



İNCİR ÇEKİRDEĞİ YAĞININ KOLOREKTAL KANSER HÜCRE HATLARI ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK VE ANTİ-İNVAZİV ETKİLERİ

EFFECTS OF FIG SEED OIL ON THE PROLIFERATION AND INVASION OF COLORECTAL CANCER CELL LINES

Zeynep DOĞRU^{1*} , Mehmet AKBULUT² , Hüsamettin VATANSEV³ ,
Serdar KARAKURT⁴

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, 34668, İstanbul, Türkiye

²Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 42130, Konya, Türkiye

³Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 42130, Konya, Türkiye

⁴Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 42130, Konya, Türkiye

ÖZ

Amaç: Kolorektal kanser (KRC), dünya genelinde yüksek morbidite ve mortaliteye sahip yaygın bir malignitedir. Cerrahi ve kemoterapi gibi geleneksel tedavilerin yanında, doğal kaynaklı biyoaktif bileşiklerin destekleyici terapötik potansiyelleri üzerine çalışmalar giderek artmaktadır. Bu çalışma, incir (*Ficus carica*) çekirdeği yağının HT-29 ve DLD-1 kolorektal kanser hücre hatlarında proliferasyon ve invazyon üzerindeki etkilerinin *in vitro* koşullarda değerlendirilmesini amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntem: İncir çekirdeği yağının kimyasal bileşimi GC-FID ve HPLC analizleri ile karakterize edilmiştir. Sitotoksik etkiler Alamar Blue testi ile değerlendirilmiş ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır; invazyon kapasitesi ise Matrigel transwell invazyon analizi ile belirlenmiştir.

Sonuç ve Tartışma: Analiz sonuçlarına göre, incir çekirdeği yağı yüksek düzeyde α -linolenik asit (%39.97), linoleik asit (%33.24), oleik asit (%16.71) ve γ -tokoferol (4800 mg/kg) içermektedir. Yağ, HT-29 ve DLD-1 hücrelerinde doza bağlı antiproliferatif etki göstermiş, sağlıklı PNT1A hücrelerinde ise daha düşük toksisite sergilemiştir. Ayrıca, her iki kanser hücre hattında anlamlı düzeyde invazyon inhibisyonu saptanmıştır. Bulgular, incir çekirdeği yağının antikanser potansiyel taşıyan doğal bir ajan olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: İncir çekirdeği yağı, invazyon, kolorektal kanser, sitotoksisite, γ -tokoferol

ABSTRACT

Objective: Colorectal cancer (CRC) is a common malignancy associated with high morbidity and mortality worldwide. In addition to conventional treatments such as surgery and chemotherapy, there is a growing interest in the therapeutic potential of naturally derived bioactive compounds. This study aims to evaluate the *in vitro* effects of fig (*Ficus carica*) seed oil on the proliferation and invasion of HT-29 and DLD-1 colorectal cancer cell lines.

Material and Method: The chemical composition of fig seed oil was characterized by GC-FID and HPLC analyses. Cytotoxic effects were assessed using the Alamar Blue assay, and IC_{50} values were calculated. Invasion capacity was determined through a Matrigel-transwell invasion assay.

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Zeynep Doğru
e-posta / e-mail: zeynep.dogru@sbu.edu.tr, Tel. / Phone: +902167778777

Result and Discussion: *According to the analysis results, fig seed oil was found to be rich in α -linolenic acid (39.97%), linoleic acid (33.24%), oleic acid (16.71%), and γ -tocopherol (4800 mg/kg). The oil exhibited dose-dependent antiproliferative activity on HT-29 and DLD-1 cells, while demonstrating lower toxicity on healthy PNT1A cells. Furthermore, a significant inhibition of invasion was observed in both cancer cell lines. These findings suggest that fig seed oil may serve as a natural agent with anticancer potential for use in CRC management.*

Keywords: Colorectal cancer, cytotoxicity, fig seed oil, invasion, γ -tocopherol

GİRİŞ

Kolorektal kanser (KRC), hem dünya genelinde hem de Türkiye'de yaygın görülen ve ciddi sağlık yükü oluşturan maligniteler arasında yer almaktadır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'nın 2020 tarihli Dünya Kanser Raporu'na göre, kanser, 30–69 yaş aralığındaki bireylerde 134 ülkede birinci veya ikinci sırada ölüm nedenidir [1]. Türkiye verilerine göre ise KRC insidansı erkeklerde yüz binde 24.1, kadınlarda yüz binde 13.3 olup, 2020 yılında toplam 18.825 yeni vaka bildirilmiştir [2]. Bu veriler, KRC'nin küresel ve ulusal düzeyde artan önemini ortaya koymakta ve yeni tedavi yaklaşımlarına duyulan gereksinimi vurgulamaktadır.

Dünya genelinde kolorektal kansere yakalanma olasılığı %4-5 arasında değişmekte olup, bireysel faktörler ve yaşam tarzı alışkanlıkları bu riski önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Yaş, genetik yatkınlık ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi değiştirilemez risk faktörlerinin yanı sıra; sedanter yaşam tarzı, obezite, sağlıksız beslenme, sigara ve alkol kullanımı gibi değiştirilebilir risk faktörleri de hastalığın gelişimine katkıda bulunmaktadır [2,3].

Kolorektal kanser tedavisinde cerrahi müdahale ve kemoterapi temel yaklaşımlar olmakla birlikte, metastatik vakalarda prognoz genellikle zayıf olup, hedefe yönelik tedavi, immünoterapi ve gen tedavisi gibi yenilikçi stratejiler geliştirilmiştir [4]. Ayrıca, kemoterapi ile doğal bileşenler kombine edilerek ilaç direncini azaltabilmekte ve kolorektal kanser tedavisinde alternatif yaklaşımlar sunabilmektedir [5]. Doğal kaynaklar, birçok ciddi hastalığın tedavisinde birincil seçenek olarak kullanılan ve terapötik açıdan önemli bileşenler içeren zengin bir potansiyele sahiptir. Yapılan tahminlere göre, dünya nüfusunun yaklaşık %75–80'i, sağlık hizmetlerine erişimdeki kısıtlılıklar ve sentetik ilaçların güvenilirliği ile etkinliğine yönelik endişeler nedeniyle ilk tedavi yöntemi olarak geleneksel tıp uygulamalarına yönelmektedir [6,7].

Geleneksel tedavi uygulamalarında yaygın olarak kullanılan doğal ürünlerin önemli bir bölümünü bitkisel yağlar oluşturmaktadır. Bu yağlar, içeriklerinde bulunan linoleik, linolenik ve oleik asit gibi doymamış yağ asitlerinin yanı sıra fitosteroller, tokoferoller ve fenolik bileşikler gibi biyoaktif komponentler sayesinde antioksidan, anti-inflamatuvar ve anti-kanser etkiler göstermektedir [8-11]. Bu kapsamda yapılan çeşitli araştırmalar, farklı bitkisel yağların yağ asidi ve tokoferol içeriklerini ortaya koymuştur. Çörek otu (*Nigella sativa*) yağı da sağlık açısından değerli yağlar arasında yer almakta olup, linoleik asit (%55.6), oleik asit (%8.1) ve linolenik asit (%2.45) içermektedir [12]. Ayrıca çörek otu yağının tokoferol içeriği 91.5–279.2 mg/kg arasında değişmektedir [13]. Keten tohumu yağı (*Linum usitatissimum*), özellikle yüksek linolenik asit (%45.72–48.59) içeriğiyle dikkat çekerken, linoleik asit içeriği %13.83–14.61 ve oleik asit içeriği %25.66–27.31 aralığında raporlanmıştır [14]. Keten tohumu yağının tokoferol içeriği ise 271–788 mg/kg düzeyindedir [15]. Susam yağı (*Sesamum indicum*) da önemli bir bitkisel yağ olarak öne çıkmakta olup, oleik asit içeriği %37.8–47.5, linoleik asit içeriği %36.4–46.2 ve linolenik asit oranı ise %0.2–0.7 aralığında değişmektedir [16]. Ayrıca susam yağı, 161.7–647.0 mg/kg aralığında tokoferol içeriği göstermektedir [17].

İncir çekirdeği yağı (*Ficus carica* seed oil) üzerine yapılan çalışmalarda, bu yağın yüksek düzeyde linolenik asit (%40.00–41.27), linoleik asit (%30.06–31.97) ve oleik asit (%17.06–18.10) içerdiği bildirilmiştir [18-20]. Ayrıca, özellikle γ -tokoferol açısından zengin olduğu, içeriğinin 3888.21–4132.09 mg/kg aralığında olduğu ve bu özelliğiyle oksidatif stresle ilişkili hücresel hasarı önleyerek potansiyel bir anti-kanser ajanı olabileceği belirtilmiştir [20]. İncir çekirdeği yağının içerdiği fenolik bileşikler sayesinde yüksek serbest radikal temizleme kapasitesine sahip olup; bu yönüyle antikarsinojenik, antioksidan, antimutajenik, serbest radikal giderici ve lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkiler gösterebildiği bildirilmiştir [21]. Bu bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, incir çekirdeği yağının

hem çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) hem de tokoferoller bakımından zengin içeriğiyle dikkat çektiği ve diğer yaygın bitkisel yağlarla karşılaştırıldığında potansiyel biyolojik aktiviteleri destekleyebilecek nitelikte olduğu görülmektedir. İncir çekirdeği yağı, yapılan çalışmalarda yüksek düzeyde PUFA—özellikle linolenik asit (%40.00–41.27), linoleik asit (%30.06–31.97) ve oleik asit (%17.06–18.10)—içeriğiyle dikkat çekmektedir [18–20]. Ayrıca, bu yağın γ -tokoferol açısından zengin olduğu ve içeriğinde 3888.21–4132.09 mg/kg düzeyinde γ -tokoferol bulunduğu bildirilmiş; bu özelliğiyle oksidatif stresle ilişkili hücre hasarı önlemede etkili olabileceği ve potansiyel bir anti-kanser ajanı olarak değerlendirilebileceği ifade edilmiştir [20]. Bununla birlikte, incir çekirdeği yağında bulunan fenolik bileşiklerin de yüksek serbest radikal temizleme kapasitesi sağladığı ve bu sayede yağın antioksidan, antitumör ve lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkiler gösterebildiği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur [21]. Genel olarak değerlendirildiğinde, incir çekirdeği yağı hem yağ asidi profili hem de tokoferol ve fenolik bileşik içeriği açısından zengin bileşimiyle, diğer yaygın bitkisel yağlarla karşılaştırıldığında biyolojik aktivite potansiyeli yüksek bir fonksiyonel bileşen olarak öne çıkmaktadır.

Bu çalışma, ilk kez incir çekirdeği yağının HT-29 ve DLD-1 kolon kanseri hücre hatları üzerindeki proliferatif ve invazif etkilerini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Değerlendirme kapsamında, incir çekirdeği yağında bulunan biyoaktif bileşenlerin kanser hücrelerinin büyümesini baskılama ve invazyon kapasitesini azaltma potansiyeli araştırılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda, incir çekirdeği yağının potansiyel terapötik önemi tartışılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kullanılan Kimyasal Maddeler

HT-29 (HTB-38) ve DLD-1(CCL-221) hücre hatları American Tissue Culture Company (ATCC, Manassas, VA, ABD) firmasından; PNT1A hücre hattı ise Sigma-Aldrich (CB_95012614, St. Louis, MO, ABD) firmasından temin edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan bovine serum albumin (BSA; A7511) Sigma-Aldrich firmasından; Alamar Blue ise Invitrogen Life Technologies firmasından sağlanmıştır. Modifiye McCoy's 5a besiyeri (ATCC-30-2007), RPMI 1640 besiyeri (ATCC-30-2001) ve fetal bovin serumu (FBS; ATCC-30-2020) da ATCC firmasından temin edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler ve çözücüler, analitik saflık derecesine sahip olup, ticari olarak mevcut en yüksek saflık seviyesinde temin edilmiştir.

İncir Çekirdeği Yağının Tedariki ve Kimyasal Analizleri

Bu çalışmada kullanılan incir çekirdeği yağı, ticari olarak Zade Vital firmasından temin edilmiştir. Soğuk sıkım yöntemiyle üretilmiş olması ve GMP (Good Manufacturing Practices) sertifikasına sahip bulunması nedeniyle bu çalışmada tercih edilmiştir.

İncir çekirdeği yağının yağ asidi kompozisyonu, Zade Vital firması bünyesindeki laboratuvarlarda Shimadzu GC-FID 2010 cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. E vitamini içeriği de yine aynı firma tarafından Shimadzu HPLC Floresan dedektör sistemi kullanılarak analiz edilmiştir.

Hücrenin İncir Çekirdeği Yağı ile Muamele Edilmesi

İncir çekirdeği yağı, öncelikle DMSO ile çözündürülmüştür. Hücre kültür ortamında toksisiteyi önlemek amacıyla DMSO oranı %0.2'nin altında tutulmuş, ardından çözelti hücre besiyeri ile seyreltilerek vortekslenmiş ve homojen hale getirilmiştir. Hücreler farklı doz aralıklarında incir çekirdeği yağına maruz bırakılmak üzere 6-60 mg/ml konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlanmıştır. Önceden ekilmiş hücrelerin besiyerleri aspire edilerek uzaklaştırılmış ve hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki incir çekirdeği yağı solüsyonları hücrelerin üzerine ilave edilmiştir. Son olarak, hücreler 48 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır.

Hücre Kültür Koşulları

Bu çalışmada, kolorektal adenokarsinom kökenli HT-29 ve DLD-1 hücre hatları ile sağlıklı kontrol grubu olarak PNT1A hücre hattı kullanılmıştır. PNT1A, normal insan prostat epitelinin türetilmiş, immortalize bir hücre hattı olup, sağlıklı epitel hücre modelini temsil etmesi amacıyla

karşılaştırmalı sitotoksiste analizlerinde tercih edilmiştir. Çalışma kapsamında kolorektal kökenli normal epitel hücre hattı temin edilemediğinden, alternatif olarak PNT1A referans grup olarak değerlendirilmiştir. Literatürde de PNT1A hücre hattının, farklı doku kökenli tümör hücre hatlarıyla yapılan in vitro toksiste çalışmalarında kontrol grubu olarak kullanıldığı görülmektedir [22].

HT-29, DLD-1 ve PNT1A hücre hatları, %10 fetal bovin serumu, 2 mM L-glutamin ve %1 penisilin/streptomisin içeren McCoy's 5a ve RPMI-1640 besiyerlerinde kültüre edilmiştir. Hücre hatları, %5 CO₂ atmosferinde, %95 nem oranında ve 37 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

Hücre Canlılık Testi

İncir çekirdeği yağının HT-29 ve DLD-1 hücre hatları üzerindeki proliferasyon etkisini ve IC₅₀ değerlerini belirlemek amacıyla Alamar Blue testi uygulanmıştır [23]. Deney kapsamında, toplam 1×10^4 hücre, 96 kuyucuklu plaklara ekilmiş ve 37°C'de, %5 CO₂ ortamında 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Ardından, hücreler 6-60 mg/ml aralığındaki farklı konsantrasyonlardaki incir çekirdeği yağına maruz bırakılmıştır. Hücre canlılığı, 570 nm ve 610 nm dalga boylarında absorbans ölçümü yapılarak Multiskan Go (Thermo Scientific Co., Waltham, MA, ABD) marka spektrofotometre ile belirlenmiştir. IC₅₀ değerleri, inhibisyon oranı (%) ile incir çekirdeği yağı konsantrasyonunun logaritması arasındaki sigmoidal eğri üzerinden hesaplanmıştır.

Hücre İnvazyon Analizi

HT-29 ve DLD-1 hücre hatlarının invazyon kapasitesi, BioCoat Matrigel İnvazyon odacıkları (BD Biosciences, Bedford, MA, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir. Matrigel, 37°C'de ve %5 CO₂ ortamında büyüme besiyeri ile 2 saat rehidre edilmiştir. Hücreler, sitotoksiste analizi sonucunda belirlenen IC₅₀ konsantrasyonlarında incir çekirdeği yağı ile 48 saat süreyle muamele edildikten sonra, %1 FBS içeren ortamda 1×10^4 hücre olacak şekilde süspanse edilerek üst bölme eklenmiştir. Hücrelerin alt bölmeye göç etmesi için %20 FBS içeren ortam kullanılarak 37 °C'de, %5 CO₂ ortamında 24 saat inkübe edilmiştir. Üst bölmede kalan hücreler uzaklaştırılmıştır, ardından membranlar %3.7 formaldehit ile sabitlenmiş ve %100 metanol ile geçirgen hale getirilmiştir. Hücreler, %1 toluidin ile boyanmış ve mikroskop altında görüntülenerek sayılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, Windows GraphPad Prism (Sürüm 5.0) istatistiksel yazılım paketi (GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İkili grup karşılaştırmaları, Student t-testi ile analiz edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık eşiği $p < 0.05$ (*) olarak ifade edilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

İncir Çekirdeği Yağının Kimyasal İçeriğinin Analizi

Ticari olarak temin edilen incir çekirdeği yağının yağ asidi profili, Shimadzu GC-FID 2010 cihazı kullanılarak belirlenmiştir (Tablo 1). Bunun yanı sıra, incir çekirdeği yağının tokoferol (E vitamini) içeriği, Shimadzu HPLC Floresans dedektörü ile analiz edilmiştir (Tablo 2).

İncir çekirdeği yağı, yüksek oranda doymamış yağ asitleri içermesi nedeniyle besinsel açıdan değerli bir yağ kaynağıdır. Yapılan analizler sonucunda, incir çekirdeği yağının başlıca yağ asitleri α -linolenik asit (%39.97), linoleik asit (%33.24) ve oleik asit (%16.71) olarak belirlenmiştir. Bu oranlar, Tarlacı (2021) tarafından bildirilen α -linolenik asit (%40.2), linoleik asit (%31.2) ve oleik asit (%17.0) değerleriyle büyük ölçüde uyumludur [24]. Benzer şekilde, literatürde yapılan çalışmalarda da incir çekirdeği yağının linolenik asit (%40-41.27), linoleik asit (%30.06-31.97) ve oleik asit (%17.06-18.10) içerdiği rapor edilmiştir [18–20]. Çalışmamızda hesaplanan doymamış yağ asidi/doymuş yağ asidi oranı (UFA/SFA) 7.62 olup, bu değer Soltana ve ark. (2016) tarafından bildirilen oranla büyük ölçüde örtüşmektedir [25]. Çalışma bulgularına göre, incir çekirdeği yağı %88.39 oranında doymamış yağ asitleri (UFA) içermekte olup, bu oran soya ve yer fıstığı gibi önemli bitkisel yağlarla kıyaslandığında daha yüksektir. PUFA oranının %73.21 olarak belirlenmesi, incir çekirdeği yağının diğer yağ tohumlarına [26,27] kıyasla daha yüksek doymamış yağ asidi içeriğine sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 1. İncir çekirdeği yağının yağ asidi kompozisyonu (%)

Yağ Asidi	Konsantrasyon (%)
Palmitik asit (C16:0)	6.72
Stearik asit (C18:0)	2.69
Oleik asit (Omega-9) (C18:1)	16.71
Linoleik asit (Omega-6) (C18:2)	33.24
α -Linolenik asit (Omega-3) (C18:3)	39.97
Araşidik asit (C20:0)	0.18
Eikosenoik asit (Omega-9) (C20:1)	0.23
Behenik asit (C22:0)	0.07
Toplam doymuş yağ asitleri (SFA)	9.66
Toplam doymamış yağ asitleri (UFA)	90.15
Toplam çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA)	73.21
PUFA/SFA	7.58
UFA/SFA	9.33

SFA: doymuş yağ asitleri; UFA: doymamış yağ asitleri; PUFA: çoklu doymamış yağ asitleri

Bu çalışmada, incir çekirdeği yağında γ -tokoferol düzeyi 4800 mg/kg, α -tokoferol 120 mg/kg, δ -tokoferol 80 mg/kg olarak belirlenmiş; β -tokoferol ise tespit edilmemiştir. Bu değerler, literatürde fig çekirdeği yağına ilişkin bildirilen bazı verilerle benzerlik gösterirken, bazı çalışmalarla anlamlı farklılıklar sergilemektedir. Örneğin, bazı araştırmalarda γ -tokoferol içeriğinin 3914–4016 mg/kg aralığında olduğu bildirilmiş olup [18-20], bu değerler çalışmamızla oldukça uyumludur. Benzer şekilde, Tarlacı (2021) tarafından bildirilen 391 mg/100 g (yaklaşık 3910 mg/kg) γ -tokoferol içeriği de çalışmamızda elde edilen değerlerle paralellik göstermektedir [24]. Öte yandan, bazı çalışmalarda γ -tokoferol içeriği yalnızca 634 mg/kg olarak bildirilmiş olup [19], bu farklılığın, kullanılan ekstraksiyon yöntemine, bitkinin yetiştirildiği coğrafi bölgeye, olgunluk evresine ve işleme koşullarına bağlı olarak değişebileceği düşünülmektedir [28-30]. Özellikle soğuk pres gibi termal bozulmanın en aza indirildiği ekstraksiyon tekniklerinin tokoferol stabilitesini koruyarak ölçülen değeri artırabileceği bilinmektedir [30].

Elde edilen bulgular yalnızca incir çekirdeği yağına yönelik önceki araştırmalarla değil, aynı zamanda farklı bitkisel yağların raporlanan tokoferol içerikleriyle karşılaştırıldığında da dikkat çekici bir profil ortaya koymaktadır. Nitekim literatürde, çörek otu (*Nigella sativa*) yağı için toplam tokoferol içeriği 91.5–279.2 mg/kg [13], keten tohumu (*Linum usitatissimum*) yağı için 271–788 mg/kg [15] ve susam (*Sesamum indicum*) yağı için 161.7–647.0 mg/kg [17] aralığında değerler bildirilmektedir. Bu kapsamda değerlendirildiğinde, incir çekirdeği yağı, özellikle γ -tokoferol içeriği bakımından dikkat çekici bir profilde olup, bu özelliği sayesinde antioksidan kapasitesi yüksek bitkisel yağlar arasında potansiyel bir aday olarak değerlendirilebilir.

Tokoferoller, yenilebilir bitkisel yağlarda doğal olarak bulunan antioksidan bileşiklerdir ve E vitamini bileşenleri olarak insan sağlığı açısından önemli işlevler üstlenmektedir [20]. Tokoferoller, yağın antioksidan kapasitesine katkıda bulunarak oksidatif stabilitesini artırmaktadır. γ -tokoferol, güçlü antioksidan aktivitesi sayesinde zararlı reaktif oksijen türleri ve reaktif azot türlerini nötralize edebilir ve oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarı azaltabilir [31]. Bu nedenle, γ -tokoferolün oksidatif stres kaynaklı hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Linoleik asit (LA) açısından zengin olan incir çekirdeği yağı, özellikle vitamin E gibi antioksidanlarla birlikte serbest radikal temizleme kapasitesini artırabildiği ve sinerjistik etkiler gösterebildiği bildirilmektedir [32]. Bu bağlamda, incir çekirdeği yağında hem PUFA düzeyinin hem de γ -tokoferol içeriğinin yüksek olması, bu yağın oksidatif stabilite ve biyoaktif potansiyel açısından dikkate değer bir profil sunduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada incelenen incir çekirdeği yağının kimyasal kompozisyonu, özellikle linoleik asit (%33.24), alfa-linolenik asit (%39.97) ve γ -tokoferol (4800 mg/kg) düzeylerinin yüksekliği ile dikkat çekmektedir. Literatürde, linoleik asit içeren yağların, kolon kanseri hücre hatlarına karşı belirli bir antikanser aktivite sergilediği bildirilmiştir [33]. Benzer şekilde, γ -tokoferolün insan HCT116 kolon kanseri hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği rapor edilmiştir [34]. Alfa-linolenik asit (ALA), vücutta uzun zincirli omega-3 yağ asitlerine dönüşerek antioksidan savunmayı artırabilir ve bu sayede oksidatif

stresle mücadelede etkili olabilir [35,36]. ALA açısından zengin diyetlerin, meme kanseri gibi bazı kanser türlerinin büyümesini ve metastazını engelleyebileceği öne sürülmüştür [37,38]. Bu veriler ışığında değerlendirildiğinde, incir çekirdeği yağının içerdiği yüksek düzeyde çoklu doymamış yağ asitleri ve γ -tokoferol, bu yağın da antikanser potansiyele sahip fonksiyonel bir bileşen olabileceğini düşündürmektedir.

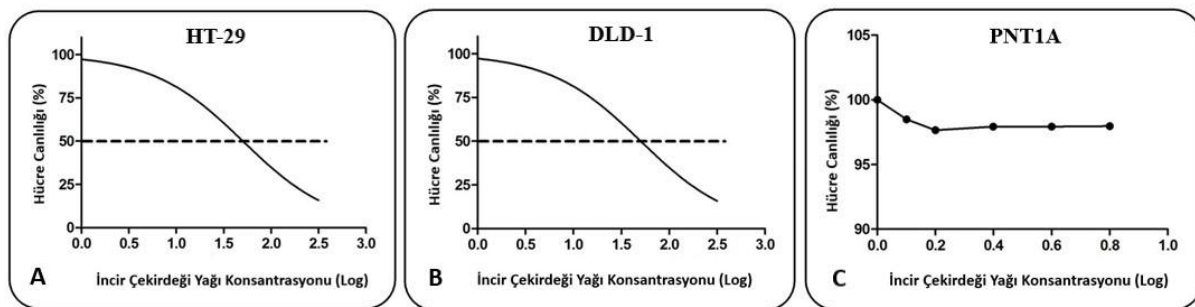
Tablo 2. İncir çekirdeği yağında bulunan tokoferol bileşenleri

Tokoferol Bileşenleri	Konsantrasyon (mg/kg)
α - Tokoferol	120
β - Tokoferol	0
γ - Tokoferol	4800
δ - Tokoferol	80

İncir Çekirdeği Yağının Sitotoksikite Analizi

Hücre canlılık analizleri, incir çekirdeği yağının HT-29, DLD-1 ve PNT1A hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Alamar Blue testleri sonucunda, incir çekirdeği yağının kolorektal kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı ve IC50 değerlerinin hücre tipine bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. HT-29 hücreleri için IC50 değeri 57 mg/ml, DLD-1 hücreleri için ise 32.16 mg/ml olarak hesaplanmıştır (Şekil 1). Şekil 1’de gösterildiği üzere, incir çekirdeği yağının DLD-1 hücrelerine karşı daha güçlü sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Buna karşılık, PNT1A hücre hattında IC50 değeri 96.6 mg/ml olarak hesaplanmış (Şekil 1), bu durum incir çekirdeği yağının sağlıklı hücreler üzerindeki toksisitesinin kanser hücrelerine kıyasla daha düşük olduğunu göstermektedir. Bu bulgu, incir çekirdeği yağının seçici sitotoksikite gösterebileceğini düşündürmektedir.

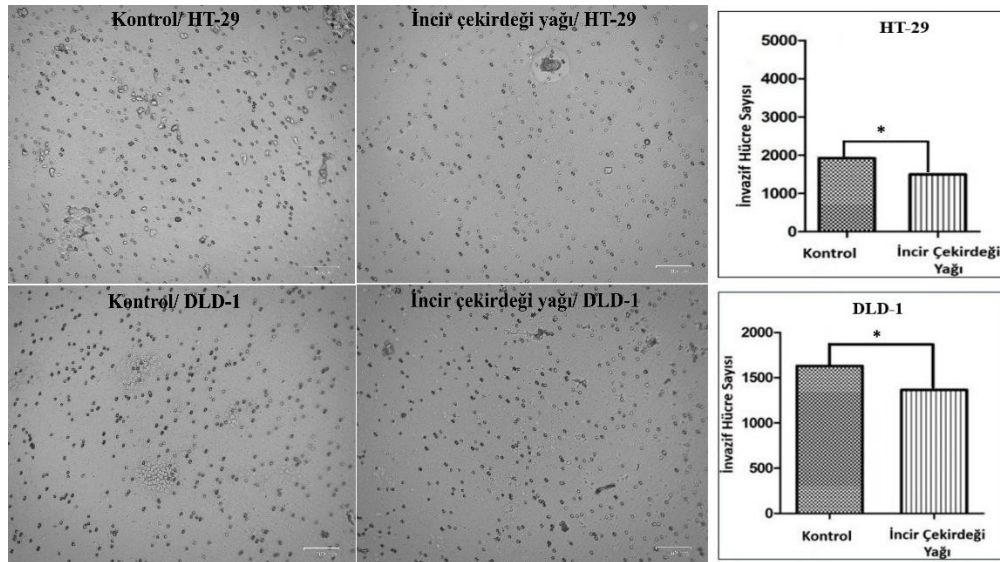
Literatürde incir çekirdeği yağının doğrudan kanseri tedavi edici veya önleyici etkisine dair kesin bulgular bulunmamaktadır. Farklı bitkisel yağların kolorektal kanser hücre hatlarına yönelik sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde, çörek otu (*Nigella sativa*) tohum yağı için HCT116 hücre hattında bildirilen IC₅₀ değeri 43.56±1.95 μ M olarak raporlanmıştır [39]. Gözyaşı otu (*Coix lachryma-jobi*) tohum yağı için ise HT-29 hücre hattında yaklaşık 5.30 mg/ml’lik bir IC₅₀ değeri bildirilmiştir [40]. Öte yandan, keten tohumu yağına ait IC₅₀ değeri LoVo kolorektal kanser hücre hattında 4.30±0.60 mg/ml olarak belirlenmiştir [41]. Bu çalışma kapsamında incelenen incir çekirdeği yağı, HT-29 hücreleri için 57 mg/ml, DLD-1 hücreleri için ise 32.16 mg/ml IC₅₀ değerleri ile ölçülmüş olup, özellikle DLD-1 hücre hattında daha belirgin bir sitotoksik etki göstermiştir. Bu değerlerle karşılaştırıldığında, incir çekirdeği yağı daha yüksek IC₅₀ değerleri göstermiştir. Bu fark, kullanılan ekstraksiyon yöntemi, yağların kimyasal bileşimi, test süresi, hücre hattı özellikleri gibi parametrelerle ilişkilendirilebilir.



Şekil 1. İncir çekirdeği yağının farklı konsantrasyonlarının HT-29, DLD-1 ve PNT1A hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi. (A) HT-29 hücre hattında, (B) DLD-1 hücre hattında ve (C) PNT1A hücre hattında belirlenen IC50 değerleri gösterilmektedir

İncir Çekirdeği Yağının HT-29 ve DLD-1 Hücre Hatlarının İnvazyonu Üzerine Etkisi

İncir çekirdeği yağının HT-29 ve DLD-1 hücre hatları üzerindeki anti-invaziv etkisi, sitotoksite analizi sonucunda belirlenen IC₅₀ konsantrasyonları kullanılarak değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, incir çekirdeği yağı ile 48 saat süreyle muamele edilen gruplarda (n=3), HT-29 hücrelerinin invazyon potansiyelinin %22 oranında anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir (p=0.028). Benzer şekilde, DLD-1 hücre hattında invazyon kapasitesinde %16 oranında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir (p=0.041) (Şekil 2). Mevcut literatür incelendiğinde, özellikle tohum yağlarının kolorektal kanser hücre hatlarında invazyon üzerine etkilerini araştıran çalışmaların sınırlı olduğu dikkat çekmektedir. Gill ve ark. (2005) tarafından yürütülen bir çalışmada, HT115 kolorektal kanser hücre hattında, farklı konsantrasyonlardaki sıvı zeytinyağı fenoller (25, 50, 75 ve 100 µg/ml) ile 24 saatlik inkübasyon sonrası yapılan Matrigel invazyon testlerinde, invazyonun doza bağlı olarak anlamlı şekilde azaldığı ve 25 µg/ml üzerindeki konsantrasyonlarda yaklaşık %60'a varan inhibisyon elde edildiği bildirilmiştir [42]. Zeytinyağı gibi fenolik bileşen içeriği yüksek bitkisel yağların invazyonu baskılayıcı etkileri daha önce raporlanmış olmakla birlikte [42] incir çekirdeği yağına ilişkin veriler bu alanda ilk örneklerden biri olup, tohum kökenli bir yağın kolorektal kanser hücre hatlarında invazyonu anlamlı düzeyde baskılayabileceğini göstermesi bakımından önem taşımaktadır. Bu sonuçlar, incir çekirdeği yağının potansiyel anti-metastatik özellikleri olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 2. Kontrol ve incir çekirdeği yağı ile muamele edilen HT-29 ve DLD-1 hücrelerine ait mikroskopik görüntüler ve invazif hücre sayılarının kantitatif analizi (n=3)

Elde edilen bulgular, incir çekirdeği yağının kolorektal kanser hücrelerinde proliferasyonu baskılayıcı ve invazyonu azaltıcı etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu etkilerin, yağın içerdiği yüksek düzeyde PUFA ve γ -tokoferol gibi biyoaktif bileşenlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Literatürde, linoleik asit ve α -linolenik asit gibi PUFA'ların, NF- κ B gibi inflamatuvar transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini baskılayarak tümör hücre proliferasyonunu azalttığı, apoptozu indükleyebildiği ve invazyon/metastaz ile ilişkili MMP (matrix metalloproteinaz) ekspresyonunu düşürdüğü rapor edilmiştir [32, 38, 43-45]. Benzer şekilde, γ -tokoferol'ün, reaktif oksijen türlerini ve reaktif azot türlerini etkili biçimde nötralize ederek oksidatif stres kaynaklı DNA hasarını ve hücre proliferasyonunu önleyebildiği, ayrıca COX-2 ve iNOS gibi inflamatuvar belirteçlerin ekspresyonunu inhibe ettiği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir [31,46,47]. Bu bağlamda, çalışmamızda doğrudan moleküler analizler gerçekleştirilmemiş olsa da, gözlemlenen antiproliferatif ve anti-invaziv etkilerin, incir çekirdeği yağında bulunan PUFA ve γ -tokoferol gibi biyoaktif bileşenlerin inflamatuvar ve oksidatif stresle ilişkili hücresel yolları dolaylı olarak modüle etme potansiyeliyle ilişkili olabileceği değerlendirilmektedir.

Bu çalışma, incir çekirdeği yağının kimyasal bileşimi ile kolorektal kanser hücre hatları üzerindeki antiproliferatif ve anti-invaziv etkilerini in vitro düzeyde ortaya koymaktadır. Yağın yüksek oranda PUFA ve γ -tokoferol içermesi, gözlemlenen antikanser etkilerin potansiyel olarak antioksidan ve anti-inflamatuar mekanizmalarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Hücre kültürü deneyleri, incir çekirdeği yağının tümör hücrelerinin proliferasyonunu ve invazyonunu anlamlı düzeyde baskıladığını; buna karşın, sağlıklı hücreler üzerinde daha düşük toksik etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak çalışmada apoptotik, inflamatuvar veya oksidatif stresle ilişkili yollara dair moleküler düzeyde mekanistik analizler gerçekleştirilmemiştir. Bu nedenle, elde edilen bulguların translasyonel anlamda daha güçlü biçimde desteklenebilmesi için, ileride gerçekleştirilecek moleküler mekanizma çalışmalarına ve in vivo doğrulamalara ihtiyaç duyulmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 16202041 proje numarası ile desteklenmiştir.

YAZAR KATKILARI

Kavram: Z.D.; Tasarım: Z.D.; Denetim: Z.D., M.A., H.V., S.K.; Kaynaklar: Z.D., M.A., H.V., S.K.; Malzemeler: Z.D., M.A., H.V., S.K.; Veri Toplama ve/veya İşleme: Z.D., S.K.; Analiz ve/veya Yorumlama: Z.D., S.K.; Literatür Taraması: Z.D.; Makalenin Yazılması: Z.D.; Kritik İnceleme: Z.D.; Diğer: -

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

ETİK KURUL ONAYI

Yazarlar bu çalışma için etik kurul onayının zorunlu olmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Wild, C.P., Weiderpass, E., Stewart, B.W., editors (2020). World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://publications.iarc.fr/586>. Licence: CC BY-NC-ND 3.0 IGO.
2. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2022). 2020 yılı Türkiye kanser istatistikleri. <https://hsqm.saglik.gov.tr/tr/kanser-istatistikleri>.
3. Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Pradilla Dieste, A., Cerrada, E., Rodriguez Yoldi, M.J. (2017). Colorectal carcinoma: A general overview and future perspectives in colorectal cancer. International Journal of Molecular Sciences, 18(1), 197. [\[CrossRef\]](#)
4. Willett, W.C. (2005). Diet and cancer: An evolving picture. JAMA, 293, 233-234. [\[CrossRef\]](#)
5. Keum, N., Giovannucci, E. (2019). Global burden of colorectal cancer: Emerging trends, risk factors and prevention strategies. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 16, 713-732. [\[CrossRef\]](#)
6. Huang, X.M., Yang, Z.J., Xie, Q., Zhang, Z.K., Zhang, H., Ma, J.Y. (2019). Natural products for treating colorectal cancer: A mechanistic review. Biomedicine & Pharmacotherapy, 117, 109142. [\[CrossRef\]](#)
7. Hossain, M.S., Urbi, Z., Sule, A., Rahman, K.M.H. (2014). Andrographis paniculata (Burm. f.) Wall. ex Nees: A review of ethnobotany, phytochemistry, and pharmacology. Scientific World Journal, 2014, 274905. [\[CrossRef\]](#)
8. Hossain, M.S., Urbi, Z., Phang, I.C. (2021). Auxin increased adventitious root development in the medicinal plant *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees. Agronomy Journal, 113, 3222-3231. [\[CrossRef\]](#)
9. Sumara, A., Stachniuk, A., Montowska, M., Kotecka-Majchrzak, K., Grywalska, E., Mitura, P., Martinović, L., Pavelić, S., Fornal, E. (2022). Comprehensive review of seven plant seed oils: Chemical composition, nutritional properties, and biomedical functions. Food Reviews International, 39, 5402-5422. [\[CrossRef\]](#)

10. Kaseke, T., Opara, U., Fawole, O. (2020). Fatty acid composition, bioactive phytochemicals, antioxidant properties and oxidative stability of edible fruit seed oil: Effect of preharvest and processing factors. *Heliyon*, 6, e04962. [\[CrossRef\]](#)
11. Rahim, M., Shoukat, A., Khalid, W., Ejaz, A., Itrat, N., Majeed, I., Koraqi, H., Imran, M., Nisa, M., Nazir, A., Alansari, W., Eskandrani, A., Shamlan, G., Al-Farga, A. (2022). A narrative review on various oil extraction methods, encapsulation processes, fatty acid profiles, oxidative stability, and medicinal properties of black seed (*Nigella sativa*). *Foods*, 11. [\[CrossRef\]](#)
12. Rahim, M.A., Shoukat, A., Khalid, W., Ejaz, A., Itrat, N., Majeed, I., Koraqi, H., Imran, M., Nisa, M.U., Nazir, A., Alansari, W.S., Eskandrani, A.A., Shamlan, G., Al-Farga, A. (2022). A narrative review on various oil extraction methods, encapsulation processes, fatty acid profiles, oxidative stability, and medicinal properties of black seed (*Nigella sativa*). *Foods*, 11(18), 2826. [\[CrossRef\]](#)
13. Matthäus, B., Özcan, M.M. (2011). Fatty acids, tocopherol, and sterol contents of some *Nigella* species seed oil. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(2), 145-150. [\[CrossRef\]](#)
14. Xie, Y., Yan, Z., Niu, Z., Coulter, J. A., Niu, J., Zhang, J., Wang, B., Yan, B., Zhao, W., Wang, L. (2020). Yield, oil content, and fatty acid profile of flax (*Linum usitatissimum* L.) as affected by phosphorus rate and seeding rate. *Industrial Crops and Products*, 145, 112087. [\[CrossRef\]](#)
15. Dąbrowski, G., Czaplicki, S., & Konopka, I. (2019). Fractionation of sterols, tocopherols and squalene in flaxseed oils under the impact of variable conditions of supercritical CO₂ extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, 83, 103261. [\[CrossRef\]](#)
16. Mujtaba, M.A., Cho, H.M., Masjuki, H.H., Kalam, M.A., Ong, H.C., Gul, M., Harith, M.H., Yusoff, M.N.A.M. (2020). Critical review on sesame seed oil and its methyl ester on cold flow and oxidation stability. *Energy Reports*, 6, 40-54. [\[CrossRef\]](#)
17. Rangkadilok, N., Pholphana, N., Mahidol, C., Wongyai, W., Saengsooksree, K., Nookabkaew, S., Satayavivad, J. (2010). Variation of sesamin, sesamol and tocopherols in sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds and oil products in Thailand. *Food Chemistry*, 122(3), 724-730. [\[CrossRef\]](#)
18. Vardin, Y., Şirinıldız, D., Yorulmaz, A. (2023). Impact of roasting on quality and compositional characteristics of fig seed oil. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 29(2), 404-412. [\[CrossRef\]](#)
19. Ustun-Argon, Z., Sari, Z., Gokyer, A., Buyukhelvacigil-Ozturk, S. (2021). Phytochemical evaluation of *Ficus carica* seeds and their cold pressed oil. *Journal of Pharmaceutical Research*, 20(4), 71-79. [\[CrossRef\]](#)
20. Şirinıldız, D., Vardin, Y., Yorulmaz, A. (2023). The influence of microwave roasting on bioactive components and chemical parameters of cold pressed fig seed oil. *Grasas y Aceites*, 74(1). [\[CrossRef\]](#)
21. Mert, H., Mert, N., Cibuk, S., Yildirim, S., Mert, N. (2024). Antidiabetic effect of fig seed oil in rats with diabetes induced by streptozotocin. *Journal of Oleo Science*, 73(5), 717-727. [\[CrossRef\]](#)
22. Matsunaga, W., Gotoh, A. (2023). Cancer cell-specific gene disruption of VEGF-A using Cas9. *Personalized Medicine Universe*, 12, 8-15. [\[CrossRef\]](#)
23. Karakurt, S., Adali, O. (2016). Tannic acid inhibits proliferation, migration, invasion of prostate cancer and modulates drug metabolizing and antioxidant enzymes. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 16(6), 781-789. [\[CrossRef\]](#)
24. Tarlacı, S. (2021). A new source of omega-3 and gamma tocopherol: Fig (*Ficus carica* L.) seed oil. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25(4), 556-560. [\[CrossRef\]](#)
25. Soltana, H., Tekaya, M., Amri, Z., El-Gharbi, S., Nakbi, A., Harzallah, A., Hammami, M. (2016). Characterization of fig achenes' oil of *Ficus carica* grown in Tunisia. *Food Chemistry*, 196, 1125-1130. [\[CrossRef\]](#)
26. Ivanov, D.S., Lević, J.D., Sredanović, S.A. (2010). Fatty acid composition of various soybean products. *Food and Feed Research*, 37(2), 65-70.
27. Rodrigues, A.C., Ströher, G.L., Freitas, A.R., Visentainer, J.V., Oliveira, C.C., De Souza, N.E. (2011). The effect of genotype and roasting on the fatty acid composition of peanuts. *Food Research International*, 44(1), 187-192. [\[CrossRef\]](#)
28. Sun, Q., Shi, J., Scanlon, M., Xue, S.J., Lu, J. (2021). Optimization of supercritical-CO₂ process for extraction of tocopherol-rich oil from canola seeds. *Lwt*, 145, 111435. [\[CrossRef\]](#)
29. Ghosh, S., Zhang, S., Azam, M., Gebregziabher, B.S., Abdelghany, A.M., Shaibu, A.S., Qi, J., Feng, Y., Agyenim-Boateng, K.G., Liu, Y., Feng, H., Li, Y., Li, J., Li, B., Sun, J. (2022). Natural variation of seed tocopherol composition in diverse world soybean accessions from maturity group 0 to VI grown in China. *Plants*, 11(2), 206. [\[CrossRef\]](#)
30. Ouchikh, O., Chahed, T., Ksouri, R., Taarit, M. B., Faleh, H., Abdelly, C., Kchouk, M.E., Marzouk, B. (2011). The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(1), 103-110. [\[CrossRef\]](#)

31. Pahrudin Arrozi, A., Shukri, S.N.S., Wan Ngah, W.Z., Mohd Yusof, Y.A., Ahmad Damanhuri, M.H., Jaafar, F., Makpol, S. (2020). Comparative effects of alpha- and gamma-tocopherol on mitochondrial functions in Alzheimer's disease *in vitro* model. *Scientific Reports*, 10, 8962. [\[CrossRef\]](#)
32. Konda, A., Nazareus, T., Nguyen, H., Yang, J., Gelli, M., Swenson, S., Shipp, J., Schmidt, M., Cahoon, R., Çiftçi, O., Zhang, C., Clemente, T., Cahoon, E. (2019). Metabolic engineering of soybean seeds for enhanced vitamin E tocochromanol content and effects on oil antioxidant properties in polyunsaturated fatty acid-rich germplasm. *Metabolic Engineering*. [\[CrossRef\]](#)
33. Al-Hwaiti, M., Alsbou, E., Sheikha, A., Bakchiche, B., Pham, T., Thomas, R., Bardaweel, S. (2020). Evaluation of the anticancer activity and fatty acids composition of "Handal" (*Citrullus colocynthis* L.) seed oil, a desert plant from south Jordan. *Food Science & Nutrition*, 9, 282-289. [\[CrossRef\]](#)
34. Jang, Y., Park, N.Y., Rostgaard-Hansen, A.L., Huang, J., Jiang, Q. (2016). Vitamin E metabolite 13'-carboxychromanols inhibit pro-inflammatory enzymes, induce apoptosis and autophagy in human cancer cells by modulating sphingolipids and suppress colon tumor development in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 95, 190-199. [\[CrossRef\]](#)
35. Rincón-Cervera, M., Valenzuela, R., Hernández-Rodas, M., Barrera, C., Espinosa, A., Marambio, M., Valenzuela, A. (2016). Vegetable oils rich in alpha linolenic acid increment hepatic n-3 LCPUFA, modulating the fatty acid metabolism and antioxidant response in rats. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 111, 25-35. [\[CrossRef\]](#)
36. Srivastava, D., Singh, V., Kumar, U., R., V. (2021). Alpha-linolenic acid: A pharmacologically active ingredient from nature. *The Indian Journal of Nutrition and Dietetics*. [\[CrossRef\]](#)
37. Vara-Messler, M., Pasqualini, M., Comba, A., Silva, R., Buccellati, C., Trenti, A., Trevisi, L., Eynard, A., Sala, A., Bolego, C., Valentich, M. (2017). Increased dietary levels of α -linoleic acid inhibit mammary tumor growth and metastasis. *European Journal of Nutrition*, 56, 509-519. [\[CrossRef\]](#)
38. Alan, N., Oran, N.T., Yılmaz, P.A., Çelik, A., Yılmaz, O. (2024). Fig seed oil improves intestinal damage caused by 5-FU-induced mucositis in rats. *Food Science & Nutrition*, 12(9), 6461-6471. [\[CrossRef\]](#)
39. Dawaba, A.M., Dawaba, H.M. (2019). Application of optimization technique to develop nano-based carrier of *Nigella sativa* essential oil: Characterization and assessment. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 13(3), 228-240. [\[CrossRef\]](#)
40. Ni, C., Li, B., Ding, Y., Wu, Y., Wang, Q., Wang, J., Cheng, J. (2021). Anti-cancer properties of coix seed oil against HT-29 colon cells through regulation of the PI3K/AKT signaling pathway. *Foods*, 10(11), 2833. [\[CrossRef\]](#)
41. Gebarowski, T., Wiatrak, B., Jęskowiak-Kossakowska, I., Grajzer, M., Prescha, A. (2023). Oils from transgenic flax lines as potential chemopreventive agents in colorectal cancer. *Biomedicines*, 11(9), 2592. [\[CrossRef\]](#)
42. Gill, C. I., Boyd, A., McDermott, E., McCann, M., Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposto, S., Montedoro, G., McGlynn, H., Rowland, I. (2005). Potential anti-cancer effects of virgin olive oil phenols on colorectal carcinogenesis models *in vitro*. *International Journal of Cancer*, 117(1), 1-7. [\[CrossRef\]](#)
43. González-Fernández, M.J., Ortea, I., Guil-Guerrero, J.L. (2020). α -Linolenic and γ -linolenic acids exercise differential antitumor effects on HT-29 human colorectal cancer cells. *Toxicology Research*, 9(4), 474-483. [\[CrossRef\]](#)
44. Yan, H., Zhang, S., Yang, L., Jiang, M., Xin, Y., Liao, X., Li, Y., Lu, J. (2024). The antitumor effects of α -linolenic acid. *Journal of Personalized Medicine*, 14(3), 260. [\[CrossRef\]](#)
45. Su, C.C., Yu, C.C., Shih, Y.W., Liu, K.L., Chen, H.W., Wu, C.C., Yang, Y.C., Yeh, E.L., Li, C. C. (2023). Effect of alpha-linolenic acid on human oral squamous cell carcinoma metastasis and apoptotic cell death. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 161, 114393. [\[CrossRef\]](#)
46. Campbell, S., Stone, W., Whaley, S., Krishnan, K. (2003). Development of gamma (γ)-tocopherol as a colorectal cancer chemopreventive agent. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 47(3), 249-259. [\[CrossRef\]](#)
47. Jiang, Q., Elson-Schwab, I., Courtemanche, C., Ames, B.N. (2000). γ -Tocopherol and its major metabolite, in contrast to α -tocopherol, inhibit cyclooxygenase activity in macrophages and epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(21), 11494-11499. [\[CrossRef\]](#)