.04 ± 0.26*
		72 saat	64.90 ± 0.19*	55.12 ± 1.06*	55.00 ± 1.02**
Külâh Kısım	EtOH	24 saat	28.76 ± 0.51**	21.18 ± 0.04*	20.11 ± 0.14**
		48 saat	36.08 ± 1.20*	28.46 ± 0.26**	21.05 ± 1.12**
		72 saat	42.06 ± 0.02**	30.90 ± 0.90*	34.17 ± 0.04*
	dH ₂ O	24 saat	31.98 ± 0.10**	32.94 ± 1.51**	25.16 ± 0.80*
		48 saat	36.68 ± 0.12**	38.26 ± 0.09**	31.10 ± 1.04**
		72 saat	35.10 ± 0.13**	44.52 ± 0.34**	40.02 ± 0.09**
İç Kısım	EtOH	24 saat	39.46 ± 0.18**	31.18 ± 1.04*	24.18 ± 0.06**
		48 saat	43.08 ± 0.16**	40.12 ± 0.18**	29.78 ± 0.14**
		72 saat	46.80 ± 1.02*	46.10 ± 1.26**	32.30 ± 1.05**
	dH ₂ O	24 saat	51.38 ± 0.78**	35.64 ± 0.01*	29.15 ± 0.80*
		48 saat	58.01 ± 0.62**	48.36 ± 0.14**	36.42 ± 1.04**
		72 saat	55.70 ± 1.46**	44.20 ± 0.25**	42.18 ± 1.16**
Doksorubisin ^b			3.20 ± 0.16	3.04 ± 0.08	2.67 ± 0.05

^a Veriler, 200µg/mL konsantrasyonda bitki özütü uygulama sonrası IC₅₀ ± SS (µg/mL) olarak ifade edilmiştir

^b Doksorubisin, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

**P değeri <0.01 istatistiksel olarak çok önemli, *P değeri <0.05 ise önemli olarak kabul edilmiştir.

LDH salınım sonuçlarından görüldüğü üzere, meşe palamudunun her üç kısmından elde edilen tüm ekstraların, hücrelerde nekroz oluşumunu teşvik ederek hücre zarında tahribatlar oluşturduğu görülmektedir. Antikanser ve antiproliferatif aktivite analiz sonuçları ile benzer olarak; meşe palamudunun külah kısmından elde edilen etanol ekstralarında en yüksek seviyede LDH salınımı gözlenmiştir (20.11±0.14 – 42.06±0.02 µg/mL arasında değişen IC₅₀ değeri). Ancak çalışmada uygulanan diğer analizlerinden elde edilen verilerden farklı olarak, meşe palamudu özütleri MCF-7 hücre hattına karşı en yüksek seviyede antikanser ve antiproliferatif aktivite gösterirken; HeLa hücrelerine karşı en yüksek seviyede LDH enzim salınım aktivitesi göstermiştir (Çizelge 3).

Son yıllarda yapılan araştırmalara göre, kanser; yüksek ölüm oranı ve görülme sıklığı ile çağımızın en önemli sağlık sorunlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünya ve Türkiye geneli kanser istatistikleri, gelecek yıllarda hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde kanserin daha kritik bir sağlık sorunu haline geleceğini öngörmektedir (Siegel ve ark., 2018). Bu bağlamda, artan kanser vakalarının önlenmesi için var olan tedavi sistemlerinin yanı sıra, etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesi hayati önem arz etmektedir. Bitkilerden elde edilen özütler, uçucu yağlar ve biyoaktif bileşenler; doğal kaynaklı olmaları nedeniyle, daha az yan etki ile etkin tedavi sunma potansiyelindedir (Manoharachary ve Nagaraju, 2016; Gezici ve Sekeroğlu, 2019b). Bu nedenle, bu çalışmada *Q. coccifera* L. (meşe palamudu) bitkisinin kabuk, külah ve iç kısımları ayrı ayrı özütlenerek, doz ve zamana bağlı olarak antikanser ve antiproliferatif potansiyellerine ve laktat dehidrojenaz enzim aktivitelerine göre A549, MCF-7 ve HeLa kanser hücrelerine karşı değerlendirilmiştir. Meşe palamudunun, en düşük konsantrasyonlarda dahi kanser hücrelerinde sitotoksik etki göstererek, hücre proliferasyonu azalttığı ve bunun bir sonucu olarak test edilen kanserli hücre hatlarında kanser gelişimini engellediği ortaya konulmuştur. Bu durum, *Q. coccifera* L. (meşe palamudu)' nun yaprak ve gövde kısımları ile daha önce yapılmış olan içerik analizlerinde rapor edildiği üzere, bitkinin özellikle hidrolize edilebilir tanenler açısından zengin polifenolik içeriğe sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, yapılan antioksidan aktivite analizlerinde de bitkinin yüksek oranda serbest radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu gösterilmiş olup, oksidatif hasar kaynaklı kanser gelişiminin bitkinin sahip olduğu antioksidanlar sayesinde engellenebildiği düşünülmektedir (Ito ve ark., 2002; Senol ve ark., 2018; Gezici ve Sekeroğlu, 2019b).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Meşe palamudunun (*Q. coccifera* L.) kabuk, külah ve iç kısmından farklı çözücüler ile elde edilen ekstraların antikanser, antiproliferatif ve nekroza uğrayan hücrelerden salınan laktat dehidrojenaz enzim aktivitesinin ortaya konulmasını amaçlayan bu çalışma; literatür açısından ilk verileri sunan özgün bir çalışmadır. Çalışmadan elde edilen veriler, meşe palamudunun farklı kısımlarının test edilen insan kanser hücrelerine karşı düşük konsantrasyonlarda dahi kanser gelişimini inhibe edici potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur. Gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen veriler; kanser tedavisinde antikanser ve sitotoksik etkileriyle yararlı olabilecek tıbbi, farmosötik ve farmakolojik çalışmalarına ön veri sunarak, bu alanda daha sonra yapılacak olan araştırmalara ışık tutacak niteliktedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Kilis 7 Aralık Üniversitesi, İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi ve Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvarlarının alt yapısı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bitki materyalinin toplanması ve temini Kilis 7 Aralık Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nazım Şekeroğlu tarafından gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Akcan T, Gokce R, Asensio M, Estevez M, Morcuende D 2017. Acorn (*Quercus* spp.) as a novel source of oleic acid and tocopherols for livestock and humans: discrimination of selected species from Mediterranean forest. *Journal of Food Science and Technology* 54, 3050–3057.
- Akgunlu S, Sekeroğlu N, Koca-Caliskan U, Ozkutlu F, Ozcelik B, Kulak M, Gezici S 2016. Research on selected wild edible vegetables: Mineral content and antimicrobial potentials. *Annals of Phytomedicine* 5(2): 50-57.
- Al-Qubaisi M, Rozita R, Yeap SK, Omar AR, Ali AM 2011. Selective cytotoxicity of goniotalamin against hepatoblastoma HepG2 cells. *Molecules* 16(4): 2944-2959. <https://doi.org/10.3390/molecules16042944>.
- Anlas C, Bakirel TI, Ustun-Alkan F, Celik B, Yuzbasioglu Baran M, Ustuner O, Kuruuzum-Uz A, 2019. *In vitro* evaluation of the therapeutic potential of Anatolian kermes oak (*Quercus coccifera* L.) as an alternative wound healing agent. *Industrial Crops and Products* 137: 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.008>.
- Belkhdja H, Meddah B, Gezici S 2017. Anti-Inflammatory Effects of Essential Oils From *Rosmarinus officinalis* and *Populus alba* on Experimental Models of Acute and Chronic Inflammation in Rats. *Indian Journal of*

- Pharmaceutical Education and Research 51(3): 180-184. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.8>.
- Davis PH 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 7, Edinburgh, UK: Edinburgh University Press.
- Gezici S 2018. Promising anticancer activity of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) essential oil through induction of both apoptosis and necrosis. Annals of Phytomedicine 7(2): 38-45. <https://doi.org/10.21276/ap.2018.7.2.5>.
- Gezici S 2019. Anticancer, antiproliferative, lysosomal and lactate dehydrogenase inhibitory effects of fruit extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.) on human lung cancer cells. Acta Oncologica Turcica 52(1): 160-168. <https://doi.org/10.5505/aot.2019.09326>.
- Gezici S, Sekeroglu N 2019a. Neuroprotective potential and phytochemical composition of acorn fruits. Industrial Crops and Products 128: 13-17. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.082>.
- Gezici S, Sekeroglu N 2019b. Current perspectives in the application of medicinal plants against cancer: novel therapeutic agents. Anticancer Agents in Medicinal Chemistry 19(1): 101-111. <https://doi.org/10.2174/1871520619666181224121004>.
- Gezici S, Sekeroglu N, Kijjoa A 2017. In vitro Anticancer Activity and Antioxidant Properties of Essential Oils from *Populus alba* L. and *Rosmarinus officinalis* L. from South Eastern Anatolia of Turkey. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 51(3): 498-503. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.74>.
- Gundogdu M, Tuncturk M, Berk S, Sekeroglu N, Gezici S 2018. Antioxidant Capacity and Bioactive Contents of Mulberry Species from Eastern Anatolia Region of Turkey. Indian Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 52(4): 96-101. <https://doi.org/10.5530/ijper.52.4s.82>.
- Ito H, Yamaguchi K, Kim TH, Khennouf S, Gharzouli K, Yoshida T 2002. Dimeric and Trimeric Hydrolyzable Tannins from *Quercus coccifera* and *Quercus suber*. Journal of Natural Product 65(3): 339-345. <https://doi.org/10.1021/np010465i>.
- Karik U, Cinar O, Tuncturk M, Sekeroglu N, Gezici S 2018. Essential Oil Composition of Some Sage (*Salvia* spp.) Species Cultivated in İzmir (Turkey) Ecological Conditions. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 52(4): 102-107. <https://doi.org/10.5530/ijper.52.4s.83>.
- Manoharachary C, Nagaraju D 2016. Medicinal plants for human health and welfare. Annals of Phytomedicine 5(1): 24-34.
- Molina-García L, Martínez-Expósito R, Fernández-de Córdoba ML, Llorent-Martínez EJ 2018. Determination of the Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Leaves and Fruits of Spanish *Quercus coccifera*. Journal of Chemistry Article ID 2573270, 9 pages. <https://doi.org/10.1155/2018/2573270>.
- Mosmann T 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of Immunological Methods 65(1-2): 55-63.
- Newman DJ, Cragg GM 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. Journal of Natural Products 79(3): 629-661.
- Ozcan T, Bayçu G, 2005. Some elemental concentrations in the acorns of Turkish *Quercus* L. (Fagaceae) taxa. Pakistan Journal of Botany 37 (2): 361.
- Roleira FM, Varela CL, Costa SC, Tavares-da-Silva EJ 2018. Phenolic derivatives from medicinal herbs and plant extracts: anticancer effects and synthetic approaches to modulate biological activity. Studies in Natural Products Chemistry 57: 115-56. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64057-4.00004-1>.
- Sekeroglu N, Karaoglan M, Gezici S, Kulak M, Ozkutlu F, Kacar O, Gul F 2018. Variation in the composition of the essential oils, hypericin and mineral elements in aerial parts, stem and flower of *Hypericum capitatum* (CHOISY) growing in Turkey with oxidative DNA damage protective activity. Journal of Pharmaceutical Research 17: 67-77. <https://doi.org/10.18579/jperkc/2018/17/2/123613>.
- Sekeroglu N, Urlu E, Kulak M, Gezici S, Dang R 2017. Variation in Total Polyphenolic Contents, DNA Protective Potential and Antioxidant Capacity from Aqueous and Ethanol Extracts in Different Plant Parts of *Hypericum perforatum* L. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 51: 1-7. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.2s.43>.
- Senol FS, Sekeroglu N, Gezici S, Kilic E, Orhan IE 2018. Neuroprotective potential of the fruit (acorn) from *Quercus coccifera* L. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 42(2): 82-87. <https://doi.org/10.3906/tar-1711-18>.
- Shida W, Tateishi H, Fujita M, Koga R, Radwan MO, Ciftci HI, Otsuka M, Husham AL-Saadi, D, Watanabe M, Gezici S, Wada M, Sekeroglu N, Watanabe T 2019. Anticancer activity of extract from twigs of Caucasian beech in Turkey. The Fifth International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Sciences (ISPBS-5), Cappadocia-Turkey, Oral presentation p: 29. www.ispbs.org.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A 2018. Cancer statistics, 2018. CA: Cancer Journal for Clinicians 68(1): 7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21442>.
- Sohretoglu D, Ekizoglu M, Kilic E, Sakar MK 2007. Antibacterial and antifungal activities of some *Quercus* species growing in Turkey. FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences 32 (3):127-130.
- Strober W 2015. Trypan blue exclusion test of cell viability. Current Protocols in Immunology 111(1): A3. B.1-A3. B.3. <https://doi.org/10.1002/0471142735.ima03bs111>.