



**T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ATİPİK ASİNAR HÜCRE FOKUSLU SIÇAN PANKREASINDA
TİMOKİNONUN HİSTOLOJİK ETKİLERİ**

BAŞAK HARTAVİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
HAZİRAN-2019**



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ATİPİK ASINAR HÜCRE FOKUSLU SIÇAN PANKREASINDA
TİMOKİNONUN HİSTOLOJİK ETKİLERİ

BAŞAK HARTAVİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
HAZİRAN-2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ATİPİK ASİNAR HÜCRE FOKUSLU SIÇAN PANKREASINDA
TİMOKİNONUN HİSTOLOJİK ETKİLERİ

Başak HARTAVİ

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dr. Öğretim Üyesi Hasan YILDIZ'ın danışmanlığında hazırlanan bu tez **28/06/2019** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğrt. Üyesi. Hasan YILDIZ
Başkan

Prof. Dr. Haydar ÖZTAŞ

Üye

Prof. Dr. Ayşe YAVUZ KOCAMAN

Üye

Kod No: 1145

Prof. Dr. Erdal SERTKAYA
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

28.06.2019

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Başak HARTAVİ

ÖZET

ATİPİK ASINAR HÜCRE FOKUSLU SIÇAN PANKREASINDA TİMOKİNONUN HİSTOLOJİK ETKİLERİ

Kanser insan yaşamını tehdit eden bu yüzyıl içindeki önemli bir hastalıktır. Kanser başlangıcı ve gelişimi hakkında önemli sayıda deneysel, klinik ve epidemiyolojik araştırmalar yürütülmüştür. Önceki çalışmalarda timokinonun gastrointestinal sistemdeki neoplastik değişimler üzerinde koruyucu etkisinin olabileceği belirtilmiştir.

Nigella sativa 'nın (çörek otu, bereket tanesi) aktif bileşenlerinden biri olan timokinon, uzun süredir geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Timokinon; hipoglisemik, antimikrobial, antiparazitik, antioksidant ve antikanser etkilere sahiptir. Önceki çalışmalarda timokinonun çeşitli kanser hücrelerinin gelişimini engellediği rapor edilmiştir. Bununla birlikte, timokinon ile yapılan araştırmalar sınırlı olup bilimsel veri tabanında henüz yeterli rapor bulunmamaktadır.

Azaserin güçlü bir kanserojen olup, sıçan ekzokrin pankreas hücrelerinde atipik asinar hücre odakları (AAHF), adenoma ve karsinoma meydana getirir. Azaserin-sıçan modeli, ekzokrin pankreasta neoplastik değişim geliştirilen çok kullanışlı ve iyi bilinen bir modeldir. İntraperitoneal (i.p. 30mg/kg vücut ağırlığı) azaserin uygulaması ile ekzokrin pankreasta AAHF oluşturulabilir.

Kantitatif stereolojik bir metod ile preneoplastik lezyon yükü hesaplanmış olan bu çalışmada, pankreatik odak oluşturulmuş Wistar albino sıçanlarda, timokinonun olası neoplastik etkileri araştırılmıştır.

Azaserin enjeksiyonundan 6 hafta sonra, deney hayvanlarının içme sularına timokinon uygulanması sonucunda, ortalama odak çapları (mm), ortalama odak hacimleri (mm³) ve AAHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne oranları değerlerinde, azaserin grubuna göre önemli derecede bir azalmanın olduğu görülmüştür. Bu verilerden hareketle azaserin uygulamasından 6 hafta sonra, yani erken dönemde, timokinon kullanımını sonucunda odak yükleri üzerinde azaltıcı bir etkisinin olduğunu söylemek mümkün görünmektedir.

2019,72 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Azaserin; sıçan; atipik asinar hücre odak; pankreas; kanser

ABSTRACT

THE HISTOLOGICAL EFFECTS OF THYMOQUINONE ON PANCREATIC ATYPICAL ACINAR CELL FOCI IN RATS

Cancer is a significant disease which threatens the lives of people in this century. A significant number of experimental, clinical, and epidemiological investigations were carried out concerning the initiation, and propagation of cancer. In previous studies it was indicated that there might be a protective effect of thymoquinone on neoplastic changes in the gastrointestinal systems.

Nigella sativa (Black Seed) has been used for years in traditional medicine and thymoquinone is one of the active compounds of *Nigella sativa*. Thymoquinone has anti-inflammation, hypoglycemic, antimicrobial, antiparasitic, antioxidant and anticancer effects. Former studies report that thymoquinone inhibits the growth of various cancer cells in animal models. However there have been limited research done with thymoquinone and there haven't been enough reports that exist in the scientific database yet. Azaserine is a strong carcinogen and it induces pancreatic atypical acinar cell foci (AACF), adenoma and carcinoma in rat's exocrine pancreas.

Azaserine-rat model is very useful and well known model to develop neoplastic change in rat exocrine pancreas. We can develop AACF by intraperitoneal administration (30 mg/kg body weight) of azaserine in exocrine pancreas.

A quantitative stereological method was also used to assess the burden of putative preneoplastic lesions. This study performed to investigate the effect of thymoquinone on histological changes in azaserine induced pancreatic cancer in Wistar rats.

As a result of the application of thymoquinone to drinking water of experimental animals 6 weeks after azaserine injection, a significant decrease in Mean focus diameters (mm), mean focus volumes (mm³) and AACF size to whole pancreas size was observed in the values of the azaserine group. Based on these data, it seems possible to say that azaserine has a reducing effect on focus loads as a result of the use of thymoquinone 6 weeks after the application, that is, in the early period.

2019, 72 Pages

Key Words: Azaserine; rat; atypical acinar cell foci; pancreas; cancer

TEŞEKKÜR

Akademik hayatımın en başından itibaren bıkmadan tüm sorularımı cevaplayan, akademik yaşamımı şekillendirirken sürekli beni yüreklendiren ve akademik özgürlüğümü her daim koruyan, bilimsel düşünmeyi öğreterek beni bilim insanı olmaya hazırlayan akademik danışmanım, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Dr. Öğr. Üy. Hasan YILDIZ'a teşekkür ederim.

Çalışmamın her aşamasında yanımda olan, desteklerini hiç eksik etmeyen çalışmanın büyük bölümünde bilimsel heyecanlarını her zaman koruyarak destek olan Sayın Prof. Dr. Birgül ÖZCAN ve Doç. Dr. Nuray ERGÜN'e, Uzman Hüseyin DOĞRU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında ve alanında benden desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda hissettiğim arkadaşım Selda KOPTUR'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca Yüksek Lisans eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen bu günlere gelmemi sağlayan aileme teşekkür ederim.

Başak HARTAVİ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ.....	10
1.1. Kanser ve Tarihçesi	13
1.2. Pankreas	14
1.2.1. Pankreas Kanseri ve Epidemiyolojisi.....	16
1.2.2. Risk Faktörleri.....	18
1.2.3. Pankreas ve Genetik	21
1.2.4. Pankreas Kanseri Patofizyolojisi.....	23
1.2.5. Pankreas Kanseri Histopatolojisi	24
1.2.6. Pankreas Kanseri Belirtileri	25
1.3. <i>Nigella sativa</i> (Çörek Otu).....	26
1.3.1. Timokinon (TQ)	28
1.3.2. Antioksidan Etkisi	29
1.3.3. Antimikrobiyal Etkisi.....	30
1.3.4. Antiinflamatuvar Etkisi	30
1.3.5. Antitümöral ve Antikanserojenik Etkisi.....	31
1.3.6. <i>In vitro</i> Araştırmalar.....	31
1.3.7. <i>In vivo</i> Araştırmalar.....	32
1.4. Azaserin	33
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	36
3. MATERYAL ve YÖNTEM	39
3.1. Materyal.....	40
3.1.1. Deney Hayvanları.....	40
3.2. Yöntem	40
3.2.1. Doku Örneklerinin Alınması ve Değerlendirilmesi	41
3.2.2. İstatiksel Değerlendirilme	42
3.2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	42
3.2.4. Mikroskop	43
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	44
4.1. Araştırma Bulguları.....	44
4.1.1. Sıçan Pankreasının Histopatolojik ve Kantitatif Analizleri	44
4.1.2. Normal Sıçan Pankreası	45

4.1.3. Atipik Asinar Hücre Fokusları (AAHF) ve bunların Kantitafi Analizleri	47
4.2. Tartışma	56
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	72



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Pankreas ve komşu organları	15
Şekil 1.2.	İnsan Pankreasının Anatomik yapısı.....	15
Şekil 1.3.	<i>Nigella sativa</i> bitkisi	26
Şekil 1.4.	<i>Nigella sativa</i> tohumu ve yağı	27
Şekil 1.5.	<i>Nigella sativa</i> 'nın temel bileşeni	28
Şekil 1.6.	Timokinon etki mekanizmaları.....	29
Şekil 4.1.	Herhangi bir kimyasal madde ile muamele edilmemiş kontrol grubu sıçanlarına ait normal pankreasın, yer yer loblara bölünmüş asinar salgı hücreleri ve bu hücrelerin salgılarını boşalttığı kanalcıklar (x200)	46
Şekil 4.2.	AzTim2 grubu sıçana ait olan ve atrafındaki normal asinar dokudan ayırt edilebilen anormal doku kayıpları (x100)	47
Şekil 4.3.	AzTim2 grubu sıçana ait azalan zimogen granül sayısı ve solgun görünüş ile çevrelerindeki normal asinar hücrelerden farklı asinar hücre fokusu ve yanında azaserin etkisi ile meydana gelen doku kayıplarının oluşturduğu görüntü (x100)	48
Şekil 4.4.	AzTim1 grubu sıçana ait kısmen daire şeklinde kapsülsüz bir görünüme sahip atipik asinar hücre fokusu (AHHF) görülmekte olup, çevresindeki normal parankimi yukarıya doğru hafifçe sıkıştırmaktadır. Çoğunlukla bazal bölgede yerleşik halde bulunan çekirdek, normal büyüklükte ya da kısmen genişlemiş özelliktedir (x100)	49
Şekil 4.5.	AzTim2 grubu sıçana ait azalan zimogen granül sayısı ve solgun görünüş ile çevrelerindeki normal asinar hücrelerden farklı bir görünüş özelliğini kazanmış fokus (AAHF) yapısı (x400)	49
Şekil 4.6.	Az grubu sıçana ait kısmen daire şeklinde kapsülsüz bir görünüme sahip atipik asinar hücre fokusu (AAHF) (x100)	50
Şekil 4.7.	Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt-Grup 1), sadece timokinon (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinon verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarındaki ortalama fokus çapları (mm).	50
Şekil 4.8.	Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt-Grup 1), sadece timokinon (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinon verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarındaki ortalama fokus hacmi (mm ³).	51
Şekil 4.9.	Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt-Grup 1), sadece timokinon (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinon verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarındaki tüm organdaki tahmini fokus sayısı	51

- Şekil 4.10. Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt-Grup 1), sadece timokinon (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinon verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarında birim hacim başına tahmini odak sayısı 52
- Şekil 4.11. Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt-Grup 1), sadece timokinon (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinon verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarındaki AHHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne % oranı 52
- Şekil 4.12. Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt-Grup 1), sadece timokinon (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinon verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarındaki birim alandaki odak kesişme sayısı 53

ÇİZELGELER DİZİNİ

- Çizelge 4.1. Sekiz ay süresince herhangi bir kimyasal madde ile muamele edilmemiş kontrol grubu (Kt) (Grup1) ile yalnızca azaserin enjekte edilmiş (Az) (Grup 3) ve azaserin enjekte edilip timokinon ile muamele edilmiş (AzTim1) (Grup 4) ve (AzTim2) (Grup 5) sıçanların ortalama vücut, pankreas, karaciğer ve böbrek ağırlıkları (Ortalama \pm Standart Sapma) $p < 0,05$ 54
- Çizelge 4.2. Azaserin enjeksiyonu ile meydana getirilmiş AAHF'ları üzerinde Timokinon'un inhibisyon etkisinin karşılaştırılması amacıyla tüm gruplara ait kantitatif fokus değerleri değerleri (Ortalama değer \pm standart sapma) $p < 0,05$ 55



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

mm : Milimetre
mm³ : Milimetreküp

KISALTMALAR

Az : Azaserin
AACF : Atypical Acinar Cell Foci
AAHF : Atipik asinar hücre fokusu
PanIN : Pankreatik intraepitelyal neoplaziler
SEM : Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM : Geçirimli Elektron Mikroskobu
TQ : Timokinon

1. GİRİŞ

Dünyada hızla artan nüfus karşısında aynı hızda gerçekleşen ölümlerin %13'ünü kanser oluştururken ,bu oranın gelişmiş ülkelerde %25'i bulunduğu görülmüştür (Jemal ve ark., 2011). Jemal ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmalar neticesinde, her geçen yıl artan kanser vakaları sebebiyle sadece 2009 yılında Amerika'da 1.479.350 yeni kanser vakasının görüldüğü ve bu vakalarda toplam 562.340 ölümün gerçekleştiği tahmin edilmektedir (Jemal ve ark., 2009).

2006 da yapılan bir çalışmaya göre ise, her yıl yaklaşık 11 milyon kişi kansere yakalanırken, bu durum Türkiye'de yaklaşık 150 bini bulmaktadır. Aritmetik artış gösteren kanser vaka sayısının 2020 yılında yüzde 50 oranında artış göstermesi beklenmektedir (Anonim, 2006).

Sayca ve türce her geçen yıl artan kanser kaynaklı ölümler kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sıraya yükseldiği gözlemlenmiştir (İzmirli ve ark., 2007). Warshaw çalışmalarında bize dünyada her yıl yaklaşık 44 binin kişiye Pankreas kanseri tanısı konulduğunu göstermiştir (Warshaw ve Castillo, 1992).

Tüm kanserler içerisinde pankreas kanserinin görülme sıklığı % 2.2 yi bulurken Dünya geneli gerçekleşen kanserli ölümlerde dördüncü sırada yer almaktadır (Ghaneh ve ark., 1999).

Bu durumun en önemli sebebi kanserli hücrelerin kemoterapi ve radyoterapi uygulamalarına direnç göstermeleri olarak değerlendirilebilir. Bu bakımdan Pankreas kanseri için yeni tedavi yöntemleri ve prosesleri belirlenebilmesi için çalışmaların geliştirilmesi ve bu kanser gelişiminin kökenlerinin de incelenmesi gerektiği düşünülmektedir (Dizdaroğlu ve ark., 2008).

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2008 yılı kanser raporunda; "erkek ve kadınlarda ölüm oranlarının yükselişte olduğunu ve en öldürücü kanser türlerinden olan karaciğer ve pankreas kanserlerine daha fazla önem verilmesi gerektiği" belirtilmektedir. Kanser nedenlerinin çeşitliliği göz önünde bulundurularak özellikle yaşam stillerinin ele alınarak yapıldığı çalışmalarda ortaya çıkan sonuçlardan birisi de çevresel faktörler olduğu tespit edilmiştir. Bu faktörlerden en önemlileri beslenme alışkanlıkları olup, buna bağlı etkileşimlerin olduğu düşünülmektedir (Boyle ve Levin, 2008).

Genel olarak kanser oluşum sebepleri incelendiğinde bunun öncelikli olarak genetiksel kaynaklı olduğu, bunu kimyasal etmenler, fiziksel etmenler, mikrobiyolojik etmenler ve beslenme takip ettiği görülmektedir (World Cancer Research Fund, 2007). Kalıtsal kaynaklı kanser gelişimi mutasyon ya da yatkınlıktan kaynaklanan germline mutasyonlar sonucunda olduğu belirlenmiştir (Hodgson., 2008). Morötesi ışınlar, radyoaktif dalgalar, aspest tozu vb. sebepler önemli kanser etmenleri arasında sayılırken, yapılan araştırmalar yetersiz fiziksel aktivitelerin, sigara, uyuşturucu, alkol ve kötü beslenme alışkanlıklarının da kanser insidansını etkileyen çevresel faktörler içinde yer aldığı belirlenmiştir. Çevresel etkenlere maruziyet sonucunda oluşan kanser vakaları sebebiyle çevresel faktörlerin, kanserogenezdeki önemi vurgulanmıştır (World Cancer Research Fund, 2007). Yapılan çalışmalar ve istatistiksel verilere dayanarak yaş faktörünün de kanser gelişimi üzerinde önemli rol oynadığı görülmekte, 70 yaş üzerindeki insanlarda kanser vaka sıklığının arttığı bildirilmektedir (White ve ark., 2014). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise; kanser üzerinde etkili olan çevresel faktörlerden bir diğerinin ise coğrafi yerleşimle ilgili olduğunu belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2015).

Tüm bunlar bize kanser üzerinde çevresel ve genetik faktörlerin, bu faktörlerin birbirleri ile etkileşimlerinin ne denli önemli ve belirleyici olduğunu göstermekle beraber kanser riskini ortaya koymasından önemli birer kaynak oluşturmaktadırlar (World Cancer Research Fund, 2007).

Tüm bu bilgiler göz önünde bulundurularak yaptığımız bu çalışmada iyi bir kanserogenez modeli olarak azaserin- sıçan modelinin temelini oluşturan kimyasal olan azaserin (O-diazoasetil-L-serin); toksik, mutajenik ve kanserojenik bir bileşik olup, ilk defa *Streptomyces* türü mantar kültürlerinden izole edilmiştir .

Tez çalışmamızın amacı; azaserin enjeksiyonu ile sıçan ekzokrin pankreasında deneysel olarak oluşturulan atipik asinar hücre odakları (AAHF) üzerinde timokinonun muhtemel antineoplastik etkilerini histolojik olarak incelemektir.

Çalışmamızda, daha önceki çalışmalarımızda da başarı ile uyguladığımız ve başka birçok deneysel kanserogenez çalışmalarında kullanılan azaserin-sıçan modeli (Longnecker ve Curphey, 1975) uygulanacaktır. Deneyde kullanılan sıçan pankreaslarının her bir mm²' sinde ve her bir mm³' ünde bulunan fokus sayısı ve buna bağlı olarak her bir pankreasta bulunan fokusların % hacmi, fokusların ortalama çapları

(mm) ve fokus ortalama büyüklüklerini (mm³) hesaplayabilmek mümkündür. Sıçanlara, Longnecker ve Curphey'in protokülüne uygun bir şekilde azaserin (aminoasit türevi) enjekte edilmesi, sonrasında pankreastaki neoplastik değişimlerin ve gelişimlerin izlenmesi, asinar hücre lezyonlarının belirgin bir şekilde incelenebileceği andan itibaren timokinon ekstraktının sıçanların içme sularıyla karıştırılarak verilmesi sonucunda herhangi bir antineoplastik etkisinin varlığının araştırılması, bu deneyin amaçları arasındadır.

Bu çalışma bize daha önceden birçok neoplastik lezyonlarda önleyici etkisi olduğu ileri sürülen timokinonun, benzer etkiyi ekzokrin pankreasın asinar hücrelerinde deney protokülü gereği meydana getirilen atipik asinar hücre odakları (AAHF) üzerinde de inhibasyon etkisinin olup olmayacağı konusunda bilgi sağlayabilir. Bu bilgilerin yanı sıra bu deneyde kullanılan azaserin-sıçan modeli yardımıyla pankreasın asinar hücrelerinde azaserinin etkisi ile oluşturulacak ve gözlemlenecek olan atipik asinar hücre odaklarının morfolojik özelliklerinin incelenmesi de amaçlanmıştır.

Çörek otunun aktif temel bileşenleri timokinon, ditimokinon, timohidrokinon ve timol olup bu bileşenler HPLC yardımıyla ayrıştırılabilmektedir (Khan ve ark., 2011). Birçok çalışmaya konu olan çörek otunun, özellikle hücrelerin neoplastik değişimler üzerindeki etkisi başta olmak üzere antimetastatik ve antikanserojenik etkisinin var olabileceği ileri sürülmüştür (Stock ve ark., 2014).

Bu etki ve/veya etkilerin temelde üç farklı etki mekanizması ile gerçekleştiği varsayılmıştır. Bunlardan ilki ve kuvvetlisi, hücrelerin programlanmış ölümünü tetiklediği ve çeşitli sebeplerle farklılaşmış tümör hücrelerini apoptoza sürüklediği yönünde olduğu diğer mekanizmanın ise "anjiojeniz inhibasyonu" olabileceği, tümör oluşumuna meyilli hücreleri destekleyen yeni kan damarları gelişimini engellemeye dayalı olduğu ileri sürülmüştür. Bir diğer etki mekanizması ise yine tümöre meyilli ya da tümör hücrelerinin bölünüp çoğalmasını engellemeye yönelik hücre siklusunun durdurulması yönünde olduğu düşünülmektedir (Banerjee ve ark., 2010).

Ames *Salmonella typhimurium* testinde, azaserinin mutajenik etkisi olduğu gözlemlenmiştir (Longnecker, 1984). DNA sentezinde rol oynayan enzimleri inhibe eden azaserinin bu etkisinin, enzimlerin ihtiva ettikleri -SH gruplarına geri dönüşümsüz olarak bağlanmasından kaynaklı olabileceği varsayılmıştır. İlk defa azaserin-sıçan modeli üzerinde çalışmalar yapılmış olup diğer biyolojik etkileri tam olarak

araştırılmamıştır. Bu model bize histolojik teknikler yardımıyla hücreler üzerinde neoplastik değişimler meydana getirmek ve bu değişimler üzerinde antimutajenik, antikanserojenik etkilerinin varlığını gözlemleyebilme fırsatı sağlamıştır (Longnecker ve Curphey, 1975).

Hücrelerin programlı bir şekilde ölme durumuna apoptosis denildiği gibi bu durumun kromozomal DNA' nın parçalara ayrılmasına, hücre simetrisinin bozulup bütünlüğünü kaybetmesine, çekirdekte parçalanmaya neden olduğu bilinmektedir. Hücresel apoptosis hücre içindeki sinyallere bağlı olarak, mitokondriyal apoptosis ise oksijen reaksiyonuna bağlı olarak gelişirken timokinonun bu mekanizma sayesinde neoplastik değişimler üzerinde önemli rol oynadığı gözlemlenmiştir (Kraft ve ark., 2009).

1.1 Kanser ve Tarihçesi

İnsanlığın, kanser olduğunu düşündüğü ya da benzettiği ilk bulguyla tanışması ile ilgili araştırmaları bizi M.Ö 4500 yıllarına kadar götürmüştür (Grmek, 1975; Shimkin, 1977). Kanser kelimesi köken olarak Latince olup kelime anlamı itibariyle “yengeç” anlamına gelen *Carcinos* 'tur (Holland ve Frei, 2003). Özellikle Hippocrates anormal değişimlerin evrelerini tanımlamak için *Carcinos* ve *Carcinomas* terimlerini kullanmıştır (Ewing, 1940). Mumya çalışmalarında rastlanılan kemik kanseri bulgusu bize bu hastalığın insanlık tarihi kadar eski olduğuna dair emareler vermektedir (Moodie, 1923).

Papiruslarda kanserin, tedavi edilemeyen deri olduğu varsayılmıştır (Wolff, 1907). Ramazzini (1713) ise meme kanseri ile ilgili çalışmalar yapmış olup görülme sıklığına değinmiştir. Sonuç olarak meme kanserinin normale göre daha fazla sıklıkta görüldüğü kanısına varmış olup sonraki zamanlarda ise nedenleri ile ilgili araştırmalar yapılmıştır (Ramazzini, 1713). Mikroskobun patolojik çalışmalarda yer almasıyla beraber kanser çalışmaları farklı bir boyut kazanmış olup, kanserin hücrelerin farklılaşmasıyla meydana geldiği gözlemlenmiştir. Ayrıca yapılan ışık mikroskobu çalışmalarında hücrelerin birbirinden farklı şekilde büyüdükleri belirlenmiştir (Virchow, 1858). Saptanan bu hücrelerin birbirinden farklı şekilde büyüme özelliği sürekli meydana getirdikleri kendi genetik materyalinin aynısını taşıyan başka hücreler

üretmesi sebebiyle gerçekleşen değişimlerden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Nowell, 1976).

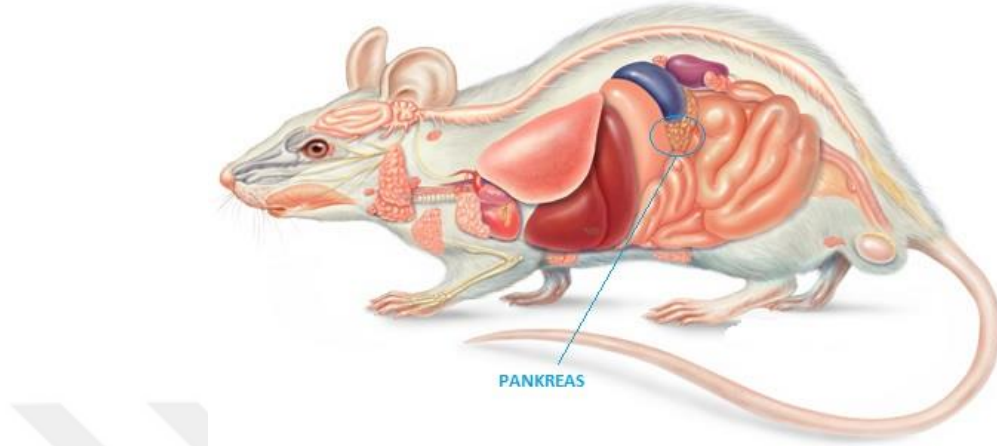
1992 yılına gelindiğinde artık kanserin sebepleri daha nitelikli araştırılmaya başlanmış olup Germ-line mutasyonlarının, kanser oluşumunu tetiklediği fakat tek başına yeterli olmadığı bir takım metabolik olaylara gereksinim duyduğu sonucuna ulaşılmıştır (Vainio ve ark., 1992).

Holland ve Frei kanseri anormal şekilde hücre bölünmesi yaşayan ve bu anormal bölünmeyi engelleyen, durduran mekanizmanın hücrenin kontrolsüz bir şekilde çoğalması olarak tanımlamakla beraber bu oluşumun buldukları yerlerde tahribata neden olarak doku ve organların çalışmasını engellediğini belirtir (Holland ve Frei, 2003). Fakat her hücre çoğalması kansere sebep olmayacağı gibi kanser; kötü huylu tümörlere verilen genel bir addır. Atrofi gibi patolojik olarak görülen hücre değişmesi ve farklılaşması bir kanser oluşumu değildir. Çünkü bu patolojik durumun meydana getirdiği atrofi; hücre içinde meydana gelen ihtiva kaybı sonucunda hücrenin küçülüp farklılaşması ile oluşur. Bu neoplastik olmayan hücrenel bir değişimdir. Bu durum ortaya neoplastik kavramını çıkartıyor. Yani benign ve malign tümörler; iyi ve kötü huylu tümör kavramları tümörün metastaz durumuna göre adlandırılmaktadır. Yayılma yapmadan bir dokuda sınırlı bir büyüme ile gelişen (primer tümör) tümörler iyi huylu, yayılma gösterip başka doku ve organlarda gelişimlerini (sekonder tümör) devam ettiren tümörlere de kötü huylu tümörler adı verilmektedir (Kumar ve ark., 2003). Malign tümör dediğimiz kötü huylu tümörler kan yolu ile yayılma (metastaz) yetenekleri nedeniyle de hastalığın seyri bakımından oldukça kötü bir tablo çizdiği görülmüştür (Croce, 2008).

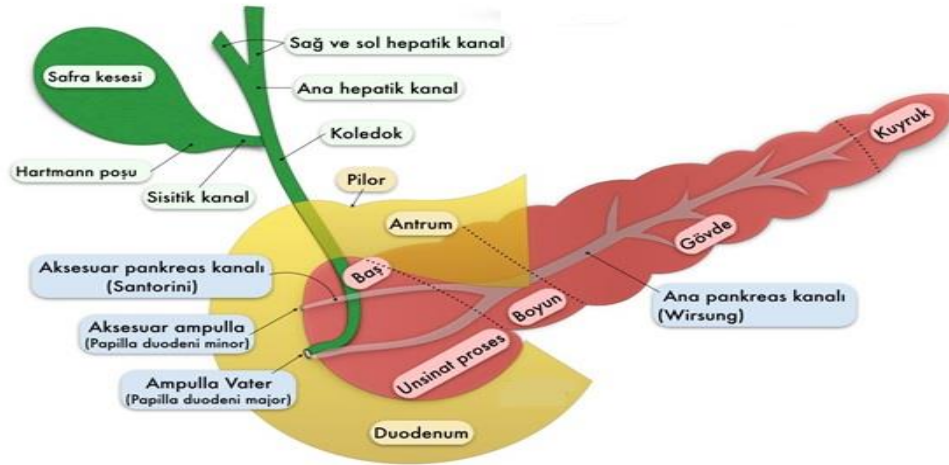
1.2 Pankreas

İnsan pankreas anatomisi incelendiğinde, insan pankreasının ortalama 15 cm uzunluğunda, 120 gr ağırlığında olduğu, karnın hemen üst kısmında yer alarak oniki parmak bağırsağı ile dalak arasında yerleşke sağlayan, peritonla örtülü bir organ olarak tanımlanmıştır (Menteş, 1976; Slack, 1995). Dört bölümden oluşan pankreas; baş, boyun, gövde ve kuyruktan meydana geldiği tespit edilmiştir (Menteş, 1976). Sıçan

pankreasına bakıldığında ise; diğer türlerde olduğu gibi yine karın boşuğunda yer aldığı ve oniki parmak bağırsağı girintisine doğru uzanmış olduğu görülmektedir.



Şekil 1.1. Pankreas ve komşu organları (Anonim 1)



Şekil 1.2. İnsan Pankreasının Anatomik Yapısı (Anonim 2)

Pankreas, pudra pembesi denilen açık pembe bir renge sahip olup çevresindeki dokunun mat ve biraz daha koyu bir renge sahip olması bakımından ayırt edilebilir özelliktedir. Görev itibariyle karbonhidrat sindirimini sağlayan başlıca enzimlerden biri olan amilazı salgıladığı gibi bir çok proteolitik enzim sentezinden de sorumlu olduğu belirlenmiştir (Junqueira ve ark., 1998). İşlevsel olarak pankreas; ekzokrin bileşenli ve endokrin bileşenli pankreas olarak ikiye ayrılmaktadır. Ekzokrin bileşen olarak

gastrointestinal sistemde sindirim enzimlerinin sentezinden sorumluyken, endokrin bileşen olarakta karbonhidrat metabolizmasını düzenleyen hormonları salgılayan Langerhans adacığı islet hücrelerinin oluşumunda görev aldığı belirlenmiştir (Omary ve ark., 2007). Bilinen 4 tip endokrin hücreleri ise; Alfa, Beta, Delta ve Pankreatik polipeptit hücreleridir. İnsülün ve Amilin salgılanmasından sorumlu Beta hücreleri iken, Glukagon'dan Alfa hücreleri, Somatostain'den Delta hücreleri, Pankreatik polipeptit'ten PP hücreleri sorumlu olduğu tespit edilmiştir (Slack, 1995). Bilinen 22 çeşit sindirim enziminin üretiminden sorumlu asinar hücreler üzüm salkımını andıran kümeleşmeleriyle ekzokrin pankreasın enzim sağlayıcısı asinileri meydana getirirken, ekzokrin kısmını oluşturan diğer bir bileşen olan kanal hücreleri ise herhangi bir protein sentez ve salgılamada görev almayıp asıl görevi su ve elektrolit salınımı yapmak olduğu belirlenmiştir (Slack, 1995).

Yapılan tüm çalışmalara bakıldığında pankreasın yaklaşık olarak %98'ini oluşturan ekzokrin bileşenleri; asinar ve kanal hücreleri iken, endokrin bileşenleri ise % 2 oranında langerhans adacık hücrelerinden meydana geldiği görülmektedir (Rovasio, 2010). Bu açıdan deneysel kanserogenez oluşturmak için azaserin-sıçan modelinin oldukça kullanışlı olduğu düşünülebilir.

1.2.1 Pankreas Kanseri ve Epidemiyolojisi

Yapılan çalışmalarda pankreatik kanser oluşumlarının çok az bir kısmının asinar hücrelerden kaynaklandığını fikrini desteklemiştir. Asinar hücrelerinin aksine ekzokrin pankreas kanserinin hemen hemen %90'ının ductual elementlerden meydana gelen kanserler olduğu ileri sürülmüştür (Cubilla ve Fitzgerald, 1975).

Yapılan bir istatistik çalışmasında, 2008 yılında Amerika'da 37.000 pankreas tanısı konulurken, bunlardan yaklaşık 34.000 'i hayatını kaybetmiştir (Jemal ve ark., 2008). Pankreas kanserinin ülkemizde gastrointestinal sistem kanserlerinin neredeyse %20' sini oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu durum pankreas kanserini mide ve kolon kanserinden sonra en önemli gastrointestinal kanser durumuna getirmiştir (Özkan ve Öztürk, 2000).

Hruban ve arkadaşlarının (Hruban ve ark., 2014), 2012 yılı WHO raporu baz alınarak yaptıkları çalışmada, pankreas kanserinin dünya genelinde görülen en yaygın

kanser türü olduğu ve bu durumun erkeklerde 12., kadınlarda 11. sırada olduğu belirtilmektedir. Bu kanser vakalarının büyük çoğunluğu avrupa ülkelerinde görülürken özellikle Kuzey Amerika, Arjantin ve Uruguay 'da yüksek insidans oranlarına sahip olduğu gözlemlenmiştir (Hruban ve ark., 2014).

Ülkemiz TÜİK verilerine göre pankreas kanseri görülme sıklığı erkeklerde 8. sırada iken kadınlarda ise ilk 10'da yer aldığı belirlenmiştir (Başara ve ark., 2013). Pankreatik karsinomalar endokrin ve ekzokrin hücrelerde gelişim gösterebilirken, endokrin hücrelerde karsinoma gelişimi ekzokrin hücrelere nazaran daha düşüktür. Endokrin hücrelerde gelişen tümörler ise; yaygın olarak adacık hücre tümörleri olarak adlandırılırken, ekzokrin tümörlerinin büyük çoğunluğu kanalsı elementlerde geliştiğinden adenokarsinom adını alır. Endokrin pankreas tümörleri pek yaygın olmamakla beraber gastrinomalar, insülinomalar, somatostatinomalar vb. şeklinde sınıflandırılabilir (Singh ve ark., 2015).

Ekzokrin parankimden kaynaklanan duktal adenokarsinoma çok sık görülen bir form olmakla beraber malign pankreatik neoplazilerin % 90'ını oluşturmakta ve bunun % 5-10'u ise adacık hücrelerinden kaynaklandığı belirlenmiştir (Braunwald ve ark.; 2004).

Pankreas kanserinin yerleşmesine bakacak olduğumuzda % 20'sinin anatomik yeri hala saptanamamakla beraber yaklaşık %57 'si pankreas başında, % 9'u gövde, % 8'i kuyrukta ve % 6'sının ise birden fazla yerde meydana geldiği belirlenmiştir (Alberts ve Grothey, 2004).

Pankreatik karsinomada önemli 3 öncü lezyon rol almaktadır. Bunların ilki pankreatik intraepitelyal neoplasm olarak bilinen (PanIN) , ikincisi intraduktal papiller musinöz kistik neoplasm (IPMN) ve bir diğeri ise musinöz kistik neoplasm olarak adlandırılan (MCN) olduğu tespit edilmiştir (Hruban ve ark., 2004).

Öncü lezyonlardan olan PanIN mikroskobik bir lezyon olmakla beraber çapı 5 mm'den küçüktür. IPMN'de ise bu çap 1 cm'ye çıkmaktadır. Bu özellikleri itibariyle ayırt edilebilir olduğu belirlenmiştir (Hruban ve ark., 2004). PanIN kendi içerisinde 3 alt gruba ayrılmış olup bunlar epitelyal atipiye göre PanIN-1 AIB, PanIN-2 ve PanIN- 3 olarak adlandırılırlar. PanIN-1 AIB; papiller ve düz tip olarak ikiye ayrılır (Wilde ve ark., 2012).

PanIN lezyonuna oranla daha büyük olan IPMN lezyonları musin üreten epitel hücrelerin papiller çoğalması ile karakterize olan makroskobik lezyonlardır. Pankreatik neoplazmlardan ekzokrin pankreatik neoplasmların % 3'ünü oluştururken kistiklerin yaklaşık % 20'sini oluşturmaktadır (Kosmahl ve ark., 2004). Morfolojik yapılarına göre ve musin antikoru ile boyamadaki farklılıklarına göre 4 alt gruba ayrılır. Bunlar sırasıyla şunlardır; gastrik, intestinal, pankreatobiliyer ve orkositik'lerdir (Kloppel ve Kosmahl, 2005). Bunlardan intestinal tip; genelde pankreasın baş kısmında pankreatik kanalın girişinde, gastrik tip; pankreatik parankimin periferinde oluşurken, pankreatobiliyer tip pankreas başı ana kanalında oluşmakta olduğu tespit edilmiştir (Ban ve ark., 2006).

IPMN'lerin bir diğer özelliği ise yaklaşık olarak %50'sinde K-ras onkogenini aktif hale getiren nokta mutasyonları gözlemlenmektedir (Schonleben ve ark., 2008).

Bir diğer lezyon olan MCN'ler genellikle pankreasın gövde ve kuyruk kısımlarında tek, multioküler veya unioküler lezyonlar olarak bulunurken ortalama boyutları 6-10 cm'dir. Musin üreten, duktal sistem ile bağlantısı olmayan ayırt edici bir stromaya sahip epitelyan neoplaziler olarak tanımlanmaktadır (Fukushima ve Fukuyama, 2007). MCN'ler farklı derece displazi göstermelerine bağlı olarak 3 gruba ayrılır. Bunlar yüksek MCN, orta MCN ve düşük MCN'dir (Zamboni ve ark., 1999).

1.2.2. Risk Faktörleri

Pankreas kanseri oluşumunda birden fazla faktör olabileceği gibi bu risk faktörlerinin çoğu direkt olarak hastalığa sebebiyet vermez. Genellikle maruziyet düzeyi ve süresi kanserin gelişiminde önemli rol oynar. Risk faktörleri belirlenirken bu kanserin tedavi seçeneklerinin kısıtlı olduğu göz önünde bulundurularak en doğru risk faktörü belirlenmesi ve bu hususta vakanın hikayesinin incelenmesi süreç için büyük önem taşımaktadır (Decker ve ark., 2010).

Risk faktörlerinin bu hastalığın dünya genelindeki gelişimi ile ilgili ilişkiler kurulmuş olup bunlar arasında en yaygın ileri yaş, Afro-Amerikan ırk, düşük sosyoekonomik durum olduğu düşünülmektedir (Lowenfels ve Maisonneuve., 2006).

Pankreas kanserinde risk faktörü ikiye ayrılmış olup bunlar; değiştirilebilir risk faktörleri ve değiştirilemez risk faktörleridir. Değiştirilebilir risk faktörünün başında tütün kullanımı gelirken bunu obezite ve mesleki kimyasal madde maruziyeti izler.

Değiştirilemez risk faktörleri ise, ileri yaş durumu, cinsiyet faktörü, ırk durumu, aile vaka öyküsü/leri, öncü hastalıklar, siroz ve kronik pankreatit'tir (American Cancer Society, 2014).

Adenokarsinoma gelişiminde en önemli etkenlerden başlıcası tütüne maruz kalma sayılabilir. Hatta sigaranın pankreatik karsinomanın gelişimini % 30 oranında etkilediği belirlenmiştir (Lowenfels ve Maisonneuve., 2006). Tütünün bu kanserojenik etkisi; yapısında bulunan ve yine kanserojen özellikte olan N-nitrozaminlerden kaynaklandığı ve bu metabolitlerin ise duodenumdan pankreas kanalı içine geri çıkış yapması ile belirlenmiştir (Harnack ve ark., 1997).

Pankreas kanser vakalarının hemen hemen % 25'i sigara kullanımına bağlı olduğu gözlemlenirken pasif içiciliğin pankreas kanseri için risk faktörü olarak görülmediği belirlenmiştir (Iodice ve ark., 2008). Alkol tüketimi veya bağımlılığı ile pankreas kanseri üzerindeki ilişki ise yapılan çalışmalarda herhangi bir korelasyon sağlamamıştır (Dusek ve ark., 2010).

Beslenmenin pankreas kanseri üzerindeki etkisi son derece önemliken bu durumun yüksek oranda hayvansal protein ve yağ içeren besinlerle beslenen bireylerde pankreas kanseri riskini yaklaşık 2,5 kat arttırdığı gözlemlenmiştir. Bitkisel kaynaklı özellikle de lifli besinlerle beslenen bireylerde pankreas kanseri riskinin düşük olduğu gözlemlenmiştir (Nkondjock ve ark., 2005). Beslenmeye bağlı olarak obezite ve pankreas kanseri ilişkisinin doğru orantılı olduğu gözlenlenmiş hatta vücut kitle indeksindeki 5 kg/m² lik bir artışın, pankreas kanseri riskini % 12 arttırdığı tespit edilmiştir (Larsson ve ark., 2007).

Mesleki kimyasal madde maruziyeti riskine baktığımızda klorlu hidrokarbonlar, formaldehid, pestisid, boya gibi kanserojen maddeler kullanan tekstil, ağır metal sanayi, haddehane vb. gibi sanayi işlerinde çalışan bireylerde pankreas kanseri görülme riski bu maddelerle çalışmayanlara göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (Alguacil ve ark., 2000; Schwartz ve ark., 2000).

Kan grupları ile pankreas kanseri ilişkisi de kurulmuş olup A, B, AB kan gruplarına sahip bireylerde risk artarken, 0 kan grubuna sahip bireylerde ise bu kanserin daha az görüldüğü saptanmıştır (Risch ve ark., 2010).

Pankreas kanser risk faktörü cinsiyete göre de değişkenlik gösterir. Genel olarak erkek bireylerde görülme oranı kadın bireylerde görülme oranından daha yüksektir.

Aynı şekilde ölüm oranı da erkeklerde daha fazladır. Amerika’ da erkeklerde bu hastalığın görülme oranı kadınlara göre % 40 iken, Japonya’da % 70 daha fazla olduğu belirlenmektedir (Lowenfels ve ark., 2004).

Risk faktörlerinden biri olan ırk durumu moleküler seviyede farklılık göstermektedir. Afro-Amerikalılarda, Kuzey Avrupa halkında, Yeni Zellanda yerlilerinde, Havai Polinezyalılarında görülme sıklığı fazla olup, Afro-Amerikan popülasyonlarında pankreas kanseri ölüm vakalarının Kafkas popülasyonuna göre 1,4 kat daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Silverman ve ark., 2003). Amerikada K-ras gen mutasyonunun beyazlara nazaran siyahilerde daha fazla olduğu görülmüştür (Pernick ve ark., 2003). Aynı şekilde Çinlilerde pankreas kanseri K-ras ve p-53 gen mutasyonları Japonlara ve Batılılara göre daha fazla olduğu gözlemlenmektedir (Dong ve ark., 2000). Asya ırkına mensup bireylere bakıldığında kanser tutumunun beyaz ve siyahilere nazaran daha ılıman olduğu belirlenmiştir. Hatta asyalı hastaların tedavi sonrası tutumlarının diğer ırklara nazaran daha iyi olduğu ve bunun nedeninin ise erken tanı olduğu saptanmıştır (Longnecker ve ark., 2000).

Pankreas kanserinin % 20’sinin ailevi bağlantısının olduğu tahmin edilmiş olup, aile bireylerindeki etkilenme oranının bu riski arttırdığı belirlenmiştir (Tersmette ve ark., 2001). Risk aile içerisindeki bireylerin sayısına bağlı olarak değişkenlik gösterirken ortalama etkilenen sayısı 3 ve üzerindeyse risk 32 kat artmaktadır (Lynch ve ark., 1989). Özellikle de BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları ailesel pankreas kanseri tanımlayıcısı olup BRCA1 gen mutasyonu, riski ortalama 2,26 kat artırırken, BRCA2 mutasyonu ise, yaklaşık olarak 3,5 ila 8 kat arttırmaktadır (Ferrone ve ark., 2009). Vaka geçmişi bilinen ailevi pankreas hastalarının % 20’sinde ve sporadik pankreas kanseri olan hastaların ise % 10’unda BRCA2 gen mutasyonu olduğu tespit edilmiştir. (Ghataorhe ve ark., 2007).

Diyabetin, pankreas kanserinin habercisi olabileceği ve ayrıca önemli bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Diyabet hastası olan bireylerde ileriki yaşlarda pankreas kanseri görülme sıklığı arttığı saptanmıştır (Everhart ve Wright, 1995). Hatta Diabetes mellitus olan bireylerde pankreas kanseri görülme riskinin hemen hemen 2 katına çıktığı belirlenmiş olup Diabetes mellitus’un pankreas kanserinin ilk uyarıcısı olduğu vurgulanmıştır (Gupta ve ark., 2006; Wang ve ark., 2006). Diyabet gibi safra taşı hastalığı ve peptik ülser hastalığının da pankreas kanseri öncüsü olduğu belirlenmiş

fakat yeterince aydınlatılamamıştır (Chow ve ark.,1999; Tascılar ve ark.; 2002). Bunun yanı sıra alerjik reaksiyon gösteren bireylerin alerjisi olmayan bireylere oranla pankreas kanser riski taşıdığı saptanmıştır. İmmünel sistemin bu kansere karşı etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamış ise de bireylerin hiperaktif bağışıklık sisteminin bir şekilde pankreas kanseri gelişimine karşı dirençli olduğu düşünülmektedir (Olson ve ark., 2010).

Alkolik, non alkolik, tropikal herediter tipleri mevcut olan kronik pankreatitin direkt olarak bir risk faktörü olduğu söylenemesede azda olsa pankreas kanseri gelişme potansiyeli taşıdığı belirlenmiştir. Alkolik ve non alkolik pankreatit tiplerinin ise diğerlerine oranla pankreas kanseri riski 10 ila 20 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Kauppinen ve ark., 1995; Lowenfels ve ark.,1997). Oluşum mekanizması tam olarak açıklanamamış olup kronik pankreatit çeşidi olan tropikal pankreatit 7q35 kromozounda defekti olan otozomal dominant geçiş gösteren bir hastalık olduğu belirlenmiştir (Lowenfels ve ark., 1997; Lowenfels, 2005).

Genetik etkenlere bakıldığında pankreas kanseri hastalarının hemen hemen % 10' unda genetik bozuklukların mevcut olduğu saptanmıştır (Rosewicz ve Wiedenmann, 1997).

1.2.3. Pankreas ve Genetik

Son yıllarda yapılan araştırmalarda pankreas kanserinin kanser bağımlı genlerde oluşan somatik mutasyonlar sonucunda meydana gelen genetik bir hastalık olduğu saptanmıştır (Koorstra ve ark., 2008).

Pankreas kanseri gelişiminde onkogenler ve tümör baskıcı genlerden kaynaklı mutasyonlar önemli rol oynar. Kromozomal değişiklikler, genomik kararsızlık gibi genetik değişikliklerde pankreas kanseri gelişiminde önemli etkenlerden olduğu belirlenmiştir (Hansel ve ark., 2003).

Tümör supressorların etkisi inaktif oldukları zaman tümör büyümesini başlatarak ortaya çıkarken, en sık inaktif olan tümör supressor gen p16 geni olup, 9'uncu kromozomun kısa kolunda bulunduğu tespit edilmiştir. Tüm pankreas kanserlerinde p16 geninde fonksiyonel bozukluklar meydana gelirken bu fonksiyonel bozukluk üretilen proteinin uygunsuz fosforilasyonunu ve buna bağlı olarak hücre siklusunun S evresine

geçişini hızlandırmaktadır. P53 geni ise 17p kromozomunda yer alır ve bu genin mutasyonu hücre siklüsünün durdurulması ile programlı hücre ölümlerinin aktivitesinden sorumludur. P53 genini fonksiyonel bozukluğu sonucunda anormal hücre büyümesi, hücre ölüm sürelerinde değişimler meydana getirmektedir. P21 geni p53 geninin represörlüğünde hücre büyümesini kontrol ederek hücre siklüsü olayında hasarlı DNA'nın onarılması için gereken süreyi S fazını duraksatarak kazanırken bu genin fonksiyonel kaybı neticesinde ise bu durumun tersine döndüğü tespit edilmiştir (Van Heek ve ark., 2002). Bir diğer tümör baskılayıcı gen olan DPC4 (SMAD4) geni 18p kromozomunda yerleşik halde yer alıp, hücre siklüsünün durdurulması gibi önemli gen transkripsiyonunda rol alan sinyallerin düzenleyici görevinde bulunurken bu gende meydana gelen mutasyonlar sonucunda kontrolsüz hücre çoğalması gözlemlenmektedir (Schutte ve ark., 1996). Pankreatik karsinomaların % 55' inde ise DPC4 geninin fonksiyonlarının yitirildiği tespit edilmiştir (Iacobuzio-Donahue ve ark., 2004). Onkogenler aktif olduklarında onkogenezi başlatan genler olduğu belirlenmiş olup nokta mutasyonları ile aktif olurlar ve genelde tüm kanser tiplerinde % 20 oranında görülen K-ras gen mutasyonu en sık nokta mutasyonuna uğrayan 12p kromozomuna yerleşmiş bir onkogen olduğu belirlenmiştir. Pankreas kanserlerinde K-ras gen mutasyonu görülme oranı % 95 olarak belirlenmiştir. Hücre yaşam süresini uzatma, programlı hücre ölümlerini kontrol etme ve hücre poliferasyonunu başlatma gibi görevi olan K-ras geni mutasyona uğradığı zaman bu olaylar kontrolsüz gerçekleşmektedir. K-ras geninde bu mutasyon genel olarak 12. Kodonda meydana geldiği tespit edilmiştir (Caldas ve ark., 1995; Van Heek ve ark., 2002). K-ras geninde meydana gelen mutasyonun bir diğer özelliği mutasyona uğrayan K-ras geni sinyal geçit alanlarını aktif edilmekte ve sinyal geçitlerinde meydana gelen bu mutasyonlar kanser gelişiminde etkili olabilmektedir. AKT/P13K geçiti ise bunlardan biridir (Carnero ve ark., 2008). K-ras mutasyonu hücre çoğalmasının yanı sıra anjiyogeneze de rol oynadığı belirlenmiştir. Bu rolü VEGF (anjiyogenezi uyaran vasküler endotelial büyüme faktörü) artışı sebebiyle yaptığı gözlenmektedir. Mutasyonun diğer aktif ettiği genler hücre çoğalması, apoptoz, hücre göçü ve hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynayan MEK ve ERK1/2' dir (McCubrey ve ark., 2007). Pankreas kanserinde rol oynayan diğer faktör ise hücrenin kendisinin yenilemesi, hücre yaşamı, metastazda etkili olan STAT3' tür (Huang ve ark., 2011). DNA hasarının belirlenmesi ve tamirinde

etkili olan genler genom koruyucu genler olarak tanımlanmaktadır. Bu genlerde meydana gelen mutasyonlar DNA hasarını belirleyemeyip tamirini tam olarak gerçekleştirememektedir. Dolayısıyla burada DNA mutasyonları gerçekleşmektedir. Bunun da tümörogenezi başlattığı tespit edilmiştir. Pankreas kanserinde önemli olduğu bilinen genom koruyucu genlerin ise hMLH1, hMSH2, FANCC, FANCG genleri olduğu tespit edilmiştir. BRCA2 geni ise tümör supressor gen özelliğinden çok genom koruyucu özelliğiyle bilinmektedir (Van Heek ve ark., 2002). Pankreas kanserinde mutasyona uğrayan bir diğer gen büyüme faktörü ve büyüme faktörü reseptörleridir. Hücre diferansiyasyonunu ve proliferasyonunu kontrol eden proteinler olarak adlandırılan büyüme faktörleri pankreas kanserinde yüksek oranda eksprese edilirken burada meydana gelen fazlalık, aksaklık veya inhibisyon kanser hücrelerinin sınırsız büyümesine sebep olur. Önemli büyüme faktörü reseptörü olarak bilinen epidermal büyüme faktörü ise; yine pankreas kanserinde aşırı eksprese olduğu belirlenmiştir. Epidermal büyüme faktörü (EGF) ve Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ifadelerindeki artış- azalış ilişkilendirilmiş ve bu faktörlerin yaşam süresi üzerindeki etkisi incelenmiştir. 4 grup altında toplanan EGF reseptörleri; EGFR1, EGFR2, EGFR3, EGFR4 olarak belirlenmiştir. Tümörijenite ile ilişkisi olduğu bilinen büyüme faktörleri ve reseptörleri ise, FGF, IGF-1, IGF-1 reseptörü, NGF' dir (Korc, 1998; Shi ve ark., 2001; Van Heek ve ark., 2002). Lineer kromozomların sonlarında yerleşik halde bulunan telomerler pankreas kanserinin gelişim evresinde anormal şekilde kısa olduğu belirlenmiştir. Kromozomal instabiliteye neden olan dedektif telomerler pankreas kanserinde sık görülmektedir (Van Heek ve ark., 2002). Çoğu zaman p53 gen işlevi sayesinde yok edilen kromozom instabilitesi olan hücreler p53 gen mutasyonuna uğradığı zaman varlığını sürdürür ve diğer gen bozukluklara neden olur. Telomer fonksiyon bozukluğu ve p53 geninin mutasyona uğraması kanserogenezin gelişimine neden olduğu belirlenmiştir (Hezel ve ark., 2006).

1.2.4. Pankreas Kanseri Patofizyolojisi

Embriyolojik olarak 3 fazda gelişen normal pankreas dokusunun birinci fazında endodermal ön bağırsaktan pankreasın sırt (dorsal) ve karın (ventral) tomurcukları gelişirken ikinci fazında endokrin ve ekzokrin hücreler olarak ayrıldığı, üçüncü ve son

fazda ise büyümesini tamamlayarak dallanma yolu ile morfogenezini oluşturduğu belirlenmiştir. Bu 3 faz sonucunda endokrin hücreler, ekzokrin asiner hücreler ve duktal hücreler olmak üzere 3 farklı hücre tipi meydana gelmekte olup bunlardan endokrin hücre Langerhans adacıklarında meydana gelirken glukoz dengesini sağladığı, ekzokrin asiner hücreler ise pankreatik kanallara sindirim proenzimlerini salgılamakla ve duktal hücreler ise bu kanalları kapatarak alkali sıvı salgılamakla görevli olduğu belirlenmiştir (Meszoely, 2001; Winter ve ark., 2006). Pankreatik intraepitelyal neoplaziler olarak adlandırılan PanIN'lerin neoplastik epitelyal proliferasyonları pankreas kanseri gelişiminin belirleyicisi olduğu tespit edilmiştir. Çapı genellikle 5 mm den küçük olan mikroskobik PanIN'ler pankreas duktuslarından gelişir ve histolojik olarak 3 sınıfa ayrılırlar. Bunlar düşük dereceli (PanIN-1), orta dereceli (PanIN-2) ve yüksek dereceli (PanIN-3) olup pankreas kanseri gelişimine etki ettiği varsayılmaktadır (Klöppel ve ark., 2007). Uzun kolumnar hücrelerden oluşan flat, mikropapiller veya papiller epitelyal minimal atipi lezyonlar, PanIN-1'in histolojik özellikleri olup; PanIN-1A ve PanIN-1NB olarak ayrıldığı belirlenmiştir. Flat epitelyal lezyonlar ve bol miktarda supranükleer musin bulunduran lezyonlar PanIN-1A olarak adlandırılırken, papiller, mikropapiller yapıda olanlar ise PanIN-1B olarak adlandırılırlar. PanIN-2 ve PanIN-3 lezyonlarına bakıldığında benzer nükleus anormalliklerine sahip olmalarına rağmen çoğunlukla papiller müsinoz epitelyal lezyonlara PanIN-2 lezyonları, genellikle papiller veya mikropapiller lezyonlar ise PanIN-3 lezyonları olarak isimlendirilirler. PanIN' de pankreas kanseri gelişimi belirli polikromozomal mutasyonlar sonucu meydana geldiği belirlenmiştir. K-ras aktivasyonu, tümör baskılayıcı genin- özellikle p16 genin- inaktivasyonu, TP53 ve SMAD4 tümör baskılayıcı genlerin mutasyona uğramaları sonucu foksiyonlarını kaybettikleri tespit edilmiştir (Prasad ve ark., 2009).

1.2.5. Pankreas Kanseri Histopatolojisi

Pankreas tümörleri malign tümörler ve benign tümörler olarak 2'ye ayrılmaktadır. Malign ve benign tümörler endokrin langerhans adacık hücrelerinden kaynaklanabileceği gibi duktal ve asiner hücrelerden oluşan ekzokrin parankimden de kaynaklanabileceği belirlenmiştir. Malign tümörler adenokarsinoma, kist karsinoma, müsinoz karsinoma olmak üzere 3'e ayrılırken; ekzokrin parankimden kaynaklanan

benign tümörler kist adenomadır. En sık görülen formu beyaz-sarı renkte, sert ve düzensiz bir şekle sahip olan pankreas duktal adenokanseri tüm pankreas kanserinin hemen hemen % 85' ini oluşturmakta olduğu tespit edilmiştir. Düzensiz kitle halinde görülen pankreas duktal adenokanserin %57'si pankreas başında, %9'u pankreas gövdesinde, %8'i kuyrukta, %20'si de tüm beze yerleşmiş halde bulunur.

Pankreas duktal adenokarsinomu müsin içeren hücrelerden oluşurken, nükleusları pleofizm, hiperkromazi, polarite kaybı ve nükleollerde belirginleşerek ayırt edilebilir özelliktedir. Vasküler, lenfotik ve perinöral dokulara yayılma özelliği gösterebilen duktal adenokarsinomlar çok sık olarak perinöral dokuda invazyonunu gösterir. Nadir olarak görülebilen diğer pankreas kanseri çeşitleri ise şunlardır; clear cell, giant cell, signet ring, adenoskuamoz ve anaplastik kanseromadır (Casciato, 2004; Winter ve ark.; 2006).

Tümörün 4 metastazik hali otopsi çalışmalarında saptanmış olup; bunların kaynakları meme, akciğer, kutanoz melanom ve non-hodkin lenfoma olduğu belirlenmiştir. Uzak organ metastazı hemen hemen pankreas kanser hastalarının %80'inde bulunurken, bunların en sık görüldüğü yerler ise; karaciğer, periton, akciğer ve plevra ile adrenal bezler olduğu tespit edilmiştir (Casciato, 2004).

1.2.6.Pankreas Kanseri Belirtileri

Tanısı kolay konulamayan kanser grubu içinde yer alan pankreas kanserinin erken evrelerinde genellikle hiçbir belirtiye rastlanmamaktadır. Pankreasın konumu ve diğer kanser belirtileriyle benzer reaksiyonlar göstermesi bu durumun başlıca nedenlerindedir. Karın boşluğunda yer alan pankreas organı bir dizi organların arkasında bulunması nedeniyle de hastalık kendini hemen gösterememektedir. İleriki evrelerde belirtileri ortaya çıkan bu hastalığın, kanserin yerine ve büyüklüğüne göre de belirtileri değişmektedir. Hastalar genellikle iştahsızlık, aşırı kilo kaybı, karın ve buna bağlı olarak sırt ağrısı, sarılık, erken doyma gibi nedenlerden şikayet etmekle beraber hastalığın ilerleyen dönemlerinde hastaların ortalama % 85'e yakını ağrıdan yakınmaktadır. Belirtilerden biri olan sarılık; hastaların % 50'sinde görülürken genellikle kaşıntı, koyu renkli idrar ile kendini göstermektedir. Bu durum hastalığın

sonraki dönemlerinde ağırlı sarılık olarak cereyan ettiği gözlemlenmiştir (Kalser ve ark., 1985; John ve ark., 1995; Özkan, 1999).

Kanserin bulunduğu lokasyona göre değişebilen şikayetlerine baktığımızda pankreasın gövde ve kuyruk kısmında meydana gelen tümör genellikle ağrı, kilo kaybı gibi şikayetlerle lanse edilmekte, pankreasın baş kısmında meydana gelen tümörler ise; kilo kaybı, sarılıkla gündeme geldiği tespit edilmiştir (Özkan, 1999; Khorana ve Fine, 2004). Pankreasın kuruk ve gövde kısmında görülen tümörlü hastaların %60'ında sırt ağrısı şikayetine rastlanmaktadır (Pai ve Spalding, 2015).

1.3 *Nigella sativa* (Çörek Otu)

Ranunculaceae (Düğünçiçeğigiller) familyasına mensup ortalama 20-30 cm boyunda, az tüylü, tek yıllık otsu bitki olan bereket tanesi olarak da bilinen ve siyah kimyon, siyah tohum *Nigella sativa* (Çörek Otu), Uzakdoğu ve ortadoğuda 1500- 2000 yılı aşkın süredir hastalıkların tedavisinde kullanılmakla beraber gıda üretiminde de kullanıldığı belirlenmiştir. Beş parçalı bir çiçeğe sahip olan *Nigella sativa*'nın renkleri oldukça gösterişli olup beyaz, koyu mavi, açık mavi renklerine sahiptirler. Kapsül içinde bulunan tohumu; ezildiğinde belirgin kokulu, acımsı lezzetli özelliklere sahiptir.

Kapsülün açılmasıyla beraber tohumun havaya teması neticesinde tohumlar siyahlaşmaktadır (Baytop, 1984; Salem, 2005;).



Şekil 1.3. *Nigella sativa* bitkisi (Anonim 3)

Ülkemizde Isparta, Antalya, Burdur, Kütahya ve Konya’ da ekimi yapılan çörek otunun anavatanı ise Doğu ve Güney Avrupa ile Doğu Akdeniz ülkeleridir (Baytop, 1999). Alternatif tıpta baharat ve gıda olmak üzere birçok alanda kullanılan *Nigella sativa*’nın Türkiye’de 12-14 türü yetiştirilmesine rağmen *Nigella damascena* ve *Nigella arvensis* türleri bu alanlarda daha fazla kullanılmakta olduğu belirlenmiştir (Seçmen ve ark., 2004). Alternatif tıpta çokça kullanılan çörek otunun hipertansiyon, romatizma, yanık, cilt hastalıkları, karaciğer, böbrek hastalıklarında, diyabet, gastrointestinal hastalıklar, astım, bronşit, diyare, dispepsi, baş ağrısı, sarılık, ateş gibi birçok hastalıkta uygulandığı belirlenmiştir (Burits ve Bucar, 2000; Randhawa ve Al-Ghamdi, 2002; Ali ve Blunden, 2003; Salem, 2005; Ramadan, 2007).

Bitkinin kimyasal bileşenlerine baktığımızda yetiştiği coğrafi bölgeye, çeşidine, iklime, hasat mevsimine göre ufak değişiklikler gösterse de ortalama tohumlarda % 36-38 oranında doymamış yağ asitlerince zengin sabit yağ, protein, saporin, alkolit, karbonhidrat ile % 2,5 civarında uçucu yağ ihtiva etmekte olduğu belirlenmiştir (Khan, 1999; Ali ve Blunden, 2003).



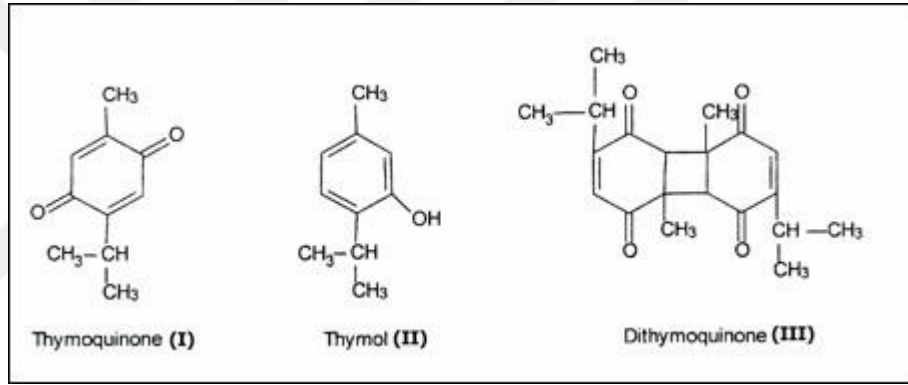
Şekil 1.4. *Nigella sativa* tohumu ve yağı (Anonim 4)

Sabit yağ bileşenleri ise; % 60 oranında linoleik asit, % 23 oleik asit, % 13 palmitik asit, % 1,2 ministik asit, % 2,9 stearik, % 1,7 eikosodienoik asit ile az miktarda araşidik asitten meydana geldiği belirlenmiştir (Nickavar ve ark., 2003; Kırılan, 2006).

1.3.1. Timokinon (TQ)

Kimyasal yapısı $C_{10}H_{10}O_2$; 2- İzopropil- 5 metil- 1,4- benzokinon olan Timokinon *Nigella sativa*'da bulunan uçucu yağın biyoaktif bileşenini oluşturur. Koyu sarı renkli kristallere sahip uçucu monoterpen kinon %1 8,4- 24 oranında 164,2 g/mol molekül ağırlığındadır (Arslan ve ark., 2005; Pari ve Sankaranarayanan, 2009; Cooper, 2010). 1963 yılında El-Dakkakhny tarafından izole edildiği bildirilmiştir. (Badary ve ark., 2003; Khader ve ark., 2009).

Yüksek basınçlı sıvı ve ince tabaka kromatografi yöntemleri ile timokinonun çörek otunun ana bileşeni olması ile birlikte timol, ditimokinon, timohidrokinon bileşiklerinden de meydana geldiği belirlenmiştir (Ghosheh ve ark., 1999; Galim Muhtasib ve ark., 2006).



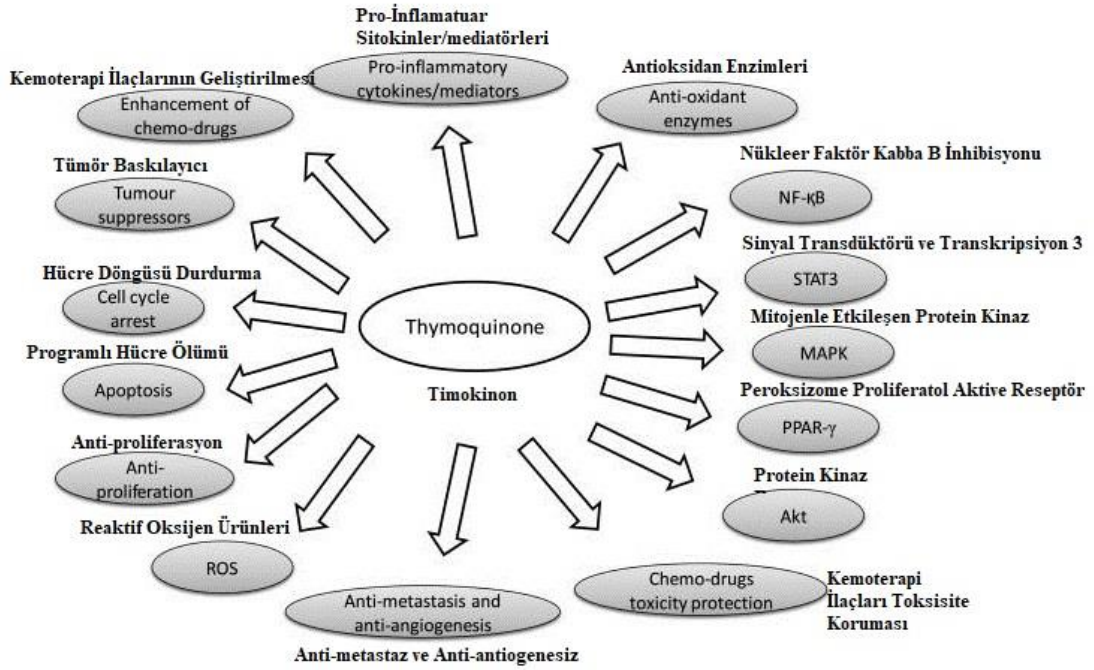
Şekil 1.5. *Nigella sativa*'nın temel bileşeni (Ragheb ve ark.; 2009).

Timokinonun fayda ilişkisine baktığımızda birçok çalışmanın ve bunların olumlu sonuçlarının olduğunu görebiliriz. Aşağıda timokinonun fayda ilişkisi yer almaktadır.

- Antioksidan etkisi (Yıldız ve ark., 2008; Bourgo ve ark., 2010)
- Antimikrobiyal etkisi (Aljabre ve ark.; 2005; Halawani, 2009)
- Antikanserojenik, Antitümöral etkisi (Kaseb ve ark., 2007; Roepke ve ark., 2007)
- Aneljezik ve Antiinflamatuvar etkisi (El- Dakkakhny ve ark., 2002; Mansour ve Tornhamre, 2004)
- Antidiyabetik etkisi (Kanter ve ark., 2009; Pari ve Sankaranarayanan, 2009)
- Antialerjik etkisi (Ragheb ve ark., 2009)

- Antihiperlipidemik ve Anti hiperkolesterolemik etkisi (Güllü ve Avcı, 2013)

Antikanserojenik etkilerine dair birçok çalışma yapılması ve bu çalışmaların sonuçları timokinonu ilgi odağı yaptığı düşünülmektedir (Badary ve ark., 1999). Antikanser ilaç olarak lanse edilmesinde hücre siklüs arresti (Gali- Muhtasib ve ark., 2008) antiproliferatik (Sayed ve Marcas, 2007) apoptotik (Worthen ve ark., 1998) aktivitesinin olabileceği düşünülmektedir (Woo ve ark., 2012). Timokinonun Pankreatik adenokarsinom (Tan ve ark., 2006), Prostat kanseri (Kaseb ve ark., 2007), Meme kanseri (Shoieb ve ark., 2003) üzerine çalışmaları yürütülmüş ve timokinonun kanserli hücrelerin inhibisyonuna neden olduğu gözlemlenmiş olup sağlıklı hücrelerde ise minimal seviyede toksik etkiye neden olduğu belirlenmiştir (Al-Ali ve ark., 2008).



Şekil 1.6. Timokinon Etki Mekanizmaları (Woo ve ark., 2012)

1.3.2 Antioksidan Etkisi

Kanser ve kardiyovasküler gibi hastalıkların kökeni oksidatif hasarlara dayanmakta olup, oksidasyona neden olan serbest radikaller elektronlarının kararsız bir yapıya sahip olmasıyla meydana gelmektedir (Salem, 2005). *In vitro* ve *In vivo* olarak

yürütülen çalışmalarda timokinonun serbest radikallere karşı savaştığı ve elzem derece antioksidan özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Burits ve Bucar, 2000; Gündüz ve ark., 2002). Özellikle bu serbest radikallerden hidroksil ve süperoksit radikallere karşı gösterdiği tutum ,timokinonun antioksidan etkisini belirginleştirmiştir (Badary ve ark., 2003). Bu etkiyi 5- hidroksieikozotetraeroik asit ve 5- lipoksijeraz üretimini yok ederek gerçekleştirdiği belirlenmiştir (El- Dakkakhny ve ark., 2002). Bunun yanı sıra DOX ile indüklenmiş nefropatiyi baskıladığı, lipid peroksidasyonuna engel olduğu bir başka çalışmada belirlenmiştir (Badary ve ark., 2000). Houghton ve ark. tarafından 1995 yılında yapılan çalışmada lizozomlarda bulunan enzimatik olmayan lipid peroksidasyonunu yok ettiği gözlemlenmiştir (Houghton ve ark., 1995).

1.3.3 Antimikrobiyal Etkisi

Timokinonun antibakteriyel etkisi *S. Aureus* bakterileri üzerinde çalışılmış, timokinonun bu bakteriye karşı yüksek derecede duyarlılığı olduğu gözlemlenerek 3 µg/ml dozun bakteriyostatik, 6 µg/ml dozun bakterisit olduğu belirlenmiştir (Halawani, 2009).

E. coli üzerinde yapılan araştırmalarda ise; kloromfenikol kullanılarak antibakteriyel etki gözlemlenmiştir. Araştırma sonucunda *Nigella sativa*'nın *E.coli* üzerinde antibakteriyel etkisinin timokinondan kaynaklandığı belirlenmiştir (Bourgou ve ark., 2010).

Timokinonun antifungal çalışmalara da konu olmuştur. Sonuç olarak eter ekstresinin aktivitesi araştırılmış ve çalışmalar yapılmış, deri matar enfeksiyonlarına karşı etkili bir bitkisel anti dermatofit bir ilaç olduğu belirlenmiştir (Aljabre ve ark., 2005). Şistozomiyazis enjekte edilen fareler üzerinde yapılan incelemelerde ise Timokinonun kromozomal bozukluklara karşı etkili bir koruyucu madde olduğu belirlenmiştir (Aboul-Ela, 2002).

1.3.4 Anti-İnflamatuar Etkisi

Yapılan çalışmalarda *Nigella sativa* yağının antiinflamatuvar etkileri gözlemlenmiş olup, özellikle timokinonun ağrılı evrelerin erken ve geç safhalarında etkili olması ve

ağrıyı indüklediği belirlenmiştir (Mutabagani ve El-Mahdi, 1997; Abdel- Fattah ve ark., 2000). Siklooksijeraz ve lipooksijeraz enzimleri tarafından düzenlenen inflamasyonun, siklooksijeraz yolunda prostoglandinler sentezlenirken, lipooksijenaz yolunda lökotrienler sentezlenir. Alerji ve inflamasyonun aracılığı olarak görev yapan bu maddeler timokinonun bu yolları inhibe etmesiyle antiinflamatuvar etkisini göstermekte olduğu tespit edilmiştir (Mansour, 2000; El-Mezayen ve ark., 2006).

1.3.5 Antitümöral ve Antikanserojenik Etkisi

Nigella sativa ile yapılan *In vivo* ve *In vitro* çalışmalar sonucunda *Nigella sativa* tohumlarının gerek aktif bileşenlerinin gerekse uçucu yağının antitümör etkiye sahip olduğu belirlenmiş fakat uçucu yağ üzerindeki çalışmalarda bazı sitotoksik etkiler gözlemlenmiştir (Ali ve Blunden, 2003; Salem, 2005). Kanserli hücredeki hücresel döngüde önemli olan apoptozisi sağlayan maddenin antiproliferatif özelliğe sahip olan *Nigella sativa*' nin en önemli biyoreaktif bileşeni olan Timokinon olduğu saptanmış ve potansiyel bir kemoterapötik olduğu belirlenmiştir (El-Mahdy ve ark., 2005).

Bir başka çalışmada timokinonun hepatoselüler karsinom tedavisi için olumlu bir antikanser bileşiği olduğu belirlenmiştir. Tümör anjiyogenezisini ve tümör büyümesini yok ederek kanser tedavisi için umut verici bir ilaç olarak kabul edilen timokinon; bunu hücre göçünü, invazyonunu, proliferasyonunu ve tüp şekillenmesini yok ederek yaptığı belirlenmiştir (Yi ve ark., 2008). Antiapoptotik genleri azaltarak kanserli pankreas hücrelerinin ölümünü sağlayan ve antitümöral ilaçlarla Timokinonun birlikte kullanılmasının ise büyüme inhibasyonunu sağladığı belirlenmiştir (Banerjee, 2009).

1.3.6 *In vitro* Araştırmaları

Nigella sativa tohumlarındaki etken maddenin antitümör etkileri incelenmiş birçok farklı hücre hattında antikanser etkisi incelenirken inatçı hücrelerde sitotoksikite gözlemlenmiştir (Worthen ve ark., 1997). Sitotoksikite görülen hücre hatları ise; Osteosarkoma (COS31), cisplatine karşı dirençli Osteosarkoma (COS31/ rCDDP), Meme kanseri (MCF-7), Over kanseri (MDCK) olup timokinon uygulanan COS31 hücreleri 6 saat sonra incelendiğinde hücrelerin apoptoza uğradığı ve bunu timokinonun

hücre döngüsündeki S1 evresini inhibe ederek gerçekleştirdiği belirlenmiştir (Shoeib ve ark., 2003). Sitotoksik etki görülen bir diğer hücrenin ise, HepG2 hücreleri denilen karaciğer kanseri hücreleri olduğu tespit edilmiştir (Rooney ve Ryan, 2005). Prostat kanseri üzerinde timokinonun etkisine bakıldığında LNCaP, DU145, PC-3 tip hücre hatlarında yapılan çalışmalar sonucunda timokinonun DNA sentezini durdurup kanserli hücrelerin canlılığını azalttığı ve buna karşın sağlıklı prostat epitel hücrelerine herhangi bir zarar vermediği belirlenmiştir. Hücre canlılığını kontrol eden bir proteinin E2F1 isimli hücre proliferasyonunu baskılayarak kanserli hücrelerin canlılığını azalttığı moleküler anlamda tespit edilmiştir (Kaseb ve ark., 2007). Kolon kanseri hücrelerini p53'e bağlı bir şekilde apoptoza götüren timokinonun, CHEK1 denilen DNA'ya zarar veren bu ajanı, p53 ile ters ekspresyonunu sağlayarak bu şekilde inaktivite edip hücrenin apoptoza uğramasını sağladığı belirlenmiştir (Gali- Muhtasib ve ark., 2008). HUVEC hücrelerinde hücre göçünü inhibe ederek anjiogenez özelliği gösteren timokinonun, aynı zamanda AKT yolunu baskılayarak anti- proliferatif etkisi olduğu belirlenmiştir. Fosforilasyonunu inhibe edip mitokondri üzerinde apoptoza gittiği ve bunun timokinonun anti-proliferatif etkisinden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Akut lenfoblastik lösemi çalışmalarında da timokinonun anti- proliferatif etkisi gözlemlenmiş olup aynı şekilde mitokondri aracılığıyla hücrelerin apoptoza uğradığı tespit edilmiştir (Yi ve ark., 2008; Salim ve ark.; 2013). Kolon kanserinde ise p53'ün varlığı oldukça önemli olduğu gözlemlenmiş olup, P21'in aktive olup hücrelerin proliferasyonunu durdurup apoptoza uğraması yalnızca p53'ün varlığı ile mümkün olduğu tespit edilmiştir (Wirries ve ark., 2010). MCF7 meme kanseri üzerinde yapılan çalışma bize timokinonun östrojen metabolik ve interferon aktivitesini arttırıp hücrenin apoptozunu sağladığı belirlenmiştir (Motaghd ve ark.; 2014).

1.3.7 *In vivo* Araştırmaları

Benzopiren verilerek ön midesinde tümör oluşturulan farelere 1 ml'de 100 mg olacak şekilde timokinon suya katılarak verilmiş ve tümörün % 70 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Karaciğer enzim aktivitesinin artması ise, bir diğer olumlu bulgudur. Bu durum bize timokinonun bazı enzimlerle ilişkili olduğunu göstermiş olup bir başka çalışmada ise farelerde oluşturulan fibrosarkomaların timokinon etkisiyle yaklaşık % 34

oranında küçüldüğü ve farelerde tümör görülme oranını oldukça düşürdüğü belirlenmiştir (Badary ve ark., 1998; 2001). Yine başka bir fare deneyinde farelerin akciğer kanseri olması sağlanmış ve daha sonra timokinon uygulaması yapılan fareler incelenmeye alınmış sonuç olarak timokinonun kemoterapi ilacı olan cisplatin ile birlikte uygulandığı zaman % 79'a kadar tümörün büyüklüğünü azalttığı tespit edilmiştir (Jafri ve ark., 2010).

familyal adenomatöz polipozis oluşturulan farelere timokinonun; 12 hafta boyunca farklı dozlarda uygulanması sağlanmış, 12 hafta sonunda bağırsak dokusu incelenmeye alındığında, poliplerin büyüklüğünde önemli derecede azalma olduğu gözlemlenmiş, sağlıklı dokulara zarar vermeden hastalıklı dokuda apoptozu sağladığı belirlenmiştir (Lang ve ark., 2013).

ROS üretimi ile p538'in fosforile olması ve bu şekilde p38- MAPK yolağının hücrelerin apoptoza uğraması yine başka bir çalışmada timokinon uygulaması sonucu ortaya çıkmıştır. Bu durum, timokinonun kanser tedavisinde potansiyel bir antikanser ilacı olduğu varsayımı gündeme getirmiştir (Woo ve ark., 2013).

1.4 Azaserin

Streomyces spp. mantar kültüründen izole edilip, anti-metabolik özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Ames *Salmonella thyphimurium* testinde mutajenik özelliği tespit edilen azaserin (o- diazoasetil- L- serin), birçok tümör ve mikroorganizmaları inhibe edici etkiye sahip mikotik bir toksin olduğu belirlenmiştir (Longnecker, 1984).

Azaserin; hücre ölümüne neden olan iki mekanizmaya sahip olup, bunlar nükleik asit biyosentezi inhibisyonu ile amino asit biyosentezi inhibisyonudur. Organizmadan organizmaya göre farklılık gösteren inhibisyon etkisi, daha çok nükleik asit sentez aşamasında görüldüğü belirlenmiştir (Gots ve Gollub, 1956). Azaserinin, *de nova* pürin sentezinin inhibisyonuna neden olan bir glutamin analogu olduğu belirlenmiş olup, bu inhibisyonun hücrelerin nükleotid miktarını azalttığı ve buna bağlı olarak DNA onarım mekanizmasını azalttığı belirlenmiştir (Lilja ve ark., 1977). Başka bir çalışmada glutamin aminotransferazların farklı gruplarının inhibisyonuna neden olan maddenin azaserin olduğu belirlenmiştir (Lyons ve ark., 1990). Azaserin ile glutaminin yapısal benzerliği belirlenmiş olup, azaserinin glutamin gerektiren sentez

reaksiyonlarında bu reaksiyonları hızlıca inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu inhibisyon işlemi enzimlerin aktif kısımlarındaki elektronca zengin bölümlerine bağlanarak ve glutamine kovalent olarak bağlanarak gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. Netice olarak enzimler görevini yapamaz hale gelmektedir. Azaserinin GGT enzimlerini bloke ettiği belirlenmiş olup azaserinin di azo grubu ile enzimintiol grubu kovalent bağ kurarak inhibisyon etkisi oluşturduğu belirlenmiştir (Aaronson, 1959).

Azaserin, hücrelerin DNA'sında pürin ve pürimidin bazlarının alkilasyonuna neden olup hasar verdiği; alkilenen bazların ise, endonükleaz veya glikozidaz enzimleriyle ortamdan uzaklaştırıldığı belirlenmiştir (Lilja ve ark., 1977). Azaserinin DNA'ya etki ederek hasar oluşturmasının nedeninin, azaserinin insan eritrositlerinde sistein transportuna etki edip, azaserin- sistein değişim mekanizmalarını kullanıp hücre içine girdiği ve burada azaserinin birikmesi ile oluştuğu belirlenmiştir (Yıldız ve ark., 2010).

Pankreasın asinar hücrelerinin granüllü endoplazmik retikulumuna etki eden azaserin, endoplazmik retikulum sisternalarında değişime, deformasyona, fokal bozulmalara neden olduğu tespit edilmiştir. Endoplazmik retikulum sisternasındaki yapısal değişimler; halka formasyonu, siterna açıklığında meydana gelen genişlemeler ve bu sisternaların parçalanması sonucu ortaya çıkan çok sayıda yuvarlak vezikül oluşumu olarak belirlenmiştir (Lilja ve ark., 1977). Azaserinin DNA üzerinde bıraktığı hasarlardan biri de DNA sentezinde aktif rol oynayan bazı enzimlerin içerdikleri -SH gruplarına bağlanıp aktivitelerini yok etmesi olarak tespit edilmiştir (Smith ve ark., 1983). Roebuck ve ark. 1981'de yaptıkları çalışmada vücut ağırlıkları göz önünde bulundurularak 7 haftalık sıçanlara 30 mg/ kg tek doz azaserin verdikten sonra deney sonucunda asidofilik ve bazofilik odakların oluşabileceğini göstermişlerdir (Roebuck ve ark., 1981). Günümüzde halen kullanılmakta olan Azaserin- sıçan modelini ilk kullanan Longnecker ve Curphey'e (1975) göre azaserinin etki derecesinin sıçan ömrüyle orantılı olduğu düşünülmektedir. İki (2) haftalık sıçanlara belirli oranlarda ve tekrarlanan dozajlarda i.p. enjeksiyonuyla azaserin uygulanmış ve sonuç olarak erken dönemde sıçanların ekzokrin pankreaslarının asinar hücrelerinde neoplastik değişimlerin olduğu gözlemlenmiştir (Longnecker ve Curphey, 1975). Bu neoplastik değişimler farklı histolojik özellik göstermekle beraber genellikle yayılmayı da akciğer, karaciğer ve lenf nodüllerine doğru yaptıkları belirlenmiştir (Longnecker ve

ark., 1981). Azaserinin 60 mg/kg'lık dozajının deri altına uygulanması neticesinde asinar hücrelerde atipik asinar hücre odakları, nodüller, adenomaları oluşturduğu belirlenmiştir (Longnecker ve ark., 1975; Daly ve ark.; 1991). Azaserinin en çok etkilediği organların başında pankreas geldiği bilinmektedir. Buna dair yapılan deneysel çalışmada 6 ay boyunca haftada 1- 2 kez 5 mg/kg dozaj azaserin uygulaması yapılan sıçanlar gözlemlenmiş; 2 yıl sonunda sıçanlarda % 43 oranında pankreas kanseri, % 27 oranında renal tümör, % 5 oranında hepatoma görüldüğü belirlenmiştir (Lilja ve ark., 1977). Yapılan bir diğer araştırmada azaserin etkisinin cinsiyete göre de değişebileceği belirlenmiş erkek sıçanlarda, dişi sıçanlara oranla daha fazla tümör oluştuğu tespit edilmiştir. Ayrıca pankreas kanseri oluşumunda erkek sıçanlarda daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir (Longnecker ve ark., 1981; Lhoste ve ark., 1987). Azaserinin ekzokrin pankreas asinar hücrelerindeki etksi birçok çalışmaya konu olmuş, benzer atipik asinar hücre odaklarının varlığı üzerinde çalışmalar yapılmıştır (Yıldız ve ark., 2012; 2013; 2019).

Azaserin inhibisyon yeteneğini engelleyen amino asitlerin varlığı belirlenmiş olup, bunlar; arginin, glutamik asit, glutamin aminoasitleridir. Bu aminoasitler içinde en etkili olanı arginin olup bunu glutamin aminoasitinin takip ettiği belirlenmiştir (Aaronson, 1959).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Öztürk ve ark. (2018)'de yaptıkları çalışmada tiroid kanser hücreleri üzerinde timokinon tedavisi uygulanarak timokinonun telomeraz aktivitesi, apoptoz, anjiyogenez üzerindeki olup olmadığı amaçlanmış olup yapılan deneysel faaliyetlerde TCC'lerde (tiroid kanseri hücreleri) üzerinde timokinon ve GEN (genistein) birlikte uygulanmıştır. Bu uygulamayla insan telomeraz ters transkriptaz ve vasküler endotelial büyüme faktörü-A'nın azaldığı gözlemlenerek timokinon ve GEN'in TCC'lere karşı iyi bir bitkisel kemoterapötik olduğu saptanmıştır (Öztürk ve ark., 2018).

Feng ve ark. (2017)'de yaptıkları çalışmada timokinonun mide kanseri üzerindeki etkisi incelenmiş olup, mide kanseri hücreleri (MGC80-3 ve SGC-7901) ve normal olan (GES-1) hücrelerinde antikanser etkisi değerlendirmeye alınarak uygulanmıştır. Timokinonun MGC80-3 ve SGC-7901 hücreleri üzerinde önemli derecede inhibasyon etkisi görülmüş bununla birlikte GES-1 hücrelerine karşı daha düşük sitotoksikite gözlemlenmiş olup timokinonun mide kanseri tedavisinde iyi bir ajan olduğu kanısına varılmıştır (Feng ve ark., 2017).

Wu ve arkadaşları (2011)'de yaptıkları çalışmada timokinonun *In vitro* ve *In vivo* olarak pankreas kanseri üzerindeki anti metastatik etkisini incelemek amacıyla Western blot analizi yapılarak timokinonun Panc-1 (özellikle NF-kappaB ve MMP-9 için) hücrelerinin istilası üzerindeki indükleyici etkisine bakılmıştır. Bunun için insan pankreastümörü dokusu deneysel olarak meydana getirilen pankreas kanserli farelerin pankreatik duvar içine histolojik olarak aynı bölgeye yerleştirilmiş olup timokinon uygulaması kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır. Yapılan incelemede Panc-1 hücreleri üzerinde timokinonun indükleyici etkisi gözlemlenerek antimetastatik madde olarak kullanılabilmesi belirlenmiştir (Wu ZH ve ark., 2011).

Denghani ve ark., 2015'te yaptıkları çalışmada insan göğüs adenokarsinomasında timokinon ve nanotimokinonun antikanser etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada Denghani ve ark., timokinonun etki alanını geliştirmek amacıyla nanojel, nanopartikül yaklaşımı geliştirmiş olup timokinonları nanojeller içine yükleyerek hazırlanan bu nano parçacıkların yüzey morfolojilerini ise SEM VE TEM kullanarak incelemişlerdir. İncelenen göğüs adenokarsinomasında özellikle MCF7 hücrelerinin çoğalmasının durduğu ve inhibe edildiği gözlemlenmiştir. Yapılan çalışma neticesinde timokinon ve

nanotimokinonun göğüs adenokarsinoması üzerinde anlamlı etki etkiği belirlenmiş olup timokinon yüklü nano parçacıkların ise timokinon çözeltisine göre daha etkili olduğu saptanmıştır (Denghani ve ark., 2015).

Relles ve ark. (2016)'da yaptıkları çalışmada pnakreatik duktal adenokarsinom (PDAC) üzerinde tinokinonun antineoplastik etkisi incelenmiştir. İnsan PDAC'ının ASPCA-1 ve MiaPaca-2 hücre çizgilerinde timokinonun HDAC ekspresyonunu indükleyici etkisi gözlemlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda timokinonun iyi bir antineoplastik ajan olduğu belirlenmiştir (Relles ve ark., 2016).

Banerjee ve ark. (2010)'da yaptıkları çalışmada yüksek molekül ağırlıklı musin glikoproteini 4(MUC4) pankreas kanseri üzerinde önemli bir işlevde olduğunu belirtmiş ve normal pankreasta kanal sayısı ekspresyonunun bulunmaması nedeniyle bu durumun kanser kemoterapötikleri için ilgi odağı olduğu vurgulanmıştır. *Nigella sativa* tohumlarından elde edilen ve önemli bir biyoaktif bileşen olan timokinonun pankreas kanseri ve özellikle MUC4 glikoproteini üzerindeki etkisi incelenmek üzere deneysel çalışmalar yapılmıştır. Timokinon, MUC4 eksprese eden pankreas kanseri hücreleri FG/Colo357 ve CD18/HPAF üzerinde *In vitro* olarak deneyler yapılmıştır. Timokinonun MUC4 üzerinde NH(2) terminal kinaz ve p38 mitojen ile aktive edilmiş proteinkinaz yolunun aktivasyonu ile pankreas kanseri hücrelerinde apoptoza neden olarak mükemmel bir antineoplastik özellik gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda MUC4 ifadesindeki azalma pankreas kanser hücrelerinin göçünü azalttığı saptanmıştır (Banerjee ve ark., 2010).

Banerjee ve ark. (2009)'da yaptığı çalışmada pankreas kanseri üzerinde ortotopik bir model kullanarak geleneksel kemoterapötik ajanlara kemo timokinonun etkisini incelemek istemiş ve bunun içinde *In vitro* ve *In vivo* çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bu çalışma için Gemsitabin ve Oksaliplatin *In vitro* olarak deneylerde kullanılarak etkisi incelenmiş olup ardından *In vivo* olarak timokinon uygulanmıştır. 35. günde pankreas düzgünce kesilip dokunun bir bölümü formalinle fikse edilip diğer kısmı sıvı azot içerisinde dondurularak daha sonradan tekrardan incelemeye alınmıştır. Sonuç olarak gemsitabin ve/ veya oksaliplatinin tek başına veya birlikte kullanıldığı zaman göstermiş olduğu % 15- 20'lik kanser inhibisyon etkisini timokinonun % 60-80'a çıkardığı tespit edilmiştir. Elde edilen veriler aynı zamanda gemsitabin ve/veya oksaliplatin uygulaması hemen ardından timokinon ile işleme tabi tutulan hayvan

tümörlerinde spesifik bir faktör olan NK- KB'nin inaktif olduğunu göstermiştir (Banerjee ve ark., 2009).

Pandita ve ark. (2014)'te yaptıkları çalışmada kanser tedavisi üzerinde daha önceden de olumlu etkisi olan Gemsitabinin klinik olarak doğrulanmış bir diyet ilacı bileşiği ile birleştirilip etkisini arttırmak için timokinon uygulanarak etkisilerini incelemiştir. İncelemeler sonucunda kanser hücre metabolizmasında önemli bir hedef olan Piruvat kinaz (PK) M2 izoformu'nun GCB ile kombinasyon halinde olan timokinon varlığında aşağı regülasyon gösterdiği saptamıştır. Bu nedenle hücre proliferasyonunu inhibe etmek, apoptozu indüklemek ve PKM2'nin ekspresyonunu aşağı regüle etmek için GCB ile kombinasyon halinde timokinonun kullanılması gerektiği belirlemiştir (Pandita ve ark., 2014).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmanın etik kurallara uygunluğu, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Deneysel Hayvanlar Yerel Etik Kurulu tarafından 10.06.2013 tarih ve 01 sayılı karar ile onaylanmıştır.

Bu çalışmada ekzokrin pankreastaki, asinar hücrelerde deneysel olarak meydana getirilen neoplastik değişimlerin incelenmesi amacıyla Longnecker ve Curphey (1975) tarafından geliştirilen ve uygulanan azaserin-sıçan modeli kullanılmıştır.

Araştırmada 2 haftalık 50 adet erkek Wistar Albino sıçanlar kullanılmıştır. Deneysel hayvanları özel sıçan kafesleri içerisinde ortalama 22°C oda sıcaklığı ve 12 saat ışık/karanlık olmak üzere aydınlatılan ortamda ve standart ticari sıçan pelet yemi ile *ad libitum* beslenmişlerdir. Önerilerinde daima yem ve su bulundurulmuştur. Tesadüfi örnekleme ile gruplara ayrılmışlardır. Üç haftalık erkek sıçanlarda pankreatik kanserogenezi oluşumu için, haftada bir kez olmak üzere toplam üç hafta boyunca karın boşluğundan (intra peritoneal) azaserin enjeksiyonu (30 mg/kg vücut ağırlığı) yapılmıştır.

20 haftalık deney süreleri sonunda ketamin- ksilazin anestezisi altında sakrifikasyonu yapılarak histolojik çalışmalar için sıçanların pankreasları bir bütün halinde elde edilmiştir. Elde edilen pankreaslar % 10'luk formol çözelti içerisinde alınıp rutin histolojik doku takibinin ardından Hematoksilen ve Eosin boyama işlemleri uygulanmıştır. Deneyde kullanılan sıçan pankreaslarının her bir mm²'sinde ve herbir mm³'ünde bulunan fokus veya nodül sayısı, her bir preparattaki fokus veya tümör sayısı ve buna bağlı olarak her pankreasta bulunan fokus veya nodüllerin % hacmi, fokusların veya nodüllerin ortalama çapları (mm), fokus veya nodüllerin ortalama büyüklüklerini (mm³) hesaplayabilmek mümkündür. Çalışma neticesinde her bir hayvanın pankreasında bulunan muhtemel tümör yükü hesaplanmıştır.

Longnecker (1984) tarafından belirlenen kriterlere göre büyüklükleri ve histolojik değişimleri esas alınarak pankreas odakları sırasıyla, atipik asinar hücre odakları, atipik hücre nodülü, asinar hücre adenoması ve asinar hücre karsinoması olarak sınıflandırıldı. Her deney grubu verilerinden elde edilecek histolojik preparatlardaki tümör yükü değerleri ve bu tümörlerin histopatolojik özellikleri histopatolojik değerlendirmeye tabi tutuldu. Benzeri birçok çalışmada kullanılan VOLUGEN paket programı ile ölçülen atipik asinar hücre odaklarının, tümörlerinin ve adenomaların üç boyutlu yapılarını esas alarak bir preparatta bulunan yaklaşık toplam tümör yükünün hesaplanması mümkün görünmektedir. Buna göre, deneyde kullanılan sıçanların sayısına göre ortalama her pankreasın her bir mm^2 'sinde, her bir mm^3 'ünde bulunan odak sayısı, her bir preparattaki odak sayısı ve buna bağlı olarak her pankreasta bulunan odak % hacmi, odakların ortalama çapları (mm), odak ortalama büyüklüklerini (mm^3) hesaplayabilmek mümkündür. Çalışma neticesinde her bir pankreasta bulunan muhtemel tümör yükü bu program kullanılarak hesaplanmıştır.

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada, ağırlıkları 12-15 gr arasında değişen 14 günlük 50 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, her grupta 10 adet olmak üzere 5 farklı gruba ayrıldı. Ayrı ayrı kafeslerde gruplar halinde bulunan hayvanlar, standart pellet sıçan yemi ve su ile *ad libitum* olarak beslendi. Biyolojik ritimlerinin düzenli olabilmesi için 12 saat yapay ışık ve 12 saat karanlık uygulandı.

3.2. Yöntem

Deneylerde kullanılan deney hayvanları aşağıdaki şekilde gruplara ayrılmıştır;

Knt (Grup 1): Sadece standart diyet ile beslenmiş kontrol grubu (Grup 1) (n=10)

Tim (Grup 2): Standart diyet ile beslenmiş ve içme sularına 12. haftadan itibaren timokinon (50 mg/ kg vücut ağırlığı) ilave edilecek olan grup (Grup 2) (n=10)

Az (Grup 3): Azaserin enjekte edilip standart yem ile beslenen grup (Grup 2) (n=10)

AzTim1 (Grup 4): Azaserin enjekte edilip içme sularına 6. haftadan itibaren timokinon (50 mg/ kg vücut ağırlığı) ilave edilecek olan grup (Grup 3) (n=10)

AzTim2 (Grup 5): Azaserin enjekte edilip içme sularına 12. haftadan itibaren timokinon (50 mg/ kg vücut ağırlığı) ilave edilecek olan grup (Grup 4) (n=10)

Kontrol grubuna (Knt- Grup 1) intra peritoneal (i.p.) olarak sadece % 0,9'luk NaCl çözeltisi verilirken, üçüncü (Az- Grup 3) dördüncü (AzTim1- Grup4) ve beşinci gruba (AzTim2- Grup5) % 0,9'luk NaCl çözeltisi içerisinde çözünmüş azaserinin, üç hafta boyunca haftada tek doz i.p. enjeksiyonları yapılmıştır. Enjeksiyonlar 30 mg/kg vücut ağırlığı esas alınarak yapıldı. 4. Grubun (AzTim1) sıçanlarının içme sularına 6. haftadan itibaren, 2. ve 5. grup sıçanların (AzTim2 ve Tim) içme sularına ise 12. haftadan itibaren timokinon (50 mg/ kg) karıştırılarak hayvanlar tarafından alınmaları sağlanmıştır. Deney hayvanlarına verilmek üzere günlük hazırlanan timokinon miktarı önce sıcak suda eppendorf tüp içinde iyice çalkalandıktan sonra, ılıtılmış rat içme suyuna ilave edilerek timokinonun homojen karışması sağlanmıştır. Tüm gruplar için deney süresi 20 hafta olarak belirlenmiş ve uygulanmıştır.

3.2.1. Doku örneklerinin alınması ve değerlendirilmesi

Deney süresince (20 hafta) standart yem ile beslenen sıçanlar deney sonunda ketamin-ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildiler. Abdominal diseksiyon ile pankreasları bir bütün olarak çıkarıldı. Emici bir kağıt üzerine yayılan pankreasın suyu alındıktan sonra sıçanların her birinin ayrı ayrı pankreasları tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Pankreaslar %10'luk formol içerisinde 24 saat süreyle tutularak tespit edildi. Genel doku takibinden sonra dokular yumuşak parafinde bloklandılar ve hazırlanan bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitlere hematoxylin ve eozin boyası uygulandı. Hazırlanan preparatlar, Olympus marka BX-51 model araştırma mikroskobu ile incelendi ve Olympus C-7070 model fotoğraf makinesi ile gerekli görülen bölgelerin fotoğrafları çekildi.

3.2.2. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada Student- Newman- Keuls Multiple Comparasion istatistiksel analiz (ANOVA) yöntemi uygulanmıştır (ProStat versiyon 5.04 for Windows). Testler, istatistiksel bilgi yöntemine dayalı olarak yürütülmüştür. Tüm testler onlu örneklerle uygulanmıştır. Deney sonuçlarının aritmetik ortalaması ve \pm standart sapması alınarak verilmiştir ve $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

Pankreastaki atipik asinar hücre odaklarının özelliklerinin (mm^2 'ye düşen AAHF, mm^3 'e düşen AAHF, ortalama odak çapı, ortalama odak hacmi ve AAHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne % oranı) saptanması amacıyla matematiksel bir formül uygulanmış olup (PTSDC; Planar To Spatial Data Converter by Anthony FLAKS, 1988) elde edilen değerler Çizelge 4.2' de gösterilmiştir.

3.2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Azaserin

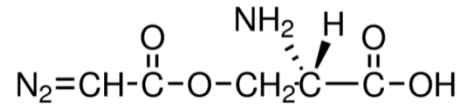
Sinonimleri: O-Diazoacetyl-L-serine

Kimyasal formülü: $\text{C}_5\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_4$

CAS No.: 115-02-6

Ticari Adı: Azaserine

Açık formülü:



Timokinon (Thymoquinone)

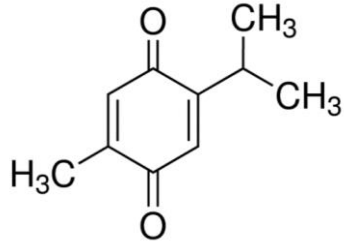
Sinonimleri: 2-Isopropyl-5-methyl-1,4-benzoquinone

Kimyasal formülü: $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$

CAS No. : 490-91-5

Ticari Adı: Timokinon

Açık formülü:



3.2.4. Mikroskop

Çalışma sonucunda elde edilen preparatlar, koordinat cetveli ve immersiyon objektifi olan OLYMPUS marka, BX51 model ışık mikroskobu ile incelenmiştir.

Fotoğraf çekme işlemi OLYMPUS marka BX-51 model ışık mikroskobunda, olympus C-7070 model fotoğraf makinesi ile yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Araştırma Bulguları

4.1.1. Sıçan Pankreaslarının Histopatolojik ve Kantitatif Analizleri

Deney boyunca çalışmaya katılan sıçanların sağlıklı oldukları gözlenmiş olup, ölüm vakalarına rastlanmamıştır. 20 haftalık deney süresi sonunda, histolojik ve kantitatif olarak yapılan değerlendirilmede, herhangi bir kimyasal muamele uygulanmayan kontrol grubu (Kontrol, Grup1) ve timokinon grubu (Tim, Grup2) hariç diğer tüm grupların (Az, AzTim1 ve AzTim2) pankreasında farklı oranlarda atipik asinar hücre odakları (AAHF) bulunduğu gözlenmiştir. Ancak sıçanlarda atipik asinar hücre nodülü, adenoma ve adenokarsinomaya rastlanmamıştır (Çizelge 4.2).

Pankreastaki atipik asinar hücre odak yükleri (mm^2 'ye düşen AAHF, mm^3 'e düşen AAHF, ortalama odak çapı, ortalama odak hacmi ve AAHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne % oranı ve birim hacim başına tahmini odak sayısı) hesaplanarak Çizelge 4.2' de gösterilmiştir.

AzTim1 grubu ortalama odak çapı (0.824 ± 0.178), Az (Grup3) grubu ortalamalarına (1.1534 ± 0.052) göre istatistiksel anlamda önemli derecede düşüş göstermektedir. AzTim2 grubunda ortalama odak çaplarında (0.9927 ± 0.212) azalma olmasına rağmen bu azalma, Az ve AzTim1 grubu ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.7).

AzTim1 grubu ortalama odak hacmi (mm^3) (0.2745 ± 0.165) ve AzTim2 grubu ortalama odak hacmi (mm^3) (0.3933 ± 0.188), Az (Grup 3) grubu ortalamalarına (0.7568 ± 0.220) göre istatistiksel anlamda önemli derecede düşüş göstermektedir (Şekil 4.8).

Tüm organlardaki tahmini odak sayısı incelendiğinde AzTim2 Grubu ortalamasında (610.33 ± 291.49), Az (Grup 3) ortalamasına (760.200 ± 366.86) göre azalma olmasına rağmen bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. AzTim1 grubu odak sayısı bakımından (832.50 ± 286.35), Az (Grup 3) ve AzTim2 grupları ile istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon oluşturmamaktadır (Şekil 4.9).

AzTim1 grubu AAHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne göre % oranı (13.319 ± 8.13), Az (Grup 3) oranına (38.686 ± 13.67) göre istatistiksel anlamda önemli derecede düşüş göstermektedir. AzTim2 grubu AAHF büyüklüğü oranı (14.193 ± 8.52), Az (Grup 3) grubu oranına (38.686 ± 13.67) göre istatistiksel anlamda önemli derecede düşüş göstermektedir (Şekil 4.11).

AzTim2 Grubu birim alandaki fokus kesişme sayısı (0.3190 ± 0.14) ve AzTim1 grubu birim alandaki fokus kesişme sayısı (0.4037 ± 0.10) bakımından, Az (Grup 3) grubuna (0.5659 ± 0.08) göre istatistiksel anlamda düşüş göstermektedir (Şekil 4.12).

AzTim2 grubu birim hacim başına tahmini fokus sayısı (0.3404 ± 0.16), Az (Grup 3) grubu fokus sayısına (0.5055 ± 0.08) göre düşüş sağlasa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. AzTim1 grubunun (0.510 ± 0.15) ise, Az (Grup 3) (0.5055 ± 0.08) ve AzTim2 (0.3404 ± 0.16) grupları ile anlamlı bir korelasyon oluşturmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.10).

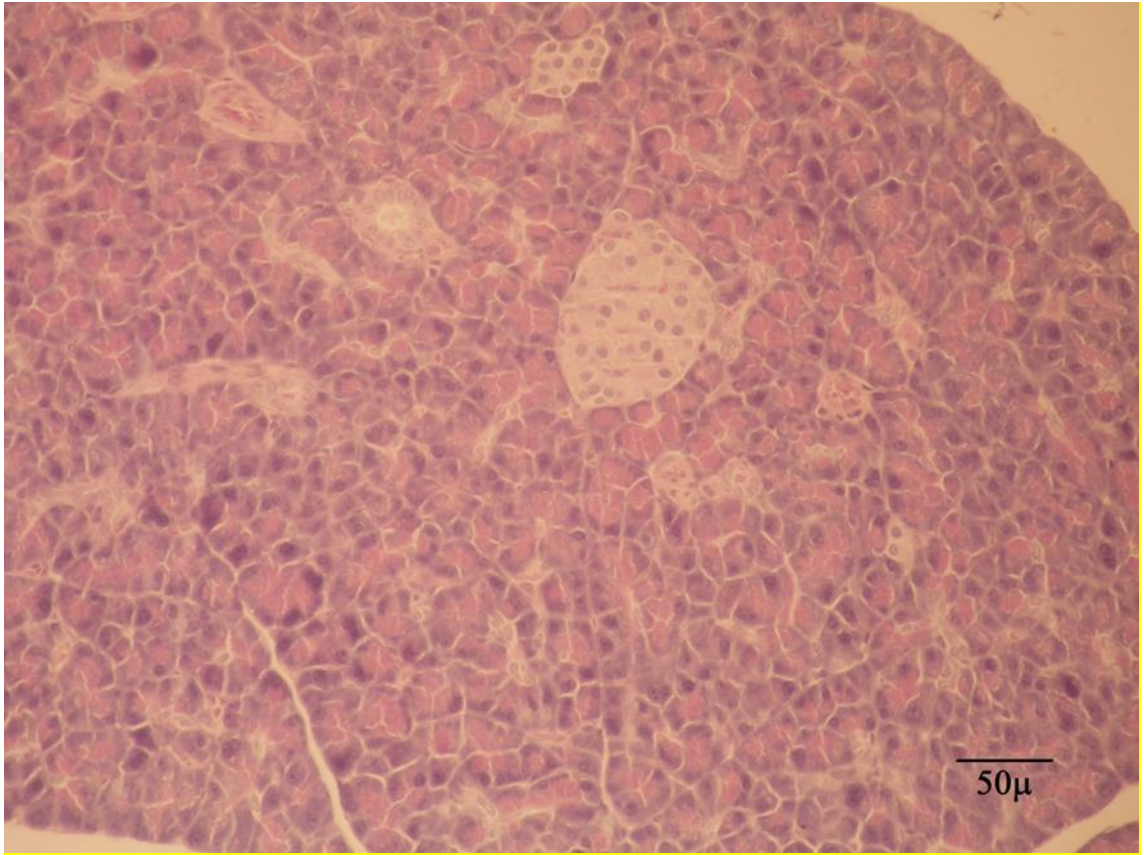
20 hafta boyunca beslenen Kontrol (Grup 1), Tim (Grup 2), Az (Grup 3), AzTim 1 (Grup 4) ve AzTim 2 (Grup 5) grubu sıçanların vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır ($p < 0,05$). AzTim1 grubu sıçanlarının vücut ağırlıklarının diğer iki gruba göre biraz daha fazla olduğu saptanmıştır (Çizelge 1.1). Diğer taraftan AzTim1 (Grup 4) grubunda karaciğer ağırlığının, kontrol (Grup 1) gruplarına göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Deney gruplarının ortalama pankreas ağırlıkları incelendiğinde, Az (Grup 3) grubunun diğer iki gruba göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Ancak Kontrol (Grup 1), Tim (Grup 2), AzTim 1 (Grup 4) ve AzTim 2 (Grup 5) sıçanlarının arasında gözlenen fark istatistiksel olarak önemli bulunamamıştır ($p < 0,05$). Ortalama pankreas ağırlıklarının, ortalama vücut ağırlıklarına oranı incelendiğinde gruplar arasındaki farkın önemli olmadığı AzTim1 grubunun ortalama değerlerinin, diğerlerinden biraz daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p < 0,05$) (Çizelge 4.1)

4.1.2. Normal Sıçan Pankreası

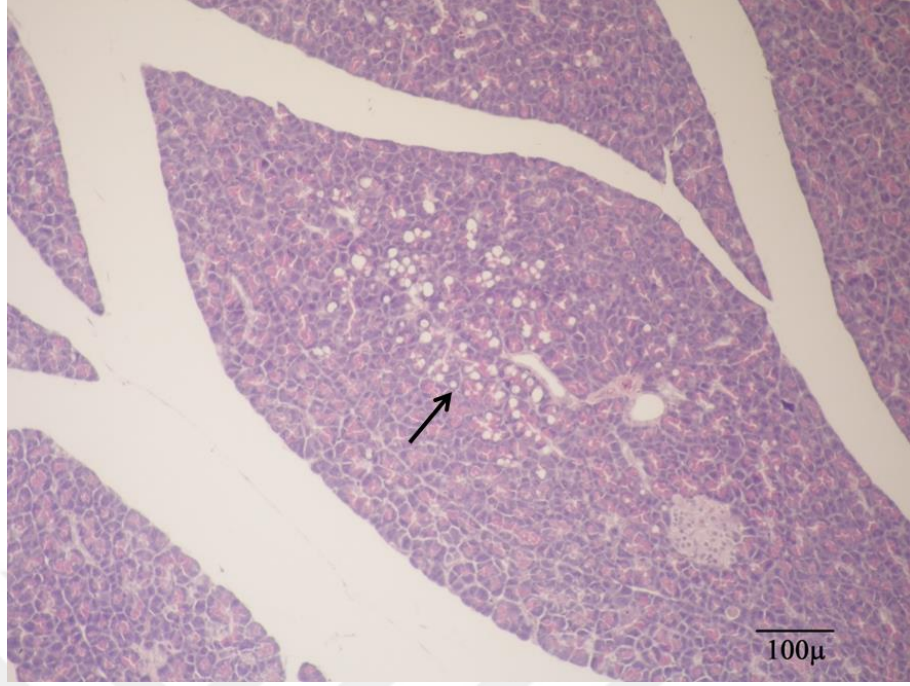
Işık mikroskopunda normal sıçan pankreasının görünüşü Şekil 4.1.'de verilmiş olup, salgı bezi özelliğine sahip pankreasın yer yer loblarla bölünmüş halde bulunduğu

saptanmıştır. Ekzokrin pankreasın asinar hücrelerden meydana geldiği ve bu salgı hücrelerinin kanalcık ve kanallarla salgılarını boşalttıkları bilinmektedir. Asinar hücrelerin yapılarında fazla miktarda zimogen granülü ihtiva etmeleri nedeniyle eozinofilik boyanma yeteneği gösterdikleri, buna karşılık hücrelerin kenar kısımlarının çoğunlukla bazofilik boyanma özelliği gösterdikleri saptanmıştır. Genel özellik olarak yuvarlak bir çekirdek, belirgin kromatin ve nukleoluslu asinar hücrelerin bazal bölgesinde yerleştikleri görülmüştür.



Şekil 4.1. Herhangi bir kimyasal madde ile muamele edilmemiş kontrol grubu sıçanlarına ait normal pankreasın, yer yer loblara bölünmüş asinar salgı hücreleri ve bu hücrelerin salgılarını boşalttığı kanalcıklar (x200)

Asinar hücrelerin kanal sistemi ile salgılarını boşalttıkları ve az miktarda eozinofilik boyanma özelliği gösterdikleri gözlenmiştir (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. AzTim2 grubu sıçana ait olan ve etrafındaki normal asinar dokudan kolaylıkla ayırt edilebilen anormal doku kayıpları (x100).

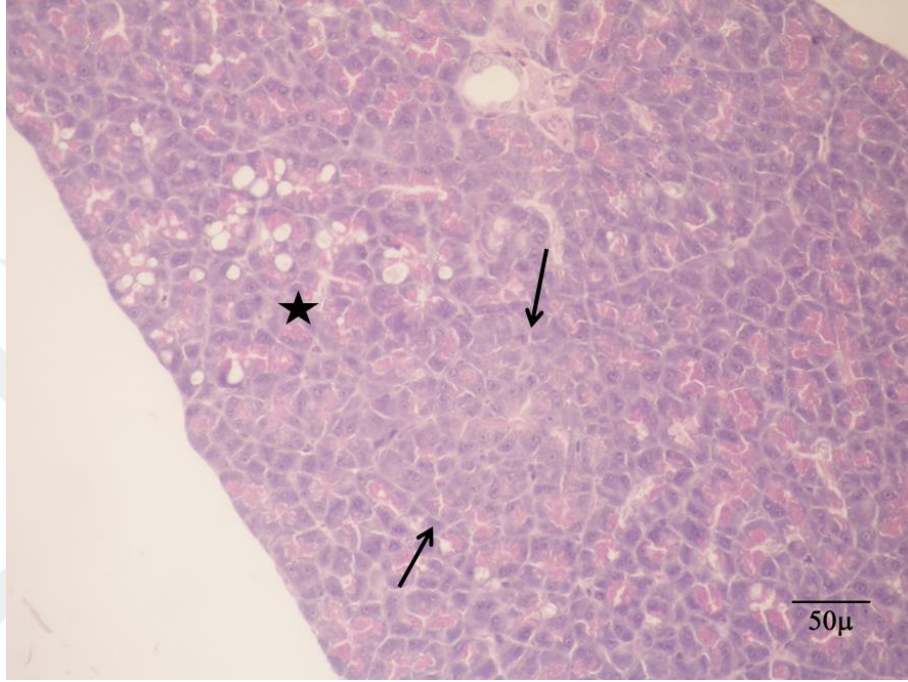
4.1.3. Atipik Asinar Hücre Fokusları (AAHF) ve Bunların Kantitatif Analizleri

Işık mikroskobu incelemelerinde atipik asinar hücre fokuslarının fenotipik olarak çevrelerinde bulunan normal asinar hücelere göre hipertrofik özelliğe sahip oldukları, sitoplazmik zimogen içeriklerinin daha az olduğu ve hücrelerin bazofilik özelliklerinin arttığı gözlenmiştir. AAHF'lerinin diğer hücelere göre daha geniş, bazofilik boyanma özellikleri artmış, pleomorfik özellikteki çekirdeklerle karakterize edildikleri gözlenmiştir (Şekil 4.3).

Kantitatif olarak pankreastaki atipik asinar hücrelerin özelliklerinin saptanması amacıyla matematiksel bir formül uygulanmış olup (PTSDC; Planar To Spatial Data Converter by Anthony FLAKS, 1988), atipik asinar hücre fokusları için elde edilen ortalama değerler Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

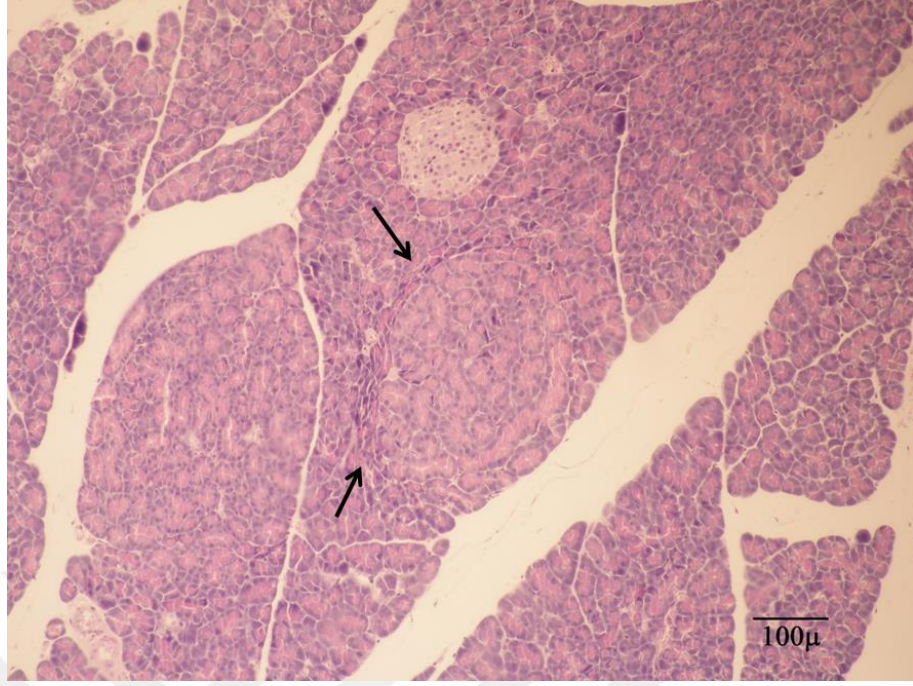
Atipik asinar hücre fokusları (AAHF), herhangi bir kimyasalla muamele edilmemiş kontrol grubu sıçanlar (Kt, Grup 1) ve yalnızca timokinin ile muamele edilmiş gruplar (Tim, Grup 2) hariç diğer gruplarda gözlenmiş olup, bazofilik bir görünüme sahip bu fokusların Şekil 4.5.'de görüldüğü gibi çoğunlukla normal asinar hücelere göre genişlemiş bir çekirdek yapısına sahip oldukları, çevrelerindeki hücre

gruplarından yoğun şekilde bazofilik boyanma özelliği ile ayrıldıkları görülmektedir (Şekil 4.5.). Daire şeklinde kapsülsüz bir görünüme sahip olan atipik asinar hücre odakları (AAHF) Şekil 4.4.'de görülmekte olup, çoğunlukla bazal bölgede yerleşik halde bulunan çekirdek, normal büyüklükte ya da kısmen genişlemiş özellikle gözlenmiştir (Şekil 4.4.).

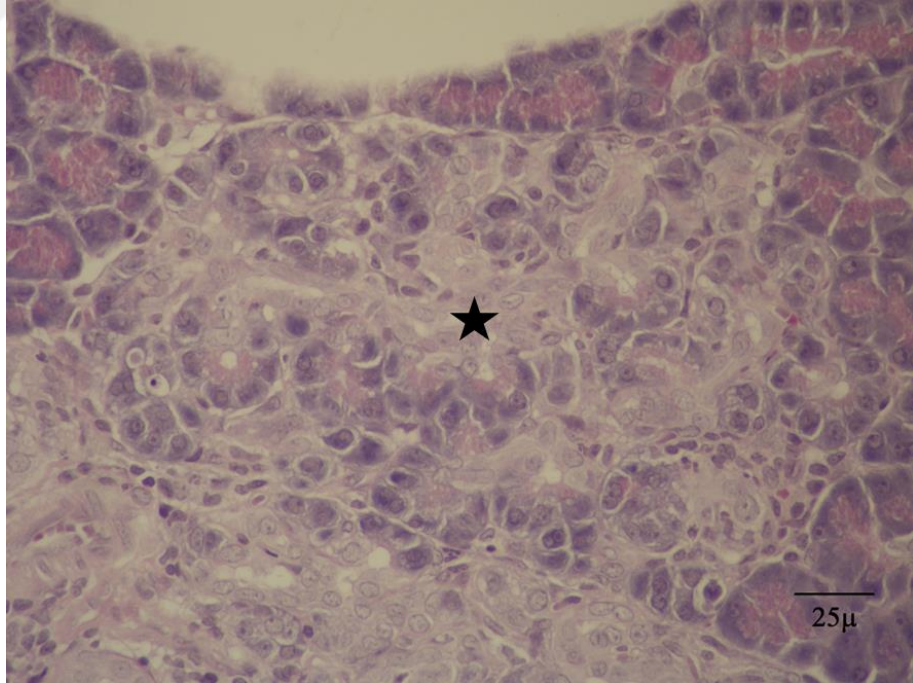


Şekil 4.3. AzTim 2 grubu sıçana ait azalan zimogen granül sayısı ve solgun görünüş ile çevrelerindeki normal asinar hücrelerden farklı asinar hücre odakları (oklar) ve yanında azaserin etkisi ile meydana gelen doku kayıplarının oluşturduğu görüntü. (Yıldız) (x100).

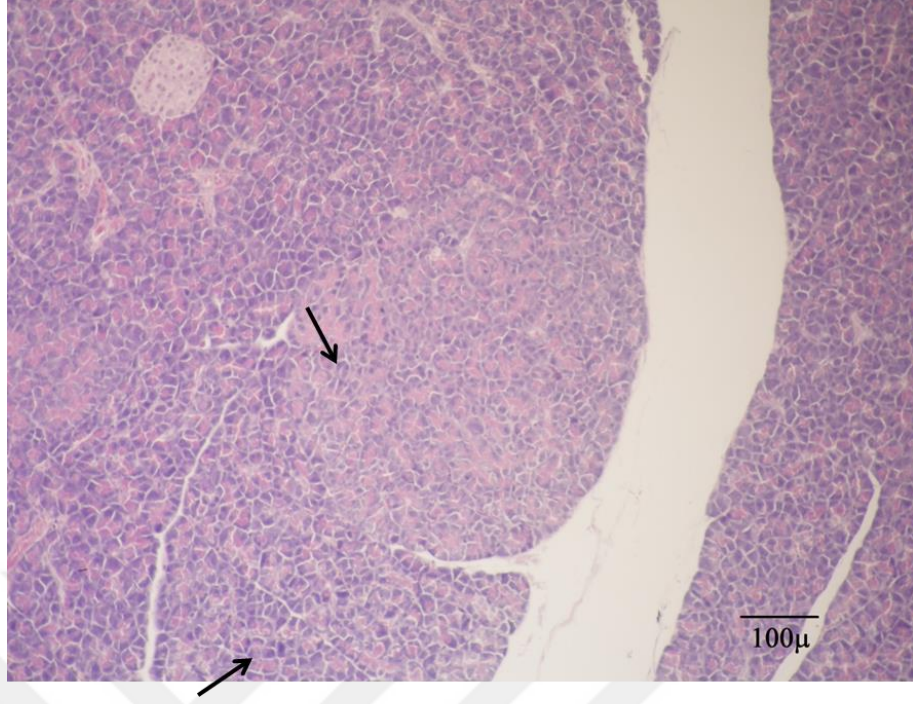
20 haftalık deney süresi sonucunda herhangi bir kimyasalla muamele edilmeyen kontrol grubu (Kontrol, Grup1) ve yalnızca timokinon ile muamele edilen (Tim, Grup2) hariç diğer tüm grupların (Az, AzTim1 ve AzTim2) pankreaslarında farklı oranlarda atipik asinar hücre odakları gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2). AzTim2, AzTim1 ile karşılaştırıldığında, AzTim2 sıçanlarının birim alandaki odak kesişme sayısında (0,4037 vs 0,3190), AAHF'in büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne oranında (13,319 vs 14,193), ortalama odak çaplarında (0,824 vs 0,992), ortalama odak hacmi (0,274 vs 0,393) azalmaların görüldüğü saptanmıştır. AzTim1 ile AzTim2 arasındaki fark, tüm organlardaki tahmini odak sayısı açısından istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur $p < 0,05$ (Çizelge 4.2).



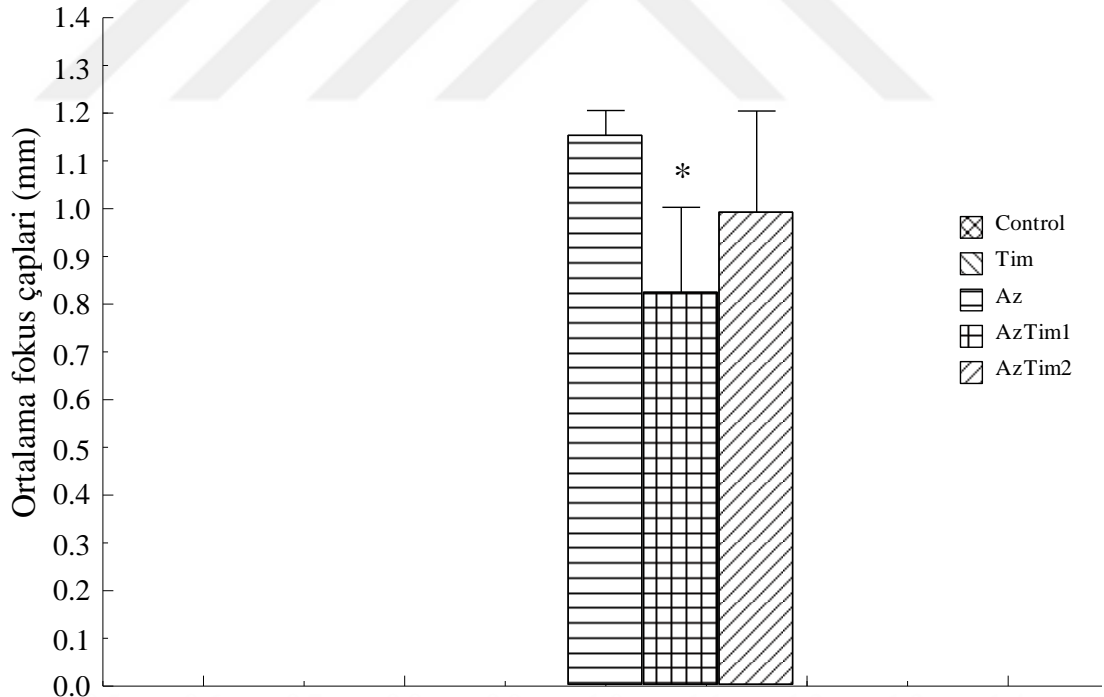
Şekil 4.4. AzTim1 grubu sıçana ait kısmen daire şeklinde kapsülsüz bir görünüme sahip atipik asinar hücre fokusu (AAHF) görülmekte olup, çevresindeki normal parankimi yukarıya doğru hafifçe sıkıştırılmaktadır (oklar). Çoğunlukla bazal bölgede yerleşik halde bulunan çekirdek, normal büyüklükte yada kısmen genişlemiş özelliktedir (x100)



Şekil 4.5. AzTim2 gurubu sıçana ait azalan zimogen granül sayısı ve solgun görünüş ile çevrelerindeki normal asinar hücrelerden farklı bir görünüş özelliğini kazanmış fokus (AAHF) yapısı (Yıldız) (x400)

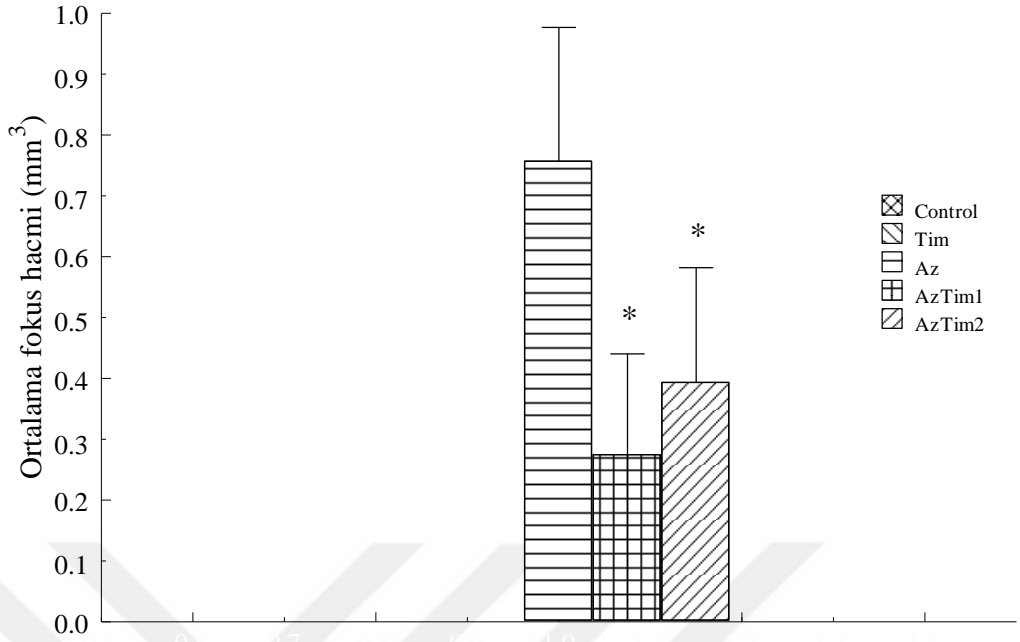


Şekil 4.6. Az grubu sıçana ait kısmen daire şeklinde kapsülsüz bir görünüme sahip atipik asinar hücre fokusu (AAHF) (x100)



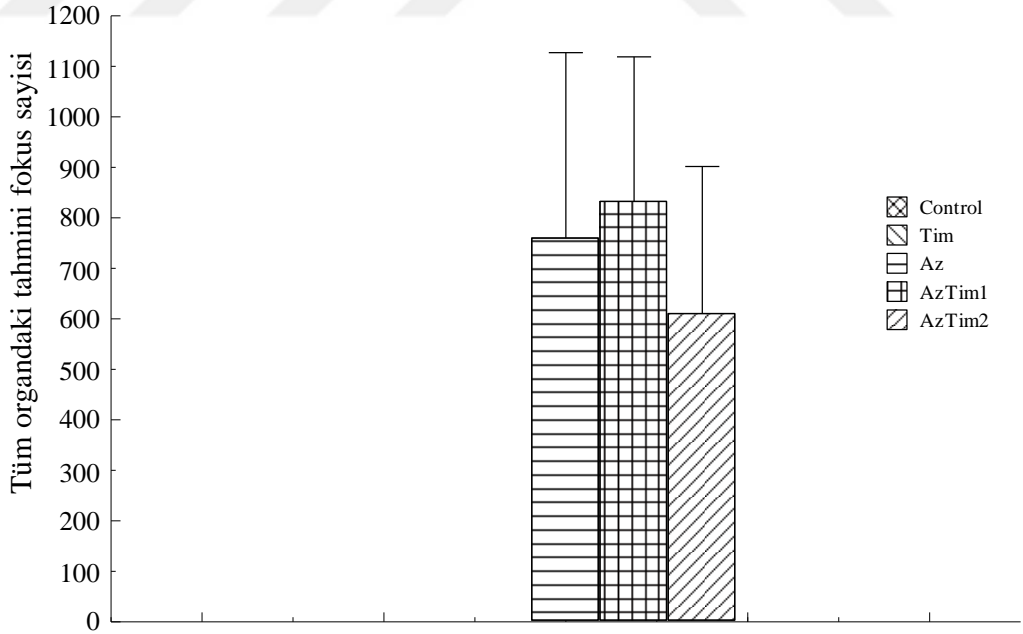
* Az grubundan istatistiksel olarak farklı olan grup.

Şekil 4.7. Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt- Grup 1), sadece timokinon (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinon verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarındaki ortalama fokus çapları (mm)

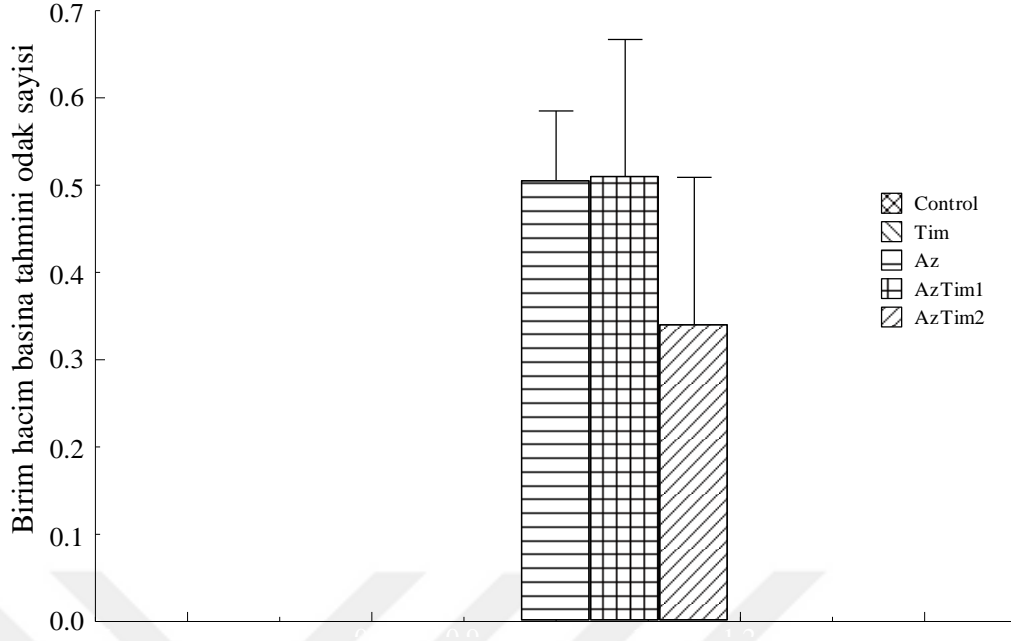


*Az grubundan istatistiksel olarak farklı olan grup.

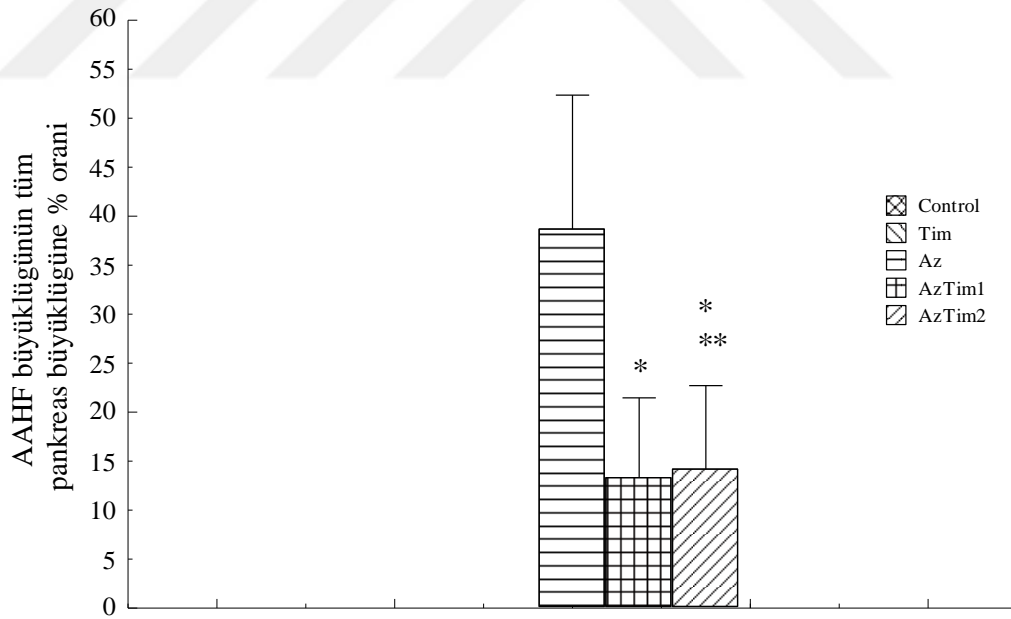
Şekil 4.8. Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt- Grup 1), sadece timokinon (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinon verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarındaki ortalama fokus hacmi (mm³)



Şekil 4.9. Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt- Grup 1), sadece timokinon (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinon verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarındaki tüm organdaki tahmini fokus sayısı.



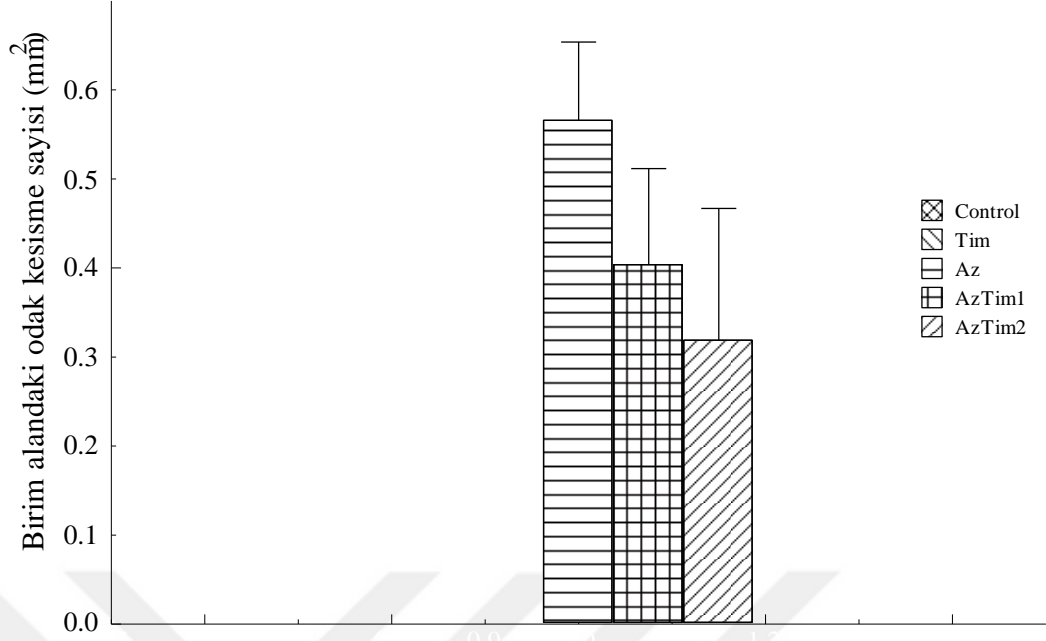
Şekil 4.10. Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt- Grup 1), sadece timokinin (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinin verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarında birim hacim başına tahmini odak sayısı



*Az grubundan istatistiksel olarak farklı olan grup.

**Kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı olmayan grup.

Şekil 4.11. Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt- Grup 1), sadece timokinin (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinin verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarındaki AHHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne % oranı



*Az grubundan istatistiksel olarak farklı olan grup.

Şekil 4.12. Herhangi bir kimyasal madde uygulanmamış kontrol grubu (Kt- Grup 1), sadece timokinon (Tim Grup 2) sadece azaserin ile muamele edilmiş Az grubu (Grup 3) ve azaserin ile muamele edilip timokinon verilen AzTim1 ve AzTim2 (Grup 4 ve Grup 5) grubu sıçan pankreaslarındaki birim alandaki odak kesişme sayısı

Çizelge 4.1. Sekiz ay süresince herhangi bir kimyasal madde ile muamele edilmemiş kontrol grubu (Kt) (Grup1) ile yalnızca azaserin enjekte edilmiş (Az) (Grup 3) ve azaserin enjekte edilip timokinon ile muamele edilmiş (AzTim1) (Grup 4) ve (AzTim2) (Grup 5) sıçanların ortalama vücut, pankreas, karaciğer ve böbrek ağırlıkları (Ortalama \pm Standart Sapma) $p < 0,05$

C	Kontrol (Grup 1)	Tim (Grup 2)	Az (Grup 3)	AzTim1 (Grup4)	AzTim2 (Grup5)
Sıçan sayısı	10	10	10	10	10
Vücut Ağırlıkları (g)	403.41 \pm 24.9	405.44 \pm 16.4 ^{aa}	445.1 \pm 22.3 ^a	483 \pm 29.7 ^{a, aa}	418.8 \pm 31.5
Pankreas Ağırlıkları (g)	1.12 \pm 0.4	1.29 \pm 0.3	1.75 \pm 0.4 ^a	1.57 \pm 0.2	1.52 \pm 0.1
Karaciğer Ağırlıkları (g)	11.31 \pm 1.5	12.63 \pm 1.5	13.67 \pm 1.3	16.00 \pm 2.1 ^{a, aa}	13.16 \pm 1.4
Böbrek Ağırlıkları (g)	1.5 \pm 0.1	1.83 \pm 0.2	1.93 \pm 0.4 ^a	1.95 \pm 0.2 ^a	1.7 \pm 0.2

a Kont (Grup1) grubundan istatistiksel olarak farklı grup

aa Az (Grup 3) grubundan istatistiksel olarak farklı grup

Çizelge 4.2. Azaserin enjeksiyonu ile meydana getirilmiş AAHF'ları üzerinde Timokinon'un inhibisyon etkisinin karşılaştırılması amacıyla tüm gruplara ait kantitatif fokus değerleri (Ortalama değer \pm standart sapma) $p < 0,05$

GRUPLAR	Kontrol	Tim	Az	AzTim1	AzTim2
Ortalama fokus çapları (mm)	0	0	1.1534 \pm 0,052	0.824 \pm 0.178a	0.9927 \pm 0.212
Ortalama fokus hacmi (mm ³)	0	0	0.7568 \pm 0.220	0.2745 \pm 0.165 ^a	0.3933 \pm 0.188 ^a
Tüm organdaki tahmini fokus sayısı	0	0	760.200 \pm 366.86	832.50 \pm 286.35	610.33 \pm 291.49
AAHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne % oranı	0	0	38.686 \pm 13.67	13.319 \pm 8.13 ^a	14.193 \pm 8.52 ^{a, aa}
Birim alandaki fokus kesişme sayısı	0	0	0.5659 \pm 0.08	0.4037 \pm 0.10 ^a	0.3190 \pm 0.14 ^a
Birim hacim başına düşen tahmini fokus sayısı	0	0	0.5055 \pm 0.08	0.510 \pm 0.15	0.3404 \pm 0.16

a Az grubundan istatistiksel olarak farklı olan grup.

aa Kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı olmayan grup.

4.2. Tartışma

Kanser, 2012'de yaklaşık 14 milyon yeni vaka ve 8 milyon kansere bağlı ölümlerle birlikte, tüm ülkelerdeki ve tüm bölgelerdeki popülasyonları etkileyen önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Bu tahminler, yaşa göre standardize edilmiş insidans ve ölüm oranları sırasıyla, 100.000'de 182 ve 102'ye karşılık gelmektedir. Erkeklerde 2012 yılında en sık görülen beş kanser bölgesi akciğer (toplamın % 16.7'si), prostat (% 15.0), kolorektum (% 10.0), mide (% 8.5) ve karaciğer (% 7.5) idi. Kadınlar arasında en yaygın beş kanser bölgesi meme (toplamın % 25.2'si), kolorektum (% 9.2), akciğer (% 8.7), serviks (% 7.9) ve mide (% 4.8) idi. Pankreas kanseri tüm kanserlere göre çarpıcı bir istatistiğe sahiptir. 100.000'de görülme oranı erkeklerde 4.9 kadınlarda 3.6 olmasına rağmen ölüm oranları erkeklerde 4.6, kadınlarda 3.4 ile en yüksek kanser tipidir (Hruban ve ark., 2014).

Apoptosis programlı hücre ölümü olup, çok hücreli canlılarda görülür. Hücreler bir kısım biyokimyasal olaylar sonucu değişime uğrayarak ölür. Hücresel apoptosis, hücre reseptörleri ve hücre içerisinden gelen sinyallere bağlı olarak ortaya çıkar (Kraft ve ark., 2009). Salim ve ark. (2013), tarafından yapılan çalışmada timokinonun, doğal öldürücü hücre aktivitelerini arttırdığını ve timokinonun erken apoptozis artışıyla bilinen WEHI-3 hücre hattına karşı yüksek toksisite gösterdiğini ileri sürmüştür. Aynı çalışmada timokinon etkisi ile, anti-apoptotik proteinin Bcl2 yukarı regülasyonu ve apoptotik proteinin Bax aşağı regülasyonu izlenmiş olup, dalak ve karaciğerin histopatolojisinden elde edilen bulgular sonucu timokinonun BALB/c farelerinde WEHI-3 büyümesini inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, anti-lösemik bir ajan olarak geliştirilebilecek timokinonun potansiyelini vurgulamaktadır. Çalışmamızın sonuçlarıyla paralel olarak antikanserojenik etkiye sahip olduğu düşünülen timokinonun, apoptosise yol açarak farklı dokularda neoplastik gelişimi azaltabileceğini söylemek mümkündür.

Daha önceki çalışmalarda timokinonun beyin tümörleri içinde en sık rastlanan primer kötü huylu beyin tümörleri olan gliblastoma hücrelerinde, kaspaz 3 ve 9 aktivasyonu ile hücre ölümünü gerçekleştirdiği belirlenmiştir (Hussani ve ark., 2011).

Benzer bir çalışmada yine timokinonun kaspaz 3 ve 9 seviyelerini artırarak ve hücre siklusundaki G1/S evresindeki hücreleri durdurarak apoptozisi indüklediği gözlemlenmiştir (Hassan ve ark., 2008)

2010 yılında yapılan çalışmada timokinonun ALL hücreleri üzerindeki etkisi incelenmiş kaspaz-3 aktivitesinin artması ROS ürünleri yoluyla apoptozu ve G1 hücre arrestini indüklediği gözlemlenmiştir (Alhosin ve ark., 2010)

Kanserli hücrelerdeki hücre çoğalmasını durdurucu etkisi bir başka çalışmanın konusu olup timokinonun hücre çoğalmasını inhibe ettiği, apoptozu uyardığı, mitokondiyal membran potansiyelini bozduğu belirlenmiş olup myeloblastik lösemi hücre hattı olan HL-60 hücreleri üzerinde kaspaz 8, 9 ve 3'ün aktivasyonunu etkilediği gözlemlenmiştir (Davis ve ark., 1998).

Grund ve ark. (2010), tarafından yapılan çalışmada ise; glioblastoma hücreleri üzerinde timokinonun etkisini incelemiş timokinonun telomerazı inhibe ettiği böylelikle telomer kısalmasına neden olduğu ve bu durumdan dolayı da DNA hasarı sonucu apoptozun gerçekleştiği düşünülmüştür.

Timokinonun anti-tümör etkisinin incelendiği bir başka çalışmada timokinonun metastazı tetikleyen faktörleri inhibe ettiği ve bu faktörlerin ise; metalloproteinaz ve serin proteaz inhibitörleri, anjiyogenik protein fibroblastik büyüme faktörü, doku tip plazminojen aktivatörü, ürokinaz tipi plazminojen aktivatörlerinin olduğu tespit edilmiştir (Awad, 2005).

Meme kanseri üzerinde yapılan çalışmada doksorubine dirençli MSF-7 kanser hücrelerinde timokinonun Bax/Bcl- 2 oranında artışa neden olarak apoptozu indüklediği gözlemlenmiştir (Arafa ve ark., 2011).

Timokinonun sitotoksik etkisinin incelenmeye alındığı bir çalışmada p53 ekspresyonlarındaki artış ve anti-apoptotik Bcl-2 protein inhibisyonu ile alakalı hücrelerin, hücre siklusundaki G1/S evresini durdurduğu ve apoptozu neden olduğu düşünülmüştür (Kuzumaki ve ark., 1998).

Timokinonun kemoterapi ilaçları üzerindeki etkisini inceleyen bir başka çalışmada; timokinonun pankreas tedavisinde kullanılan Gemcitabine ve Oxaliplatin ilaçlarının etkilerini kayda değer şekilde arttırdığı ve bu artış etkisinde hücre apoptozunu sağladığı tespit edilmiştir (Benerjee ve ark., 2009).

Timokinonun antiinflamatuvar ve anti-kanser etkisinin incelendiği çalışmada NF- κ B regulasyonu ile anti-apoptotik, proliferatik ve anjiyogenik (VEGF) yolaklarında etkili birçok genin ekspresyonlarının arttığı, timokinonun ise bu NF- κ B aktivasyonunu engelleyerek etki mekanizmasını gerçekleştirdiği tespit edilmiştir (Sethi ve ark., 2008).

Çalışma sonuçlarımız ile benzer şekilde, timokinon ile yapılan diğer araştırmalar göstermektedir ki, timokinonun neoplastik gelişim gösteren hücreler üzerinde apoptosiz kaynaklı inhibisyon etkilerinin var olduğunu ileri sürmek mümkündür.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmadan elde edilen bulgularda, azaserin enjeksiyonundan 6 hafta sonra deney hayvanlarının içme sularına timokinon uygulanması sonucunda, ortalama fokus çapları (mm), ortalama fokus hacimleri (mm³) ve AAHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne oranları değerlerinde, azaserin grubuna göre önemli derecede bir azalmanın olduğu görülmüştür. Bu verilerden hareketle azaserin uygulamasından 6 hafta sonra, yani erken dönemde, timokinon kullanımı sonucunda fokus yükleri üzerinde azaltıcı bir etkisinin olduğunu söylemek mümkün görünmektedir. Timokinonun 12. haftadan itibaren kullanımı sonucunda ortalama fokus çapları (mm) ve ortalama fokus hacimlerinde (mm³) erken dönemdeki timokinon kullanımına göre bir artış olduğu görülmektedir. Böylece belirlenen sürede erken timokinon kullanımının neoplastik değişimlerin oluşumunda geç timokinon kullanımına göre önemli derecede bir azalmaya neden olabileceği, erken dönemde timokinon alımının AAHF oluşumunu daha fazla engellediği veya azalttığını ileri sürmek mümkün görünmektedir.

Bu konuda daha detaylı ve kapsamlı (biyokimyasal ve moleküler biyolojik çalışmalarla desteklenmiş) çalışmalara ihtiyaç duyulmakta olup, diğer pek çok araştırmacının da belirttiği üzere timokinonun antineoplastik özelliklerinin daha detaylı çalışılması etkilerinin daha iyi anlaşılmasında yararlı olacağı düşünülmektedir.

Bu çalışmanın kontrollü laboratuvar şartlarında deney hayvanları üzerinde deneysel olarak tasarlanmış olduğu, timokinonun direkt olarak veya timokinon içerikli preparatların doktor tavsiyesi olmadan kesinlikle kullanılmaması gerektiği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

- Aaronson, S., 1959. Mode of Action of Azaserine on *Gaffkya Homari*. **J Bacteriol.**, 77; 548–551.
- Abdel- Fatah M.M. K., Watanake, H, 2000. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major components in mice. **Eur J Pharmacol.**, 400:89–97.
- Aboul-Ela, EI., 2002. Cytogenetic Studies on *Nigella Sativa* Seeds Extract and Thymoquinone on Mouse Cells Infected With Schistosomiasis Using Karyotyping. **Mutat Res.**, 516(1-2): 11-17.
- Al-Ali, A., Alkhawajah, A. A., Randhawa, M. A., Shaikh, N. A. 2008. Oral and Intraperitoneal LD50 of Thymoquinone, an Active Principle of *Nigella Sativa*, in Mice And Rats. **J. Ayub Med Coll Abbottabad.**, 20(2):25-7
- Alberts, R., S., Grothey, A., 2004. Gastrointestinal tract cancers. In: Manual of Clinical Oncology. **USA: Lippincott Williams and Wilkins**, p. 213-9.
- Alguacil, J., Porta, M., Benavides, F. G., et al. 2000. Occupation and Pancreatic Cancer in Spain: a Casecontrol Study Based on job Titles. **Pankreas II Study Group. Int J Epidemiol.**, 29:1004-13.
- Alhosin M., Abusnina, A., Achour M, Sharif, T., Muller, C., Peluso, J.,et al. 2010. Induction of apoptosis of thymoquinone in ımphoblastic leukemia jurkat cells mediated by a p73-dependent patway which targets the epigenetic integration UHRF1. **Biochem Phar.**, 79(9). 1251-60.
- Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. **Phytother Res.**, 2003; 17(4): 299-305.
- Aljabre, S.H., Randhawa, M.A., Akhtar, N., Alakloby, O.M., Alqurashi, A.M., Aldossary, A. 2005. Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. **J. Ethnopharmacol.**, 101(1-3): 116-119.
- American Cancer Society. 2014. **Pancreatic cancer**, ww.cancer.org
- Anonim, 2006. “Kanser Yüku 2006” Raporu: Türk Kanser Araştırma Kurumu, Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü ve Ankara Ticaret Odası.Erişim tarihi: 06.03.2018
- Anonim 1, 2019. Cells. <https://www.sigmaaldrich.com/life-science/cell-biology/cancer-research/learning-center/carcinogen-selector.html>. Erişim tarihi: 20.06.2019
- Anonim 2, 2019. Cells. <http://www.turkcerrahi.com/makaleler/pankreas/>. Erişim tarihi: 20.06.2019
- Anonim 3, 2019. Cells. <https://www.tohumlar.net/karisik-corek-otu-cicegi-nigella-sativa-mix100-tohum-pmu4376>. Erişim tarihi: 20.06.2019
- Anonim 4, 2019. Cells. <https://www.medikalakademi.com.tr/corek-otu-nedir-faydalari-nelerdir-hangi-hastalıklara-iyi-gelir/>. Erişim tarihi: 20.06.2019
- Arafa, E. S. A., Zhu, Q., Shah, Z. I., Wani, G., Barakat, B. M., Racome, I., et al. 2011. Thymoquinone up-regulation PTEN expression and induceks apoptosis in doxorubicin-resistant human breast cancer cells. **Mutat Res.**, 706(1-2): 28-35.
- Arslan, S. O, Gelir, E, Armutcu, F, Coskun, O, Gürel, A, Sayan, H,Celik, I. L. 2005. The protective effect of thymoquinone on ethanol-induced acute gastric damage in the rat. **Nutr Res.**, 25(7): 673680.
- Awad, E. M. 2005. In vitro decreases of the fibrinolytic potential of cultured human fibrosarcoma cell line, HT1080, by *Nigella sativa* oil. **Phytomedicine**. Jan;12(1-2):100-7.

- Badary, O., Al-Shabanah, Nagi, O., Al-Bekairi, M., A. and Elmazar, M., 1998. Inhibition of benzo (a) pyrene-induced forestomach carcinogenesis in mice by thymoquinone. **European Journal of Cancer Prevention**, 8, 435-440.
- Badary, O. A, Al-Shabanah, O. A, Nagi, M.N, Al-RikabiAC, Elmazar, M.M. 1999. Inhibition of benz(a)pyrene-induced forestomach carcinogenesis in mice by thymoquinone. **Eur J Cancer Prev.**, 8(5): 435-40.
- Badary, O. A., Abdel-Naim, A. B., Abdel-Wahab M. H., Hamada F.M. 2000. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. **Toxicology**. 143(3): 219226.
- Badary, O. a. E.-D., 2001. Inhibitory effects of thymoquinone against 20Methylcholanthrene-induced fibrosarcoma tumorigenesis. **Cancer Detection and Prevention**. 25, 362-368.
- Badary, O. A, Taha, R. A, Gamal el-Din A. M, Abdel-Wahab, M. H. 2003. Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. **Drug Chem Toxicol**, 26(2): 87-98.
- Ban, S., Naitoh, Y., Mino-Kenudson, M., 2006. Intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) of the pancreas: Its histopathologic difference between 2 major types. **Am J Surg Pathol.**, 30:1561–9.
- Banerjee, S., Kaseb, A. O., Wang, Z., et al. 2009. Antitumor activity of gemcitabine and oxaliplatin is augmented by thymoquinone in pancreatic cancer. **Cancer Res.**, 69: 5575-83.
- Banerjee, S, Padhye, S, Azmi, A, Wang, Z, A., Philip, P, Kucuk, O, Sarkar, F. H and Mohammad, R.M. 2010. Review on Molecular and Therapeutic Potential of Thymoquinone in Cancer, **Nutrition and Cancer**, 62: 7, 938-946.
- Başara, B. B., Güler, C., Yentür, G. K., 2013. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı, Ankara, s. 32-3.
- Baytop, T. 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul, İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3255:211.
- Baytop, T. 1999, Geçmişte ve Bugün Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi Ltd Şti, 359.
- Bourgou, S., Pichette, A., Marzouk, B., Legault, J., 2010. Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia. **S Afr J Bot.**,76(2): 210-216.
- Boyle, P., Levin, B., 2008. WHO, World Cancer Report, Lyon, Fransa: **International Agency for Research on Cancer**, 1-105.
- Braunwald, K., Hauser, F., Jameson, L., 2004. Harison’s principles of internal medicine.USA, Mc Graw Hill, p:537-539.
- Burits, M., Bucar, F., 2000. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. **Phytother Res.**, 14(5): 323-328.
- Caldas, C., Kern, S. E., 1995. K-ras mutation and pancreatic adenocarcinoma. **Int J Pancreatol.**, 18:1–6
- Carnero, A., Blanco-Aparicio, C., Renner, O., Link, W., Leal, J. F., 2008. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications. **Curr Cancer Drug Targets**, 8:187-98.
- Casciato, D. A., 2004. Manual of Clinical oncology. USA, **Lippincott Williams and Wilkins**, p:213-219.
- Chow, W. H., Johansen, C., Gridley, G., Mellemkjaer L, Olsen JH, Fraumeni JF Jr. 1999. Gallstones, cholecystectomy and risk of cancers of the liver, biliary tract and pancreas. **Br. J. Cancer**,79:640-4.

- Cooper, C., 2010. Organic Chemist's Desk Reference. 2th ed. Boca Rotan, CRC Press. 140.
- Croce, CM.,2008. Oncogenes and cancer. **N Engl J Med.**, 358(5): 502-511.
- Cubilla, A. L. and Fitzgerald. P. J., 1975. Morphological patterns of primary nonendocrine human pancreas carcinoma. **Cancer Res.**, (35):2234-2248.
- Daly, J. M., Tee, L.B.G., Oates, P.S., Morgan, R.G.H. and Yeoh, G.C.T., 1991. Glutathione S-transferase as an early marker of azaserine-induced foci in the rat pancreas. **Carcinogenesis**. 12 (7): 1237-1240.
- Davis, J. N., Singh, B., Bhuiyan, M., Sarkar, F. H., 1998. Genistein induced upregulation of p21WAF1, downregulation of cyclin B, and induction 115 of apoptosis in prostate cancer cells. **Nutr Cancer**. 32: 123–131.
- Decker, G. A., Batheja, M. J., Collins, J. M., Silva, A. C., Mekeel, K. L., Moss, A. A. Nguyen, C. C., Lake, D. F., Miller, L. J., 2010. Risk factors for pancreatic adenocarcinoma and prospects for screening. **Gastroenterol Hepatol (N Y)**, 6:246-54.
- Denghani, H. , Hashemi, M., Entezari, M., Mohsenifar A.,2015. **Iran J Pharm Res.**, Spring;14(2):539-46.
- Dizdaroglu, M., Kirkali, G. and Jaruga, P. 2008. Formamidopyrimidines in DNA: mechanisms of formation, repair, and biological effects. **Free Radical Biology and Medicine**, 45, 1610-1621.
- Dong, M., Nio, Y., Tamura, K., 2000. Ki-ras point mutation and p53 expression in human pancreatic cancer: a comparative study among Chinese, Japanese, and Western patients. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, 9:279-84.
- Dusek, L., Muzik, J., Gelnarová, E., Fínek, J., Vyzula, R., Abrahámová, J., 2010. Cancer incidence and mortality in the Czech Republic. **Klin Onkol.**, 23:311-24.
- El-Dakkakhny, M., Madi, N. J., Lembert, N., Ammon, H. P., 2002. Nigella sativa oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. **J Ethnopharmacol.**, 81(2): 161-164.
- El-Mahdy, M. A., Zhu, Q., Wang, Q. E., Wani, G., Wani, A. A., 2005. Thymoquinone induces apoptosis through activation of caspase-8 and mitochondrial events in p53-null myeloblastic leukemia HL-60 cells. **Int J Cancer**, 117(3): 409-417.
- El-Mezayen, R., El Gazzar, M., Nicolls, M. R., Marecki, J. C., Dreskin, S. C., Nomiyama, H., 2006. Effect of thymoquinone on cyclooxygenase expression and prostaglandin production in a mouse model of allergic airway inflammation. **Immunol Lett.**, 106(1): 72-81.
- Everhart, J., Wright, D., 1995. Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer: **A meta analysis**. **JAMA**, 273:1605-9.
- Ewing, J., 1940. Neoplastic Diseases, Philadelphia and London: W.B. Saunders Co.
- Feng, L. M., Wang, X. F., Huang, Q. X. J., 2017. Thymoquinone induces cytotoxicity and reprogramming of EMT in gastric cancer cells by targeting PI3K/Akt/mTOR pathway. **Biosci.**, 42(4):547-554.
- Ferrone, C. R., Levine, D. A., Tang, L. H., Allen, P. J., Jarnagin, W., Brennan, M. F., Offit, K., Robson, M. E., 2009. BRCA germline mutations in Jewish patients with pancreatic adenocarcinoma. **J Clin Oncol.**, 27:433-8.

- Fukushima, N., Fukayama. M., 2007. Mucinous cystic neoplasms of the pancreas: pathology and molecular genetics. **J Hepatobiliary Pancreat Surg.**, 14:238–42.
- Gali-Muhtasib, H., Roessner, A., Schneider-Stock, R., 2006. Thymoquinone: a promising anti-cancer drug from natural sources. **Int J Biochem Cell Biol.**, 38(8): 1249-1253.
- Gali-Muhtasib, H., Kuester, D., Mawrin, C., Bajbouj, K., Diestel, A., Ocker, M., Habold, C.Foltzer-Jourdainne, C., Schoenfeld, P., Peters, B., Diab-Assaf, M., Pommrich, U., Itani, W., Lippert, H., Roessner, A., Schneider-Stock, R. 2008. Thymoquinone triggers inactivation of the stress response pathway sensor CHEK1 and contributes to apoptosis in colorectal cancer cells. **Cancer research**, 68:5609-5618.
- Ghataorhe, P. Kurian, A. W. Pickart, A., 2007. A carrier of both MEN1 and BRCA2 mutations: case report and review of the literature. **Cancer Genet Cytogenet.**, 179:89-92.
- Ghaneh, P., Kawesha, A., Howes, N., Jones, L. & Neoptolemos, J. P. 1999. Adjuvant therapy for pancreatic cancer. **World Journal of Surgery**, 23, 937-945.
- Ghosheh, O. A. Houdi, A. A. Crooks, P. A., 1999. High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.). **J Pharm Biomed Anal.**, 19.(5): 757-762.
- Gots, S. J. Gollub, G. E., 1956. Purine Metabolism in Bacteria. IV. L-Azaserine as an inhibitor. **J.Bacteriol.**, 72: 858–864.
- Grmek, M.D., 1975, La paleopathologie des tumeurs osseuses malignes, Proposition d'une classification a l'usage l'osteo-archeologie, revue des exemples publies et presentation de deux cas inedits, **Hist. Sci. Med.**, 9:21-50.
- Grund, R. L. Lim, S. N. Khaw, A. K. Soon, J. F. F. Shoney, K. Mohamed Ali, S., 2010. Thymoquinone induces telomerase shortening, DNA damage and apoptosis in human glioblastoma cells. **Plas One.**, 5(8): 1-11.
- Gupta, S. Vittinghoff, E., Bertenthal, D., 2006. New-onset diabetes and pancreatic cancer. **Clin Gastroenterol Hepatol.**, 4(11):1366.
- Güllü, E.B., Avcı, G., 2013. Timokinon: *Nigella Sativa*'nın biyoaktif komponenti **Kocatepe Vet J.**, 6(1): 51-61.
- Gündüz, H. Dede, S. Agaoglu, Z. T, Atasoy, N. Mert, N., 2002. Serum trace elements status of rabbits supplemented with *Nigella sativa*, vitamins C and E, and selenium against damage by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. **Biol Trace Elem Res.**, 89(1): 65-73.
- Halawani, E., 2009. Antibacterial activity of thymoquinone and thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and their interaction with some antibiotics. **Advan. Biol Res.**, 3(5-6): 148-152.
- Hansel, D. E., Kern, S. E., Hruban, R. H., 2003. Molecular pathogenesis of pancreatic cancer. **Annu Rev Genomics Hum Genet.**, 4:237-56.
- Harnack, L. J., Anderson, K. E., Zheng, W., Folsom, A.R., Sellers, T. A., Kushi, L. H., 1997. Smoking, alcohol, coffee, and tea intake and incidence of cancer of the exocrine pancreas: the Iowa Women's Health Study. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, 6:1081-86.

- Hassan, S. A., Ahmed, W. A., Galeb, F. M., EL-Taweel, M. A., Abu-Bedir, F. A. 2008. In vitro challenge using thymoquinone on hepatocellular carcinoma (HepG2) cell line. **Iranian J Pharmaceutical Res.**,7(4): 283-290.
- Hezel, A. F., Kimmelman, A. C., Stanger, B. Z., Bardeesy, N., Depinho, R. A. 2006. Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. **Genes Dev.**, 20:1218-49.
- Hodgson S. 2008. Mechanisms of inherited cancer susceptibility, **J Zhejiang Univ Sci B.**, 9(1):1-4.
- Holland, J. F. and Frei, E., 2003. Cancer Medicine 6. BC Decker Inc Hamilton, 10250. Ontario.
- Houghton, P. J., Zarka, R., De las Heras, B., Hoult, J. R., 1995. Fixed oil of *Nigella sativa* and derived thymoquinone inhibit eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation. **Planta Medica**, 61: 33-36.
- Hruban, R.H., Takaori K, Klimstra, D. S., Adsay, N. V., Albores-Saavedra, J., Biankin, A. V., Biankin, S. A., Compton, C., Fukushima, N., Furukawa, T., Goggins, M., Kato, Y., Klöppel, G., Longnecker, D. S., Lüttges, J., Maitra, A., Offerhaus, G. J., Shimizu, M., Yonezawa, S., 2004. An illustrated consensus on the classification of pancreatic intraepithelial neoplasia and intraductal papillary mucinous neoplasms. **Am J Surg Pathol.**, 28, 977–87.
- Hruban, R H., Klöppel, G., Offerhaus, G. J., 2014. Pancreatic cancer. In: World cancer report 2014. Eds: Stewart BW, Wild CP, 1th ed. Lyon: **International Agency for Research on Cancer**, p. 594-608.
- Huang, C., Jiang, T., Zhu, L., Liu, J., Cao, J., Huang, K. J., Qiu, Z. J., 2011. STAT3-targeting RNA interference inhibits pancreatic cancer angiogenesis in vitro and in vivo. **Int J Oncol.**, 38:1637–44.
- Hussani, I. M., Amos, S., Sirupson, K., Redpath, C. I, Lyas, C., Dipierro, C. 2011. *Nigella sativa* and thymoquinone induce caspase-9/3 activation and glioblastoma cell death. **Neuro Oncol.**, 13(3):107-20.
- Iacobuzio-Donahue CA, Song J, Parmigiani G, Yeo CJ, Hruban RH, Kern SE, 2004. Missense mutations of MADH4: characterization of the mutational hot spot and functional consequences in human tumors. **Clin Cancer Res.**, 10:1597–1604.
- Iodice, S., Gandini, S., Maisonneuve, P., Lowenfels, A. B., 2008. Tobacco and the risk of pancreatic cancer: a review and meta-analysis. **Langenbecks Arch.**, 393:535–45.
- İzmirli, M., Altın, S., Dernek, B.O., Ünsal, M., 2007, SSK. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Onkoloji Merkezi'nin 1999-2004 yılları kanser istatistikleri, **Türk Onkoloji Dergisi**, 22 (4):172-182.
- Jafri, S. H., Glass, J., Shi1, R., Zhang, S., Prince, M., Hancock, H. K., 2010. Thymoquinone and cisplatin as a therapeutic combination in lung cancer: In vitro and in vivo. **Journal of Experimental and Clinical Cancer Research**, 29.
- Jemal, A., Siegel I. R, Ward, E., et al. 2008. Cancer statistics, **CA Cancer J Clin.**, 58:71-96.
- Jemal, A., Siegel R. and Ward E.M., 2009. Cancer Facts and Figures American Cancer Society, **Annual Publication**, Atlanta, Georgia.
- Jemal, A. et al. 2011. Global Cancer Statistics, **A Cancer Journal For Clinicians**, 61, 69-90.

- John, T. G., Greig, J. D., Carter, D. C. and Garden, O. J. 1995. Carcinoma of the Pancreatic Head and Periapillary Region Tumor Staging with Laparoscopy and Laparoscopic Ultrasonography. **Annals of surgery**, 221:156-164.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O.,1998. Temel Histoloji, Barış Kitabevi, Appleton and Lange, İstanbul.
- Kalser, M. H, Barkin, J, MacIntyre, J.M. 1985. Pancreatic cancer. Assessment of prognosis by clinical presentation. **Cancer**, 56:97
- Kanter, M, Akpolat, M, Aktas, C. 2009. Protective effects of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds on beta-cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats: a light and electron microscopic study. **J Mol Histol.**, 40(5-6): 379-385.
- Kaseb, A. O, Chinnakannu, K, Chen, D, Sivanandam, A, Tejwani, S, Menon, M, Dou, Q. P, Reddy, G. P. 2007. Androgen receptor and E2F-1 targeted thymoquinone therapy for hormone-refractory prostate cancer. **Cancer Res.**,67(16):7782-8.
- Kauppinen, T., Partanen, T., Degerth, R., Ojajärvi, A. 1995. Pancreatic cancer and occupational exposures. **Epidemiology**, 6:498-502
- Khader, M, Bresgen, N, Eckl, P. M. 2009. In vitro toxicological properties of thymoquinone. **Food Chem Toxicol.**, 47(1): 129-133.
- Khan, M. A. 1999. Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. **Inflammopharmacology**, 7(1): 15-35.
- Khan, A, Chen, H, Tania, M and Zhang, D. 2011. Anticancer Activities of *Nigella sativa* (black cumin) **Afr J Tradit Complement Altern Med.**, 8(S):226-232.
- Khorana, A. A, Fine, R. L.2004. Pancreatic cancer and thromboembolic disease. **Lancet Oncol.**, 5:655.
- Kıralan M. 2006. Ayçiçek yağının oksidatif stabilitesi üzerine ısırgan (*Urtica dioica*), keten (*Linum usitatissimum*), kişniş (*Coriandrum sativum*) ve çörekotu (*Nigella sativa*) tohum ekstraktlarının etkileri. Ankara, Ankara Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.
- Kloppel, G., Kosmahl, M., Luttges, J., 2005. Intraductal neoplasms of the pancreas: Cystic and common. **Pathologe.**, 26:31–6.
- Klöppel, G., Klimstra, D. 2007. Tumors of the exocrine pancreas. In: Fletcher CDM (ed). Diagnostic histopathology of tumors. 1st.edition. China: Elsevier;463-470.
- Koorstra, J. B., Hustinx, S. R., Offerhaus, G.J., Maitra, A. 2008. Pancreatic carcinogenesis. **Pancreatology**, 8:110-25.
- Korc, M., 1998. Role of growth factors in pancreatic cancer. *Surg Oncol Clin N Am*, 7:25-41.
- Kosmahl, M., Pauser, U., Peters, K., Sipos, B., Lüttges, J., Kremer, B., Klöppel, G., 2004. Cystic neoplasms of the pancreas and tumor-like lesions with cystic features: a review of 418 cases and a classification proposal. **Virchows Arch.**, 445:168–78.
- Kraft, T.E., D. Parisotto, C. Schempp and T. Efferth. 2009. Fighting cancer with red wine? Molecular mechanisms of resveratrol. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, 49: 782–799.
- Kumar, V., Cotran, S.R. and Robbins, S.L., 2003. Robbins Basic Pathology. Nobel Tıp Kitabevleri, 166-210. Philadelphia.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Aster, J. C., Neoplasia. 2015 .In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC (eds.) Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 9th ed. Philadelphia, Elsevier, 265-340.

- Kuzumaki, T., Kobayashi, T., Ishikawa, K. 1998. Genistein induces p21(Cip1/WAF1) expression and block the G1 to S phase transition 121 in Mouse fibroblast and melanoma cells. **Biochem Biophys Res Commun.**, 251:291-95.
- Lang, M., Borgmann, M., Oberhuber, G., Evstatiev, R., Jimenez, K., Dammann, K. W., Jambrich, M., Khare, V., Campregher, C., Ristl, R., Gasche, C. 2013. Thymoquinone attenuates tumor growth in ApcMin mice by interference with Wnt-signaling. **Mol Cancer**, 12, 41.
- Larsson, S. C., Orsini, N., Wolk, A., 2007. Body mass index and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. **Int J Cancer**, 120:1993–98.
- Lhoste, E.F., Roebuck, B. D., Stern, J. E., Longnecker, D. S., 1987. Effect of orchietomy and testosterone on the early stages of azaserine-induced pancreatic carcinogenesis in the rat. **Pancreas**, 2(1): 38-43.
- Lilja, S. H., Hyde, E., Longnecker, S. D., Yager, D. J., 1977. DNA Damage and Repair in Rat Tissues following Administration of Azaserine. **Cancer Res.**, 37: 3925–3931.
- Longnecker, D. S. and Curphey, T. J. 1975. Adenocarcinoma of the Pancreas in Azaserine-treated Rats. **Cancer Research**, 35: 2249-2258.
- Longnecker, D.S., Roebuck, B.D., Yager, J.D., Lilja, H.S. and Siegmund B., 1981. Pancreatic carcinoma in azaserine-treated rats: Induction, classification and dietary modulation of incidence. **Cancer**, (47): 1562-1572.
- Longnecker, D. S. 1984. Lesions induced in rodent pancreas by azaserine and other pancreatic carcinogens. **Environ. Health Perspect.** 56: 245-251.
- Longnecker, D. S., Karagas, M. R., Tosteson, T. D., et al. 2000. Racial differences in pancreatic cancer: comparison of survival and histologic types of pancreatic carcinoma in Asians, blacks, and whites in the United States. **Pancreas**. 21:338-43.
- Lowenfels, A. B., Maisonneuve, P., DiMagno, E. P., et al. 1997. Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group. **J. Natl Cancer Inst.**, 89:442-6.
- Lowenfels, A. B., Maisonneuve, P. 2004. Epidemiology and prevention of pancreatic cancer. **Jpn J Clin Oncol.**, 34:238-44.
- Lowenfels, A. B., Maisonneuve, P. 2005. Risk factors for pancreatic cancer. **J. Cell Biochem.**, 95:649-56.
- Lowenfels, A. B., Maisonneuve, P. 2006. Epidemiology and risk factors for pancreatic cancer. **Best Prac Res Clin Gastroenterol.**, 20(2):197.
- Lynch, H. T., Lanspa, S. J., Fitzgibbons, R. J. Jr., Smyrk, T., Fitzsimmons, M. L., McClellan, J. 1989. Familial pancreatic cancer (Part 1): **Genetic pathology review**, *Nebr Med J* 74, 109-12.
- Lyons, D. S., Sant, E. M., Christopherson, I. R., 1990. Cytotoxic Mechanisms of Glutamine Antagonists in Mouse L1210 Leukemia. **The Journal of Biological Chemistry**, 265: 11377–113.
- Mansour, M. A. 2000. Protective effects of thymoquinone and desferrioxamine against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in mice. **Life Sci.**, 66(26): 2583-2591.
- Mansour, M, Tornhamre, S. 2004. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene C4 synthase in human blood cells by thymoquinone. **J Enzyme Inhib Med Chem.**, 19(5): 431-436.
- McCubrey, J. A., Steelman, L. S., Chappell, W. H., Abrams, S. L., Wong, E. W., Chang, F., Lehmann, B., Terrian, D. M., Milella, M., Tafuri, A., Stivala, F.,

- Libra, M., Basecke, J., Evangelisti, C., Martelli, A. M., Franklin, R. A., 2007. Roles of the Raf/MEK/ ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1773:1263–84.
- Menteş, 1976. Klinik Gastroenteroloji. 3. Baskı. İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 475s.
- Meszoely, I. M., Means, A. L., Scoggins, C. R., Leach, S. D. 2001. Developmental aspects of early pancreatic cancer. **Cancer J.**, 7:242-50.
- Moodie, 1923, Palaepathology, Urbana; Univ. Ill.press.
- Motaghd, M., Al-Hassan, F. M., Hamid, S. S. 2014. Thymoquinone regulates gene expression levels in the estrogen metabolic and interferon pathways in MCF7 breast cancer cells. **International Journal of Molecular Medicine**, 33:8-16.
- Mutabagani A, E.- S.A.M. El-Mahdy. 1997. A study of the anti-inflammatory activity of Nigella sativa L. and thymoquinone in rats. **Saudi Pharmaceut J.**, 5:110-113.
- Nickavar, B, Mojab, F, Javidnia, K, Amoli, M. A. 2003. Chemical composition of the fixed and volatile oils of Nigella sativa L. from Iran. **Z Naturforsch C.**, 58(9-10): 629-631.
- Nkondjock A, Krewski D., Johnson KC., Ghadirian P., 2005. Dietary patterns and risk of pancreatic cancer. **Int J Cancer**, 114, 817-23.
- Nowell, P.C., 1976, The Clonal Evaluation of Tumour Cell Populations, **Sci.**, 194:23-28.
- Olson, S. H., Chou, J. F., Ludwig, E., O'Reilly, E., Allen, P. J., Jarnagin, W. R., Bayuga, S., Simon, J., Gonen, M., Reisacher, W. R., Kurtz, R. C., 2010. Allergies, obesity, other risk factors and survival from pancreatic cancer. **Int. J. Cancer**, 127: 2412-9.
- Omary, M. B., Lugea, A., Lowe, A. W. and Pandol, S. J. 2007. The pancreatic stellate cell: a star on the rise in pancreatic diseases. **Journal of Clinical Investigation**, 117:50-59.
- Özkan, H. 1999. Pankreas Kanserinde son gorusler. Klinik Bilimler ve Doktor, 5:598-606
- Özkan H, Öztürk H. 2000.Pankreas kanserinde epidemiyoloji ve risk faktorleri. MNKlinik Bilimler ve Doktor,6(1):39-43.
- Öztürk, S. A., Alp, E., Yar Saglam A. S., Konac, E., Menevse, E. S. 2018. **J Cancer Res Ther.**, 14(2):328-334.
- Pai, M, Spalding, D, 2015. Pancreatic cancer. **Medicine**. 43(6): 329-333.
- Pandita, A., Kumar, B., Manvati, S., Vaishnavi, S., Singh, S. K., Bamezai, R. N. 2014. **PLoS One**. Sep 8;9(9).
- Pari, L, Sankaranarayanan, C. 2009. Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. **Life Sci.**, 85(23-26): 830-834.
- Pernick, N. L., Sarkar, F. H., Philip, P. A. et al. 2003. Clinicopathologic analysis of pancreatic adenocarcinoma in African Americans and Caucasians. **Pancreas**, 26:28-32.
- Prasad, S. K. R., Zeng, R., Smyrk, T. C., 2009. Epidemiology and genetics of pancreatic cancer. In: Reznick RH (ed) Pancreatic cancer. 1st.edition New York: Cambridge University;1-17.
- Ragheb, A, Attia, A, Eldin, W. S, Elbarbry, F, Gazarin, S, Shoker, A. 2009. The protective effect of thymoquinone, an anti-oxidant and anti-inflammatory

- agent, against renal injury: a review. **Saudi J Kidney Dis Transpl.**, 20(5): 741-752.
- Ramadan, M. F. 2007. Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*N sativa*) L. London, **Int J Food Sci Tech.**, 10(42): 1208-1218.
- Ramazzini, B., 1713, *De Morbis Artificum (Disease of Workers)*, Univ. Of Chicago Press, Chicago.
- Randhawa, M. A, Al-Ghamdi, M. S. 2002. A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*. **J Med Res.**, 41(2): 77-83.
- Relles, D., Chipitsyna, G. I., Gong, Q., Yeo, C.J., Arafat, H. A. 2016. Thymoquinone Promotes Pancreatic Cancer Cell Death and Reduction of Tumor Size through Combined Inhibition of Histone Deacetylation and Induction of Histone Acetylation. **Adv. Prev Med.**, 1407840. doi: 10.1155/2016/1407840.
- Risch, H. A., Yu, H., Lu, L., Kidd, M. S. ABO blood group, 2010. Helicobacter pylori seropositivity, and risk of pancreatic cancer: a case-control study. **J Natl Cancer Inst.**, 102(7):502.
- Roebuck, B. D., Yagert, J.D., Longnecker, D.S. and Wilpone, S.A., 1981. Promotion by unsaturated fat of azaserine-induced pancreatic carcinogenesis in rat. **Cancer Res.**, (41): 3961-3966.
- Roepke, M, Diestel, A, Bajbouj, K, Walluscheck, D, Schonfeld, P, Roessner, A, Schneider-Stock, R, Gali-Muhtasib, H. 2007. Lack of p53 augments thymoquinone-induced apoptosis and caspase activation in human osteosarcoma cells. **Cancer Biol Ther.**, 6(2): 160-169.
- Rooney, S., Ryan, M. F., 2005. Effects of alpha-hederin and thymoquinone, constituents of *Nigella sativa*, on human cancer cell lines. **Anticancer research**, 25:2199-2204
- Rosewicz, S., Wiedenmann, B. 1997. Pancreatic carcinoma. **Lancet.** 349:485-9.
- Rovasio AR, 2010. Development and structure of the pancreas. **Pancreatic cancer.** USA: Springer, p. 27-38.
- Salem, M. L. 2005. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. **Int Immunopharmacol.**, 5(13-14): 1749-1770.
- Salim, L. Z., Mohan, S., Othman, R., Abdelwahab, S. I., Kamalidehghan, B., Sheikh, B. Y., Ibrahim, M. Y. 2013. Thymoquinone induces mitochondria-mediated apoptosis in acute lymphoblastic leukaemia in vitro. **Molecules**, 18:11219-11240.
- Sayed, A. A. R, Marcos, M. 2007. Thymoquinone decreases AGE-induced NFkB activation in proximal tubular epithelial cells. **Phytotherapy Res.**, 21(9): 898-99.
- Seçmen, Ö, Gemici, Y, Görk, G, Bekat, L, Leblebici, E. 2004. Tohumlu Bitkiler Sistemetiği (Ders Kitabı). İzmir, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları No:116.
- Sethi, G., Ahn, K. S., Aggarwal, B. B. 2008. Targeting nuclear-kappa B activation pathway by thymoquinone: role in suppression of antiapoptotic gene products and enhancement of apoptosis. **Mol Cancer Rev.**, 6 (6): 1059-70.
- Schonleben, F., Qiu, W., Remotti, H. E., Hohenberger, W., Su, G. H., 2008. PIK3CA, KRAS, and BRAF mutations in intraductal papillary mucinous

- neoplasm/carcinoma (IPMN/C) of the pancreas. **Langenbecks Arch Surg.**, 393:289–96.
- Schutte, M., Hruban, R. H., Hedrick, L., Cho, K. R., Nadasdy, G. M., Weinstein, C. L., Bova, G. S., Isaacs, W. B., Cairns, P., Nawroz, H., Sidransky D., Casero, R. A. Jr, Meltzer, P. S., Hahn, S. A., Kern, S. E., 1996. DPC4 gene in various tumor types. **Cancer Res.**, 56:2527–30.
- Schwartz, G. G., Reis, I. M. 2000. Is cadmium a cause of human pancreatic cancer? **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, 9:139-45.
- Shi, X., Friess, H., Kleeff, J., Ozawa, F., Buchler, M. W., 2001. Pancreatic cancer: Factors regulating tumor development, maintenance and metastasis. **Pancreatol.**, 1:517-24.
- Shimkin, M.B., 1977, As memory serves-an informal History of the National Cancer Institute, 1937-57, **J. Nat. Cancer Inst.**, 59:559-600.
- Shoieb, A. M., Elgayyar, M., Dudrick, P. S., Bell, J. L., Tithof, P. K. 2003. In vitro inhibition of growth and induction of apoptosis in cancer cell lines by thymoquinone. **International journal of oncology**, 22, 107-113.
- Silverman, D. T., Hoover, R. N., Brown, L. M., Swanson, G.M., Schiffman, M., Greenberg, R. S., Hayes, R. B., Lillemoe, K. D., Schoenberg, J. B., Schwartz, A. G., Liff, J., Pottern, L. M., Fraumeni, J. F. Jr. 2003. Why do Black Americans have a higher risk of pancreatic cancer than White Americans? **Epidemiology**, 14, 45-54.
- Singh, D, Upadhyay, G, Srivastava, R. K, Shankar, S, 2015. Recent advances in pancreatic cancer: biology, treatment, and prevention. **Biochim Biophys Acta.**, 1856:13-27.
- Slack, J. M., 1995. Developmental biology of the pancreas. *Development*, 121:1569-80.
- Smith, E. L., Hill, R.L., Lehman, I.R., Lefkowitz, R.V., Handler, P. and White, A., 1983. Metabolism of purine and pyrimidine nucleotides *Principles of Biochemistry: General Aspects*. 7th edition 674-675.
- Stock, R. S, Fakhoury, I. H, Zaki, A. M, El-Baba, C. O. and Gali-Muhtasib, H. U. 2014. Thymoquinone: fifty years of success in the battle against cancer models. **Drug Discovery Today**, 19.
- Tan, M, Nowood, A, May, M, Tucci, M, Benghuzzi, H. 2006. Effects of (-) epigallocatechin gallate and thymoquinone on proliferation of a PANC-1 cell line in culture. **Biomedical Sciences**, 42: 363-71.
- Tascilar, M., Van Rees, B. P., Sturm, P.D., 2002. Pancreatic cancer after remote peptic ulcer surgery. **J. Clin. Pathol.**, 55:340-5.
- Tersmette, A. C., Petersen, G. M., Offerhaus, G. J. A., 2001. Increased risk of incident pancreatic cancer among first-degree relatives of patients with familial pancreatic cancer. **Clin. Cancer Res.**, 7:738
- Vainio, H., Magee, P., Mc Gregor, D., Mc Michael, A. J., 1992, Mechanisms of Carcinogenesis In Risk Identification. Lyon.
- Van Heek, N. T., Meeker, A. K., Kern, S. E., et al. 2002. Telomere shortening is nearly universal in pancreatic intraepithelial neoplasia. **Am J Pathol.**, 161:15417.
- Wang, F., Gupta, S., Holly, E. A. 2006. Diabetes mellitus and pancreatic cancer in a population-based case-control study in the San Francisco Bay Area, California. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, 15(8):1458.
- Warshaw, A. L. and Castillo, C. F.d. 1992. Pancreatic carcinoma. **New England Journal of Medicine**, 326, 455-465.

- White, M. C., Holman, D. M., Boehm, J. E., Peipins, L. A., Grossman, M., Henley, S. J. 2014. Age and cancer risk: a potentially modifiable relationship, **Am J Prev Med.**, 46:7-15.
- Wilde, R. F., Hruban, R. H., Maitra, A., 2012. Reporting Precursors To Invasive Pancreatic Cancer: Pancreatic Intraepithelial Neoplasia, Intraductal Neoplasms And Mucinous Cystic Neoplasm. **Diagn Histopathol.**, 18, 17–30.
- Winter, J. M., Maitra, A., Yeo, J. C. 2006. Genetics and pathology of pancreatic cancer. **HPB (Oxford)**, 8:324-36.
- Virchow, R., 1858, Die Cellularpathologie, Berlin.
- Wirries, A., Breyer, S., Quint, K., Schobert, R., Ocker, M., 2010. Thymoquinone hydrazone derivatives cause cell cycle arrest in p53-competent colorectal cancer cells. **Experimental and Therapeutic Medicine**, 1:369-375.
- Wolff, J., 1907, Die lehre von der Krebskrankheit von den ältesten Zeiten bis zur Gegenwart, Jena Germany, pp.3.
- Woo, C. C., Kumar, A.P., Sethi, G., Tan. K.H.B. 2012. Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer. **Biochemical Pharmacology**, 83(4): 443-51.
- Woo, C. C., Hsu, A., Kumar, A. P., Sethi, G., Tan, K. H. 2013. Thymoquinone inhibits tumor growth and induces apoptosis in a breast cancer xenograft mouse model. **PLoS One**, 2013 Oct 2;8(10) doi: 10.1371/journal.pone.0075356.
- World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. 2007. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC, **AICR**, 30-48.
- Worthen, D., Ghosheh, O., and Crooks, P., 1997. An in vitro evaluation of the antineoplastic activity of some crude and pure constituents of black seed, *Nigella sativa*. **Pharmaceutical Research**, 14:386.
- Worthen, D. R., Ghosheh, O. A, Crooks, P. A. 1998. The in vitro anti-tumor activity of some crude and purified components of blackseed, *Nigella sativa* L. **Anticancer Res.**, 18(3A):1527-32.
- Wu, Z. H., Chen, Z., Shen, Y., Huang, L. L., Jiang, P., 2011. Anti-metastasis effect of thymoquinone on human pancreatic cancer, **Yao Xue Bao**, 46(8):910-4.
- Yi, T., Cho, S. G., Yi, Z., Pang, X., Rodriguez, M., Wang, Y. Sethi, G., Aggarwal, B. B., Liu, M. 2008. Thymoquinone inhibits tumor angiogenesis and tumor growth through suppressing AKT and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. **Molecular cancer therapeutics**, 7,:1789-1796.
- Yıldız, H., Koç, A., Öztas, H., Yıldız, D. 2008. Inhibitory effects of aspirin on azaserine initiated rat pancreatic carcinogenesis, **Indian Veterinary Journal**, (85): 187-190
- Yıldız, F., Coban, S, Terzi, A, Ates, M, Aksoy, N, Cakir, H, Ocak, A. R, Bitiren, M. 2008. *Nigella sativa* relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. **World J Gastroenterol.**, 14(33): 5204-5209.
- Yıldız, D., Atli M., Yıldız, H. ve Öztas, H, 2010. The effect of azaserine on cysteine transport in Erythrocytes. **Trakia Journal of Sciences**, (8): 1-10.
- Yıldız, H., Kalıpcı, E., Yener, Y., Öztas, H., 2012. Investigation of Possible Ecotoxic Effects of Acrylamide on Liver with the Azaserine-Rat Model. **Polish Journal of Environmental Studies**, (21): 5

- Yıldız, H., Yener, Y., Kalıpçı, E., Öztaş, H., Aydın, A.D., 2013. Possible neoplastic effects of acrylamide on rat exocrine pancreas. **Biotechnic and histochemistry**, (88): 47-53
- Yıldız, H., Kalıpçı, E., Öztaş, H., Yıldız, D., 2019. Effects of acetylsalicylic acid on rats: An in vivo experimental study in azaserine-rat model. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, (15): 6-236
- Zamboni, G., Scarpa, A., Bogina, G., 1999. Mucinous cystic tumors of the pancreas: Clinicopathological features, prognosis, and relationship to other mucinous cystic tumors. **Am J Surg Pathol.**, 23:410–22.



ÖZGEÇMİŞ

16.05.1990 tarihinde Mersin’de doğdum. Adana Atatürk Lisesi’nden mezun oldum. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünden 2015 yılında mezun oldum ve aynı yıl Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans programına başladım.

