



Araştırma Makalesi / Research Article

***Elettaria Cardamomum* Ekstraktının Proleukin İlacı Kombinasyonu ile Mide Kanseri Hücre Hattı Üzerindeki İmmünoestimulan/Sitotoksik Etkilerinin İncelenmesi**


Investigation of Immunostimulant/Cytotoxic Effects of Elettaria Cardamomum Extract with Combination of Proleukin Drug on Gastric Cancer Cell Line

Yağmur HAMURCI^{1,*} , Murat IHLAMUR² , Yağmur ZENGİN³ 

¹ Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, 34230, İstanbul, Türkiye

² Biruni Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Elektronik ve Otomasyon Bölümü, 34025, İstanbul, Türkiye

³ Boğaziçi Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, 34684, İstanbul, Türkiye

 <https://doi.org/10.55007/dufed.1133501>

MAKALE BİLGİSİ

Makale Tarihi

Alınış, 21 Haziran 2022

Revize, 07 Temmuz 2022

Kabul, 19 Temmuz 2022

Online Yayınlama, 01 Ekim 2022

Anahtar Kelimeler

Mide kanseri, AGS,

E. Cardamomum, Sitotoksisite

ARTICLE INFO

Article History

Received, 21 June 2022

Revised, 07 July 2022

Accepted, 19 July 2022

Available Online, 01 October 2022

Keywords

Gastric cancer, AGS,

E. Cardamomum, Cytotoxicity

ÖZ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalması sonucunda meydana gelmektedir. Farklı kanser türleri olmakla birlikte mide kanseri dünyada en çok görülen kanser türleri arasında yer almaktadır. Mide kanserine karşı birçok tedavi yaklaşımı geliştirilmiştir. Ancak günümüzde kullanılan tedavi yöntemleri, kanser hücrelerini öldürmekle birlikte sağlıklı hücelere de zarar vermektedir. Kullanılan tedavi yöntemlerinin dezavantajlarından dolayı bitkisel tedavi yaklaşımları kullanılmaya başlanmıştır. *Elettaria Cardamomum* (*E. Cardamomum*) (kakule) ekstraktında bulunun Diindolilmetan (DIM) ve indol-3-karbinol (I3C) molekülleri hormon yollarını baskılayarak kanser hücrelerini öldürdüğü literatürde belirtilmektedir. Bu çalışmada, *E. Cardamomum* ve proleukin ilaç kombinasyonlarının AGS, J774, THP-1 hücre hatları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, kakule ekstraktında bulunan I3C ve DIM molekülleri sayesinde AGS mide kanseri hücre hattında yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Kakule ekstraktı ile kombine edilen proleukin ilacının ise AGS hücrelerinde kakule ekstraktının tek başına kullanımına göre daha fazla öldürme oranına sahip olduğu belirlenmiştir.

ABSTRACT

Cancer occurs as a result of uncontrolled proliferation of cells. Although there are different types of cancer, gastric cancer is among the most common cancer types in the world. Many treatment approaches have been developed against gastric cancer. However, the treatment methods used

***Sorumlu Yazar**

E-posta Adresleri: yagmurhamurcu1@gmail.com (Yağmur HAMURCI), ihlamurmurat@gmail.com (Murat

IHLAMUR), yagmurzengn08@gmail.com (Yağmur ZENGİN)

today not only kill cancer cells but also damage healthy cells. Due to the disadvantages of the treatment methods used, herbal treatment approaches have started to be used. It is stated in the literature that Diindolylmethane (DIM) and indole-3-carbinol (I3C) molecules in *Elettaria Cardamomum* (*E. Cardamomum*) extract kill cancer cells by suppressing hormone pathways. In this study, the effect of *E. Cardamomum* and proleukin drug combinations on AGS, J774, THP-1 cell lines was investigated. As a result, it was determined that cardamom extract has a high cytotoxic effect on AGS gastric cancer cell line thanks to I3C and DIM molecules. It was determined that proleukin drug combined with cardamom extract had a higher rate of killing in AGS cells than the use of cardamom extract alone.

1. GİRİŞ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalması sonucu doku ve organlarda birikmesiyle oluşan bir hastalık çeşididir. Kanserli hücreler, tek bir organda birikebildiği gibi metastaz yaparak birden fazla organa yayılabilir [1]. Birçok farklı kanser türü olmakla birlikte mide kanseri, dünyada en sık görülen kanser türleri arasında bulunmaktadır. Mide duvarında veya özofagusta meydana gelen mutasyonlar sonucu kanser oluşumu görülmektedir [2].

Mide kanseri gelişiminde sık karbonhidrat tüketimi, nitrat ve nitrit içerikli ürünlerin alınması, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, kronik atrofik gastrit ve mide ülseri gibi parametreler etkili olmaktadır. Tanısı oldukça güç bir tür olan mide kanseri, sıklıkla iştahsızlık ve buna bağlı olarak kilo kaybı gibi belirtiler gösterir. Kanser tedavisinde en yaygın yaklaşım olarak cerrahi rezeksiyon kullanılmaktadır. Cerrahi dışında kemoterapi, radyoterapi, gen terapisi, immünoterapi ve hedeflendirilmiş terapiler gibi tedavi yöntemleri de geliştirilmiştir. Bu tedavi yöntemleri tek başına efektif bir sonuç vermemekte ve bunlara ek olarak destekleyici tedaviler kullanılmaktadır [3].

Mide kanseri tedavisinde farklı kanser yolaklarını etkileyen ilaçlar kullanılmaktadır. Vincristine (VCR), kanser hücrelerinin apoptoza yönlendirilmesini sağlayan bir alkaloid kemoterapötiktir [4]. Bunun dışında paklitaksel ve dosetaksel gibi farklı mekanizmalar ile kanserli hücrelerin ölümünü sağlayan ilaçlar bulunmaktadır. Proleukin ilacı (etken madde IL-2) gibi ilaçlarda klinikte metastatik renal cell karsinoma ve metastatik melanomaların tedavisinde kullanılmakla birlikte birçok kanser tedavisinde kullanılmakta, T hücreleri ve NK hücrelerinin çoğalmasını ve aktivasyonunu uyararak kanser tedavilerinde etkili olmaktadır [5]. Mide kanseri tedavisinde trastuzumab, bevacizumab ve cetuximab gibi monoklonal antikorlar da ilaçlar kadar etkin bir rol oynamaktadır. Aynı zamanda kemoterapi tedavisi ile birlikte kullanılan trastuzumab sisplatin kombinasyonu kanser oluşumunu azaltmakta ve sağkalım oranını yükseltmektedir [6]. Fakat kullanılan ilaçlar sağlıklı hücrelere de zarar verebilmektedir. Bundan dolayı son yıllarda kanser tedavisinde ilaçlara ek olarak bitkisel ekstraktlardan faydalanılmaktadır. Kakule, zerdeçal, zencefil gibi bitki ekstratlarının kanserde kullanılan ilaçların

kemoterapötik etkinliğini artırdığı görülmüştür. Bu yöntem ile ilaçların etkinliği artırılmakta olup toksik etkileri azaltılmaktadır [7].

Kakulenin antikanser, antimikrobiyal, anti-inflamatuar, antiproliferatif ve pro-apoptotik etkinlikleri bu bitkinin kansere karşı doğal bir ajan olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır. Özellikle son dönemde kansere karşı koruyucu etkisi olduğu gözlenen kakule bitkisi terapötik ajanlar ile birlikte kullanılarak ilaçların etkinliğinin artırılması hedeflenmiştir. Bu koruyucu etkinin sağlanmasında İndol-3-karbinol (I3C) ve 3,3- diindolmetan (DIM) bileşiklerinin etkisi büyüktür [8].

İndol-3-karbinol, sıklıkla brokoli, lahanaya gibi yeşil yapraklı sebzelerde bulunan ve indolmetil glukosinolat glukobrassikinin enzimatik hidrolizi sonucu oluşan bir üründür. Bu ürünün kansere karşı etkili bir korunma sağladığı bilinmektedir. I3C'nin antiproliferatif etkisinin DIM aktivitesinden farklı olarak tamamlayıcı bir nitelikte olduğu gösterilmiştir. DIM genel olarak kanser hücreleri üzerinde sinyal iletimini ve apoptozu indükleyerek hücre döngüsünü engelleyici bir etkiye sahiptir [9].

Sonuç olarak, kakule bitkisinin yapısında bulunan diindolilmetan (DIM) ve indol-3-karbinol (I3C) bileşenlerinin antikanser etki gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle kanserde ilaçlara ek olarak bitkisel bileşenlerin tedaviye olumlu katkılar sağladığı düşünülmektedir. Bu çalışmada, kakule bitki ekstraktının farklı hücre hatlarındaki immünoestimulan ve sitotoksik etkinliği incelenmiştir. Bu bilgiler ışığında bitki ekstraktı tek başına ve ilaç kombinasyonu ile kullanılarak mide kanseri hücre hatlarında apoptozun indüklenmesi amaçlanmaktadır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Kakule Ekstraktının Hazırlanması

Kakule bitkisinin kabukları soyuldu. Çıkarılan tohumlar havanda ezildi. 8 gr kakule tohumunun üzerine metanol eklendi. 6 gün karanlık ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonunda elde edilen özüt süzüldü ve metanol hava akımı ve sıcaklık yoluyla buharlaştırıldı. Kakule ekstraktının miktarı hesaplandı [10].

2.2 Hücre Kültürünün Yapılması

Yapılan çalışmada laboratuvarındaki kriyobankta bulunan insan makrofaj hücre hattı (THP-1), fare makrofaj hücre hattı (J774) ve insan mide kanseri hücre hattı (AGS) kullanıldı. Hücrelerin proliferasyonu için RPMI-1640 (Gibco) medyumunu kullanıldı. Stok medyum %1'lik penisilin-streptomisin ve %1'lik L-glutamin eklenerek hazırlandı. Fetal bovine serum (FBS) (Sigma) ise deneysel aşamada medyuma eklendi. Çalışmada kullanılan hücre hatlarının pasaj sayıları 10 ile 15 arasındadır.

Hücre hatlarının kültürü %10 FBS içeren RPMI-1640 besiyerinde gerçekleştirildi. Hücreler 37°C, %95 nem ve %5 CO₂ içeren inkübasyon ortamında tutuldu. Hücreler gerekli konfluente ulaştıktan sonra AGS hücre hattı enzimatik yol ile J774 ve THP-1 hücre hattı ise fiziksel yol ile toplanarak 25°C, 1000 rpm'de 5 dk süreyle santrifüj edildi. Daha sonra kuyu başına 1x10⁵ hücre ml⁻¹ olacak şekilde 96 kuyulu plakalara ekimi gerçekleştirildi. Kültür ortamlarına ekilen hücreler gerekli inkübasyon şartlarında 24 saat tutuldu [11].

2.3 Nitrik Oksit Analizlerinin Yapılması

Hazırlanan ekstrakt konsantrasyonlarının (10 µg ml⁻¹, 20 µg ml⁻¹, 40 µg ml⁻¹, 80 µg ml⁻¹, 100 µg ml⁻¹) ve ekstrakt-ilaç (40 µg ml⁻¹ ekstrakt ve 10 µg ml⁻¹, 20 µg ml⁻¹, 40 µg ml⁻¹, 80 µg ml⁻¹, 100 µg ml⁻¹ ilaç) konsantrasyonlarının immünostimulan aktivitesini belirlemek için J774 ve THP-1 hücrelerinin ürettiği nitrik oksit (NO) miktarı Griess yöntemi ile belirlendi [12]. Gerekli inkübasyon şartlarında 24 saat inkübe edilen hücrelere (kuyu başı 1x10⁵ hücre ml⁻¹) çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrakt ve ekstrakt-ilaç konsantrasyonları uygulandı. Hücreler belirlenen konsantrasyonlarla 48 saat muamele edildi ve 48 saatin sonunda süpernatant toplandı. 2,5 ml fosforik asit, 0,1 gr N-(1-Naftil) Etilendiamin ve 1 gr Sülfanilamid'in 100 ml distile su eklenmesiyle hazırlanan Griess reaktifi ile reaksiyona sokuldu. NO üretiminin ölçülmesi için kültür ortamından 50 µl alındı ve üzerine 50 µl Griess reaktifi eklendi. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyondan sonra 540 nm'de ELISA okuyucusunda absorbanları ölçüldü.

2.4 MTT Analizinin Yapılması

Hazırlanan ekstrakt (10 µg ml⁻¹, 20 µg ml⁻¹, 40 µg ml⁻¹, 80 µg ml⁻¹, 100 µg ml⁻¹), ilaç (10 µg ml⁻¹, 20 µg ml⁻¹, 40 µg ml⁻¹, 80 µg ml⁻¹, 100 µg ml⁻¹) ve ekstrakt-ilaç (40 µg ml⁻¹ ekstrakt ve 10 µg ml⁻¹, 20 µg ml⁻¹, 40 µg ml⁻¹, 80 µg ml⁻¹, 100 µg ml⁻¹ ilaç) konsantrasyonlarının sitotoksik etkisini belirlemek için MTT yöntemi kullanıldı. Hücre hatlarının canlılığı, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazilyum bromür ile değerlendirildi. Plakalara fenol-red içermeyen besiyerinde ekilen hücrelere (kuyu başı 1x10⁵ hücre ml⁻¹) ekstrakt, ilaç ve ekstrakt-ilaç kombinasyonları eklendi. %5 CO₂ içeren 37°C'lik inkübatörde 48 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra her kuyucuğa 10 µl MTT (10 mg/ml) solüsyonu eklendi. %5 CO₂ içeren etüvde 37 °C'de 3 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklara 100 µl dimetilsülfoksit (DMSO) ilave edildi ve plakalar 30 dakika karanlıkta tutuldu [13]. Hücre canlılık analizi 570 nm dalga boyunda ölçüldü. Her deney grubu üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Hücre canlılık analizi eşitlik 1 kullanılarak elde edildi ve veri grafikleri oluşturuldu.

$$\text{Hücre Canlılığı (\%)} = \left(\frac{\text{Örnek absorbanı}}{\text{Kontrol absorbanı}} \right) * 100 \quad (1)$$

2.5 İstatistiksel Analiz

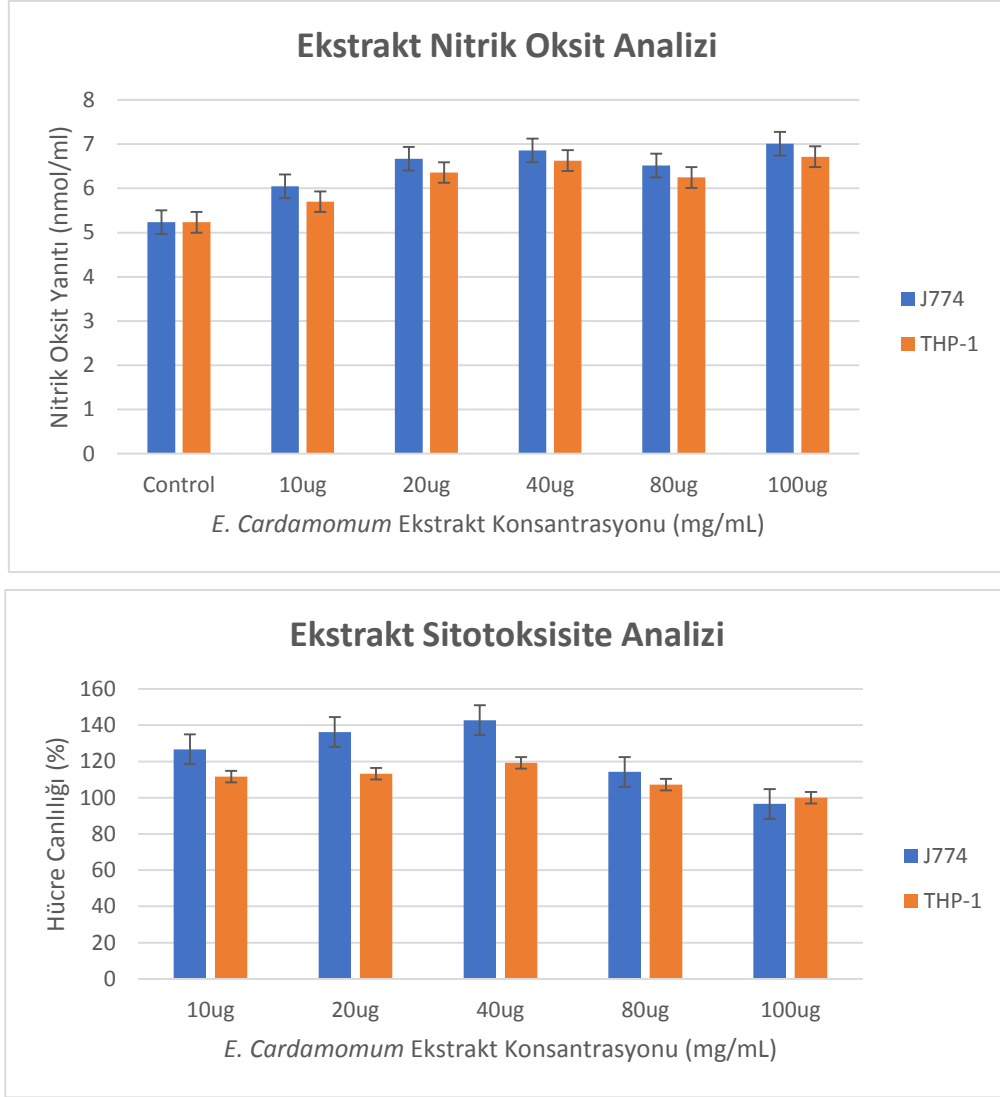
Çalışmadan elde edilen veriler IBM SPSS 25.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, ABD) paket programında analiz edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi Tek Yönlü ANOVA testi ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart sapma (Ortalama±SD) olarak verildi ve istatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak kabul edildi.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bitkilerdeki ikincil metabolitler, fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, kinonlar, antosiyaninler gibi birçok aktif bileşiğin kanser yolaklarını baskıladığı ve kanserin önlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir [14]. Yapılan çalışmada *E. Cardamomum* bitkisinden maserasyon yöntemi kullanılarak ekstrakt hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstraktın mide kanseri tedavisinde kullanılabilirliğinin belirlenmesi için J774 ve THP-1 makrofaj hücre hatları üzerinde immünoestimulan etkinliği ve sitotoksik etkisi incelenmiştir. Ayrıca ekstraktın ve ekstrakt-ilaç kombinasyonunun AGS mide kanseri hücre hattı üzerindeki öldürme etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada mide kanseri tedavisinde uygulama potansiyeli en uygun olan ekstrakt-ilaç formülasyonu in vivo çalışmalarda kullanılmak üzere belirlenmiştir. En uygun ekstrakt-ilaç formülasyonunu belirlemek için öncelikle en uygun ekstrakt konsantrasyonları belirlenmiş. Belirlenen en uygun ekstrakt konsantrasyonu ile ilaç konsantrasyonları denenmiştir.

Şekillerde gösterilen hücrelerin canlılık yüzdeleri, pozitif kontrol grubunun değeri %100 olarak kabul edildiğinde, diğer gruplarda basit oran hesabı ile elde edilen % değeridir ve canlı hücre oranını belirtmektedir. MTT testi sonuçlarına göre hücre canlılığı 48. saatin sonundaki bütün gruplar arasında % hücre canlılığı üzerinden değerlendirmeler yapılmıştır.

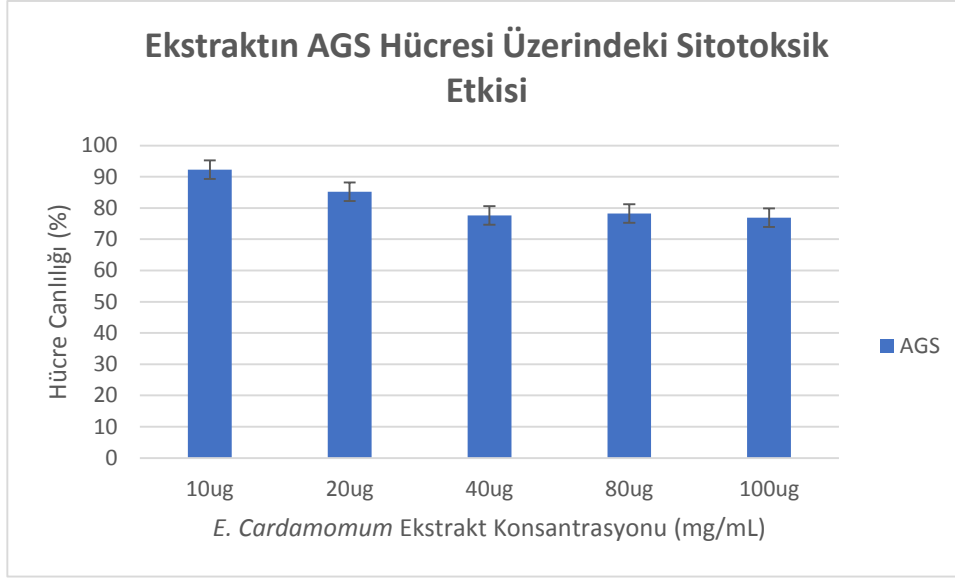
Ekstrakt ile muamele edilen J774 ve THP-1 hücre hatlarının immünoestimulan etkinliği ve sitotoksitelerine bağlı olarak canlılık analizi Şekil 1'de gösterilmiştir. Yapılan çalışmada kakule ekstraktının en yüksek öldürme etkinliği $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyonda olmaktadır. Fakat bu konsantrasyon J774 ve THP-1 hücrelerine uygulandığında diğer konsantrasyonlara göre sitotoksik etki gösterdiği için değerlendirilmemiştir. Elde edilen sonuçlar literatür bilgileri ile tutarlıdır. Kakule ekstraktının $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ 'den sonra en yüksek immünoestimulan etkinliği $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyonda olmaktadır. Kakule ekstraktının $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyonda J774 hücrelerine muamelesindeki en yüksek immünoestimulan etkinlik $6,86 \text{ nmol ml}^{-1}$ ($p<0,05$), THP-1 hücresine muamelesindeki en yüksek immünoestimulan etkinlik ise $6,628 \text{ nmol ml}^{-1}$ 'dir ($p<0,05$). Yapılan çalışmada $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyondaki kakule ekstraktının sitotoksik etkisinde J774 hücrelerinde %142,76 canlılık tespit edilirken THP-1 hücrelerinde ise %119,16 canlılık tespit edilmiştir.



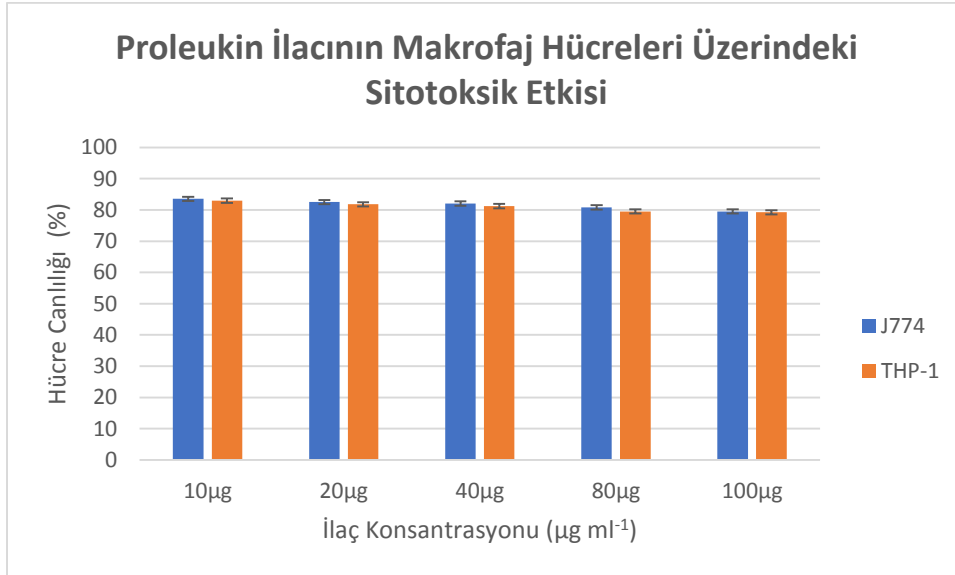
Şekil 1. Ekstraktın J774 ve THP-1 hücre hattında immünoestimulan ve sitotoksik etkisi

Kakulede bulunan fitokimyasalların mide kanserindeki hormon aktivitelerinin düzenlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir [15]. Kakule ekstraktı ile muamele edilen mide kanseri hücre hattının canlılık analizi Şekil 2’de gösterilmiştir. Yapılan çalışmada, kakule ekstraktının AGS mide kanseri hücre hattına muamelesi sonucunda mide kanseri hücrelerinin canlılıklarında azalma görülmektedir. AGS hücresine, 40 $\mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyondaki kakule ekstraktı uygulandığında %77,59 canlılık tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada proleukin ilacı ile muamele edilen J774 ve THP-1 makrofaj hücre hatlarının canlılık analizi Şekil 3’te gösterilmiştir. Yapılan çalışmada 40 $\mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyondaki proleukin ilacının sitotoksik etkisinde J774 hücrelerinde %82,05 canlılık tespit edilirken THP-1 hücrelerinde ise %81,26 canlılık tespit edilmiştir.

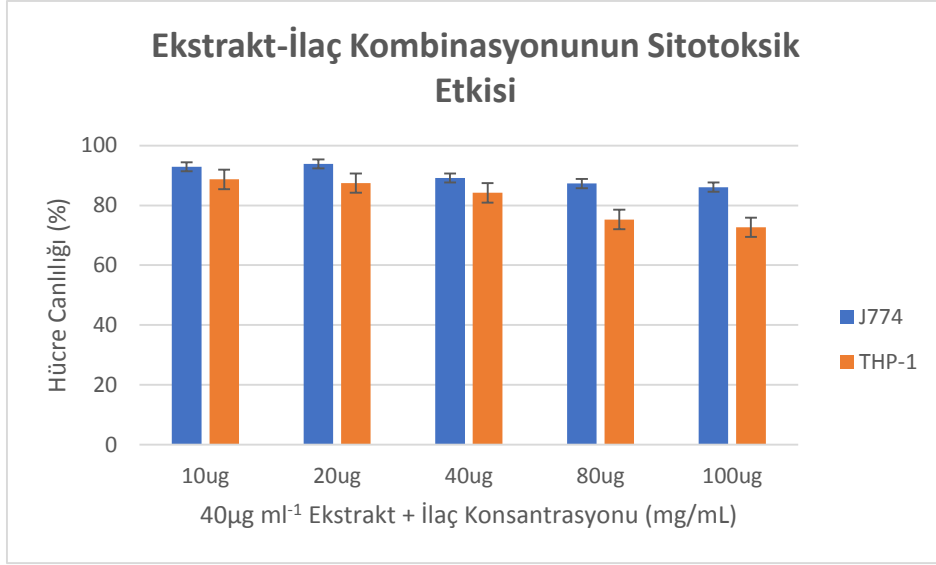


Şekil 2. Ekstrakt ile muamele edilen mide kanseri hücre hattının sitotoksikite analizi



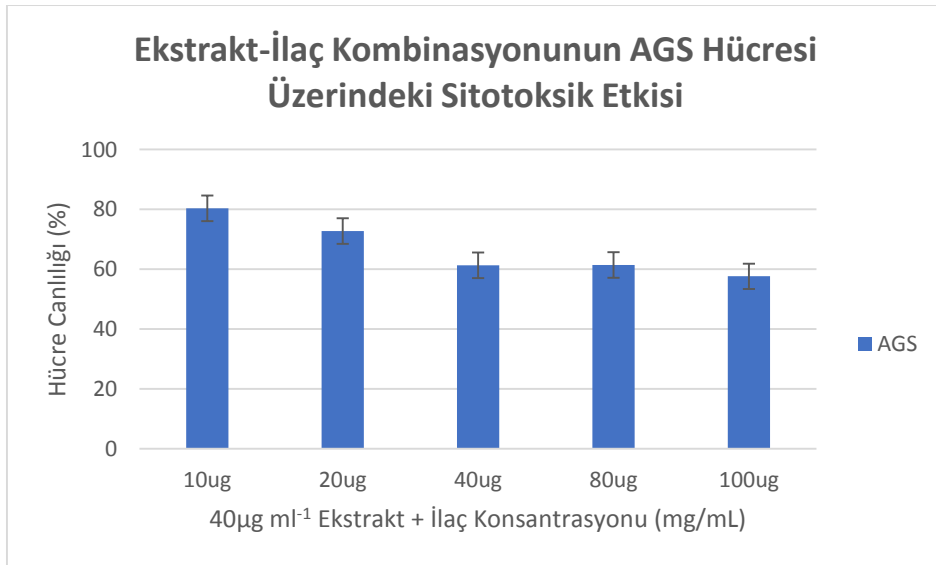
Şekil 3. Proleukin ilacının J774 ve THP-1 hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi

Bu çalışmada, kakule ekstraktının immünostimulan etkinliği $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyonda en yüksek olduğu için ilaç kombinasyonları bu konsantrasyon ile uygulanmıştır. Kakule ekstraktının proleukin ilacı ile kombinasyonunun J774 ve THP-1 hücre kültürü sistemlerinde sitotoksik etkinliği Şekil 4'te gösterilmiştir. $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ ekstrakt- $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ proleukin ilacının J774 ile muamelesinde %89,17 canlılık tespit edilirken $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ ekstrakt- $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ proleukin ilacının THP-1 ile muamelesinde ise %84,2 canlılık tespit edilmiştir.



Şekil 4. 40 µg ml⁻¹ ekstrakt ve ilaç kombinasyonları ile muamele edilen J774 ve THP-1 hücre hatlarındaki sitotoksosite etkinliği

Mide kanseri tedavisinde kullanılan ilaçlar kanser hücrelerinin öldürülmesini sağlamaktadır. Fakat ilaçların tek başına kullanımlarının sitotoksik etki oluşturmaları ve istenilen etkinlik düzeyinde olmamaları gibi dezavantajları vardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla kanser ilaçlarının bitkisel ekstraktlarla kombinasyonlarının, kanser ilaçlarının toksisitelerini azaltmak ve terapötik etkilerini artırmak için önemli olduğu anlaşılmıştır [16]. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar bu bilgiyi desteklemektedir. Şekil 5'te, ekstrakt-ilaç kombinasyonunun mide kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre 40 µg ml⁻¹ ekstrakt-40 µg ml⁻¹ proleukin ilacının kullanıldığı kombinasyonun sitotoksosite analizinde %61,31 canlılık tespit edilmiştir.



Şekil 5. 40 µg ml⁻¹ ekstrakt ve ilaç kombinasyonları ile muamele edilen mide kanseri hücre hatlarının sitotoksitesisi analizleri

4. SONUÇLAR

Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi gibi birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler kanser hücrelerini öldürmekle birlikte sağlıklı hücelere de zarar verdiği için toksik etki oluşturmayan tedavi yöntemleri kanserde kullanılmaktadır. Bundan dolayı tamamlayıcı tıp ya da alternatif tıp yöntemleri popüler bir araştırma konusu haline gelmeye başlamıştır. Kanser çalışmalarında Zencefil, yeşil çay, sarımsak, kurkumin ve kakule gibi bitkilerden elde edilen ekstraktlar kullanılmaktadır. Bu bitkilerden elde edilen ekstraktlarda ikincil metabolitler, fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, kinonlar, antosiyaninler gibi birçok aktif bileşik bulunmaktadır. Bu aktif bileşikler kanserin engellenmesinde etkili olmaktadır.

Kanser tedavisinde bitkisel ajanlar kullanılarak etkili sonuçlar elde edilmiştir. Aynı zamanda bitkisel ajanlar ile kanser ajanları kullanılarak antikanser ajanlarının tedavi edici etkilerini artırdığı ve onların sitotoksik etkisini azalttığı belirlenmiştir.

DİM ve I3C gibi birincil ve ikincil metabolitler hormon yollarına etki ederek hormon aktivitelerinin düzenlenmesini sağlayarak kanser tedavilerinde etkili olmaktadır. Bu metabolitler *E. Cardamomum* bitki ekstraktında bulunmakta ve kanser tedavilerinde etkili olmaktadır.

Yapılan çalışmada, kakule bitkisi ekstraktı maserasyon yöntemiyle elde edilmiştir. Elde edilen kakule ekstraktı hücreler üzerinde kullanılarak immünoestimulan etkinliği ve sitotoksik etkisi incelenmiştir. Kakule ekstraktının J774 ve THP-1 makrofaj hücrelerinde yapılan sitotoksikite çalışmalarında sitotoksik etkisinin olmadığı belirlenmiştir. 10 ml⁻¹, 20 ml⁻¹, 40 ml⁻¹, 80 µg ml⁻¹ konsantrasyonlarda kakule ekstraktı J774 ve THP-1 makrofaj hücrelerine uygulandığında canlılığın arttığı gözlenmiştir. 100 µg ml⁻¹ konsantrasyonda ise kakule ekstraktının düşük de olsa sitotoksik etkisi tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda J774 ve THP-1 hücrelerine uygulanan kakule ekstrakt konsantrasyonlarında en ideal konsantrasyonun immünoestimulan etkinliklerin ve sitotoksik etkilerine bakıldığında 40µg ml⁻¹ konsantrasyon olduğu belirlenmiştir.

Mide kanseri hücresi olan AGS hücre hattında uygulanan 40 µg ml⁻¹ kakule ekstraktı konsantrasyonu tek başına öldürme etkisine sahip olsa da bu oranın düşük olduğunu gözlenmiştir. Bundan dolayı kakule ekstraktı ve kanser tedavilerinde kullanılan proleukin ilacı kombinasyonu kanser hücrelerinin ölüm oranını arttırmak için kullanılmak istenmiştir.

Kakule ekstraktının proleukin ilacı kombinasyonu ile kullanıldığında yüksek oranda öldürme etkisinin olduğu belirlenmiştir. Kakule ekstraktının proleukin ilacı ile kombinasyonunda mide kanseri hücre hattı üzerinde en yüksek sitotoksik etkiyi 40 µg ml⁻¹ ekstrakt-100 µg ml⁻¹ proleukin konsantrasyonu sağlamaktadır. Fakat bu konsantrasyonlarda J774 ve THP-1 hücrelerinde sitotoksik etki

gösterdiklerinden en uygun ekstrakt-proleukin ilacı kombinasyonunun $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ ekstrakt- $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ proleukin konsantrasyonu olduğu belirlenmiştir. Bu konsantrasyonun sitotoksik analizinde AGS hücrelerinde %61,31 canlılık tespit edilmiştir. Bunun nedeni, kakule özündeki I3C-DIM moleküllerinin sinyal yollarını baskılayarak hücreyi apoptoza yönlendirmesi ve proleukin ilacının mide kanseri hücrelerinin büyümesini ve proliferasyonu bloke etmesi olduğu düşünülmektedir [17].

Yapılan çalışmada kakule bitkisinden elde edilen ekstrakt J774 ve THP-1 makrofaj hücre hatları üzerinde toksik etki göstermemiştir. Ayrıca kakule ekstraktının AGS mide kanseri hücre hattı üzerinde öldürme etkisinin olduğu belirlenmiştir. Fakat mide kanseri tedavisi için bu öldürme etkisi düşük olduğundan dolayı yapılan çalışmada ekstrakt-ilaç kombinasyonu kullanılmıştır. Yapılan çalışmada Antikanser özellikte olan ve toksik etki göstermediği için kullanılan kakule ekstraktının tek başına kullanıldığında mide kanseri hücreleri üzerinde etkili sonuçlar vermese de proleukin ilacı ile birlikte kullanıldığında etkili sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Bu bilgiler ışığında mide kanseri tedavisinde kullanılmak üzere kakule ekstraktı-proleukin ilacı kombinasyonu yaklaşımının etkili olabileceği ve *in vivo* çalışmalarda denenerek mide kanseri tedavisinde yeni bir ilaç formülasyonu olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını bildirmektedirler.

ETİK BEYANI

Bu çalışmada, yazarlar “Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi” kapsamındaki tüm kurallara uyduklarını, ilgili yönergenin “Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler” olarak belirtilen başlığı altındaki eylemlerden hiçbirini gerçekleştirmediklerini taahhüt ederler.

YAZARLARIN KATKILARI

Yağmur HAMURCI: Kavramsallaştırma, metodoloji, doğrulama, analiz, yazma-inceleme ve düzenleme, veri toplama, verinin düzenlenmesi, görselleştirme. Murat IHLAMUR: Yazma-inceleme ve düzenleme, gözetim ve liderlik sorumluluğu, inceleme, doğrulama. Yağmur ZENGİN: Doğrulama, veri toplama, verinin düzenlenmesi, görselleştirme.

KAYNAKLAR

- [1] T. A. Baudino, "Targeted Cancer Therapy: The Next Generation of Cancer Treatment", *Current Drug Discovery Technologies*, vol. 12, no. 1, pp. 3-20, 2015.
- [2] S. S. Joshi, B. D. Badgwell, "Current treatment and recent progress in gastric cancer", *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, vol. 71, no. 3, pp. 264-279, 2021.
- [3] E. C. Smyth, M. Nilsson, H. I. Grabsch, N. C. van Grieken, F. Lordick, "Gastric cancer", *Lancet*, vol. 396, no. 10251, pp. 635-648, 2020.
- [4] W. Wang, H. S. Luo, "Reversal of chemoresistance to vincristine in gastric cancer cells by NF-kappaB inhibitor", *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, vol. 27, no. 6, pp. 335-8, 2005.
- [5] M. Schmidinger, M. Hejna, C. C. Zielinski, "Aldesleukin in advanced renal cell carcinoma", *Expert Review of Anticancer Therapy*, vol. 4, no. 6, pp. 957-80, 2004.
- [6] C. Sibertin-Blanc, J. Ciccolini, E. Norguet, B. Lacarelle, L. Dahan, J. F. Seitz, "Monoclonal antibodies for treating gastric cancer: promises and pitfalls", *Expert Opinion on Biological Therapy*, vol. 16, no. 6, pp. 759-69, 2016.
- [7] S. Goyal, N. Gupta, S. Chatterjee, S. Nimesh, "Natural Plant Extracts as Potential Therapeutic Agents for the Treatment of Cancer", *Current Topics in Medicinal Chemistry*, vol. 17, no. 2, pp. 96-106, 2017.
- [8] G. R. Cárdenas Garza, J. H. Elizondo Luévano, A. F. Bazaldúa Rodríguez, A. Chávez Montes, R. A. Pérez Hernández, A. J. Martínez Delgado, O. E. Rodríguez Luis, "enefits of Cardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) and Turmeric (*Curcuma longa* L.) Extracts for Their Applications as Natural Anti-Inflammatory Adjuvants", *Plants*, vol.10, no. 9, pp. 1908, 2021.
- [9] S. M. Jump, J. Kung, R. Staub, M. A. Kinseth, E. J. Cram, L. N. Yudina, G. L. Firestone, "N-Alkoxy derivatization of indole-3-carbinol increases the efficacy of the G1 cell cycle arrest and of I3C-specific regulation of cell cycle gene transcription and activity in human breast cancer cells", *Biochemical Pharmacology*, vol. 75, no. 3, pp. 713-724, 2008.
- [10] Q. W. Zhang, L. G. Lin, W. C. Ye, "Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review", *Chinese Medical*, vol. 13, pp. 20, 2018.
- [11] M. Ihlamur, B. Akgül, E. S. Abamor, "Farklı hücre hatlarında besiyeri ve FBS'in hücre proliferasyonu üzerindeki etkilerinin incelenmesi", *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, vol. 17, pp. 55-64, 2022.
- [12] I. Guevara, J. Iwanejko, A. Dembińska-Kieć, J. Pankiewicz, A. Wanat, P. Anna, A. Szczudlik, "Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction", *Clinica Chimica Acta*, vol. 274, no. 2, pp. 177-188, 1998.
- [13] M. Ihlamur, H. Başarı, Y. Zengin E. S. Abamor, "Evaluation of immunostimulant/cytotoxic activity of human breast cancer prepared by different antigen preparation methods with adjuvants combination", *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, vol. 17, pp. 96-110, 2022.
- [14] G. M. Cragg, J. M. Pezzuto, "Natural Products as a Vital Source for the Discovery of Cancer Chemotherapeutic and Chemopreventive Agents", *Medical principles and practice: international journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, vol. 25, Suppl 2, pp. 41-59, 2016.
- [15] B. B. Aggarwal, H. Ichikawa, "Molecular targets and anticancer potential of indole-3-carbinol and its derivatives", *Cell Cycle*, vol. 4, no. 9, pp. 1201-15, 2005.

- [16] S. Qiblawi, A. Kausar, S. Shahid, M. Saeed, A. Alazzeah, "Therapeutic Interventions of Cardamom in Cancer and Other Human Diseases", *Journal of Pharmaceutical Research International*, vol. 32, pp. 74-78, 2020.
- [17] C. A. Thomson, E. Ho, M. B. Strom, "Chemopreventive properties of 3,3'-diindolylmethane in breast cancer: evidence from experimental and human studies", *Nutrition reviews*, vol. 74, no. 7, pp. 432-443, 2016.

Copyright © 2022 Hamurci, Ihlamur and Zengin. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY 4.0).