

Tannik Asitin Serviks Kanseri (HeLa) Hücre Hattı Üzerindeki Antikanser Etkinliğinde Oksidatif Stresin Rolü

The Role of Oxidative Stress in the Anticancer Activity of Tannic Acid on the Cervical Cancer (HeLa) Cell Line

Çağrı MARAŞLI¹,

Ayşegül ÖZTÜRK²

¹Sivas Cumhuriyet Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dönem 4, Sivas,
Türkiye

²Sivas Cumhuriyet Üniversitesi,
Sağlık Hizmetleri Meslek
Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler
ve Teknikler Bölümü, Sivas,
Türkiye

Corresponding author:

Ayşegül ÖZTÜRK, Sivas
Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık
Hizmetleri Meslek Yüksekokulu,
Tıbbi Hizmetler ve Teknikler
Bölümü, Sivas, Türkiye

E-mail:

fztaysegul@yahoo.com

Received/Accepted: Sep 2021

Conflict of interest: There is not
a conflict of interest.

How to Cite

Marasli, C., Ozturk, A. (2021).
Tannik Asitin Serviks Kanseri
(HeLa) Hücre Hattı Üzerindeki
Antikanser Etkinliğinde Oksidatif
Stresin Rolü. *Health Sciences
Student Journal*, 1(3), 86-92.

<https://hssj.cumhuriyet.edu.tr/tannik-asitin-serviks-kanseri-hela-hucre-hatti-uzerindeki-antikanser-etkinliginde-oksidatif-stresin-rolu/>

ÖZET

Amaç: Bir bitki polifenolü olan Tannik Asit (TA)'in antikarsinojenik, antioksidan, antimikrobiyal, antiallerjik ve antiinflamatuvar aktiviteleri vardır. Bununla birlikte şimdiye kadar, serviks kanserinde TA'in antikanser aktivitesinden sorumlu kesin bir mekanizma henüz açıkça tanımlanamamıştır. Bu çalışmanın amacı, insan serviks kanser hücre hattında (HeLa) TA'in sitotoksik etkisi incelemek ve bu etkide oksidatif stresin rolünü araştırmaktır.

Yöntem: Hücreler, 24 saat boyunca 25 ila 400 µM arasında değişen farklı konsantrasyonlarda tannik asite maruz bırakıldı. Hücre canlılığı, XTT testi ile değerlendirildi ve 238.5 µM IC50 değeri ile önemli sitotoksikite gösterdi. Hücrelerdeki toplam antioksidan (TAS) ve toplam oksidan (TOS) seviyeleri ticari kitler ile ölçüldü.

Sonuçlar: Tannik asit, HeLa hücrelerinde indüklenen oksidatif stres nedeniyle anlamlı sitotoksikite sağladı ($p < 0.05$).

Anahtar kelimeler: Hücre canlılığı, HeLa serviks adenokarsinom, kanser, tannik asit.

ABSTRACT

Objectives: Tannic acid, a plant polyphenol, is known to have anti-carcinogenic, anti-oxidant, anti-microbial, anti-allergic, anti-inflammatory activities. However, a precise mechanism responsible for the anti-cancer activity of TA in cervix cancer has not yet been clearly described. The aim of this study is to examine the cytotoxic effect of TA in human cervix cancer cell line (HeLa) and to investigate the role of oxidative stress in this effect.

Method: Cells were exposed to different concentrations of tannic acid ranging from 25 to 400 µM for 24 h. Cell viability was assessed by the XTT assay and showed significant cytotoxicity with an IC50 value of 238.5 µM. Total antioxidant (TAS) and total oxidant (TOS) levels in cells were measured with commercial kits.

Results: Tannic acid provided significant cytotoxicity due to oxidative stress induced in HeLa cells ($p < 0.05$).

Keywords: Cancer, cell viability, HeLa cervical adenocarcinoma, tannic acid.

GİRİŞ

Kanser, çevresel ve genetik faktörlerin etkisi altında hücrelerin sürekli kontrolsüz şekilde çoğalmaları sonucu gelişen ölümcül bir hastalıktır.¹ Hastalığın ortaya çıkışı insan vücudunda herhangi bir bölgeden başlayabilir. Oluşan hücreler sürekli ve kontrolsüz bölünür, tümör oluşumu başlar ve ilerler.^{2,3} Dünyada her yıl on bir milyon kişiye kanser tanısı konmakta ve günümüzde 25 milyon kanser hastası olduğu bilinmektedir. Kanser kaynaklı ölümler dünya genelindeki ölüm nedenlerinin başında yer almakla birlikte, meme ve serviks kanseri kadınlarda en çok görülen iki kanser türü olarak tanımlanmıştır.^{4,5} Serviks kanseri, rahim ağzı alt bölgesinde (servikal alan) görülen bir kanserdir. Bu kanser türü oldukça yavaş gelişmekte ve belirtisiz dönem yıllarca sürebilmektedir. Serviks kanseri geliştikçe görülen belirtiler, adet arası kanama, menopoz sonrası kanama gibi anormal vajinal kanamalar görülür.⁶

Son yıllarda kansere karşı verilen mücadele ile yeni tedavi seçenekleri ortaya çıkmıştır. Bu tedavilerde görülen önemli gelişmelere karşın hala kanserli hücrelerin hayatta kalma yeteneği tedavideki ana zorluklardan biridir.⁷ Cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi gibi geleneksel tedaviler hala yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak olumsuz yan etkiler ve kemoresistans gelişimi bu tedavilerin sınırlayıcı faktörleridir. Bu nedenle, kanserin önlenmesi ve tedavisi için son derece güvenli ve etkili bileşiklerin bulunmasına acil ihtiyaç vardır.⁸ Oksidatif stres, serbest radikallerin artması ile biyolojik sistemde prooksidanlarla antioksidanlar arasındaki dengenin, prooksidanlar lehine bozulması ile oluşmaktadır.⁹⁻¹⁵ Hücre içi savunma

sistemlerinin yeterli olamadığı durumlarda, oksidatif stresin tanımında belirtildiği üzere, reaktif oksijen bileşikleri (ROB) ile antioksidanlar arasındaki denge bozulur, dolayısıyla oksidan hasara duyarlı DNA, protein, karbonhidratlar ve lipitler gibi hücrel makromoleküller zarar görür. Kanser tedavisinde kullanılan ajanlar ile hücrel hedeflere saldırabilen çok sayıda serbest radikal açığa çıkmakta, bunlar da oksidatif stresi indükleyerek tümör hücrelerini öldürmektedir.^{11, 16-20}

Tanenler çay, yeşil çay, kahve, kırmızı şarap, üzüm, fındık ve diğer bitkisel ürünlerin doğal bileşenleridir.^{21,22} Bitki kaynaklı polifenolik tanenler (500-3000 Da), hidrolize olabilen ve yoğunlaştırılmış tanenler olarak iki gruba ayrılabilir. Yaygın olarak tannik asit olarak adlandırılan hidrolize edilebilir tanenlerin, antimutajenik, antimikrobiyal, antialerjik, antiinflamatuvar ve antikarsinojenik etkileri vardır.²¹⁻²³

Bu çalışmanın amacı, tannik asitin serviks kanseri hücre (HeLa) hattında sitotoksik etkinliğini incelemek ve sitotoksitenin altta yatan mekanizmalarını araştırmaktır.

MATERYAL ve METOD

Hücre hattı ve hücre kültürü

HeLa (CCL-2) serviks adenokarsinom hücre hattı Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonundan (ATCC, Manassas, VA, USA) temin edildi ve % 10'luk Fetal Sığır Serumu (FBS) (Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA), % 1'lik penisilin/streptomisin (Sigma Aldrich Co., St Louis, MO, USA) ve % 1'lik L-glutamin içeren DMEM'de (Thermo Fisher Scientific, Altrincham, UK) kültüre edildi. Uygun koşullar sağlanarak inkübatörde (37 °C ve % 5 CO₂ ile nemlendirilmiş atmosfer

ortamı) bekletildi. Hücreler %80-90 yoğunluğa ulaşınca pasajlandı. Üç defa pasajlama yapıldıktan sonra hücreler 96'lı plate her kuyucuktaki hücre yoğunluğu 1×10^4 hücre olacak şekilde ekim yapıldı. Tannik asit (Sigma-Aldrich), DMSO içinde çözdürüldü ve %0.4'lük nihai DMSO içeriği ile muamele edilmeden önce kültür ortamında seyreltilti.

Hücre canlılık değerlendirilmesi

Hücre canlılığı, XTT testi (Roche Diagnostic, MA, USA) kullanılarak değerlendirildi. Başlangıçta HeLa serviks adenokarsinomu hücreleri oyuk başına 100 μ L DMEM içinde 1×10^4 hücre yoğunluğunda 96 oyuklu plaklara ekildi ve 24 saat inkübe edildi. Hücreler kontrol grubun ve ilaç grubu olarak sınıflandırıldı. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. İlaç grubundaki hücreler, 24 saat boyunca çeşitli konsantrasyonlarda (25; 50; 100; 200 ve 400 μ M) tannik asit uygulanarak inkübatörde bekletildi. İnkübasyondan sonra 96'lı plaka çıkarılıp oyuklar fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkandı. Daha sonra tüm kuyucuklara fenol kırmızısı içermeyen 100 μ L DMEM ve 50 μ L XTT solüsyonu ilave edildi ve ardından plakalar 4 saat 37 °C'de tutuldu. Absorbans değerleri, 450 nm'de bir ELISA mikro plaka okuyucu (Thermo Fisher Scientific, Altrincham, UK) kullanılarak tespit edildi. Tüm deneyler üç kez gerçekleştirildi ve hücre canlılığı, kontrol grubuna (tedavi uygulanmamış hücreler) kıyasla canlı hücre yüzdeleri olarak ölçüldü.

Hücre homojenatlarının hazırlanması

Her grubun hücreleri steril tüplere alındı. Süpernatant, 2000 rpm'de yaklaşık 10 dakika santrifüj edildikten sonra çıkarıldı. Tüplerdeki hücreler, hücre süspansiyonunun PBS (pH: 7.4) ile yaklaşık 1 milyon/ml hücre konsantrasyonuna

seyreltilmesiyle süspanse edildi. Hücreler, iç bileşenlerin dışarı çıkmasına izin veren tekrarlanan donma-çözülme döngüleri tarafından hasar gördü. 4°C sıcaklıkta hücreler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar daha sonra toplandı ve biyokimyasal analize tabi tutuldu. Örneklerdeki toplam protein seviyeleri, Bradford protein analiz kiti (Merck Millipore, Darmstadt, Almanya) kullanılarak belirlendi.

Toplam Antioksidan Durumu (TAS) ve Toplam Oksidan Durumu (TOS) ölçümü

Tannik asit uygulanmış ve uygulanmamış HeLa hücrelerinde toplam antioksidan durum (TAS) ve toplam oksidan durum (TOS) ölçümü Tannik asit ile tedavi edilmiş ve tedavi edilmemiş HeLa hücrelerinde TAS ve TOS değerleri Total Antioxidant Status Assay Kit (Rel Assay Diagnostics, Turkey) ve Total Oksidan Durum Test Kiti (Rel Assay Diagnostics, Turkey) ile araştırıldı.

İstatistiksel analiz

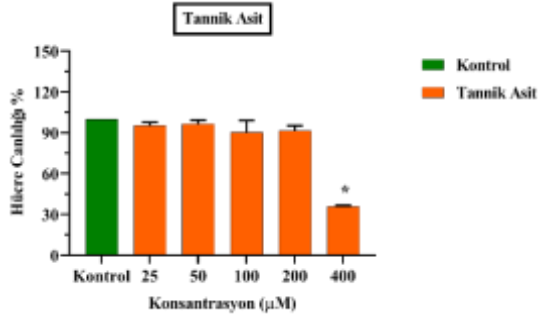
Sonuçlar, ortalamanın (SEM) ortalama \pm standart hatası olarak ifade edildi. Veri analizleri Windows için SPSS Sürüm 23.0 ile yapılmıştır. Veriler, tek yönlü bir varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirildi. Deney grupları arasındaki farklılıkları belirlemek için post hoc Tukey testi kullanıldı ve $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Tannik Asitin Sitotoksik Üzerine Etkisi

Tannik Asitin HeLa serviks adenokarsinom hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi amacıyla XTT hücre canlılığı testi yapıldı. Çalışmamızda kullandığımız konsantrasyon önceki çalışmalarda tannik asitin in vitro ortamda

kullanılan konsantrasyonları araştırılarak 400 μM olarak belirlenmiştir. Şekil-1 de gösterildiği gibi tannik asitin HeLa serviks adenokarsinom hücreleri üzerine 400 μM anlamlı bir sitotoksik etki yaratmıştır ($p < 0.05$) (Şekil 1).

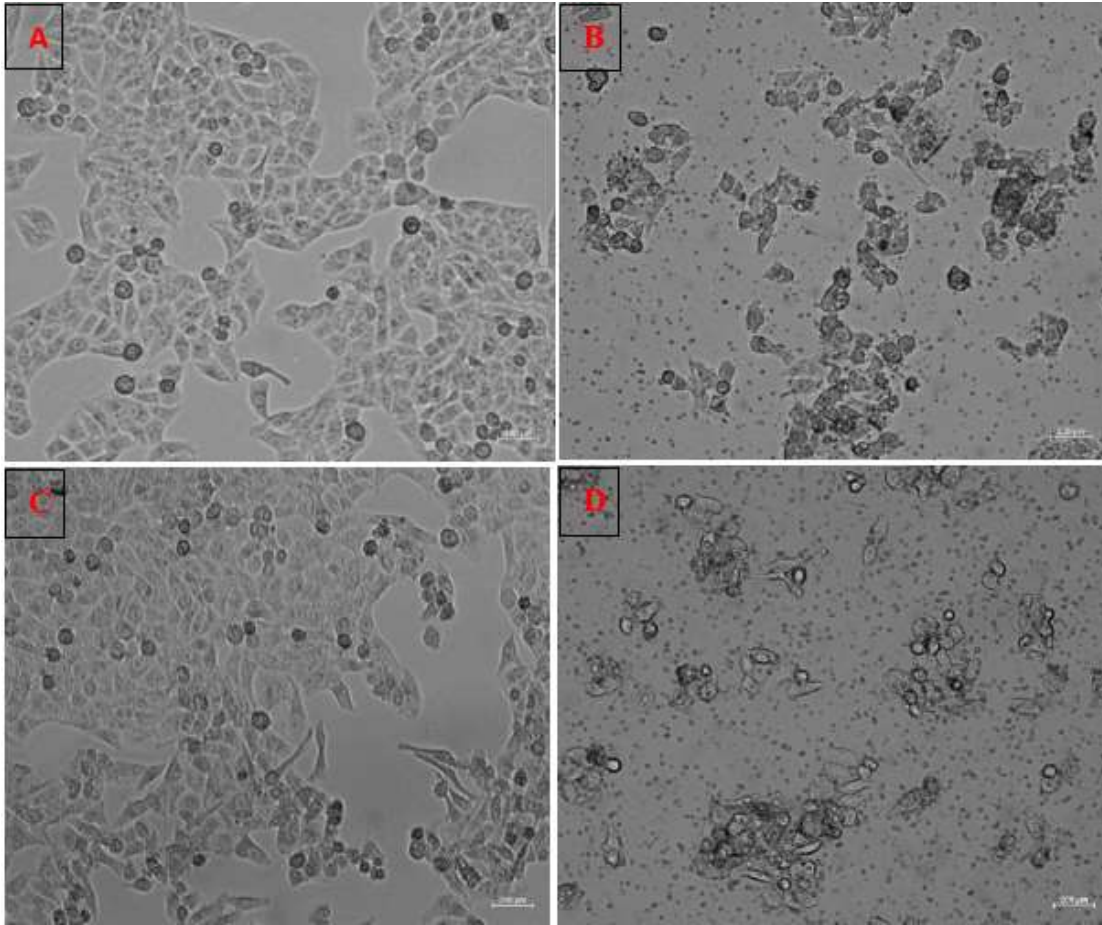


Şekil 1. Tannik Asitin HeLa serviks kanseri hücre canlılığı üzerine etkileri. Değerler ortalama \pm SEM olarak sunulmuştur (* $p < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında).

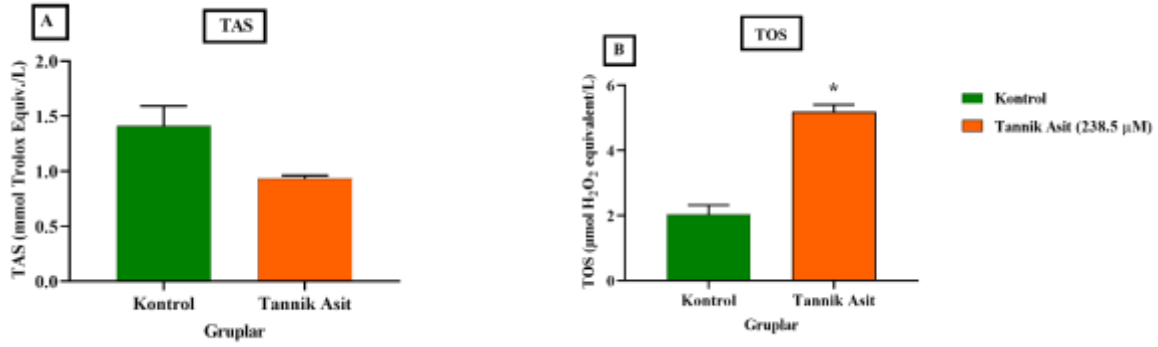
Hücelere uygulanan tannik asitin IC50 değeri ise; 238.5 μM olarak belirlendi. Belirlenen doz ile hücelere uygulandı (Şekil 2).

Tannik Asitin TAS ve TOS Seviyelerine Etkisi

Hücreler, tek doz (238.5 μM) tannik asit ile muamele edildi ve 24 saat inkübasyona bırakıldı. Şekil 3'te gösterildiği gibi, tannik asit, tedavi edilmemiş kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında HeLa hücrelerinin TAS seviyeleri değişmedi ($p > 0.05$; Şekil 3A). Ayrıca, HeLa hücrelerinin TA ile 24 saat önceden inkübe edilmesi, kontrol grubu hücrelerine kıyasla TOS seviyelerini önemli ölçüde arttırdı ($p < 0.05$; Şekil 3B).



Şekil 2. Kontrol hücreleri ve Tannik asit ile tedavi edilen hücrelerin mikroskop görüntüleri. A ve C; kontrol hücreleri, B ve D; tannik asit (238.5 μM) ile tedavi edilen hücreler.



Şekil 3. HeLa hücrelerinde tannik asidin TAS (A) ve TOS (B) seviyelerine etkisi. Değerler ortalama \pm SEM olarak sunulmuştur (* $p < 0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında).

TARTIŞMA

Karsinogenez, normal bir hücrenin neoplastik bir hücreye dönüşme sürecidir. Bu geçiş, başlama ile başlayan ve ardından terfi ve ilerleme ile devam eden birkaç adımı içerir. Eksojen ajanların veya endojen faktörlerin neden olduğu genetik ve epigenetik değişiklikler, hücresel homeostazdan sorumlu genlerde mutasyon ve epimutasyonların birikmesine yol açar. Böylece kanser gelişimi, gen-çevre etkileşimlerini içerir. Ayrıca oksidatif stres ve inflamasyon kansinogenezde önemli roller oynamaktadır.²⁴

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar, tedavide karşı zamana bağlı tümör direnci gelişimi ve normal hücrelere karşı spesifik olmayan toksisite gibi önemli yan etkileri vardır. Son yıllarda yapılan pek çok çalışma Tannik asit dahil olmak üzere bitki polifenollerinin, ilaca dirençli tümörleri çeşitli mekanizmalar yoluyla kemoterapiye duyarlı hale getirebildiğini ve ayrıca terapiyle ilişkili toksisitelerden koruyucu olabildiğini göstermektedir.²⁵ Ayrıca sadece tannik asit uygulamasının antikanser etkinliği ve olası etki mekanizmaları da araştırılmaktadır.

Karakurt ve ark., yaptıkları çalışmada tannik asidin prostat kanser hücreleri (PC-3 ve LNCaP) üzerinde proliferasyon, metastaz ve invazyon etkisini incelemiştir. TA ile tedavi, migrasyonu, invazyonu ve prostat kanseri hücreleri tarafından koloniler oluşturma kabiliyetini önemli ölçüde inhibe ettiğini bildirmişlerdir.²⁶ Sánchez-Carranza yaptıkları çalışmada Caesalpinia coriaria'dan izole edilen TA, insan hepatoma Hep3B hücrelerinde G2/M faz hücre döngüsü durmasını indüklediği ve mikrotübül stabilizasyonu ile hücre ölümünü tetiklediğini bulmuşlardır.²⁷ Kolon kanseri hücre hatlarında (DLD1, HCT-116 ve FHC) üzerine yapılan bir çalışmada ise, TA'nın piruvat kinaz PKM2 aktivitesini inhibe ettiğini ve ardından hücre proliferasyonunu baskıladığını göstermişlerdir. Bu nedenle TA'in, PKM2 inhibitörü olarak görev yapan moleküllerden biri olabileceğini ileri sürmüşlerdir.²⁸ Bizim çalışmamızda benzer şekilde tannik asidin serviks kanseri üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Mhlanga ve ark., TA'nın insan hepatoma kanser hattı olan HepG2 hücre hattında reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) düzeylerini arttırdığını ve antioksidan enzim ekspresyonunun aşağı regüle olduğunu göstermişlerdir.²⁹ Bizim çalışmamızda da benzer şekilde TA'in

oksidatif stresi artırdığı görüldü. Her iki çalışmanın sonuçları, TA'nın konsantrasyona bağlı olarak antioksidan veya pro-oksidan gibi davranabileceğine dair daha önceki önerileri doğrulamaktadır.³⁰

SONUÇ

Genel olarak, tannik asit, indüklenmiş oksidatif stres yoluyla HeLa hücrelerinde anlamlı sitotoksikite sağlar. Bununla birlikte, serviks kanseri tedavisi için bir antikanser ilacı olarak tannik asitin potansiyelini değerlendirmek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı yürütmek için gerekli olanakları sağladığı için Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Merkezi'ne (CÜTFAM), eleştirel önerisi ve makale düzenlemesi için Doç. Dr. Ahmet Şevki Taşkiran'a teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

1. Baykara O. Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi. 2016;5(3):154-65.
2. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*. 2011;144(5):646-74.
3. What Is Cancer? [Internet]. 2015 [Erişim Tarihi 24 Mayıs 2018]. Erişim adresi: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
4. Bilir N. Sigara ve kanser. Ankara: Klasmat Matbaacılık; 2008.
5. Ng WK, Yazan LS, Yap LH, Hafiza WA ve ark. Thymoquinone-loaded nanostructured lipid carrier exhibited cytotoxicity towards breast cancer cell lines (MDA-MB-231 and MCF-7) and cervical cancer cell lines (HeLa and SiHa). *Biomed Research International*. DOI: 10.1155/2015/263131.
6. Yavuz B. Klorojenik asidin insan servikal kanser hücreleri (hela) üzerindeki sitotoksik etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi. 2016.
7. Khodavirdipour A, Zarean R, Safaralizadeh R. Evaluation of the Anti-cancer Effect of *Syzygium cumini* Ethanolic Extract on HT-29 Colorectal Cell Line. *J Gastrointest Cancer* 2021;52:575–81. <https://doi.org/10.1007/S12029-020-00439-3>.
8. BANIK, Kishore, et al. Therapeutic potential of gambogic acid, a caged xanthone, to target cancer. *Cancer letters*, 2018, 416: 75-86.
9. Bhuvaramurthy, V., Balasubramanian, N., Govindasamy, S. (1996). Effect of radiotherapy and chemoradiotherapy on circulating antioxidant system of human uterine cervical carcinoma. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 158(1), 17-23.
10. Kovesdy, C. P., Kalantar-Zadeh, K. (2009). Review article: Biomarkers of clinical outcomes in advanced chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)*, 4(4), 408-415.
11. Wildburger, R., Mrakovcic, L., Stroser, M., Andrisic, L., Borovic Sunjic, S., Zarkovic, K., Zarkovic, N. (2009). Lipid peroxidation and age-associated diseases-cause or consequence?: Review Citation. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 29(1), 189-193
12. Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147-1150.
13. Romero, F. J., Bosch-Morell, F., Romero M.J., Jareno E. J., Romero B., Marin, N., Roma, J. (1998). Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. *Environmental Health Perspectives*, 106 (Suppl 5), 1229-1234.
14. Kalousova, M., Zima, T., Tesar, V., Lachmanova, J. (2002). Advanced glycation endproducts and advanced oxidation protein products in hemodialyzed patients. *Blood Purification*, 20, 531-536.
15. Berk, M., Ng, F., Dean, O., Dodd, S., Bush, A. I. (2008). Glutathione: a novel treatment target in psychiatry. *Trends in Pharmacological Science*, 29(7), 346-351.
16. Gutteridge, J. M. C. (1994). Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interactions*, 91, 133-140, 1994.
17. Zádák, Z., Hyspler, R., Tichá, A., Hronek, M., Fikrová, P., Rathouská, J., Hrnčiariková, D., Stetina, R. (2009). Antioxidants and vitamins in clinical

- conditions. *Physiological Research*, 58 (Suppl 1), 13-17.
18. Berger, M. M. (2005). Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, 24(2), 172-183.
 19. Halliwell, B., Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142(2), 231-255.
 20. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: University Press.
 21. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:564-582.
 22. Taffetani S, Ueno Y, Meng F, et al. Tannic acid inhibits cholangiocyte proliferation after bile duct ligation via a cyclic adenosine 5',3'-monophosphate-dependent pathway. *Am J Pathol* 2005;166:1671-1679.
 23. Kuo PL, Lin CC. Green tea constituent (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits Hep G2 cell proliferation and induces apoptosis through p53-dependent and Fas-mediated pathways. *J Biomed Sci* 2003;10:219-27.
 24. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144:646-74.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.
 25. Garg AK, Buchholz TA, Aggarwal BB. Chemosensitization and radiosensitization of tumors by plant polyphenols. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7:1630-47.
<https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.1630>
 26. Karakurt S, Adali O. Tannic acid inhibits proliferation, migration, invasion of prostate cancer and modulates drug metabolizing and antioxidant enzymes. *Anti Cancer Agents Med Chem*. 2016;16: 781-9.
<https://doi.org/10.2174/187152061666615111115809>.
 27. Sánchez-Carranza JN, Alvarez L, Marquina-Bahena S, Salas-Vidal E, Cuevas V, Jiménez EW, et al. Phenolic compounds isolated from *Caesalpinia coriaria* induce S and G2/M phase cell cycle arrest differentially and trigger cell death by interfering with microtubule dynamics in cancer cell lines. *Molecules*. 2017;22.
<https://doi.org/10.3390/molecules22040666>.
 28. Yang P, Ding GB, Liu W, Fu R, Sajid A, Li Z. Tannic acid directly targets pyruvate kinase isoenzyme M2 to attenuate colon cancer cell proliferation. *Food Funct*. 2018;9:5547-59.
<https://doi.org/10.1039/c8fo01161c>.
 29. Mhlanga P, Perumal PO, Somboro AM, Amoako DG, Khumalo HM, Khan RB. Mechanistic insights into oxidative stress and apoptosis mediated by tannic acid in human liver hepatocellular carcinoma cells. *Int J Mol Sci*. 2019;20.
<https://doi.org/10.3390/ijms20246145>.
 30. Khan NS, Ahmad A, Hadi SM. Anti-oxidant, pro-oxidant properties of tannic acid and its binding to DNA. *Chem Biol Interact*. 2000;125:177-89.
[https://doi.org/10.1016/s0009-2797\(00\)00143-5](https://doi.org/10.1016/s0009-2797(00)00143-5).