



**MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AZASERİN-SIÇAN MODELİNDE ASETİLSALİSİLİK ASİTİN EKZOKRİN  
PANKREAS ASİNAR HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN VE SERBEST  
İLE PROTEİNE BAĞLI TİYOL DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**HASAN YILDIZ**

**DOKTORA TEZİ**

**ANTAKYA/HATAY**

**EYLÜL-2010**

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

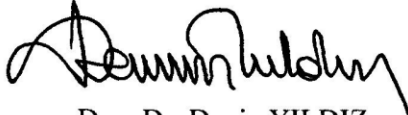
AZASERİN-SIÇAN MODELİNDE ASETİLSALİSİLİK ASİTİN EKZOKRİN  
PANKREAS ASİNAR HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN VE SERBEST İLE  
PROTEİNE BAĞLI TİYOL DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI

HASAN YILDIZ

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Doç. Dr. Deniz YILDIZ ve Prof. Dr. Haydar ÖZTAŞ danışmanlığında hazırlanan bu tez 13/09/2010 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Deniz YILDIZ  
Baskan



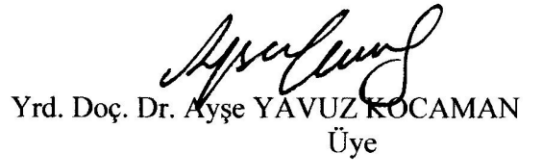
Doç. Dr. Ahmet KOÇ  
Üye



Doç. Dr. M. Nisa ÜNALDI CORAL  
Üye



Yrd. Doç. Dr. Eröl ATAY  
Üye



Yrd. Doç. Dr. Ayşe YAVUZ KOCAMAN  
Üye

Bu tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Necat AĞCA  
Enstitü Müdürü  
İmza ve Mühür

Bu çalışma M.K.Ü.-BAP tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 07 M 0301

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

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kanser.....	3
1.2. Pankreas kanserinin histolojik gelişimi.....	5
1.3. Pankreatik Asinar Hücrelerde Gözlenen Neoplastik Değişimler.....	7
1.4. Erken asinar hücre değişimleri.....	7
1.5. Bazofilik atipikal asinar hücre odakları.....	8
1.6. Asidofilik atipikal asinar hücre odakları.....	9
1.7. Asinar Hücre Nodülleri ve Adenoması.....	9
1.8. Asinar Hücre Karsinoması.....	10
1.9. Kanalsı (duct-like) lezyonlar.....	10
1.10. Kendiliğinden (Spontan) Gelişen Tümörler.....	11
1.11. Azaserin.....	11
1.12. Tiyoller.....	14
1.13. Tiyoller ve Kanser.....	15
1.14. Glutatyon.....	16
1.15. NSAİİ'lar ve ASA.....	20
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1. Materyal.....	29
3.1.1. Deney Hayvanları.....	29
3.1.2. Kimyasallar ve Cihazlar.....	30
3.2. Yöntem.....	31
3.2.1. Doku Örneklerinin Alınması.....	31
3.2.2. Doku Homojenatlarının Hazırlanması.....	31
3.2.3. Dokulardan serbest –SH ve proteine bağlı –SH ölçümleri.....	31

3.2.4. Homojenizasyon.....	32
3.2.5. Serbest –SH ölçümü.....	32
3.2.6. Total –SH ölçümü.....	32
3.2.7. İstatistiksel Analiz.....	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	34
4.1. Araştırma Bulguları.....	34
4.1.1. Vücut Ağırlıkları.....	34
4.1.2. Pankreas Ağırlıkları.....	34
4.1.3. Karaciğer Ağırlıkları.....	35
4.1.4. Böbrek Ağırlıkları.....	35
4.1.5. Histoloji Bulguları.....	35
4.1.5.1. Sıçan Pankreaslarının Histopatolojik ve Kantitatif Analizleri.....	44
4.1.5.2. Atipik Asinar Hücre Fokusları (AAHF) ve Bunların Kantitatif analizleri.....	48
4.1.6. Biyokimya Bulguları.....	40
4.2. Tartışma.....	61
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	65
KAYNAKLAR.....	66
TEŞEKKÜR.....	71
ÖZGEÇMİŞ.....	72
EKLER.....	73
EK 1. Ayrıntılı istatistiksel veriler.....	73

## ÖZET

## AZASERİN-SIÇAN MODELİNDE ASETİLSALİSİLİK ASİTİN EKZOKRİN PANKREAS ASINAR HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN VE SERBEST İLE PROTEİNE BAĞLI TIYOL DEĞERLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Kanser, çağımızda insan hayatını büyük ölçüde tehdit eden önemli bir hastalıktır. Kanserin oluşumu, yayılması ve önlenmesi için birçok deneysel, klinik ve epidemiyolojik araştırmalar yapılmıştır. Önceden yapılmış çalışmalarda asetilsalisilik asitin gastrointestinal sistemdeki neoplastik değişimler üzerinde kimyasal koruyucu etkilerinin varolabileceği belirtilmiştir.

Çalışmamızda azaserin sıçan-modelinde asetilsalisilik asitin (ASA), ekzokrin pankreas ve serbest -SH ile proteine bağlı -SH konsantrasyonları üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Azaserin uygulamasının neden olduğu kanserogenesizin hücrel sülfidril içeriklerinin değişip değişmediği ve/veya ASA uygulaması sonucu hücrel sülfidril içeriğinin önemli bir şekilde etkilenip etkilenmediğini ortaya çıkarmak için ASA ve azaserin uygulanmış sıçanlarda serbest -SH ile proteine bağlı -SH değerlerinin değişimleri saptanmıştır.

Azaserin enjekte edilmiş sıçanlarda asetilsalisilik asitin düşük (200 ppm) ve yüksek (400 ppm) dozajlarının kısa (6 ay) ve uzun (12 ay) süreli etkileri incelenmiştir. Azaserin-sıçan modelinde oluşturulan pankreatik atipik asinar hücre fokus (AAHF) miktar, hacim ve çaplarında, asetilsalisilik asit uygulaması sonucunda bir azalma meydana geldiği görülmüştür.

Elde edilen sonuçlara göre ortalama fokus çapları (mm) 6 aylık periyotta şu şekildedir; azaserin ( $0,164 \pm 0,002$ ), azaserin ASA200 ppm ( $0,135 \pm 0,004$ ) azaserin ASA 400 ppm ( $0,149 \pm 0,007$ ), aynı parametredeki değerler 12 aylık periyotta şu şekildedir; azaserin ( $0,252 \pm 0,020$ ), azaserin ASA200 ppm ( $0,197 \pm 0,022$ ) azaserin ASA 400 ppm ( $0,154 \pm 0,016$ ).

-SH içeriğindeki değişimler karaciğer, pankreas ve böbrekte belirlenmiştir. Diğer dokular ile karşılaştırıldığı zaman karaciğerin en yüksek serbest ve proteine bağlı -SH değerlerini içerdiği gözlemlendi.

Elde ettiğimiz histolojik ve biyokimyasal bulgular yapılan önceki çalışmaları destekler niteliktedir. Sonuç olarak asetilsalisilik asitin, azaserin-sıçan modelinde ekzokrin pankreas asinar hücrelerinde meydana getirilen neoplastik değişimler üzerinde önleyici etkisi olduğunu öne sürmek mümkün görünmektedir.

2010, 82 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Azaserin, Asetilsalisilik asit, AAHF, Tiyoller

**ABSTRACT****INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ACETYLSALICYLIC ACID ON THE EXOCRIN PANCREATIC ACINAR CELLS AND ON THE FREE AND PROTEIN BOUND THIOL LEVELS IN RATS TREATED WITH AZASERINE**

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 acetylsalicylic acid (ASA) on neoplastic changes in the gastrointestinal systems.

The aim of this study was to investigate the effects ASA on the exocrin pancreatic acinar cells in rats treated with azaserine. The changes in free- and protein bound-SH levels were also determined in ASA and azaserine exposed rats to find out if cellular sulfhydryl contents change significantly during azaserine induced carcinogenesis and/or ASA treatment significantly effects the cellular sulfhydryl content.

We investigated the effects low (200 ppm) and high (400 ppm) dosage of ASA on rats treated with azaserine in short ( 6 months) and long (12 months) term periods. Results have shown that the number of pancreatic atypical acinar cell foci, the diameter and the volume decreases with application of ASA on the azaserine-rat model.

According to the results the mean foci diameters (mm) in 6 months period were as the following; azaserine ( $0,164 \pm 0,002$ ), azaserine ASA200 ppm ( $0,135 \pm 0,004$ ) azaserine ASA 400 ppm ( $0,149 \pm 0,007$ ). The values for the same parameter obtained over the 12 months period were as the following; azaserine ( $0,252 \pm 0,020$ ), azaserine ASA 200 ppm ( $0,197 \pm 0,022$ ) azaserine ASA 400 ppm ( $0,154 \pm 0,016$ ).

Changes in sulfhydryl contents were determined in the liver, the pancreas and in the kidney. It was observed that the liver contained the highest free and protein bound -SH levels compared to other tissues.

Histological and Biochemical findings which we obtained in our study are in accord with the previous studies. In conclusion, it is possible to suggest that ASA might be chemopreventive agent for pancreatic neoplastic development.

2010, 82 pages

**Key Words:** Azaserine, Acetylsalicylic Acid, AACF, Thiols

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAHF	: Atipik asinar hücre fokusu (Atypical acinar cell foci, AACF)
AACN	: Atipik asinar hücre nodülü
ASA	:Asetilsalisilik asit (Aspirin)
Az6	:Azaserin uygulanan ve 6 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
Asp206	:Yalnızca 200 ppm asetilsalisilik asit verilen ve 6 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
As406	:Yalnızca, 400 ppm asetilsalisilik asit verilen ve 6 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
AzAs206	:Azaserin uygulanan, 200 ppm asetilsalisilik asit verilen ve 6 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
AzAs406	:Azaserin uygulanan, 400 ppm asetilsalisilik asit verilen ve 6 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
Az12	:Azaserin uygulanan ve 6 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
As212	:Yalnızca 200 ppm asetilsalisilik asit verilen ve 12 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
As412	:Yalnızca 400 ppm asetilsalisilik asit verilen ve 12 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
AzAs212	:Azaserin uygulanan, 200 ppm asetilsalisilik asit verilen ve 12 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
AzAs412	:Azaserin uygulanan, 400 ppm asetilsalisilik asit verilen ve 12 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
COX	:Siklooksigenaz- 1 Siklooksigenaz- 2
DMBA	: 7,12-dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene
DMH	: 1,2-dimethylhydrazine
DTNB	:5,5-Ditiobis (2-nitrobenzoik asit)
FAR	:Formylglycinamide ribotidel
GSH	:Glutatyon
GSH-Px	:Glutatyon peroksidaz
GSSG	:Okside glutatyon
GSSG –Rd	:Glutatyon redüktaz
HxE	: Hematoksilen Eozin histoloji boyama tekniği.
Kon6	:Standart sıçan yemi ile beslenen ve 6 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
Kon12	:Standart sıçan yemi ile beslenen ve 12 ay deney süresine sahip deney hayvanlarına ait grup
NAC	:N-asetil-L- sistein
NSAİİ	:Steroid olmayan yangı önleyici ilaçlar (Non-Steroid Anti Inflammatory Drugs –NSAID's)
PG	: Prostaglandin ve türevleri (Örneğin (PGE <sub>2</sub> , PGF <sub>2</sub> , PGI <sub>2</sub> ve TXA <sub>2</sub> )
SOD	:Süperoksit dismutaz
-SH	:Tiyol grubu
TCA	:Triklorasetik asit
TBARS	:Tiobarbitürikasitle reaksiyonlaflan maddeler
ROS	:Reaktif oksijen türleri

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Altı ve 12 ay deney süreleri uygulanmış deney gruplarına ait sıçanların ortalama vücut ağırlıkları ile pankreas, karaciğer ve böbrek ağırlıkları (Ortalama  $\pm$  Standart Sapma).

Çizelge 4.2. Azaserin enjeksiyonu ile meydana getirilmiş AAHF'ları üzerinde ASA'in inhibisyon etkisinin karşılaştırılması amacıyla tüm gruplara ait kantitatif fokus değerleri (Ortalama değer  $\pm$  standart sapma)



## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.1. Ekzokrin pankreas kanserinin oluşum mekanizmaları (Longnecker, 1984).
- Şekil 1.2. Neoplastik değişimlere yol açtığı bilinen azaserinin açık formülü.
- Şekil 1.3. Araşidonik asit mekanizması ve ASA'in etki ettiği metabolik basamak (Marnett, 1992)
- Şekil 1.4. Glutasyonun glutamik asit, sistein ve glisinden oluşum yolu
- Şekil 1.5. ASA ve bazı çok bilinen NSAİİ'ler ve açık formülleri (Mehanna, 2003 değiştirilerek)
- Şekil 1.6. ASA yapısında bulunan asetil grubu ile prostaglandin sentetaz enziminin birbirine bağlanarak inhibisyon etkisini göstermesi (Marnett, 1992).
- Şekil 4.1. Herhangi bir uygulamaya tabi tutulmamış kontrol grubu sıçanlara ait pankreas asinar hücreleri. Langerhans adacıkları görünümü (★), HxE.
- Şekil 4.2. Az6 grubu sıçan pankreasına belirgin sınırları olan sahip asidofilik özellikte AAHF'u (kesikli çizgiler) ve farklı gelişim hızına sahip diğer bir AAHF (★) görünümü, HxE.
- Şekil 4.3. Az6 grubu sıçanların asinar hücrelerinde oluşan ve lob yapısında meydana belirgin bozulmaların görünümü (★), HxE.
- Şekil 4.4. Az12 grubu bireylerin pankreaslarında görülen bir AAHF. Belirgin olarak etrafındaki sağlıklı dokudan ayrılabilen, sınırları belirgin ve invazif karakterde olmayan bir görünüme sahiptir (kesikli çizgiler) HxE.
- Şekil 4.5. Az12 grubu sıçanların pankreaslarında görülen bir AAHF (kesikli çizgiler), HxE.
- Şekil 4.6. Az12 grubu sıçanların pankreaslarında sağlıklı asinar hücreler (ok) ile bir arada görülen, hasarlı asinar hücre topluluğu ve salgı kanalları içeren lob yapısı görünümü (X), HxE.
- Şekil 4.7. AzAs206 grubu sıçanlara ait belirgin bir sınırı olan ancak invazif karakterde olmayan 12 aylık azaserin gruplarına göre daha küçük bir AAHF (kesikli çizgiler), HxE.

- Şekil 4.8. AzAs406 grubu sıçanların normal asinar hücreleri (A) ve azaserin uygulaması sonucu doku hasarı meydana gelmiş lob yapıları (B ve C), HxE.
- Şekil 4.9. AzAs406 grubu sıçanlarda azalan zimojen granül sayısı nedeniyle solgun görünüme sahip bazofilik fokus (kesikli çizgiler), HxE.
- Şekil 4.10. Sitoplazma içerisindeki azalan zimojen granülleri, fokusların sağlam dokulara göre daha soluk boyanmış bir görünüme sahip olmasını sağlamıştır. AzAs212 grubuna ait bazofilik fokus (kesikli çizgiler), HxE.
- Şekil 4.11. Zimojen granül yünden zengin, asidofilik boyanmış bir AAHF (AzAs412 grubu) (kesikli çizgiler), HxE.
- Şekil 4.12. Deney hayvanları vücut ağırlıkları.
- Şekil 4.13. Deney hayvanları pankreas ağırlıkları.
- Şekil 4.14. Deney hayvanları karaciğer ağırlıkları.
- Şekil 4.15. Deney hayvanları böbrek ağırlıkları.
- Şekil 4.16. Karaciğerde 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen serbest –SH konsantrasyon değerleri.
- Şekil 4.17. Karaciğerde 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen proteine bağlı –SH konsantrasyonları değerleri.
- Şekil 4.18. Böbrekte 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen serbest –SH konsantrasyonları değerleri.
- Şekil 4.19. Böbrekte 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen proteine bağlı –SH konsantrasyon değerleri.
- Şekil 4.20. Pankreasta 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen serbest –SH konsantrasyon değerleri.
- Şekil 4.21. Pankreasta 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen proteine bağlı –SH konsantrasyonları değerleri.

## 1. GİRİŞ

Kanser, ölüm nedenleri arasında dünyada olduğu gibi ülkemizde de yüksek orana sahiptir. Türkiye’de kansere bağlı ölümler, enfeksiyon hastalıklarındaki gerilemenin de etkisiyle 1990 yılından itibaren kardiyovasküler sistem hastalıklarından sonra ikinci sıraya yükselmiştir (İzmirli ve ark., 2007). En sık görülen ölüm sebepleri arasında kanser %15'e yükselmiş ve %38 ile birinci sırada yer alan kalp ve damar hastalıklarından sonra en yaygın ölüm nedeni olduğu saptanmıştır (Şengelen, 2002).

Yalnızca ABD’de 2009 yılında 1.479.350 yeni kanser vakası ve kanserden toplam 562.340 ölümün meydana geldiği tahmin edilmektedir (Jemal ve ark., 2009). Bu durum ülkemizde gözlemlendiğinde 2000 yılı verilerine göre 33.419 (yüzbinde 49.29) kanser vakası olarak tespit edilmiştir. Bu vakalardan 19.982 si erkek (yüzbinde 58.18) 13.437 si kadın (yüzbinde 40.16) bireylerde olduğu görülmüştür (Hamzaoğlu ve Özcan, 2005). 2006 yılında yapılan bir başka çalışmaya göre ise her yıl dünyada 11 milyon, Türkiye’de ise 150 bin kişi kansere yakalanmaktadır. 2020 yılında bu rakamların yaklaşık yüzde 50 oranında artış göstereceği tahmin edilmektedir (Anonim, 2006). Pankreas kanseri, batı dünyasında en sık görülen beşinci kanser ölüm nedenidir ve 1997 yılında yaklaşık 26.700 Amerikalı’nın etkilediği rapor edilmiştir (Perugini ve ark., 2000).

Kanser kontrol edilemeyen büyüme ve anormal gelişime sahip hücrelerin yayılması ile karakterize olan bir hastalık grubudur. Kanser hem dış (sigara, enfekte edici organizmalar, kimyasal ve radyasyon) hem de içsel faktörler (kalıtsal mutasyonlar, hormonlar ve aktif metabolizma olayları sırasında oluşabilen mutasyonlar) tarafından meydana getirilebilir. Bu faktörler birlikte veya kendi başlarına kanserogenezi teşvik edebilir ya da başlatabilirler. Belirli kanserler, hepatit B virüsü (HBV), Human Papilloma virus (HPV), insan immün yetmezlik virüsü (HIV), *Helicobacter pylori* gibi enfeksiyöz ajanlara bağlıdır.

Oksidan stresin arttığı bilinen kanser gibi hastalıklarda, adaptif bir mekanizma ile antioksidan enzim aktivitelerinin de arttığı gösterilmiştir (İnci ve ark., 1998). Metabolizmaya etki eden dış faktörlerin yanı sıra endojen DNA hasarı spontan mutasyonlara katkı sağlamaktadır. Metillenmiş DNA bazları, DNA hasarına yol açacak

önemli bir etkiye bulunabilir ve çoğu hücre buna bağlı olarak DNA onarım yollarını kullanarak, metillenmiş bazları ortamdaki uzaklaştırarak hücreleri koruyabilir. İnsan hücrelerinde, guanin bazının metillenmesi ile oluşan O<sub>6</sub>-methylguanine (O<sub>6</sub>-meGua) bazının spesifik antioksidanlar tarafından demetilasyonu sayesinde DNA hasarının önlenmesi bilinmektedir (O'Driscoll ve ark., 1999).

Beslenme alışkanlıklarında meydana gelen hızlı değişim ile pankreas ve kalın barsak (kolon) kanserlerinin görülme sıklıklarında gözlenen artış arasında önemli bir ilişkinin olabileceği ortaya konmuştur (Öztaş, 1993; Langman ve Boyle, 1998). Epidemiyolojik çalışmalar, uzun süreli aspirin (asetilsalisilik asit, ASA) kullanımının özellikle kalın barsak (kolon) kanseri oluşum riskini yaklaşık % 50 oranında azaltabileceğini ortaya koymaktadır (Elder ve ark., 1997). Yapılan deneysel çalışmalar steroid olmayan anti-inflammatör etkiye sahip olan (NSAİİ) aspirinin sıçanlarda kolon kanseri oluşumunu azalttığını, bunun aspirinin siklooksijenaz-2 (cyclooxygenase-2 COX-2) enziminin inhibe etkisinden kaynaklandığı sanılmaktadır (Oshima ve ark., 1996; Kawamori ve ark., 1998). Kalın barsakta neoplastik gelişimlerin azalmasını, aspirinin COX enzimini asetilasyonla modifiye etmesinden kaynaklandığı öne sürülmüştür. Sindirim sistemine açılan bir bez olan ve kalın barsak ile aynı embriyonik kökenden gelişen ekzokrin pankreas asinar hücrelerinde deneysel olarak meydana getirilen neoplastik değişimlerin, asetilsalisilik asit tarafından nasıl etkilediği tam olarak bilinmemektedir. Aspirinin ekzokrin pankreas asinar hücrelerinde deneysel olarak meydana getirilen kanserogenesizde kolon kanserinde olduğu gibi herhangi bir inhibisyona sebep olup olmadığı da açık değildir (Rosenberg ve ark., 1991).

Kanserin tanısı ve tedavisi ile ilgili oldukça fazla çalışma yapılmış olmasına rağmen ekzokrin pankreas asinar hücrelerinde oluşan neoplastik değişimler üzerinde aspirinin inhibe edici etkileri hakkında yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır (Perugini ve ark., 2000; Langman ve ark., 2000; Kristin ve ark., 2002; Yıldız ve ark., 2008). Bu nedenle bu çalışma sonucunda elde edilecek sonuçlar; azaserinle muamele edilen sıçan dokularında serbest -SH ve proteine bağlı -SH miktarlarının belirlenmesine, bu gruplarının kanserogenesizde rolleri olup olmadığının anlaşılmasına ve ekzokrin pankreas kanserinin tedavisine yönelik bilgi edinilmesine imkan tanıyacaktır.

Bu çalışmanın amacı, Longnecker ve Curphey (1975) tarafından ilk defa kullanılan ve bugün oldukça iyi bilinen azaserin-sıçan modeli ile sıçan ekzokrin

pankreaslarında deneysel olarak neoplastik değişim meydana getirmek ve bu değişimler üzerinde asetilsalisilik asitin (ASA) neoplastik yapıların gelişimi üzerindeki muhtemel etkilerinin biyokimyasal ve histolojik teknikler yardımıyla araştırmaktır. Bu amaca yönelik olarak sıçan pankreaslarında neoplastik değişimler meydana getirmek için sıçanlara intra peritoneal (i.p.) azaserin enjeksiyonu yapılmıştır. Enjeksiyonları takip eden bir aylık süreçte ekzokrin pankreasta atipik asinar hücre odaklarının (AACF) oluşumu mümkün olup, bu değişimlerin mikroskopik olarak tespit edilebildikleri üçüncü aydan itibaren yemlerine asetilsalisilik asit eklenerek, asetilsalisilik asitin meydana getirilen bu neoplastik değişimler üzerindeki etkisinin ve serbest –SH ile proteine bağlı –SH gruplarına ait konsantrasyon değişimlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

### 1.1. Kanser

Latince '*Carcinos, carcinomas* = yengeç' anlamına gelen kanser, anormal bir şekilde hücre bölünmesi ile kendini gösteren ve hücre bölünmesi kontrol mekanizmalarının eksikliğinde veya hasarında hücrenin kontrolsüz bir şekilde çoğalması sonucu meydana gelen hastalıktır. Sonuç olarak meydana gelen neoplastik değişimler tümör meydana getirerek buldukları doku veya organın çalışmasını olumsuz bir şekilde etkiler (Holland ve Frei, 2003). Asıl görevini yapmaktan çok sürekli bölünerek artış gösteren ve aslında bir görevi olmayan bir hücreler kitlesi oluşur. Bu hücreler zamanla etrafındaki normal hücreler arasına sızarak veya onları sıkıştırarak büyümeye başlar. Oluşan bu hücre kitlesi, normal dokuların gelişmesini aşan, normal dokulara uyum göstermeyen ve kendisini oluşturan uyarının yok olması durumunda bile büyümeye devam eden anormal bir yapı olarak ortaya çıkar (Kumar ve ark., 2003). Kanser terimi ise, tüm kötü huylu tümörleri kapsayan genel bir deyimdir. Ancak her hücre çoğalması ile gelişen büyüme kansere sebep olmaz. Örneğin patolojik durumlarda görülen hücre büyümesi ve farklılaşması ile ilgili değişikliklerden bazıları; atrofi, hipertrofi, metaplazi ve displazi kanser özelliğine sahip değildir (Kumar ve ark., 2003). Atrofi hücrede meydana gelen madde kaybı sonucunda hücrenin küçülmesi olarak bilinir ve hücrenin yapısal elemanlarında sayısal ve fonksiyonel bir azalma söz konusudur. Hipertrofi ise mevcut hücrelerin boyutunda artışa bağlı olarak mevcut doku

veya organın boyutlarındaki bir artışa neden olur. Hipertrofi sonucu hücrelerde yapısal proteinlerin ve organellerin artan sentezi ile bu hücreler hacim olarak artış gösterirler. Hipertrofi de tıpkı atrofi gibi bir uyarıcı nedeni ile meydana gelen ancak neoplastik olmayan hücresel bir değişimdir. Metaplazi epitelyal veya mezankimal bir hücre tipinin yerini bir başka hücre tipinin aldığı ve geri dönüşümü mümkün olan bir değişimdir. Bu hücre büyümesi tipleri arasında geri dönüşümü en zor olanı displazi olup, displaziden geriye dönüş sınırlıdır. Displazinin bir basamak ilerisinde ise geriye dönüşün mümkün olmadığı neoplazi gelmektedir. Neoplazi, yeni büyüme anlamında kullanılmakta olup, normal doku ile koordine olmayan, değişime yol açan uyarıcı durduktan sonra bile büyümeye devam eden anormal bir doku kitlesi olarak tanımlanmaktadır. Neoplastik yapılar iyi huylu (benign) ve kötü huylu (malign) olmak üzere ikiye ayrılırlar. Benign tümörler bir dokunun belirli bölgesinde gelişmelerini sürdürürken, kötü huylu malign tümörler çevre dokulara baskı yapıp içlerine ilerlemesi (invazyon) ve vücudun başka doku ve organlarına yayılması (metastaz) ile kendilerini gösterirler ki kanser terimi bu tümörler için kullanılan genel bir terimdir (Kumar ve ark., 2003).

Kansere yol açan sebepler arasında çevresel faktörler, kimyasal maddeler, virüsler ve onkogenler önemli yer tutarlar. Bununla birlikte beslenme bozuklukları (vitaminler, lıfsız veya yağlı yiyecekler) sigara ve alkol kullanımı dokularda sonuçta kanser oluşumuna kadar ilerleyen değişimlerin meydana gelmesine sebep olabilir (Tannock ve Hill, 1992). Deneysel olarak azaserin enjeksiyonu ile meydana getirilen atipik asinar hücre odaklarının (AAHF) büyüme ve gelişmelerini teşvik edebilecek besinler arasında soya unu, yüksek lipit içerikli diyet ile beslenme ve steroid hormonları saymak mümkündür (Morgan ve ark., 1997; McGuinness ve ark., 1981; McGuinness ve ark., 1982). Kimyasal kanserojenlerin cinsiyet, yaş, yaşanan çevre ve mesleki sebepler gibi faktörlere bağlı olarak canlılarda farklı etkiye sahip oldukları bilinmektedir. Kimyasal kanserojenlerin dozu ve maruz kalma biçimi veya verilme şekli ile maruz kalma süresi de kanser oluşumunu etkileyen önemli etkenlerdir (Holland ve Frei, 2003).

DNA ve RNA virüslerinin de normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüşebilmesinde rol aldıkları bilinmektedir (Holland ve Frei, 2003). Enfekte olan hücrenin, hücre bölünmesini kontrol eden mekanizmaları atlaması ve virütik DNA veya RNA ile değişime uğrayarak, hücrenin normal bölünme periyodunun değişimine yol açmaktadır. DNA replikasyon mekanizmasının aktive edilmesini sağlayan DNA ve

RNA virüsleri, hücreyi sürekli olarak mitozu sürükleyerek neoplastik gelişimin meydana gelmesine neden olabilirler (Tannock ve Hill, 1992).

Onkogenler normal hücrelerin genomunda bulunan proto-onkogenlerin herhangi bir nedenle aktifleşerek neoplastik aktiviteye yol açan gen değişiklikleri olarak bilinirler. *Ras* proto-onkogen grubunda bulunan bir tek bazın değişimi sonucunda hücre sürekli bölünmek üzere yeniden programlanabilir ve genel olarak, kanserde birden fazla onkogen anormal olarak aktiftir (Holland ve Frei, 2003). Pankreas adenokarsinomasında, hücre proliferasyonu ve G1 den S fazına hücre döngüsü ilerleme mekanizması üzerinde etkili birçok genetik anormallikler bulunmuştur. Ekzokrin pankreas kanseri ile ilgili en sık rastlanan genetik anormallik, *K-ras* mutasyonudur ve bu *ras* proteinini normalden farklı şekilde harekete geçirmek için önemli bir etkidir. *p21ras* gibi proteinler mitojen aktivite sinyallerinin uyarıcı görev yaparlar. *p21ras* in onkogenik aktivasyonu, hücre çoğalması sinyalinin anormal düzeyde regülasyonuna neden olduğu düşünülmektedir (Perugini ve ark., 2000).

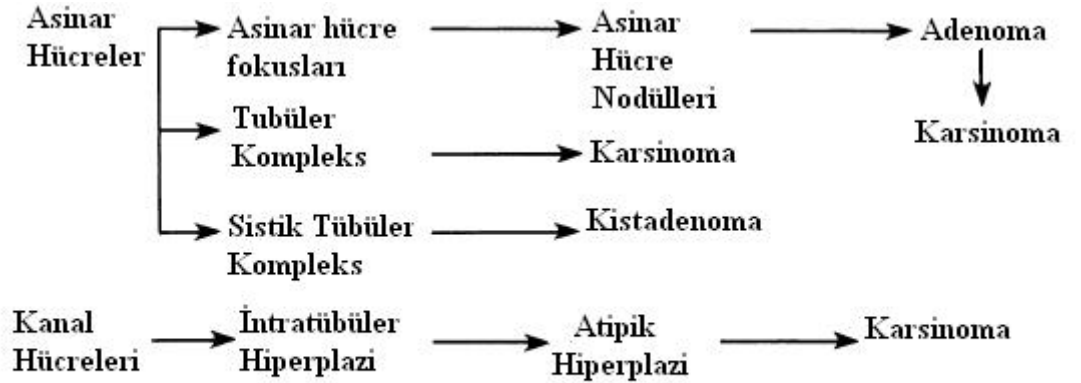
## 1.2. Pankreas Kanserinin Histolojik Gelişimi

Pankreas karsinoması ise 1836'da Mondiere'nin bu hastalığın bütün özelliklerini tanımlaması ile klinik bir olgu olarak bilinmeye başlanmıştır. Ewing'in (1919), insan ekzokrin pankreatik karsinomalarının büyük bir çoğunluğunun pankreatik kanallardan meydana geldiğini öne sürmüştür. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda pankreas kanserinin çok az bir kısmının ise asinar hücrelerden geliştiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Cubilla ve Fitzgerald, 1975). Çoğu pankreas kanserlerinde görülen mukus, genel olarak pankreas kanseri hücrelerinin, mukus salgılayan kanal epitel hücreleri ile ortak kökenli olduğunun öne sürülmesine neden olmuştur (Cubilla ve Fitzgerald, 1975).

Anatomik olarak pankreas hücrelerinin % 80'den fazlasının asinar hücrelerden meydana gelmesi nedeniyle asinar hücrelerin, pankreatik tümörlerin gelişiminde rollerinin olabileceği uzun yıllardır tartışma konusu olmuştur. Bunun yanında kanal hücrelerinin, pankreasın %10'nunu oluşturması pankreas kanserinin orijini ile ilgili bir kısım şüphelerin oluşmasına yol açmıştır (Scarpelli ve ark., 1991). Pankreas kanserinin gelişiminde, asinar hücrelerin etkisinin bulunduğu dair bir kısım kanıtlar mevcut olup

pankreatista asinar- duktal hücre karışımı bir kısım tümörlerin gözlemlenmesi, kanser hücrelerine dönüşen asıl doku elemanın kaynağı konusunda şüphelerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu nedenle asinar hücrelerin değişime uğraması sonucu böyle bir durumun ortaya çıkmış olabileceği öne sürülmüştür (Parsa ve ark., 1985).

Pankreatik kanserogenesisiz çalışmaları için birkaç hayvan modeli geliştirilmiş olup azaserin-sıçan modeli, asinar hücre değişimlerinin gözlenmesi ve pankreas kanserinin orijininin belirlenmesi bakımından iyi bir model olarak görülmektedir. Bu model yardımıyla sıçan ekzokrin pankreasında çok sayıda atipik asinar hücre fokusu üretmek mümkündür. Bu amaçla Longnecker ve Curphey (1975) tarafından geliştirilen i.p. azaserin enjeksiyonu protokolünün kullanılması yeterli görünmektedir. Şekil 1.1.'de pankreas kanserinin oluşum süreci ile ilgili hücresel değişimler gösterilmektedir.



Şekil 1.1. Ekzokrin pankreas kanserinin oluşum mekanizmaları (Longnecker, 1984).

Longnecker ve Webb (1980), multiple fokal nodular asinar hücre displazilerinin, kontrol gruplarına kıyasla pankreatik kanser hastalarının pankreaslarında daha yaygın olduğunu da göstermişlerdir. Bu araştırmacılar, sıçanlarda azaserin ile meydana



getirilmiş lezyonlar ile insanlarda görülen bu displastik asinar hücre odakları (fokusları) arasında histolojik bir kısım benzerlikler rapor edilmiştir. Bu nedenle asinar hücrelerde meydana gelen neoplastik değişimler insanda görülen adenokarsinomların orijini bakımından önem taşımaktadır.

### **1.3. Pankreatik Asinar Hücrelerde Gözlenen Neoplastik Değişimler**

Pankreasın endokrin olmayan normal parankima hücreleri olan asinar hücrelerinin pankreatik karsinomaya dönüşüm süreçlerindeki olası morfolojik aşamalar Ewing tarafından araştırılmıştır. Ewing (1919) pankreas kanserine ait yalnızca iki tip yapı tanımlamıştır. Bunlar, kanalsı yapılardan kaynaklanan silindirik hücreli adenokarsinomlar ve parenkimal hücrelerden kaynaklanan karsinomadır. Ewing'ten sonraki 25 yıl içerisinde mukoz adenokarsinoma, kolloid karsinoma, kanal adenokarsinoması, pleomorfik kanser, papillom adenokarsinoması, kistadenokarsinoma türevleri örneğin; epidermoid karsinoma, mukoepidermoid kanser, dev hücre karsinoması ve asinar hücre karsinoması gibi pankreasa ait karsinom tipleri ortaya çıkmıştır (Cubilla ve Fitzgerald, 1975). Bu yapılardan morfolojik ve anatomik yapıları en çok bilinen değişimler; erken asinar hücre değişimleri, bazofilik atipikal asinar hücre odakları, asidofilik atipikal asinar hücre odakları, asinar hücre adenoması, asinar hücre karsinoması ve kanalsı (duct-like) lezyonlardır. Sıçanlarda yüzlerce pankreatik fokus üretmek için azaserinin tek bir intraperitoneal enjeksiyonu yeterlidir. Asidofilik ve Bazofilik olmak üzere başlıca iki tür atipikal asinar hücre fokusu meydana gelmektedir (Daly ve ark., 1991).

### **1.4. Erken Asinar Hücre Değişimleri**

Normal asinar hücrelerinin yapısını, bazal nükleus ve belirgin çekirdekçik geniş ergastoplasm ile çevrili ve apikal zimojen granülleri oluşturur. Pankreatik asinar hücre odakları (AAHF) bu zimojen granüllerinin boyanma özellikleri, nükleus ve nükleolusun yapısı ile onların hücresel lokalizasyonundaki değişimlerine göre tespit edilirler. Asinar hücre odakları çap, hacim karakteristiği, histolojik görünüş ve boyanma özelliklerine göre bazofilik atipik asinar hücre odakları veya asidofilik atipik

asinar hücre odakları olarak sınıflandırılırlar. Bunlar, farklı çoğalma kapasitelerine ve farklı fenotipe sahip asinar hücre kümeleri olup yalnızca asidofilik odakların (AACF) gelişerek karsinom haline dönüşebilecekleri düşünülmektedir. Bununla birlikte asidofilik odakların (AACN) yalnızca küçük bir kısmının gelişerek karsinomaya dönüşebileceği ancak AACN sayısı ve büyüklüğünün karsinom oluşabilme potansiyeli açısından bir ölçüt olabileceği düşünülmektedir (Daly ve ark., 1991). Ekzokrin pankreasın asidofilik AAHF'ları, bazofilik AAHF'larından farklı olarak, farklı asinar hücre kümelerinden gelişir (Rao ve ark., 1982). Longnecker'e göre (1984), bu lezyonların % 1'inden daha az bir kısmı adenokarsinomaya dönüşecek şekilde gelişebilir.

### **1.5. Bazofilik Atipikal Asinar Hücre Odakları**

Rao ve arkadaşları (1982), bazofilik odakların (odakların) çoğalma kapasitelerinin normal asinar hücrelerdeki gibi olduğunu ve bu odakların, muhtemelen asidofilik lezyonlardan farklı olarak, asinar tümörlerin öncüsü olmadıklarını belirtmiştir. Daly ve arkadaşları (1991), hematoksilen ve eosin boyalı histolojik kesitlerde bu odaklar, sitoplazmalarının artan bazofilik özellikleri nedeni ile çevre hücrelerden farklı küçük bir hipertrofik bir hücre grubu olarak ayırt edilirler. Boyanma özellikleri nedeni ile zimojen granüllerinin içeriğinin azalmış olduğu ve granüllü endoplazmik retikulumlarında bir artış olduğu görülür. Bazofilik hücre odakları, düzensiz ve büyük bir nükleus ile bazofilik boyanmış sitoplazma ile az miktarda zimojen granül içerirler. Elektron mikroskobu incelemelerinde bu hücrelerin belirgin düzensiz plazma membranı, iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum ve birkaç zimojen granül saptanmıştır (Rao ve ark., 1982; Longnecker ve Millar, 1990). Ancak Rao ve arkadaşları tarafından (1982) bu odakların erken dönemde atipik asinar hücre odaklarına (AAHF) dönüştükleri ve ileri evrelerde sayılarının gittikçe azaldığı öne sürülmüştür. Bu nedenle bu odakların pankreatik kanser oluşumu bakımından önemli görülmemektedirler.

### 1.6. Asidofilik Atipikal Asinar Hücre Fokusları

Asidofilik AAHF, pankreasta azaserin uygulamasından bir ay kadar sonra gözlenebilir. Asidofilik fokus ve nodül hücreleri oldukça yoğun eozinofilik granular (zimojen açısından zengin) sitoplazma ve büyük oval veya yuvarlak nukleus içerirler. Elektron mikroskop bulguları hücrelerin zengin zimojen granülleri içerdiğini ve düzensiz lateral plazma membranının varlığını ortaya koymuştur (Rao ve ark., 1982). Nükleer pleomorfizm ve mitoz oranı, bu fokusların ayırt edici bir diğer karakteristik özelliğidir. Mitotik aktivite normal ve bazofilik fokus hücrelerinde hiç ya da çok nadir görülürken asidofilik fokus hücrelerinde yüksektir (her bin hücrede 2,75 +/- 1,27 oranında bulunmuştur). Hücrelerin proliferatif kapasiteleri karşılaştırıldığında bazofilik fokuslarda %0,1 +/- 1 iken asidofilik fokuslarda bu oran % 23.2 +/- 3.15 olarak bulunmuştur. Hücre sayısındaki artışa bağlı olarak, AAHF'ları etraflarındaki parenkimayı hafifçe sıkıştırabilirler. Asidofilik AAHF belirli bir sınıra sahip olmayıp kapsül ile çevrili değildirler (Rao ve ark., 1982).

Yapılan çalışmalarda azaserine enjekte edilen sıçanların pankreaslarında asidofilik AAHF'ler bazofillere göre daha fazla geliştiği ve sayısal oranlarının çok daha fazla olduğu görülmüştür (Hruban ve ark., 1965).

### 1.7. Asinar Hücre Nodülleri ve Adenomasi:

Asinar hücre adenomaları genellikle küresel ya da oval, düzgün, belirgin sınırları olan, kolay ayırt edilebilen asinar hücre kitleleri olup, kendilerini çevreleyen parenkimayı hafifçe sıkıştırırlar. İçlerindeki hücreler sıklıkla, az büyümüş, çıkıntılı bir glandular yapı gösterir ve çoğunlukla apikal (uç kısım) sitoplazmada, zimojen granüllerinde bir artış görülür. Bazal konumlu çekirdek normal büyüklükte ya da hafif artmış ve polimorfik bir yapı gösteren, nükleer yoğunlaşmalar ve pleomorfizm, mitoz, oranında artış, nükleoluslarda piknosoz ve karyoreksize sıklıkla rastlanılır (Longnecker ve Millar, 1990). Çapı, 3-7 mm'ye ulaşan ve yüksek düzeyde farklılaşma kapasitesine sahip olan bazı atipik hücre nodülleri (AACN), etraflarındaki pankreas dokusunu sıkıştıracak derecede büyümeleri ve/veya kapsül meydana getirmeleri halinde Longnecker (1987) tarafından adenomalar olarak sınıflandırılmışlardır (Longnecker ve

Millar, 1990). Bazofilik hücre odakları, nodülleri ve adenomaları, sürekli büyüme ve gelişme özelliği gösterirler, ancak çok azının karsinomaya dönüşme potansiyeline sahip olduğu deneysel olarak gösterilmiştir (Longnecker, 1987).

### **1.8. Asinar Hücre Karsinoması:**

Genellikle hücre sitoplazmasında önemli derecede koyu boyanma bazı hücrelerde ise zimojen granüller ayırt edilebilir ancak çoğunda dağınık olup partiküler olmayan kırmızı-pembe renktedirler. Asinar hücre adenokarsinoması, genellikle fazla değişime uğrayarak iyi bir displazi gösteren, çapı 7 mm'den daha büyük histolojik yapılar olup, kolayca ayırt edilebileceği gibi, farklı formlarda da olabilirler. Nükleer ve sitoplazmik otoliz görülür ve normal asinar hücrelere göre daha az sayıda zimojen granüller bulunur (Cubilla ve Fitzgerald, 1975). Çevresindeki pankreatik ya da mezenterik dokuya invazyon yapabilen ve bölgesel ya da diğer organlara metastatik yayılımı gösterirler. Adenokarsinoma teşhisine olanak sağlayan diğer özellikler ise belirgin hücresel ve nükleer polimorfizm, aynı tümör içindeki farklı büyüme alanları olarak bilinir. Fibröz kapsüle sahip adenoma benzeri lezyonlar anaplastik bir yapı gösteriyorsa, bunlar lokal karsinoma veya karsinoma *in situ* olarak sınıflandırılırlar. (Woutersen ve ark., 1991).

### **1.9. Kanalsı (duct-like) Lezyonlar:**

Azaserin uygulanan sıçanların asinar dokularında, kanal benzeri (duct-like) hücreler tarafından bölmelere ayrılan bir kısım lezyon görülebilir. Bu lezyonlar, asinar doku içindeki kanalsı oluşumlar meydana getirirler ve çok sayıda dar lümenli yapıya sahip bu kanallarda asinar hücre kökenli kübidal veya prizmatik epitel ile çevrili halde bulunurlar. Kanal hücrelerinin meydana getirdiği ve kanal hücre adenokarsinoması olarak adlandırılan lezyonlarda, sitoplazma kimi yerde net iken kimi yerlerde koyu pembe boyanmış olup safra kanal hücreleri veya büyük pankreatik kanal hücrelerinin sitoplazmasına benzemektedir (Cubilla ve Fitzgerald, 1975). Tubular duktual kompleksler, tipik olarak 1 mm'den küçük çaptadırlar (Longnecker ve Millar, 1990). Kanalsı lezyonlar zimojen granüllerini kaybetmiş kübik ya da silindirik epitel

hücrelerinden meydana gelmiştirler. Çekirdek genellikle yuvarlak veya oval, hücrenin tabanında yer alırken (Cubilla ve Fitzgerald, 1975), bu lezyonlar gerek asidofilik AAHF'den gerekse sistik duktual komplekslerden daha az sayıda gözlenirler (Longnecker, 1984). Ultrastruktural çalışmalar, tubular duktual komplekslerdeki hücrelerin sitoplazmalarının az sayıda zimojen granül içerdiğini göstermiştir (Bockman ve ark., 1978). Bu lezyonlar tipik olarak, 1 mm'den daha az bir çapa sahiptirler ve yalnızca bir lobül içerirler. İlk defa DMBA (7,12-dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene) ile meydana getirilmiş pankreatik neoplazi modelinde bu lezyonlar gözlenmişlerdir (Dissin ve ark., 1975).

### **1.10. Kendiliğinden (Spontan) Gelişen Tümörler**

Herhangi bir muamele yapılmamış sıçanlarda ekzokrin orijinli karsinomalara nadir rastlanmakta olup (Eustis ve Boorman, 1985), spontan neoplastik değişimlerin görülme sıklığının yaşa bağlı olarak artış gösterdiği bilinmektedir (Boorman ve ark., 1987).

### **1.11. Azaserin**

Azaserin, (O-diazoacetyl-L-serine veya L-serine diazoacetate (ester) ilk defa *Streptomyces* mantar kültürlerinden izole edilen toksik ve kanserojen bir antimetabolit olup Ames *Salmonella typhimurium* testinde mutajenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Bartz ve ark., 1954; Hruban ve ark., 1965; Longnecker, 1984). Yetişkin sıçanlarda intraperitoneal azaserin uygulaması, pankreasın asinar hücrelerinde osmofilik bölgelerin, geniş alanlı fokus oluşumu ve düz endoplazmik retikulumda karakteristik değişimlere neden olmaktadır. Hepatosit endoplazmik retikulumunda ise düzensizlikler ve fokal bozulmalar görülür. Azaserinin oral yolla uygulanması sonucu benzer hasarlar meydana gelmekle beraber intraperitoneal (i.p.) uygulamaya göre daha az hasarlı değişimler meydana geldiği görülmüştür. Azaserin bir glutamin analogu olup substrat olarak glutamini kullanan birçok enzimin aktivitesine etki eder (Hruban ve ark., 1965). Levenberg ve ark. (1957) çalışmalarında azaserinin inosinik asidi inhibe ettiğini ve bir glutamin antimetaboliti gibi davranarak formilglisinamid ribotidel (FAR) birikimine

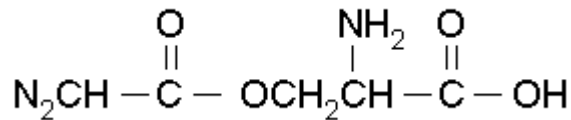
neden olduğu öne sürülmüştür. Pürin *de novo* nükleotid biyosentezi DNA ve RNA'nın yapı taşlarının üretildiği temel bir süreçtir ve bu pürinlerin sentezi sırasında önemli bir basamağı temsil eder. Bu basamağın azaserin tarafından önlenmesi pürin biyosentezini inhibe edebilmektedir (Baggott ve ark., 2007). Bazı kimyasal kanserojenlerin DNA hasarına yol açtığı gibi azaserinin *de novo* pürin sentezini inhibe ettiği ve DNA baz dizilimini etkilediği bilinmektedir (Hruban ve ark., 1965). Keşfedilen bu DNA hasarı tiplerinden biri de pürin ve pirimidinlerin alkilasyonudur. Alkillenen bazlar enzimatik olarak endonükleaz veya glikozidaz enzimleri aracılığıyla ortamdaki uzaklaştırılırlar (Lilja ve ark., 1977). Aaronson (1959) tarafından, azaserinin pürin öncülü olan glutaminden, azot transferini engelleyerek pürin sentezini bloke ettiği öne sürülmüştür. Daha önce yaptığımız çalışmalarda, azaserinin insan eritrositlerinde sistein transportuna etki ettiği, azaserin-sistein değişim mekanizmalarını kullanarak hücreye girdiği ve bu şekilde hücre içinde biriken azaserinin DNA'ya etki ederek hasara neden olabileceği gösterilmiştir (Yıldız ve ark., 2010). Azaserinin ultrastrüktürel olarak en önemli etkisi pankreasın asinar hücrelerinin granüllü endoplazmik retikulumunda görülmektedir. Endoplazmik retikulum sisternalarındaki değişimler veya membranda dejenerasyonlar, fokal bozulmalar ve "lizozom" formasyonları yaygın olarak görülür. Yapısal değişimler üç gruba ayrılabilir. Bunlar; halka formasyonu, sisterna parçalanması sonucu çok sayıda yuvarlak vezikül oluşumu ve sisterna açıklığında genişlemeler olarak tanımlanabilir (Lilja ve ark., 1977).

Bir başka çalışmaya göre azaserinin kanserojenik etkisinin genellikle DNA sentezinde rol oynayan enzimlerin inhibisyonundan kaynaklandığı varsayılmaktadır. Azaserin, DNA sentezinde rol oynayan bazı enzimlerin ihtiva ettikleri -SH gruplarına geri dönüşümsüz olarak bağlanır ve aktivitelerini inhibe eder (Smith ve ark., 1983.). Azaserinin DNA üzerinde etkilere sahip olduğu azaserinin, pankreatik asinar hücrelerin DNA'sına hasar vererek mutasyona sebep olduğu gösterilmiştir (Lilja ve ark., 1977). Yapılan deneysel bir çalışmada, azaserinin 7 haftalık sıçanlara i.p. olarak 30 mg/kg vücut ağırlığına göre yapılan tek doz enjeksiyon sonucunda da asidofilik, bazofilik odakların oluşabileceği gösterilmiştir (Roebuck ve ark., 1981).

Longnecker ve Curphey (1975), azaserini ilk defa kullanarak bugün iyi bilinen azaserin-sıçan modelini geliştirmişlerdir. Longnecker ve Curphey, erken dönemde sıçanların ekzokrin pankreaslarının, azaserinin kanserojenik etkilerine oldukça duyarlı

olduğunu göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar tarafından geliştirilen deneysel protokole göre iki haftalık sıçanlara azaserinin belirli oranlarda ve tekrarlanan dozajlarda intra peritoneal (i.p.) enjeksiyonun sıçanların ekzokrin pankreaslarındaki asinar hücrelerinde neoplastik değişimlere sebep olabileceği gösterilmiştir (Longnecker ve Curphey, 1975). 10-60 mg/kg'lık azaserinin bir ya da birden fazla deri altına enjeksiyonunun asinar hücrelerde, atipik asinar hücre odakları (AAHF), nodülleri, adenomaları ve adenokarsinomaları meydana getirebileceğini gösterilmiştir (Longnecker ve Curphey, 1975; Daly ve ark., 1991).

Azaserin ile ekzokrin pankreasta meydana getirilen neoplastik yapıların farklı histolojik özellikler gösterdikleri ve çoğunluğunun karaciğere, lenf nodüllerine ve akciğerlere yayıldıkları (metastaz) saptanmıştır (Longnecker ve ark., 1981). Azaserin uygulaması sonucu hem pankreas hemde karaciğer etkilenmesine karşın pankreas, karaciğerden çok daha ciddi bir şekilde etkilenmektedir. Azaserin ile muamele edilen hayvanlarda, 6 ay boyunca haftada bir veya iki kez 5 mg/kg lık dozaj uygulanması sonucu 1-2 yıl aralığında meydana gelen tümör oranları pankreatik karsinom için % 43, renal tümörler için % 27, ve hepatoma için % 5 olarak bulunmuştur (Lilja ve ark., 1977). Azaserin karaciğer ve pankreas asinar hücreleri üzerinde farklı etki mekanizmasına sahip olabilir ve birincil değişikliğini RNA sentezi üzerinde yapıyor olabilir (Hruban ve ark., 1965).

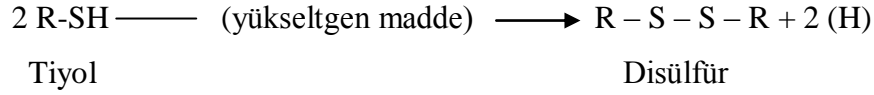


Şekil 1.2. Neoplastik değişimlere yol açtığı bilinen azaserinin açık formülü.

Yapılan çalışmalar azaserinin, erkek sıçanlarda, dişi sıçanlara göre daha fazla tümör meydana getirebileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca asinar hücre hiperplazisi ve tubular kompleks yapıların gelişimi, ekzokrin pankreasın genel özellikleri olarak saptanmıştır. Asinar hücrelerin, kanal hücrelerine farklılaşmadıkları en azından azaserin- sıçan modelinde bilinmemektedir (Longnecker ve ark., 1981).

### 1.12. Tiyoller

Kükürdün -2 değerlikli kararlı bileşikleri oldukça yaygındır. Bu bileşiklerden birisi de Tiyoller veya yaygın kullanımıyla merkaptanlar'dır. Merkaptan adı Latince "Mercurium captans" dan ileri gelir ve civa yakalayıcısı anlamını taşır. Tiyoller, alkollerin -2 değerlikli oksijeni yerine -2 değerlikli kükürt geçmiş türevleridir. Genel formülleri RSH<sup>-</sup> dır ve sahip oldukları -SH anyonu, OH<sup>-</sup> anyonundan daha güçlü bir nükleofildir. Bu özelliği birçok kimyasal reaksiyonda önemli rol üstlenmesine imkan tanır. Zayıf yükseltgenler; hidrojen peroksit, iyot, periyodik asit ve oksijen (bazik ortam) tiyolleri disüfitlere çevirirler (Beyazıt, 2009).



Tiyol grubu içeren aminoasit sistein olup, iki sisteinin birleşerek disülfür şeklini almasıyla sistin meydana gelir (Tüzün, 1999).



Bazı proteinlerin tersiyer konformasyonu oluşumu için disülfür köprüleri gereklidir. Bir tripeptit olan glutatyon da tiyol grubu içerir ve kolaylıkla disülfür haline dönüşebilir (Tüzün, 1999).



Biyolojik aktivite gösteren glutatyon ve sisteinden başka organik kükürtlü diğer bileşikler de vardır. Bunlardan sülfonamid türevi bileşikler antibakteriyel etkiye sahiptir. Penisilinler ve sefalosporinler de antibiyotik olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca tiyofosforil grubu (P= S) içeren malatyon insektisit, klorosülfonlar herbisit ve ditiyokarbamatlar fungusit etkilidir. Önemli farmakolojik etkilere sahip birçok organik kükürtlü bileşik bulunmaktadır. Tiyol yapısındaki kaptopril bir tansiyon düşürücü,



tiyoeter türevi bileşiklerden simetidin ve ranitidin ise ülserle karşı kullanılan önemli ilaçlardır. (Beyazıt, 2009)

### 1.13. Tiyoller ve Kanser

Tiyol yapısı içeren bileşiklerin, kanserin oluşumu ve gelişimi üzerindeki etkileri bazı araştırmacılar tarafından incelenmiştir. Tiyol gruplarının hücrelerde meydana gelen mutasyonlara ve neoplastik değişimlere karşı önleyici etkisi ve reaktif oksijen türlerinin genotoksisitesinin inhibisyonundaki rolleri araştırılmıştır. De Flora ve ark. (1991) çalışmalarında, N-asetil-L-Sistein (NAC) gibi tiyollerin, hem kendiliğinden meydana gelen mutasyonları hem de bakterilerde deneysel olarak meydana getirilen mutasyonları inhibe ettiği yönünde kanıtlar sunmuşlardır. N-asetil-L-Sistein gibi tiyoller kemirgenlerde preneoplastik lezyonları ya da tümör oluşumunu baskılar veya geciktirirler. Bakterilerdeki genotoksisite modelleri üzerindeki çalışmada, NAC ve diğer tiyollerin antioksidan aktivitelerini; süperoksit anyonları, hidrojen peroksit ve singlet oksijen türlerine karşı gösterdikleri ifade edilmiştir. Bunlara ek olarak hedef hücrelerde veya ekstraselüler çevrede tiyollerin antimutajenik ve antikanserojenik aktivitelerine katkıda bulunan diğer başka mekanizmalar gösterilmiştir. Bu mekanizmalar elektrofil metabolitleri ve direkt etkili bileşiklerin (hücre içi ve hücre dışı) engellenerek inhibisyonuna dayanmaktadır. Tiyollerin kanser ve mutasyona karşı kemopreventif etkileri, bir tiyol bileşiği olan redükte glutatyonun toksik ajanlara bağlanarak onları tüketmesi yoluyla meydana geldiği öne sürülmüştür (De Flora ve ark., 1991). Bazı durumlarda kemopreventif ajan olarak kabul edilen veya öyle olduğu düşünülen tiyol bileşiklerinin, birden fazla mekanizmaya sahip oldukları ve bunların kanserojen veya mutajenlere karşı etkili koruma sağlamaları beklenmektedir. Organizmanın kimyasal maddelerden korunmasına yönelik belli başlı yöntemler olduğu düşünülmektedir. Bu yöntemlerin başında, kanserojen ajanın organizmadan uzaklaştırılmasını kolaylaştırmak, endojen formasyonlarının inhibe edilmesi, kanserojen maddenin seyreltilmesi veya reaktif moleküllerinin deaktive edilmesi gibi yöntemler gelmektedir. Kanser oluşumu, sitotoksisite ve genotoksisitenin önlenmesini sağlayan mekanizmalardan biri de mutajenlerin hücre içi formasyonlarının inhibisyonu şeklindedir. Örneğin, nitroso

reaksiyonlarının inhibisyonu veya nitroso bileşiklerinin tiyoller tarafından bloke edilmesi gibi mekanizmaların olduğu düşünülmektedir (De Flora ve ark., 1991).

Kumar ve ark. (1995), servikal neoplazilerde plazma GSH seviyesinin azaldığını rapor etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada kontrol grubu bireylerin plazma GSH seviyesinin en yüksek grup olduğu, invaziv kanser grubu hastalarında ise en düşük plazma GSH düzeyine sahip oldukları tespit edilmiştir. Böylece servikal kanser oluşumu sonucunda azalmış plazma GSH seviyesi, kanser ile tiyol bileşikleri arasında anlamlı bir ilişkinin varolabileceğini ortaya koymaktadır.

Aminotiyoller, doğal (örneğin redükte GSH) ve sentetik (N-asetilsistein) ve sistein aminoasidi içeren proteinler bu bileşiklerin tipik örneklerini oluştururlar (Tüzün, 1999).

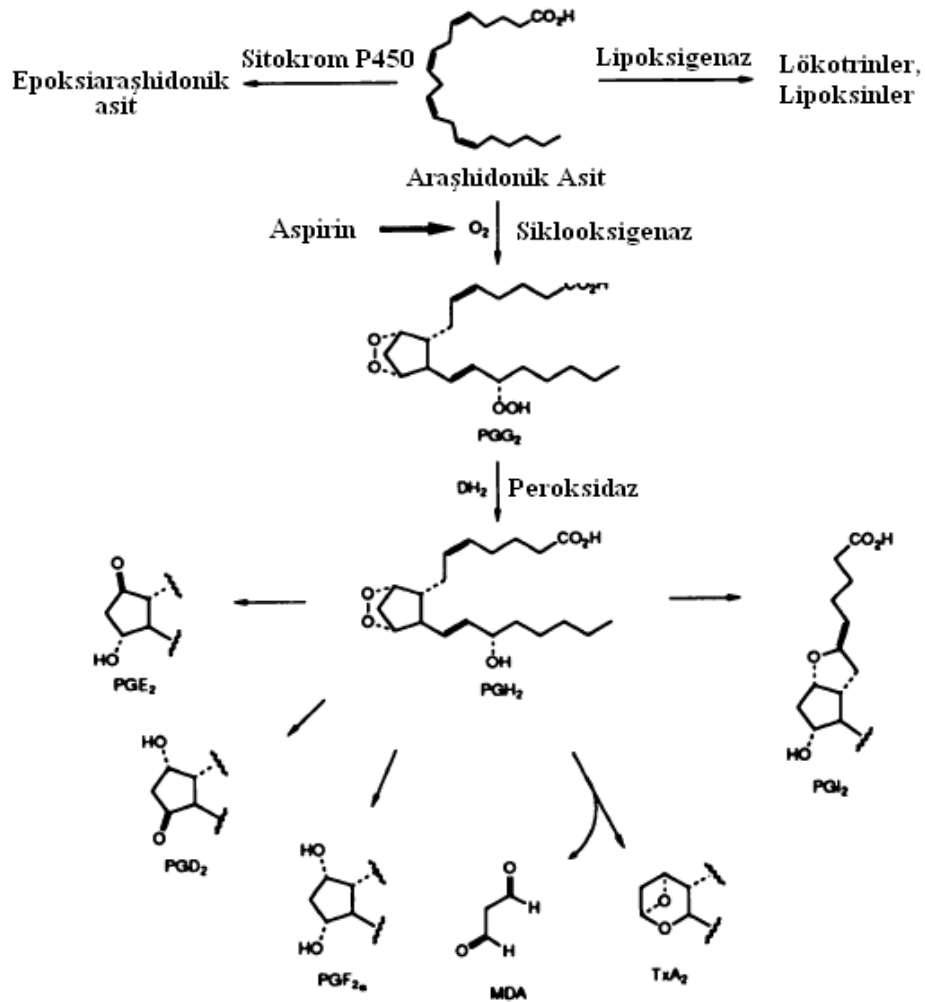
#### **1.14. Glutatyon**

Glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan glutatyon (L- $\gamma$ -glutamil-L-sisteinilglisin, GSH) memeli hücrelerinde düşük molekül ağırlıklı bir tiyol olup L-glutamat, L-sistein ve glisin aminoasitlerinden iki basamaklı bir metabolik yolla  $\gamma$ -glutamil-sistein sentetaz enzimi katalizörlüğünde sentezlenir (Sies, 1999). Sistein aminoasidi glutatyon biyosentezi için sınırlayıcı rol oynar. Sistein ekstraselüler sıvıda hızlı bir şekilde sistine okside olur. Sistin plazmada baskın olarak bulunur ve Na<sup>+</sup> bağımsız anyonik aminoasit transport sistemi aracılığıyla intraselular glutamat değişimi ile transport edilir (Sato ve ark., 1998). Protein veya glutatyon sentezi sırasında, sistin hücre içerisinde hızlı bir şekilde sistine redükte olur. Sistin, hücre içerisine alındıktan sonra GSH (glutatyon) sentezi için gerekli olan sistine redüklenmektedir (Griffith, 1999).

Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı bir şekilde serbest radikaller oluşabilir. Bazen bu serbest radikal ara ürünler enzimlerin aktif yerinden sızarlar, moleküler oksijenle kazara etkileşirler ve sonuçta serbest oksijen radikalleri oluşur. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Araşidonik asit metabolizması da reaktif oksijen metabolitlerinin önemli bir kaynağıdır. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu da

çeşitli serbest radikal ara ürünleri meydana gelirler. Araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine "enzimatik lipid peroksidasyonu" denir. Serbest radikallerle prostaglandin metabolizması birbiriyle yakından ilişkilidir (Haddad, 1998).

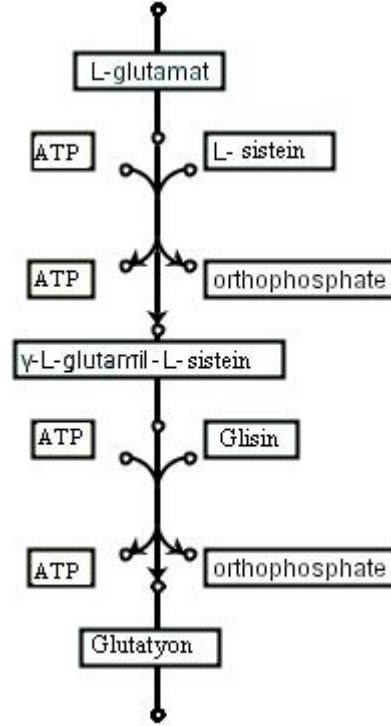
Eritrositler, diğer memeli hücrelerinde de olduğu gibi, serbest radikallerce oluşturulan oksidatif strese ve yüksek oksijen basıncına maruz kaldıklarında kolayca hasar görebilirler. Bu nedenle etkin savunma mekanizmalarına sahiplerdir. Bu mekanizmaların biri de glutatyondur (Mazzor ve ark., 1996). Enzimatik olmayan endojen antioksidanlardan biri olan glutasyon, hücre içi indirgeme reaksiyonlarında, kataliz olaylarında, metbolizmada ve aminoasitlerin transportunda önemli rol oynar.



Şekil 1.3. Araşidonik asit mekanizması ve ASA'in etki ettiği metabolik basamak (Marnett, 1992).

Glutasyon, kanserojenler dahil ksenobiyotiklerden biyotransfer olan elektrofilik yapılarla konjugat oluşturarak antioksidant etki gösterir. Preneoplastik hücrelerde, neoplastik hücrelerdeki kadar, glutasyonun spesifik moleküler formunun meydana geldiği ve hücrelerin kimyasallara direnç mekanizmalarına katıldığı bilinmektedir (Tsuchida ve Sato, 1992).

Glutasyon (GSH), hemen hemen bütün hücrelerde oldukça yüksek konsantrasyonlarda mevcuttur (Rose, 1984). Glutasyonun, hücrelerin reaktif elektrofiller ile oksidatif ve nitrosatif strese, serbest radikallere, reaktif oksijen türlerine, iç ve dış kaynaklı toksik bileşiklere karşı korunmasında önemli bir görevi vardır (Rose, 1984; Sato ve ark., 1998).



Şekil 1.4. Glutasyonun glutamik asit, sistein ve glisinden oluşum yolu.

GSH, hidroksil radikaline enzimatik olmayan bir yoldan etki edip, süperoksit, O<sub>2</sub> ve nitrik oksit tarafından oluşturulan sitotoksik ürünlere hızla etki eder (Griffith, 1999). Ayrıca DNA ve protein sentezleri, membran bütünlüğünün korunması, amino asitlerin membranlardan transportu ve enzim aktivitelerinin korunması gibi hücresel fonksiyonlara da sahiptir (Skrzydłewska ve Farbiszewski, 1999).

Düşük moleküler ağırlıklı Glutasyon, 307 g/mol olup, en önemli görevi hücre savunmasında bir antioksidan olarak rol almasıdır (Ulakoğlu ve ark., 1998). Glutasyon, memeli hücrelerin çoğunda yüksek miktarlarda (2-10 mM) bulunur (Labella ve ark., 1986). İndirgenmiş glutasyon, serbest sülfhidril içeren hem hayvan hem de bitki hücrelerinde bulunur (Sies, 1999). Sahip olduğu sülfhidril grubu içerdiği sisteinden ileri gelir. İndirgenmiş durumda glutasyon, hemoglobin ve eritrosit hücre proteinlerinin sistein artıklarını koruyan bir tampon olarak da görev yapar (Murray ve ark., 1996). Board 1981 yılında, insan eritrositlerinden glutasyon S-konjugatlarının transportu üzerine çalışmalar yapmıştır. Çalışmasında konjugasyon reaksiyonlarının glutasyon S-transferaz enzimi tarafından katalizlendiğini belirtmiştir. Çalışmalarının sonucunda tespit edilen glutasyon (GSH) ve okside glutasyon (GSSG), önceki GSH'nin %70'inin glutasyon s-konjugatlara dönüştüğünü ve hücrelerden transport edildiğini göstermiştir (Board, 1981). İnci ve arkadaşlarının 1998 yılında yaptıkları ve 20 adet larinks karsinomlu hastadan alınan dokularda, lipid peroksidasyonu (TBARS) ve antioksidan statü göstergeleri glutasyon (GSH), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon redüktaz (GSSG -Rd) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeylerini tayin etmişlerdir. Çalışmaya göre GSH düzeyleri ile GSH-Px aktivitesi sağlıklı doku ile kıyaslandığında larinks kanserli dokuda daha yüksek bulunmuştur. Sonuçta, kanser lipid peroksidasyonunu indükler ve oluşan oksidatif strese karşı antioksidan sistem uyarılır sonucuna varılmıştır. Araştırmacılar, oksidatif strese adaptif bir cevap olarak antioksidan sistemin uyarılmasının kanserli dokuda GSH ve GSH-Px düzeylerinde bir artışın meydana gelmesine yol açtığını ifade etmişlerdir (İnci ve ark., 1998).

Glutasyon S-transferazların çok sayıda endojen ve eksojen toksik bileşiği glutasyonla konjuge etmesiyle, ATP'ye bağımlı bir transport sistemiyle hücrelerden uzaklaştırılmasında aracı bir rol oynadığı belirtilmiştir (Özaydın ve ark., 2004). Glutasyon S-transferazlar (GST), başta araşidonik asit olmak üzere lipid peroksitlerine karşı antioksidan savunma mekanizması oluştururlar (Clemens ve Waller, 1987).

Wu ve ark. (2004), yaptıkları araştırmada, glutatyon metabolizması ve sağlık açısından önemi üzerinde araştırmalar yapmışlardır. Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda, besinlerde alınan proteinlerin vücuttaki GSH dengesinin sağlanmasında çok önemli olduğu görülmüştür. Besinlere ek olarak alınan sistin, methionin, N-acetil-L-sistein (NAC) ve L-2-oxotiazolidin-4-karboksilat'ın doku glutatyon sentezi için etkili sistein öncülleri olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada oksidatif stresin yaşlanma ve birçok hastalığın (Alzheimer, Parkinson, AIDS, Kanser ve Kalp Krizi) gelişiminde anahtar rol oynadığı ve glutatyonun, oksidatif strese karşı savunmada görev aldığı belirtilmiştir (Wu ve ark., 2004).

### **1.15. NSAİİ'lar ve Asetilssalisilik Asit**

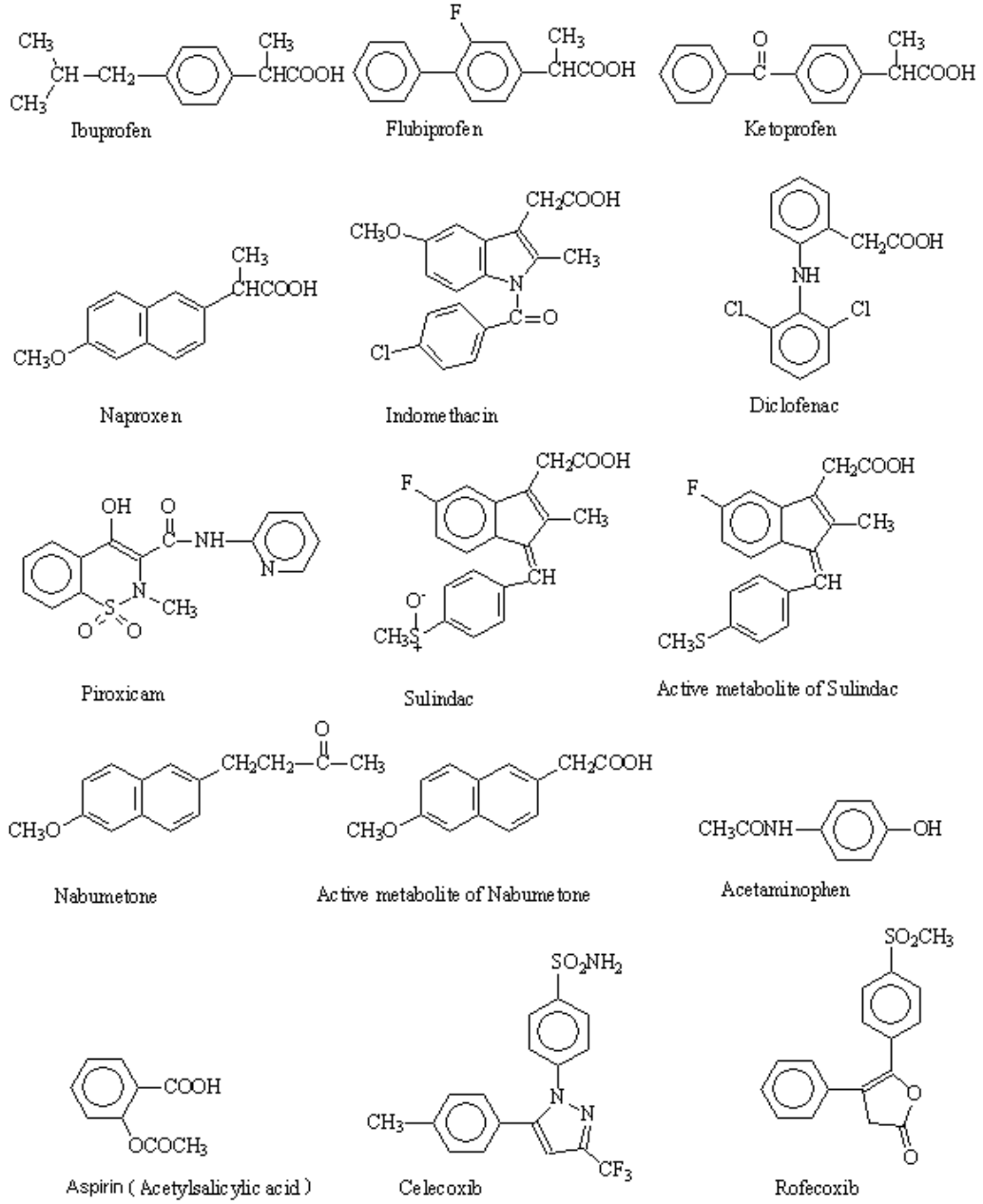
Aspirin (asetilssalisilik asit, ASA), NSAİİ (Non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar veya diğer yaygın kullanımıyla steroid dışı yangı önleyici ilaçlar) olarak adlandırılan ilaç grubunun bir üyesidir. Genellikle ufak ağrı ve sızılar için kullanılan ağrı kesici (analjezik) ve ateş düşürücü (antipiretik) etkilerinin yanı sıra pıhtılaşmayı önleyici (antiplatelet) aktivitesi ve anti- inflamatuvar etkileriyle ilişkili klinik faydalara sahip bir ilaçtır. Bununla birlikte son yıllarda edinilen bilgiler NSAİİ'ler ve ASA'in, gastrik ve kolon kanserleri riskini azalttığını göstermektedir (Thun ve ark., 1991; Wong ve ark., 1999; Zhou ve ark., 2001). NSAİİ'ler bu etkilerini prostaglandin üretimindeki hız sınırlama basamaklarını katalizleyen siklooksijenazları inhibe ederek gstedikleri kabul edilmektedir (şekil 1.5.). Yapılan alışmalar prostaglandin aktivitelerinin, gastrik mukozal devamlılık, böbrek faaliyetleri ve hormonal faaliyetlerin devamlılığı için gerekli olduğunu göstermiştir. Genel olarak ateş düşürücü ve ağrı kesici olarak kullanılan NSAİİ'lerin temel etki mekanizmalarının hücrelerde prostaglandin sentezinin inhibisyonu ile ilgili olduğu bilinmektedir (Wong ve ark., 1999).

Prostaglandinler araşidonik asit olarak adlandırılan 20 karbonlu doymamış yağ asitinden sentezlenirler. Herhangi bir inflamasyona maruz kalan dokularda zarar gören membran lipitlerinin fosfolipaz enzimi ile hidrolizi sonucunda araşidonik asit salınımı gerçekleşir. Araşidonik asit biyokimyasal dönüşüm yollarına tabi tutulur. Bu yollardan biri lipooksijenaz enzimi tarafından yağ asitlerinin hidrolizasyonu ile gerçekleşir ve leukotrienler adı verilen bir grup oluşumuyla sonuçlanır. Diğer yol siklooksijenaz

(COX) enzimi tarafından prostaglandinleri vermek üzere oksijenasyon süreci içerir. Bu süreç sonunda her biri farklı kimyasal yapıya ve etkiye sahip çeşitli prostaglandin türevleri izole edilir (PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>). Siklooksijenaz enzimi arasıdonik asiti başka bir siklik ürün olan ve trombositlerin pıhtılaşmasını önleyen (TXA) tromboksana da dönüştürür. Prostaglandinlerin çeşitli biyolojik etkileri vardır; PGE ve PGF ağrı dokularda ağrıya olan duyarlılığı arttırmakla sorumludur. Prostaglandin olarak adlandırılan PGI<sub>2</sub> trombositlerin pıhtılaşma işlemlerini inhibe etmekle görevi iken, TXA<sub>2</sub> trombositler üzerinde PGI<sub>2</sub> nin tersi etkiye sahiptir. Hem PGE hemde PGF midede mucin olarak bilinen polisakkaritlerin salgılanmasını uyarır (Mehanna, 2003).

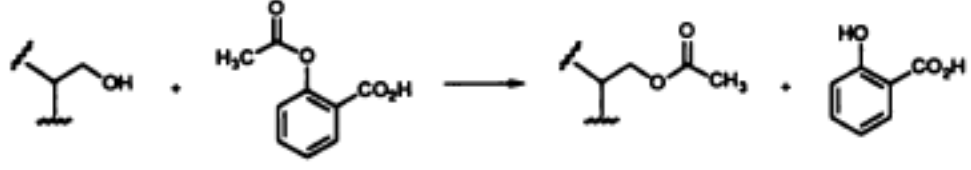
NSAİİ'lerin hücrelerde prostaglandin sentezi basamaklarında inhibe ettiği enzim siklooksijenaz (cyclooxygenase) olup, hücrelerde siklooksijenaz'ın COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki formu mevcuttur. Araştırmalar NSAİİ'lerde çoğunluğun COX-1 ve COX-2 karışımının seçici olmayan inhibitörü olarak görev yaptıklarını göstermiştir (Taketo, 1998). Mehanna (2003), NSAİİ gibi etki göstermeleri için verilen ilaçların iki büyük kimyasal kriteri olması gerektiğini vurgulamıştır. Bu ilaçların lipofilik özelliklerinin ve işlevsel asidik gruplarının olması, zayıf lipofilik veya zayıf asidik özelliklere sahip ilaçların iyi birer anti-inflammatuvar ajanları olmaları beklenmez. Asetilsalisilik asit, fakir lipofilik özelliklere sahip olmasına karşın yapısında kuvvetli asidik işlevsel grup bulundurulur.

Düşük bir COX inhibisyon potansiyeline sahip olan salisilik asit de bazı kolon hücre dizilerinin yayılma ve çoğalmasını inhibe etmektedir. NSAİİ'ler anti-proliferatif etkilerini prostaglandin ile ilgili olmayan bir mekanizma ile gösteriyor olabilirler. Bazı çalışmalar, NSAİİ'lerin hücre bölünmesini inhibe ettiklerini ve kolon kanseri hücrelerindeki hücre döngüsü fazının dağılımını değiştirdiklerini ortaya koymuştur. NSAİİ'ler hücre proliferasyonunu, hücre döngüsünü G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> fazında durağanlığa teşvik ederek inhibe etmektedir (Wong ve ark., 1999).



Şekil 1.5. Aspirin ve bazı çok bilinen NSAİİ'ler ve açık formülleri (Mehanna, 2003 değiştirilerek).





Şekil 1.6. Aspirin yapısında bulunan asetil grubu ile prostaglandin sentetaz enziminin birbirine bağlanarak inhibisyon etkisini göstermesi (Marnett, 1992).

NSAİİ'lerin etkilerini, prostaglandin üretimindeki hız sınırlama basamaklarını katalizleyen siklooksigenaz enzimlerini inhibe ederek gösterdikleri kabul edilir (Wong ve ark., 1999). Çoğunlukla ateş düşürücü ve ağrı kesici olarak kullanılan NSAİİ'lerin temel etki mekanizmalarının hücrelerde prostaglandin sentezinin inhibisyonu ile ilgili olduğu bilinmektedir. Araştırmalar NSAİİ'lerde çoğunluğun COX-1 ve COX-2 karışımının seçici olmayan inhibitörü olarak görev yaptıklarını göstermiştir (Taketo, 1998) (Şekil 1.3.). Bu enzimlerden COX-1 birçok hücre tipinde bulunan genel bir enzim olup, mide ve onikiparmak bağırsağında koruyucu özelliğe sahip prostaglandin sentezinden sorumludur. Yapılan çalışmalar yangı sonucu COX-2'nin miktarının kanda ortalama 10-20 kat arttığını göstermiş olup, enzimin nasıl etkili olduğu iyi bilinmemektedir (Shiff ve ark., 2003).

Prostaglandinler araşidonik asit olarak alandırılan 20 karbonlu doymamış yağ asitinden sentezlenir. Herhangi bir inflamasyona maruz kalan dokularda zarar gören membran lipidlerinin fosfolipaz enzimi ile hidrolizi sonucunda araşidonik asit salınımı gerçekleşir (Mehanna, 2003). Araşidonik asit biyokimyasal dönüşüm yollarına tabi tutulur. Birinci aşamada lipooksigenaz enzimi tarafından yağ asitlerinin hidrolizasyonu gerçekleşir. Leukotrienler adı verilen bir grup oluşumu ile sonuçlanır. İkinci aşama siklooksijenaz denilen (COX) bir enzim tarafından prostaglandinleri vermek üzere oksijenasyon ve siklizasyon süreci içerir. Bu prostaglandinlerden bazıları izole edilmiş ve belirlenmiştir. PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> gibi kısaltılmış isimler verilerek gösterilirler

(harfler biyosentezi sürecinin çeşitli ara ürünleri ve verilen indisler moleküldeki çift bağların sayısını gösterir). Siklooksijenaz enzimi araşidonik asiti başka bir siklik ürün olan ve (TXA) tromboksana dönüştürür. Prostaglandinlerin çeşitli biyolojik etkileri vardır; PGE ve PGF ağrı dokularda ağrıya olan duyarlılığı arttırmakla sorumludur. Prostaglandin olarak adlandırılan  $PGI_2$  trombositlerin pıhtılaşma işlemlerini inhibe etmekle görevli iken,  $TXA_2$  trombositler üzerinde  $PGI_2$  nin tersi etkiye sahiptir. Hem PGE hemde PGF mideye musin olarak bilinen polisakkaritlerin salgılanmasını uyarır. Bu polisakkarit, HCl ve pepsin enziminin etkilerine karşı doğal bir koruyucu ajan gibi davranır. Bu, NSAİİ sınıfı ilaçlarının ülserle karşı etkili (ülserojenik) özelliklerini açıklar (Mehanna, 2003).

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tiyoller mutasyonların ve kanser oluşumunun önlenmesinde önemli görevleri olan bileşiklerdir. Belli mekanizmalar örneğin, antigenotoksik ve antioksidant aktivitelerin kanserogenezin ilk oluşumunda, gelişiminde ve son aşamasında ilişkili olabileceği ve GSH'un tümör gelişimini önleyici etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir (De Flora ve ark., 1991).

Yapılan laboratuvar deneylerinde, intraperitoneal olarak verilen kanserojen urethan bileşiğinin oluşturduğu tümör yapısının, enjeksiyondan 15 gün önce diyetlerine eklenen N-acetil-L-sistein'in (NAC) 4 ay sonra akciğer tümörlerinde azalmaya neden olduğu ifade edilmiştir. Aynı deney düzeneğinde NAC' in karaciğer hücrelerinde GSH sentetaz aktivitesini arttırdığı ve kolon kanserine karşı koruyucu etkisinin var olduğu gösterilmiştir (De Flora ve ark., 1991).

Sato ve arkadaşlarının (1998), insan pankreatik asinar hücre kültürleri üzerinde yaptıkları çalışmada, elektrofilik dietilmalat uygulaması sonucunda sistin transportunun ve hücrelerde en çok konsantrasyona sahip tiyol bileşiği olan GSH'ın intraselüler seviyelerinin arttığını rapor etmişlerdir. Pankreasın hem ekzokrin hem de endokrin hücrelerinde görülen hastalıklara karşı ortaya konulan inflamatuvar yanıtın sorumlusu olarak GSH düzeyini göstermişlerdir.

Tiyol grubu içeren (-SH) sistein ve türevleri ile yapılan epidemiyoloji temelli bir çalışmada, -SH grubuna sahip bu aminoasitlerin meme kanseri hücreleri üzerindeki olası etkilerini araştırmışlardır. 1989-1996 yılları arasında 712 meme kanserli hastada yapılan çalışmada, sistein ve türevlerinin meme kanserinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu, yüksek plazma sistein konsantrasyonunun meme kanserine yakalanma riskini azalttığı, bir sistein türevi olan ve antikanserojenik ve antigenotoksik özellik gösteren N-asetil sistein'in (NAC) kanserogenez yolunun çeşitli basamaklarında etkin rol oynayabileceğini ortaya koymuşlardır (Zhang ve ark., 2003).

Kune ve arkadaşlarının (1988) çalışmalarında, NSAİİ kullanımı ve kolorektal kanserler ile ilgili yapılan ilk epidemiyolojik çalışmalardan olup düzenli aspirin kullanıcılarında, kolon kanseri görülme sıklığında % 40-50 lik bir azalma gözlemlenmiştir.

Rosenberg ve ark. (1991), 4891 kontrol ve 1326 kolon kanseri hastası üzerinde hastane verilerine dayanılarak yapılan çalışmada, NSAİİ kullanımı ile kolon kanseri arasındaki ilişkiyi incelenmişlerdir. Araştırmacılar, steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçların (NSAİİ) kemirgenlerde prostaglandin sentezini ve kolon tümör büyümesini engellediğini belirtmişlerdir. Mevcut veriler sürekli NSAİİ kullanımının kalın barsak kanserini azalttığını destekler niteliktedir. Bir yıl boyunca düzenli NSAİİ kullanan hastalarda NSAİİ kullanım süresinin artması, kansere yakalanma riskinde azalmaya sebep olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olmadığı görülmüştür. En azından bir yıl boyunca düzenli NSAİİ kullanmayanlar ve düzensiz kullananlarda kansere yakalanma riski arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Thun ve arkadaşları (1991), aspirin ve NSAİİ'lerin kolon kanserini yanı sıra diğer gastrointestinal kanserleri de önlediğini göstermiştir. Geniş kapsamlı ve uzun süreli bu çalışmada, aspirin kullanma süreleri ve sıklıkları bilinen 635031 yetişkin üzerinde yapılan araştırmalarla ölümcül kanserler ve aspirin arasında bir ilişki olduğunu belirlemişlerdir. Buna göre, sıklıkla aspirin kullanan kişilerde özefagus, kolon, mide ve rektum kanserlerinden ölüm oranlarının kullanmayanlara göre daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Buna rağmen diğer kanser türlerinde böyle bir etki görülmediği ifade edilmiştir (Thun ve ark., 1991).

Epidemiyolojik çalışmalara göre, pankreas ile aynı embriyonik tabakadan oluşan kalınbarsakta da beslenme alışkanlığına bağlı olarak (kolon) kanseri gelişimi hızla artmakta olup, epidemiyolojik bulgular uzun süreli aspirin kullanımının kalınbarsak (kolon) kanseri oluşum riskini yaklaşık % 50 oranında azaltabileceğini ortaya koymaktadır (Elder ve ark., 1997).

Wong ve ark. (1999) tarafından, en az bir yıl boyunca, ayda 16 defa ya da daha fazla aspirin kullananlarda, kullanmayanlara kıyasla özefagus, kolon, mide ve rektum kanserlerinden ölüm oranı %40 daha az olduğunu, riskin azalma eğiliminin on yıl veya daha uzun bir süredir aspirin kullanan kişilerde daha da fazla olduğu ifade edilmiştir (Wong ve ark., 1999). Finlandiya ve İsveç'te yapılan benzer çalışmalarda, yüksek aspirin ve diğer NSAİİ dozlarının mide ve kolorektal kanseri riskini azalttığını buna rağmen rheumatoid arthritisi hastalarındaki özefagus kanseri riskini azaltmadığı saptanmıştır (Wong ve ark., 1999).

Giovanucci (1999) yaptığı çalışmada, steroid olmayan (non-steroid) bir kısım anti-inflammatuar ajanların (NSAİİ) ve aspirinin kolorektal kanseri ve muhtemelen ekzokrin pankreas kanserini inhibe edilebileceğini ifade etmiştir.

İnsanlardaki diğer epidemiyolojik çalışmalarda, nonsteroid antiinflammatuar ilaçların (NSAİİ) kolorektal kansere karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğuna değinilmiştir. NSAİİ kullanan hastalarda, kolorektal kanser görülme oranında %50 den fazla bir azalma olduğu, birçok vakada NSAİİ ile tedavi edilen ailevi adenomatöz polipozis hastalarında poliplerin gerilediği belgelenmiştir (Perugini ve ark., 2000).

Perugini ve ark. (2000), insan pankreas kanseri kültür hücreleri (BxPC3 ve PANC-1) üzerinde bir aspirin metaboliti olan sodyum salisilat ile yaptıkları çalışmada, sodyum salisatın hücre proliferasyonuna ve G1-S hücre döngüsü kontrolüne olan etkisini araştırmışlardır. Bu araştırmaya göre sodyum salisilat, pankreas kanseri kültür hücrelerinde, hücre döngüsünü G1 fazında tutmasıyla bu hücrelerin proliferasyonunu inhibe ettiği ortaya konulmuştur. Bu etkiler, hücre G1 fazında iken hücre döngüsünün ilerlemesi için gerekli bir protein olan siklin D1' in ifadesinde bir azalma ile ilişkilidir. Bu etki, sodyum salisilatın prostaglandin E<sub>2</sub> üretimini inhibe etmesi nedeniyle değildir. Bu nedenle NSAİİ'lerin kemopreventif etkisinin kolorektal kanseri ile sınırlı olmadığını, pankreas kanseri neoplazmları dahil olmak üzere diğer tümörler için de genelleştirilebileceğini desteklemektedir (Perugini ve ark., 2000).

Yapılan bir diğer çalışmada, aspirin ve bağlı olduğu ilaç grubu olan NSAİİ'lerin hücrelerde apoptosisi uyardığı, NSAİD ailesinin anti-tümör etkisi için önemli mekanizmalardan birinin hasarlı hücrelerde apoptosizi uyarması sonucu oluştuğu ileri sürülmüştür (Zhou ve ark., 2001). Aynı çalışmanın sonuçlarına göre aspirin ve indometacinin mide kanser hücrelerinde anti-tümör yanıtına, *bax* ve *bak* proteinlerinin sentezindeki artış ve kaspaz-3 aktivasyonu yoluyla aracılık ettiğini göstermektedir.

Bir aspirin metaboliti olan salisilat ile yapılan bir çalışmada, DMBA ile oluşturulan mutasyonlar sonucu meydana gelen göğüs kanseri doku kültür hücrelerinde 2.5 mM ile maksimum 3.0 mM konsantrasyona sahip salisilat uygulanan kanser doku kültürü hücrelerinde anlamlı inhibisyonlar oluştuğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bu sonuç ve daha önce yapılan klinik, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar, aspirinin göğüs kanserini önleyici etkileri olabileceğini destekler niteliktedir (Abbadessa ve ark., 2006).

Yıldız ve arkadaşları (2008), çalışmalarında elde ettikleri bulgular sonucunda aspirinin uzun süreli rutin kullanımının ekzokrin pankreasta azaserin enjeksiyonu ile meydana getirilen ve adenoma ile adenokarsinomasının öncü odakları olduğu gösterilen (Öztaş, 1993) AAHF'ları inhibe ettiğini öne sürmüşler, ancak bu konuda daha detaylı ve uzun süreli çalışmalara ihtiyaç duyulmakta olduğunu ifade etmişlerdir.

Barnes ve Lee (1998), fare modelleri üzerinde yaptıkları deneyde düşük (250 ppm) ve yüksek dozaj (500 ppm) aspirin kullanmışlardır. Yüksek dozajlı aspirin kullanımının etkili olduğu gösterilmişlerdir. Aynı araştırmacıların sıçanlarda 1,2-dimethylhydrazine (DMH) ile oluşturulmuş kolon kanseri üzerinde 500 ppm'lik dozaj ile yaptıkları deneyde, aspirinin tümör görülme oranını ve hacmini azalttığını tespit etmişlerdir (Barnes ve Lee, 1999).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deney Hayvanları

Bu araştırmada Wistar Albino ırkı erkek sıçanların ekzokrin pankreas asinar hücrelerinde deneysel olarak meydana getirilen neoplastik değişimlerin incelenmesi amacıyla Longnecker ve Curphey (1975) tarafından geliştirilen azaserin-sıçan modeli kullanılmıştır.

Araştırmada ağırlıkları 14-26 g arasında değişen 2 haftalık 144 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, her grupta 12 adet olmak üzere 12 farklı gruba ayrıldı. Deney grupları Kontrol 6 ay (Kon6), Kontrol 12 ay (Kon12) , Azaserin 6 ay (Az6), Azaserin 12 ay (Az12), Azaserin ASA 200 ppm 6 ay (AzAs206), Azaserin ASA 400 ppm 6 ay (AzAs406), Azaserin ASA 200 ppm 12 ay (AzAs212), Azaserin ASA 400 ppm 12 ay (AzAs412) ve ASA 200 ppm 6 ay (As206), ASA 400 ppm 6 ay (As406), ASA 200 ppm 12 ay (As212) ve ASA 400 ppm 12 ay (As412) olmak üzere oniki gruba ayrıldı. Ayrı ayrı kafeslerde gruplar halinde bulunan hayvanlardan kontrol ve azaserin kontrol grupları (Kon6, Kon12, Az6 ve Az12 ) standart pellet sıçan yemi ve su ile *ad libitum* olarak beslendiler. ASA grupları (AzAs206, AzAs212, As206 ve As212) 200 ppm'lik asetilsalisilik asit ile (AzAs406, AzAs412, As406 ve As412) 400 ppm'lik asetilsalisilik asit katkılı standart sıçan yemi ve su ile *ad libitum* olarak beslendi. Özel sıçan kafesleri içerisinde en çok 4'erli gruplar halinde tutulan hayvanlara, düzenli biyolojik ritimlerinin sağlanması amacıyla ortalama 24°C oda sıcaklığı ve 12 saat yapay ışık ve 12 saat karanlık uygulandı. Önlerinde daima gruplarına uygun yem ve su bulundurulmuştur.

2 haftalık erkek sıçanlara, pankreatik kanserogenesisin oluşumu için, haftada bir kez olmak üzere toplam üç hafta boyunca karın boşluğundan (intra peritoneal) azaserin enjeksiyonu (30 mg/kg vucüt ağırlığı) yapıldı. Enjeksiyonları tamamlanan hayvanlar, en çok 4'lü gruplar şeklinde ayrılarak deney grupları oluşturulmuştur.

Histolojik çalışmalar için kullanılacak pankreaslar, 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda bir bütün olarak çıkarılmıştır. Pankreaslar %10'luk formol çözeltisi içerisinde

tespit işlemine tabi tutuldu. Pankreas preparatlarında tüm organ yüzeyinin taranmasına olanak sağlamak amacıyla, alınan pankreaslar mantar yüzey üzerine yayılarak tespit ve dehidrasyon işlemleri uygulanmıştır. Pankreaslarda oluşturulan kanser odaklarının incelenmesi amacıyla formalin ile fikse edilen dokulara literatüre uygun olarak (Longnecker ve Curphey, 1975) Hematoksilen ve Eosin (HxE) boyama işlemleri uygulanmıştır.

Biyokimyasal deney çalışmalarında kullanılmak üzere, deney hayvanlarından pankreas, böbrek ve karaciğerler bir bütün olarak elde edilmiştir. Alınan pankreas, böbrek ve karaciğerler, laboratuvardaki deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere -60 °C de muhafaza edilmişlerdir. Elde edilen bu dokularda serbest -SH ile proteine bağlı -SH konsantrasyonlarının ölçülmesi işleminde Sedlak ve Lindsay'ın (1968) kullandığı deney prosedürü izlenmiştir.

Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları ile bir bütün olarak çıkarılan pankreas, böbrek ve karaciğer organlarının ağırlık ölçümü yapılarak elde edilen veriler istatistiksel analizde kullanılmak üzere kaydedilmiştir.

### **3.1.2. Kimyasallar ve Cihazlar**

Çalışmada kullanılan kimyasallar asetilsalisilik asit, 5,5-Ditiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) Fluka Bio Chemika Switzerland, triklorasetik asit (TCA) Merck Germany, Eosin ve metanol Carlo Erba, trizma base, Hematoksilen ve azaserin Sigma Chemical Co. USA temin edilmistir. Doku homojenatlarının hazırlanması işlemleri IKA Labourtechnik T25 Basic marka homojenizatör ile yapıldı. Spektrofotometrik ölçümler için ise Shimadzu UVmini 1240 marka ve modelli spektrofotometre cihazı kullanıldı. Eppendorf tüp santrifüj Hettich mikro 200, - 60 °C derin dondurucu olarak Snijders Scientific /Holland, preparat incelemelerinde Olympus BX50 araştırma mikroskobu ile birlikte Olympus DP12 fotoğraf makinesi ve uygulama yazılımı olarak Olympus V.01.03 kullanıldı.



## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Doku Örneklerinin Alınması**

6 ve 12 aylık deney süresinin sonunda tüm erkek sıçanlara servikal dislokasyon uygulandı ve abdominal diseksiyonla karın boşluklarına ulaşıldı. Göğüs kafesi içerisinden kalbin ventriküllerine enjektör ile ulaşılarak kan alındı. Bu işlem sonrasında hızlı bir şekilde karaciğer, böbrek ve pankreaslar bir bütün olarak çıkarıldı. Tüm çıkarılan organlar, ağırlık ölçümlerinin yapılmasının ardından %0,9'luk NaCl solüsyonunda yıkanıp kurutma kağıdı ile hafifçe kurutulduktan sonra -60 °C deki derin dondurucuya uygun deney tüpleri içerisinde konuldular.

### **3.2.2. Doku Homojenatlarının Hazırlanması**

Gruplara ayrılmış olan her bir sıçanın doku örnekleri – 60 °C dondurucudan dışarı çıkarıldı. 100 mg'lık parçalar kesilerek oda sıcaklığında bekletilerek çözünmeleri sağlandı. Homojenize edilecek doku örneklerinden alınan 100 mg'lık dokular cam tüplere konuldu. Alınan bu örneklerin üzerine 2000 µl Tris-HCl pH 8,2 ilave edildi ve doku örnekleri homojenizatörde homojenize edildi. Homojenizasyon işlemleri sırasında ısı nedeniyle meydana gelebilecek –SH grubuna yönelik hasarları önlemek amacıyla tüm bu işlemler buz üzerinde yapıldı.

### **3.2.3. Dokulardan serbest –SH ve proteine bağlı –SH ölçümleri**

Dokulardaki serbest –SH ve proteine bağlı –SH konsantrasyonunun ölçülmesi amacıyla karaciğer, pankreas ve böbrek dokularından ayrı ayrı örnekler alınarak daha önceden Sedlak ve Lindsay (1968) tarafından kullanılmış olan aşağıdaki deney prosedürü uygulanmıştır. Bu deney prosedürüne bağlı olarak, dokulardaki total ve serbest –SH değerleri ölçülmüştür. Proteine bağlı –SH değerleri, total –SH değerlerinden serbest –SH değerlerinin çıkarılması sonucu hesaplanarak bulunmuştur.

### 3.2.4. Homojenizasyon

- -60 °C’de dondurulmuş olan dokuların bir kısmı alınarak kendiliğinden erimeleri beklendi
- Bu doku parçalarından 100 mg alındı ve cam tüplere koyuldu
- Üzerine 2 ml Tris-HCl pH 8.2 ilave edildi
- Doku örneği 2 ml Tris-HCl içerisinde homojenize edildi. Homojenizasyon sırasında dokuların aşırı ısınması önlenerek hücrel hasar meydana gelmesi önlendi.

### 3.2.5. Serbest –SH Ölçümü

- Homojenize edilmiş doku homojenatından 400 µl alındı
- Homojenatın üzerine %10’ luk TCA dan 400 µl eklendi ve karıştırıldı
- Karışım, 10000 rpm de 5 dk santrifüj edildi
- Sürenatandan 400 µl alındı ve temiz cam tüplere aktarıldı
- Süpernatantın üzerine 1550 µl Tris-buffer pH 8.9 eklendi
- Son olarak 150 mM lık DTNB çözeltisinden 50 µl eklendi
- Tüp içeriği iyice karıştırıldı
- Seri bir şekilde tüp içerisinden 1 ml alınıp spektro küvetine aktarıldı ve spektrofotometre ile 410 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.

Kör tüpünün hazırlanışı sırasında aynı basamaklar izlendi ancak DTNB yerine 50 µl Tris-HCl pH 8,9 ilave edildi.

### 3.2.6. Total –SH Ölçümü

- Doku homojenatından 80 µl alındı ve eppendorf tüplere dolduruldu
- Üzerine 270 µl Tris pH 8.2 eklenip karıştırıldı

- Karışıma 150 mM lık DTNB çözeltisinden 50 µl eklendi ve iyice karıştırıldı
- Bunun üzerine 1600 µl metanol ilave edilerek tekrar karıştırıldı
- İçerik 10000 rpm de 5 dk. boyunca santrifüj edildi
- Süpernatanttan 1 ml alınıp spektro küvetine aktarıldı ve spektrofotometre ile 410 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.

Kör tüpünün hazırlanışı sırasında aynı basamaklar izlendi ancak DTNB yerine 50 µl Tris-HCl pH 8,2 ilave edilerek hazırlandı.

### 3.2.7. İstatistiksel Analiz:

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 beşli 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 fokuslarının özelliklerinin ( $\text{mm}^2$ 'ye düşen AAHF,  $\text{mm}^3$ 'e düşen AAHF, ortalama fokus çapı, ortalama fokus 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 4.1.'de gösterilmiştir.

Tüm gruplara ait istatistiki kıyaslama yapılabilmesi amacıyla detaylı istatistik tabloları Ek 1'de verilmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Araştırma Bulguları

Çalışmamızda 6 ve 12 aylık deney süreleri ve 200 ile 400 ppm dozaja sahip ASA içerikli yem kullanılarak, 12 farklı gruba ayrılan toplam 144 sıçan kullanıldı. Azaserin enjeksiyonu yapılan tüm gruplarda (Az6, AzAsp206, AzAsp406, Az12, AzAsp212 ve AzAsp412) AAHF'lerinin oluştuğu, kontrol grupları ve yalnızca asetilsalisilik asit uygulaması yapılan gruplarda (Kon6, Asp206, Asp406, Kon12, Asp212 ve Asp412) ise AAHF oluşmadığı gözlemlendi. Deney süreleri sonunda tüm grupların karaciğer, böbrek ve pankreas dokularındaki serbest -SH ve proteine bağlı -SH değerleri araştırıldı.

#### 4.1.1. Vücut Ağırlıkları

6 aylık deney süresine tabi tutulan deney gruplarında Kon 6 ve Az6 grupları arasında bir fark bulunmamıştır ancak AzAs206 grubu bireylerin ortalama vücut ağırlıkları Az6 grubundan önemli ölçüde düşük bulunmuştur. 12 aylık deney süresine sahip gruplarda Az12 grubu bireylerin ortalama vücut ağırlıkları Kon12 grubuna göre, AzAs212 grubu bireylerinin ortalama değerleri de Az12 grubuna göre daha düşük olduğu görülmüştür (Şekil 4.12.).

Vucüt ağırlıkları ile pankreas, karaciğer ve böbrek ağırlıklarına ait verilere ilişkin detaylar Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir.

#### 4.1.2. Pankreas Ağırlıkları

Deney gruplarının ortalama pankreas ağırlıkları incelendiğinde 6 aylık deney süresine sahip Kon6, Az6, AzAs206 ve AzAs406 grupların ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. 12 aylık ortalama değerleri incelendiğinde Az12 grubunun Kon12 grubundan daha düşük ortalama pankreas ağırlığına sahip

olduğu, AzAs212 grubunun ise Az12 grubundan daha yüksek pankreas ağırlığına sahip olduğu görüldü (Şekil 4.13.).

#### **4.1.3. Karaciğer Ağırlıkları**

6 aylık ortalama karaciğer ağırlıkları incelendiğinde Kon6 ve Az6 grupları arasında önemli bir fark görülmemiŐtir. AzAs406 grubu ortalama değerleri AzAs206 grubu değerlerinden daha düşük bulunmuştur. 12 ay deney süreli Az12 ortalama değerleri Kon12 grubundan, AzAs212 ortalama değerleri de Az12 ortalama değerlerinden daha düşük bulundu. Ancak AzAs412 ortalama değerlerinin AzAs212 ortalama değerlerinden daha yüksek olduğu görüldü (Şekil 4.14.).

#### **4.1.4. Böbrek Ağırlıkları**

Böbrek ortalama ağırlıkları incelendiğinde Az6 değerlerinin Kon 6 dan düşük olduğu, As406 değerlerinin ise As206 değerlerinden yüksek olduğu görüldü. 12 aylık deney süreli Az12 değerleri Kon12 değerlerinden düşük ve As412 değerleri ise As212 değerlerinden yüksek oldukları görüldü (Şekil 4.15.)

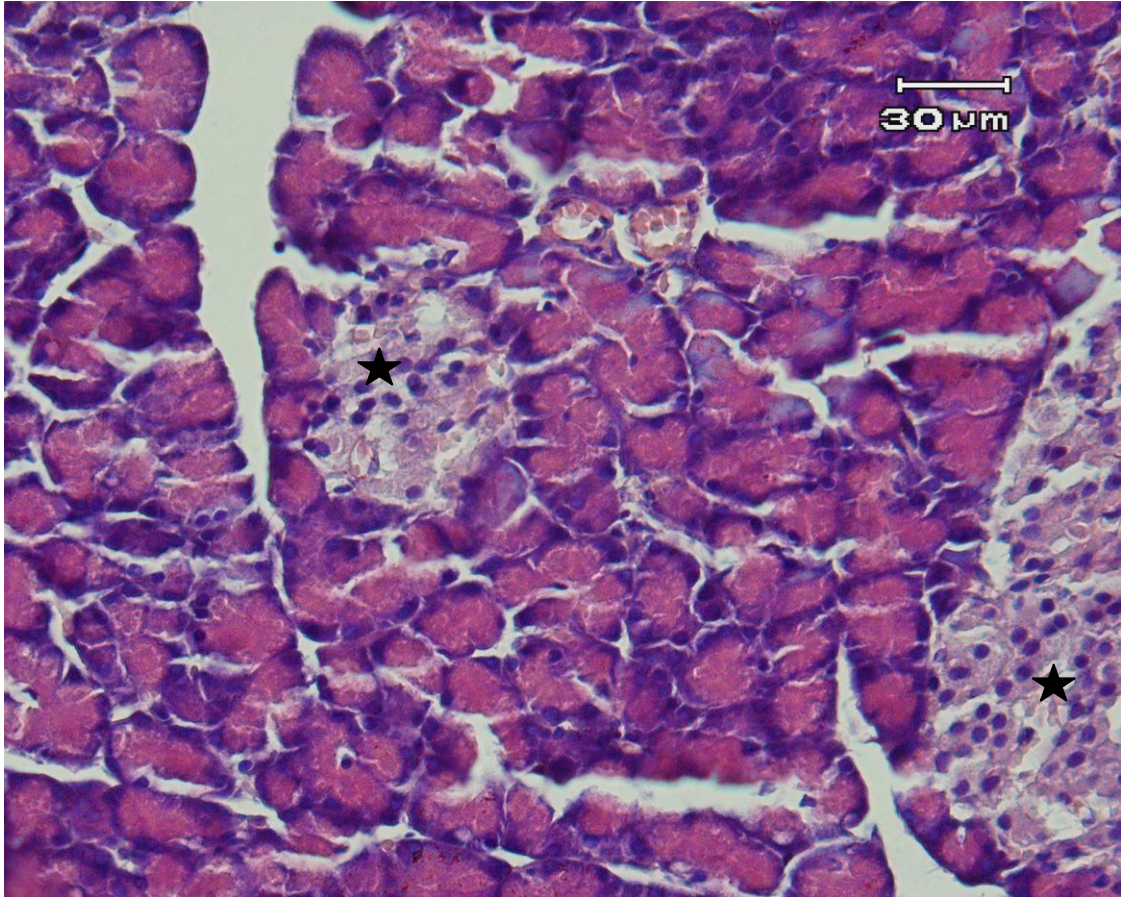
#### **4.1.5. Histoloji Bulguları**

6 ve 12 aylık deney süreleri boyunca sıčanların sağlıklı oldukları gözlemlendi. Deney süreleri sonunda yapılan otopside pankreas ve karaciğerlerde makroskobik olarak göze çarpan herhangi bir deđiŐim görülmemiŐtir. 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda pankreasları çıkarılan hayvanlarda atipik asinar hücre fokuslarının (AAHF) mikroskobik tayini ve kantitatif miktar değerlendirmesi için, hematoksilen-Eozin boyası kullanıldı. Mikroskobik incelemeye tabi tutulan pankreaslarda azaserin ile muamele edilen tüm gruplarda (Az6, AzAsp206, AzAsp406, Az12, AzAsp212 ve AzAsp412) farklı oranlarda atipik asinar hücre fokuslarına (AAHF) rastlanırken yalnızca ASA verilen (Asp206, Asp406, Asp212 ve Asp412) ve kontrol olarak kullanılan gruplarda (Kon6 ve Kon12), AAHF'ları gözlenmedi. Deđerlendirme sonucunda azaserin enjeksiyonu yapılan tüm gruplar incelendiğinde yalnızca Az12 grubu pankreasında

atipik asinar hücre nodülü (AAHN) gözlemlendi. Diğer gruplarda atipik asinar hücre nodülü, adenoma veya adenokarsinomaya rastlanmamıştır. Kontrol grubuna ait normal görünümlü zimojen granül içeren asinar hücreler şekil 4.1.'de verilmiştir.

#### 4.1.5.1. Sıçan Pankreaslarının Histopatolojik ve Kantitatif Analizleri

Kontrol grubuna ait normal görünümlü sıçan pankreasına ait fotoğraf şekil 4.1.'de verilmiştir. Pankreasın salgı bezi özelliğine sahip ekzokrin bölümünün loblarla bölünmüş olduğu görülmüştür. Ekzokrin pankreasın asinar hcrelerden meydana geldiği ve her hücre biriminden salgı kanalları vasıtası ile salgılarını boşalttıkları bilinmektedir. Zimojen granüllerin bulunduğu asinar hücre sitoplazması bu sebepten ötürü eozinofilik boyanma karakterindedir. Ancak nükleusun yer aldığı kenar kısımlarının bazofilik

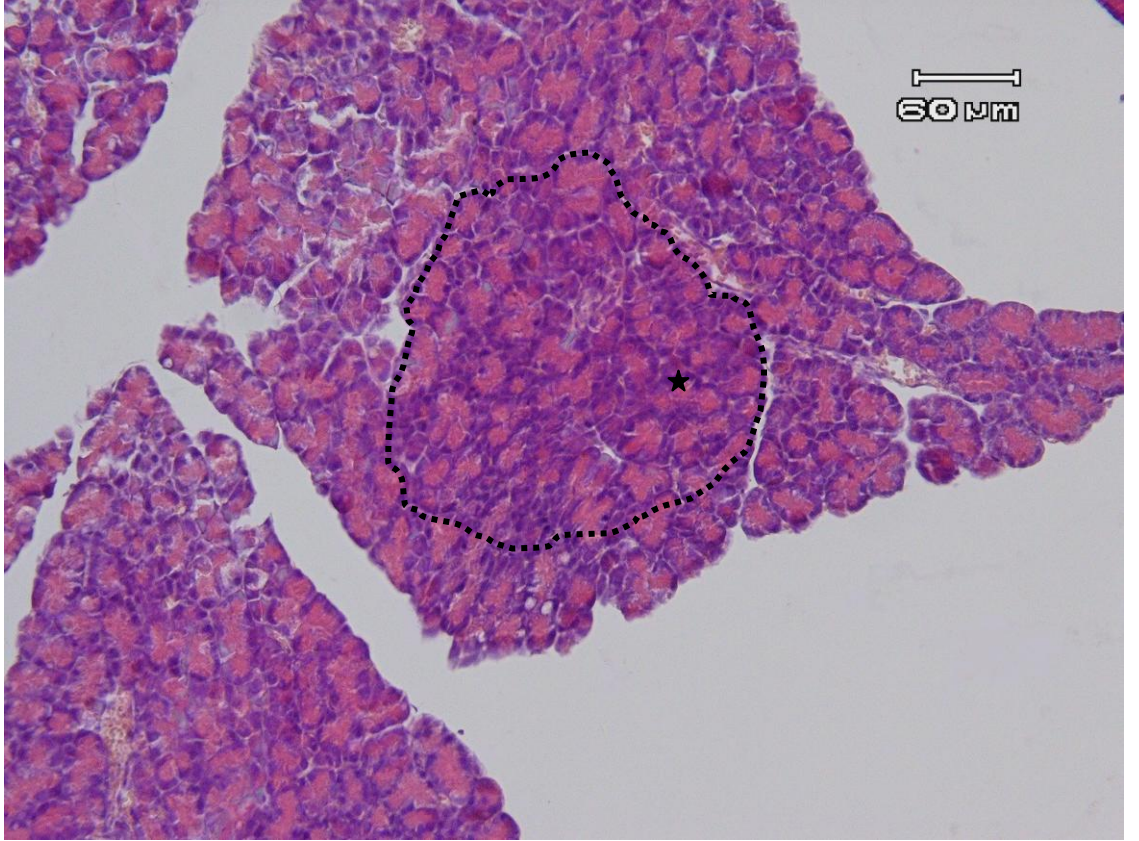


Şekil 4.1. Herhangi bir uygulamaya tabi tutulmamış kontrol grubu sıçanlara ait pankreas asinar hücreleri. Langerhans adacıkları görünümü (★), Hx E.



boyanma özelliği gösterdiği görülmüştür. Genel olarak yuvarlak biçimli düzgün bir nükleus, belirgin kromatin ve nukleoluslu asinar hücrelerin bazal bölgesinde yer alır. Pankreasın endokrin özelliğe sahip adacıkları (Langerhans Adacıkları, ★) düzgün biçimde boyanmış olup herhangi bir yapısal bozulma olmadığı görülmüştür (Şekil 4.1.).

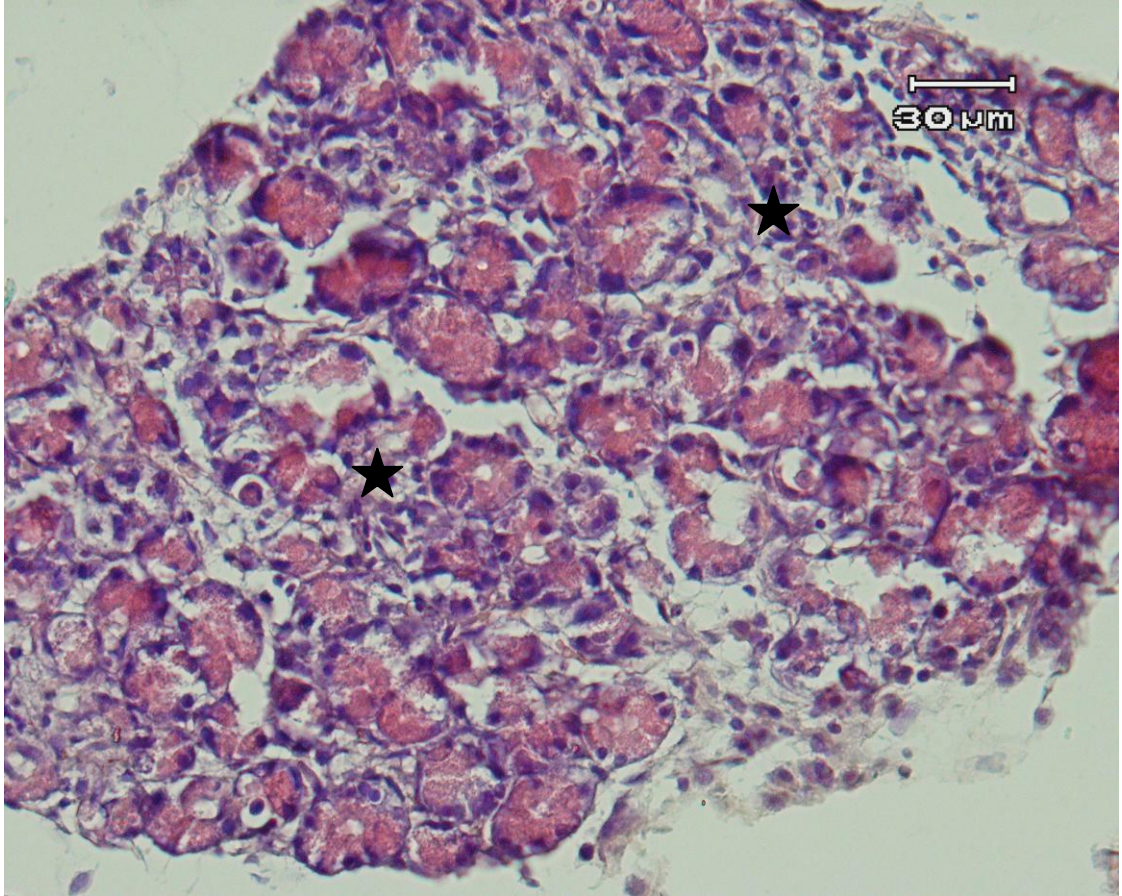
Mikroskop incelemelerinde, Az6 grubu sıçanlara ait pankreasta görülen atipik asinar hücre fokusu (AAHF), fenotipik olarak çevrelerindeki normal parankimi oluşturan asinar hücrelerinden belirgin bir şekilde ayrılmaktadır (kesikli çizgiler). Neoplastik gelişime bağlı olarak fokus içerisinde farklı büyüme kapasitelerine bağlı olarak gelişen yeni bir fokus meydana gelmiştir (★). AAHF'nun sınırları belirgin olmasına rağmen herhangi bir bağ doku ile sınırlanmış değildir (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Az6 grubu sıçan pankreasına belirgin sınırları olan sahip asidofilik özellikte AAHF'ü (kesikli çizgiler) ve farklı gelişim hızına sahip diğer bir AAHF (★) görünümü, Hx E.

AAHF’u hipertrofik özelliğe sahip, sitoplazmada içerdikleri zimojen granül içeriklerinin daha yoğun olduğu ve artmış asidofilik özellikleri sayesinde daha koyu boyandıkları gözlenmiştir (Şekil 4.3.).

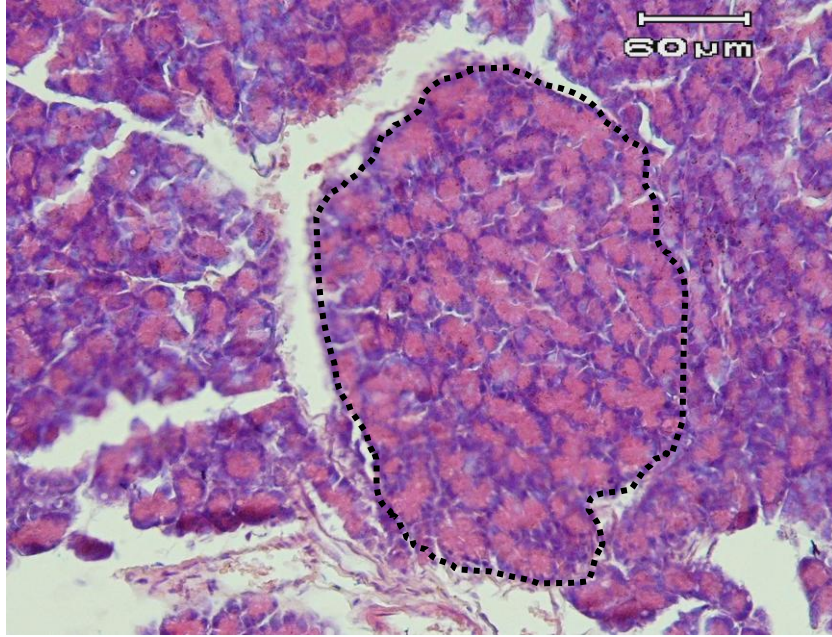
Az6 grubu sıçanların pankreasları incelendiğinde, azaserin uygulaması sonucunda atipik asinar hücre odaklarının (AAHF) meydana geldiği görülmüştür. Bunun yanında asinar hücrelerin oluşturduğu lob yapısında belirgin bozulmalar, asinar hücre sitoplazmasında ve zimojen granül miktarında materyal kayıplarının meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Az6 grubu sıçanların asinar hücrelerinde oluşan ve lob yapısında meydana belirgin bozulmaların görünümü (★), H&E.

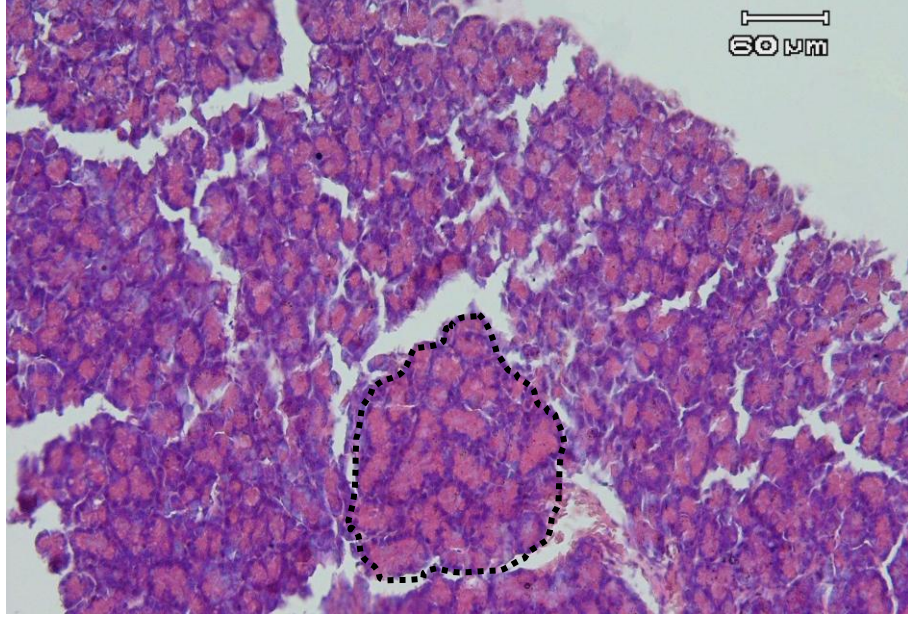


Az12 grubu hayvanların pankreaslarında diğer gruptakilerden daha büyük AAHF'ları olduğu görüldü. Belirgin bir şekilde diğer asinar hücre yapılarından ayırt edilebilen fokus yapısı belirli bir bağ dokusu ile sınırlandırılmamış ve çevresindeki dokuya herhangi bir invazyon meydana gelmemiştir (Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.).

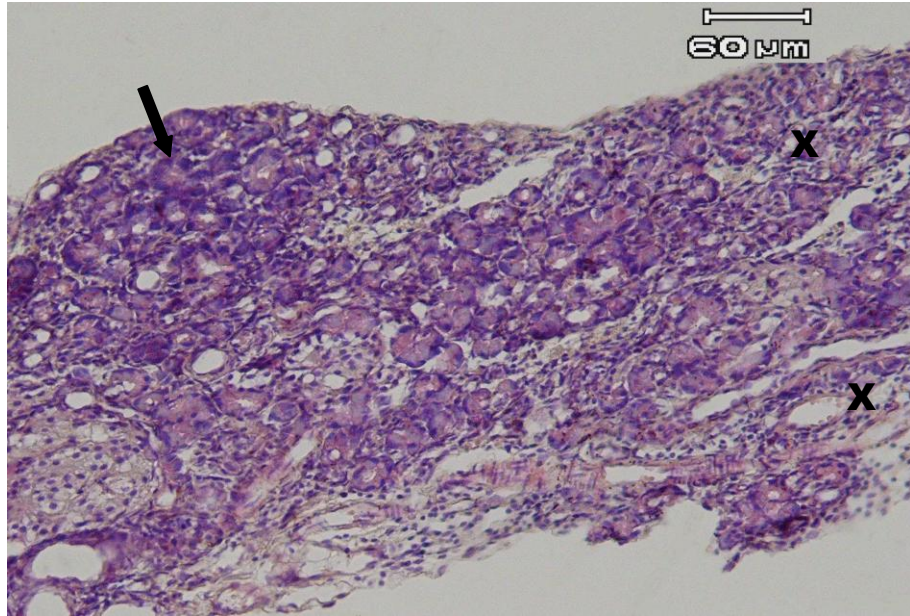


Şekil 4.4. Az12 grubu bireylerin pankreaslarında görülen bir AAHF. Belirgin olarak etrafındaki sağlıklı dokudan ayrılabilen, sınırları belirgin ve invazif karakterde olmayan bir görünüme sahiptir (kesikli çizgiler), HxE.

Az6 grubunda olduğu gibi Az12 grubu sıçanların pankreasında da sağlıklı asinar hücre yapısının yanında yer yer bozulmalar meydana gelmiş asinar hücre yapıları tespit edilmiştir. Hasara uğramış bol miktardaki lobüler yapıların yanı sıra çok miktarda salgı kanalları göze çarpmaktadır. Bu yapılar gelişmekte olan doku kaybının bir habercisi (nekroziz) ya da kanalsı (duct-like) yapılardan meydana gelen lezyonların öncülleri olabilir (Şekil 4.6.).



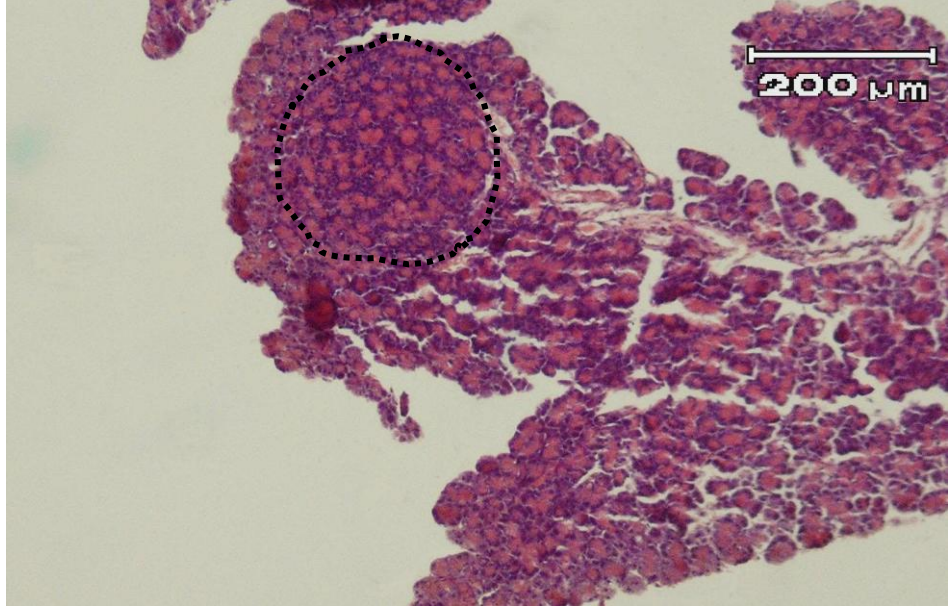
Şekil 4.5. Az12 grubu sıçanların pankreaslarında görülen bir AAHF (kesikli çizgiler), HxE.



Şekil 4.6. Az12 grubu sıçanların pankreaslarında sağlıklı asinar hücreler (ok) ile bir arada görülen, hasarlı asinar hücre topluluğu ve salgı kanalları içeren lob yapısı görünümü (X), HxE.



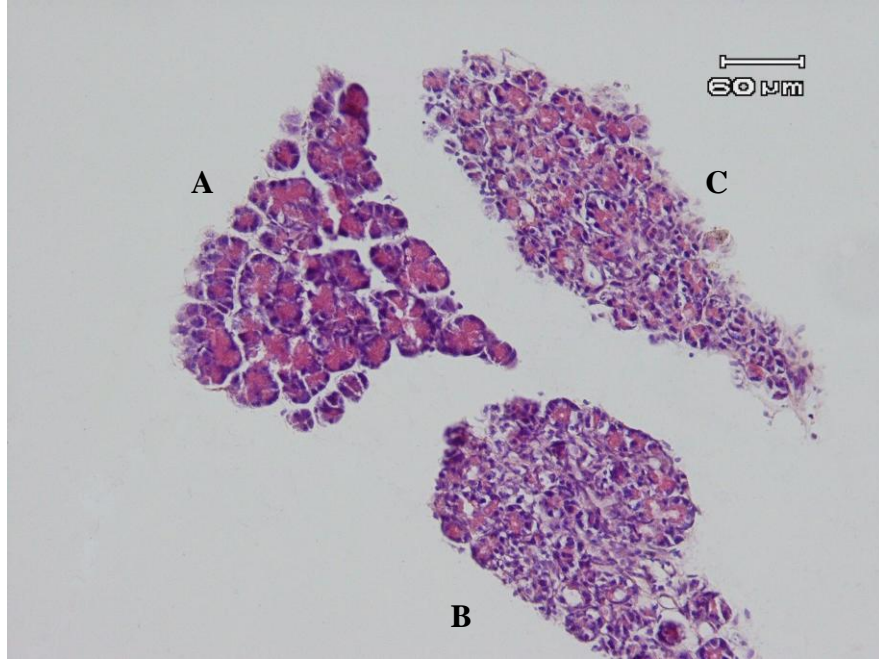
Azaserin uygulamasından sonra ASA uygulanan 6 aylık sıçanlarda da (AzAs206 ve AzAs406) çok yoğun olmamakla birlikte asinar hücre değişimleri meydana gelmiştir. Bu değişimler arasında AAHF'ları, asinar hücre lobüllerinde meydana gelen bozulmalar ve bazofilik özellikte asinar hücre fokusu görülmüştür. 6 aylık deney süresi sonucunda meydana gelen AAHF'ları etrafındaki sağlam dokulardan belirgin şekilde ayırt edilebilir yapıda ancak 12 aylık grupların fokuslarına göre daha küçük alan ve hacimlere sahiptirler (Şekil 4.7.).



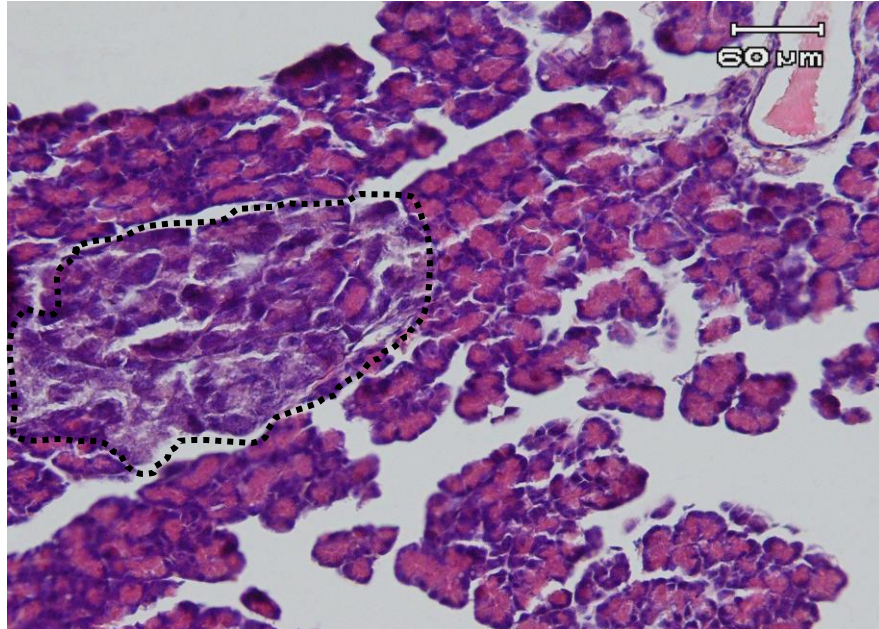
Şekil 4.7. AzAs206 grubu sıçanlara ait belirgin bir sınırı olan ancak invazif karakterde olmayan 12 aylık azaserin gruplarına göre daha küçük bir AAHF (kesikli çizgiler), HxE.

AzAs406 grubu sıçanların pankreas görüntüleri sağlıklı dokular ile kıyaslandığında belirgin bir düzeyde hasara uğramış asinar hücre yapıları görülmektedir. Hücreler sitoplazma kayıplarına uğramış, doku içinde yer yer boşluklar meydana gelmiş ve zimojen granülleri açısından oldukça fakir olduğundan soluk bir görünüme sahip olmuşlardır (Şekil 4.8.).

Bazofilik yapıdaki fokus hücrelerinin pleomorfik özellikte nükleuslara sahip oldukları ve nükleuslarında karyoreksis meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 4.9. ve Şekil 4.10.)

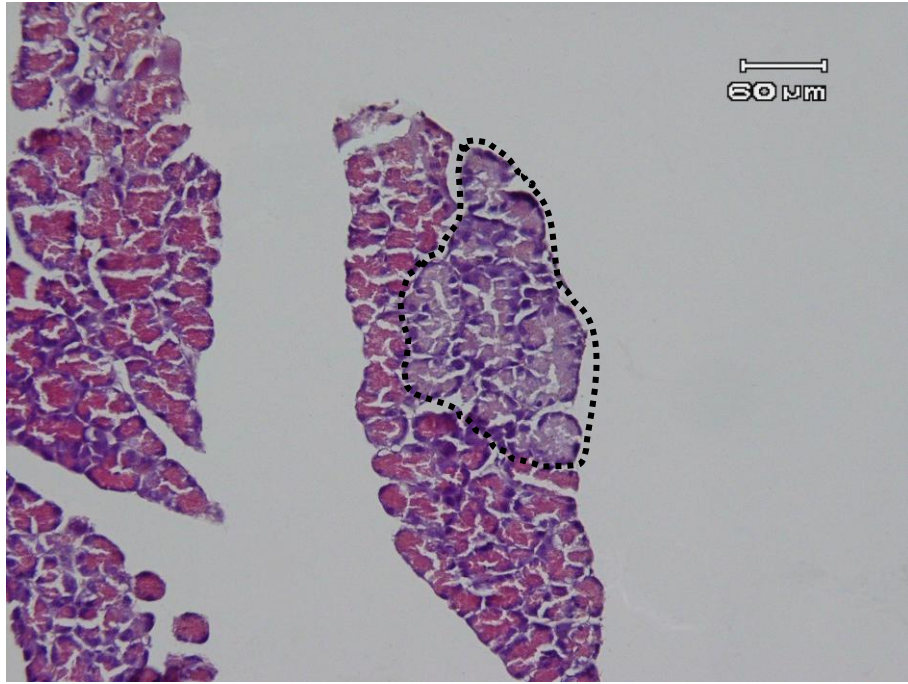


Şekil 4.8. AzAs406 grubu sıçanların normal asinar hücreleri (A) ve azaserin uygulaması sonucu doku hasarı meydana gelmiş lob yapıları (B ve C), Hx&E.



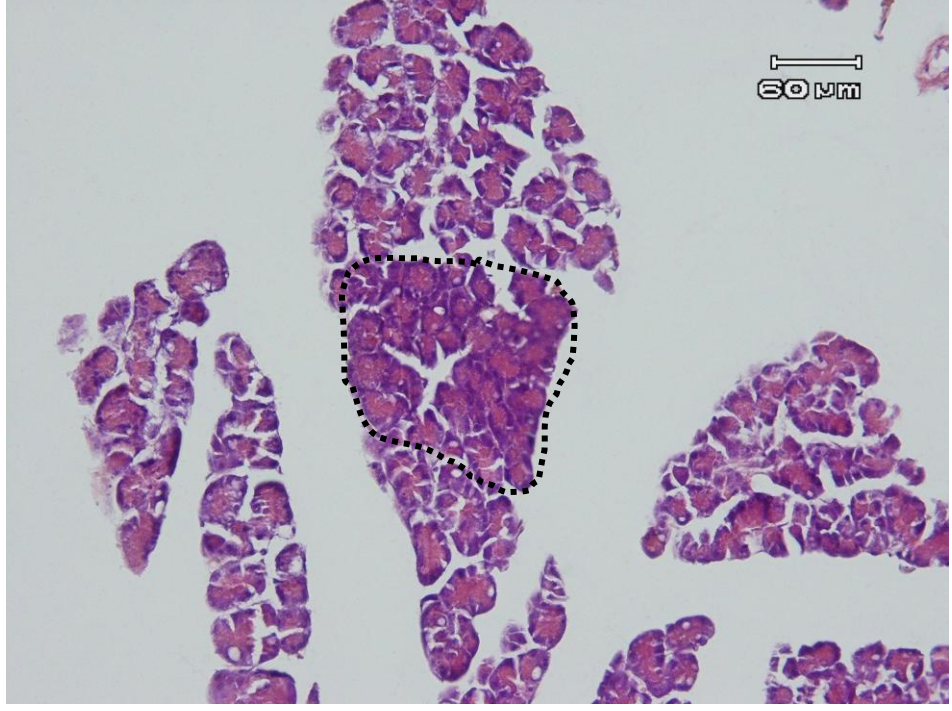
Şekil 4.9. AzAs406 grubu sıçanlarda azalan zimojen granül sayısı nedeniyle solgun görünüme sahip bazofilik fokus (kesikli çizgiler), Hx&E.

Deney süresi sonucunda azaserin ve ASA uygulanan sıçanların tümünde mikroskopik inceleme sonucunda AAHF'ları görülmektedir. 12 aylık sıçanların ortalama fokus çap ve ortalama fokus hacimlerinde diğer gruplara oranla istatistiki bir artış olmuştur. 12 aylık AzAs212 ve AzAs412 gruplarında asidofilik ve bazofilik nitelikte fokuslar gözlemlenmiştir. Fokuslar etraflarındaki sağlıklı dokulardan belirgin bir şekilde ayrılmaktadır (Şekil 4.10. ve Şekil 4.11.).



Şekil 4.10. Sitoplazma içerisindeki azalan zimojen granülleri, fokusların sağlam dokulara göre daha soluk boyanmış bir görünüme sahip olmasını sağlamıştır. AzAs212 grubuna ait bazofilik fokus (kesikli çizgiler), Hx E.





Şekil 4.11. Zimojen granül yöneden zengin, asidofilik boyanmış bir AAHF (AzAs412 grubu) (kesikli çizgiler), Hx E.

#### 4.1.5.2. Atipik Asinar Hücre Fokusları (AAHF) ve Bunların Kantitatif analizleri

Herhangi bir kimyasalla muamele edilmeyen kontrol gruplarında (Kon6 ve Kon12) atipik asinar hücre fokusuna rastlanmamıştır. Ancak azaserin verilen gruplar (Az6 ve Az12) ile azaserine enjekte edilmiş ASA uygulanmış sıçan gruplarında (AsAz206, AsAz406, AsAz212 ve AsAz412) atipik asinar hücre fokuslarına rastlanmıştır. Ancak, sıçanlarda atipik asinar hücre adenoması veya adenokarsinomasına rastlanmamıştır.

Altı ve oniki aylık deney süresi sonunda tüm deney gruplarının pankreasları, atipik asinar hücre fokusları (AAHF) bakımından histolojik ve kantitatif olarak değerlendirilmeye alındığında kontrol gruplarında (Kon6 ve Kon12) herhangi bir AAHF'larına rastlanılmamıştır. Altı aylık deney gruplarından yalnızca azaserin

uygulaması yapılan deney grubu ile (Az6) azaserin yanında 200 ve 400 ppm'lik ASA verilen deney gruplarının (AzAs206 ve AzAs406) AAHF yükü karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli sayılabilecek bir fark bulunmamıştır.

Oniki aylık deney süreli Az12 grubunun 6 aylık Az6 deney grubu ile karşılaştırılması sonucunda tüm kantitatif parametrelerde ( $\text{mm}^3$ 'e düşen AAHF miktarı hariç) AAHF yükünün arttığı görülmüştür.

ASA'in, deneysel olarak meydana getirilen AAHF'ları üzerindeki etkisi incelendiğinde AzAs212 grubuna ait AAHF yükünün kantitatif olarak azalma gösterdiği ( $\text{mm}^3$ 'e düşen AAHF miktarı hariç) ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli derecede gerçekleştiği görülmüştür ( $\text{mm}^2$ 'ye düşen AAHF miktarı hariç). Kantitatif sonuçlara göre AAHF yükündeki azalmanın AzAs212 grubuna göre AzAs412 grubunda daha fazla olduğu ve  $\text{mm}^3$ 'e düşen AAHF miktarı hariç diğer tüm kantitatif parametrelerde istatistiksel olarak önemli derecede bir azalmanın var olduğu görülmüştür (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.1. Altı ve 12 ay deney süreleri uygulanmış deney gruplarına ait sıçanların ortalama vücut ağırlıkları ile pankreas, karaciğer ve böbrek ağırlıkları (Ortalama  $\pm$  Standart Sapma).  $p < 0,05$

GRUPLAR	Kon6	Az6	AzAs206	AzAs406	As206	As406	Kon12	Az12	AzAs212	AzAs412	As212	As412
<b>Vücut Ağırlıkları (g)</b>	282,7 $\pm$ 18,7	285,7 $\pm$ 36,2	251,5 <sup>aaa</sup> $\pm$ 28,8	226,5 <sup>aaa</sup> $\pm$ 13,9	191,9 <sup>aaa</sup> $\pm$ 10,9	201,1 <sup>aaa</sup> $\pm$ 20,3	355,3 $\pm$ 28,8	324 <sup>b</sup> $\pm$ 24,4	276,2 <sup>bbb</sup> $\pm$ 15,9	324,3 <sup>bbb</sup> $\pm$ 8,8	235,9 <sup>bbb</sup> $\pm$ 15,3	260,5 <sup>bbb</sup> $\pm$ 15,2
<b>Pankreas Ağırlıkları (g)</b>	1,07 $\pm$ 0,1	1,22 $\pm$ 0,1	1,26 $\pm$ 0,1	1,24 $\pm$ 0,2	0,79 <sup>aaa</sup> $\pm$ 0,1	0,85 <sup>aaa</sup> $\pm$ 0,06	1,11 $\pm$ 0,2	0,44 <sup>b</sup> $\pm$ 0,1	1,28 <sup>bb</sup> $\pm$ 0,1	1,29 <sup>bb</sup> $\pm$ 0,1	0,88 <sup>bbb</sup> $\pm$ 0,06	0,96 <sup>bb</sup> $\pm$ 0,1
<b>Karaciğer Ağırlıkları (g)</b>	7,84 $\pm$ 1,03	8,84 $\pm$ 1	8,31 $\pm$ 0,7	6,19 <sup>aaa</sup> $\pm$ 0,5	6,67 <sup>aaa</sup> $\pm$ 0,4	6,69 <sup>aaa</sup> $\pm$ 0,5	11,2 $\pm$ 1,2	9,46 <sup>b</sup> $\pm$ 0,7	7,06 <sup>bbb</sup> $\pm$ 0,6	9,78 <sup>b</sup> $\pm$ 0,8	7,89 <sup>bbb</sup> $\pm$ 0,7	7,68 <sup>bbb</sup> $\pm$ 0,4
<b>Böbrek Ağırlıkları (g)</b>	1,78 $\pm$ 0,2	1,53 <sup>a</sup> $\pm$ 0,1	1,48 <sup>a</sup> $\pm$ 0,1	1,37 <sup>a</sup> $\pm$ 0,09	1,25 <sup>aaa</sup> $\pm$ 0,05	1,45 <sup>a</sup> $\pm$ 0,1	2,28 $\pm$ 0,2	1,98 <sup>b</sup> $\pm$ 0,1	1,88 <sup>b</sup> $\pm$ 0,1	1,92 <sup>bbb</sup> $\pm$ 0,1	1,57 <sup>bbb</sup> $\pm$ 0,1	1,62 <sup>bbb</sup> $\pm$ 0,1

- a Kon6 grubuna göre istatistiksel olarak farklı grup  
aa Az6 grubuna göre istatistiksel olarak farklı grup  
aaa Hem Kon6 hemde Az6 grubuna göre istatistiksel olarak farklı grup

- b Kon12 grubuna göre istatistiksel olarak farklı grup  
bb Az12 grubuna göre istatistiksel olarak farklı grup  
bbb Hem Kon12 hemde Az12 grubuna göre istatistiksel olarak farklı grup



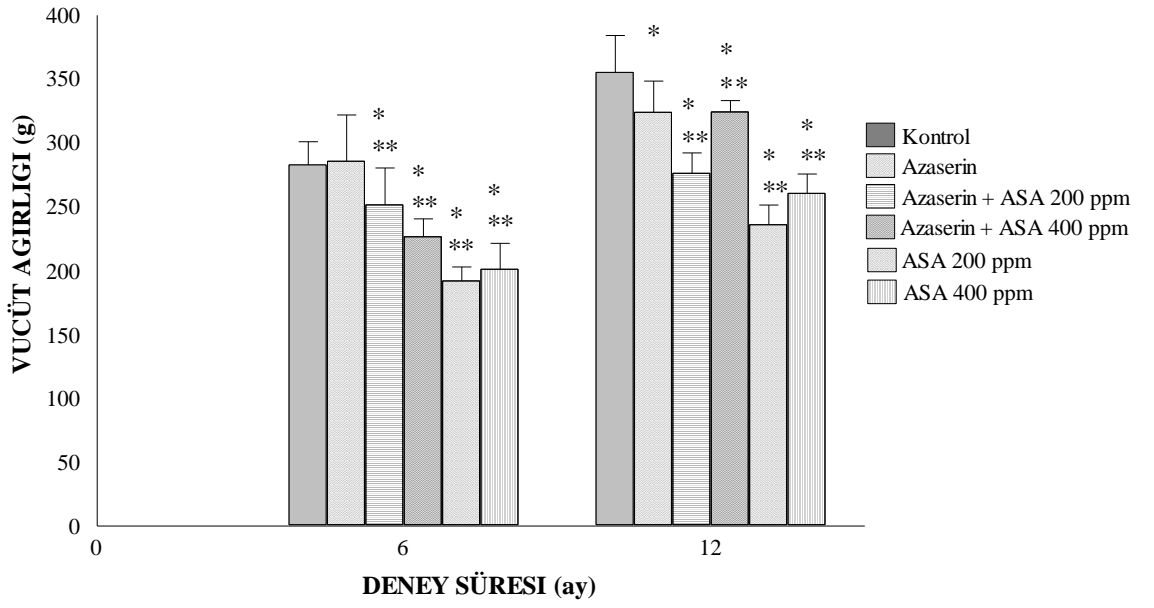
Çizelge 4.2. Azaserin enjeksiyonu ile meydana getirilmiş AAHF'ları üzerinde ASA'in inhibisyon etkisinin karşılaştırılması amacıyla tüm gruplara ait kantitatif fokus değerleri (Ortalama değer  $\pm$  standart sapma)  $p < 0,05$

GRUPLAR	Kon6	Az6	AzAs206	AzAs406	Kon12	Az12	AzAs212	AzAs412
mm <sup>2</sup> 'ye düşen AAHF	0	0,190 $\pm$ 0,043	0,339 $\pm$ 0,184	0,149 $\pm$ 0,0431	0	0,497 <sup>a</sup> $\pm$ 0,024	0,511 $\pm$ 0,208	0,167 <sup>aa</sup> $\pm$ 0,048
mm <sup>3</sup> 'e düşen AAHF	0	1,156 $\pm$ 0,246	2,525 $\pm$ 1,449	1,009 $\pm$ 0,340	0	1,970 $\pm$ 0,070	2,635 $\pm$ 1,308	1,106 $\pm$ 0,429
AAHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne % oranı	0	0,180 $\pm$ 0,024	0,213 $\pm$ 0,097	0,125 $\pm$ 0,011	0	1,300 <sup>a</sup> $\pm$ 0,381	0,777 <sup>aa</sup> $\pm$ 0,214	0,148 <sup>aaa</sup> $\pm$ 0,003
Ortalama fokus çapları (mm)	0	0,164 $\pm$ 0,002	0,135 $\pm$ 0,004	0,149 $\pm$ 0,007	0	0,252 <sup>a</sup> $\pm$ 0,020	0,197 <sup>aa</sup> $\pm$ 0,022	0,154 <sup>aaa</sup> $\pm$ 0,016
Ortalama fokus hacmi (mm <sup>3</sup> )	0	0,0015 $\pm$ 0,0001	0,0008 $\pm$ 0,0001	0,0012 $\pm$ 0,0003	0	0,0066 <sup>a</sup> $\pm$ 0,0021	0,0031 <sup>aa</sup> $\pm$ 0,0007	0,0014 <sup>aa</sup> $\pm$ 0,0005

- a Az6 grubuna göre istatistiksel olarak farklı grup  
aa Az12 grubuna göre istatistiksel olarak farklı grup  
aaa AzAs212 grubuna göre istatistiksel olarak farklı grup

#### 4.1.6. Biyokimya Bulguları

Deney hayvanlarına ait karaciğerlerde yapılan biyokimya çalışmalarında 6 aylık kontrol (Kon6) grubunun serbest –SH konsantrasyonları azaserin (Az6) grubuna göre ve 12 aylık kontrol (Kon12) grubunun serbest –SH konsantrasyonları da azaserin (Az12) grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. 6 aylık deney grubunda kontrol (Kon6), azaserin ASA (AzAsp206 ve AzAsp406) ve yalnızca ASA içeren (Asp206 ve Asp406) grupların serbest –SH konsantrasyonları yalnızca azaserin verilen (Az6) gruptan anlamlı bir şekilde yüksek bulundu (Şekil 4.16. ). İki aylık periyotta azaserin ASA (AzAsp412) ve ASA (Asp212 ve Asp412) gruplarının serbest –SH konsantrasyonları anlamlı bir şekilde azaserin (Az12) grubundan yüksektir. Azaserin ASA (AzAsp212) grubu serbest –SH değerleri de azaserin (Az12) grubundan yüksek olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı değildir. 12 aylık azaserin grubu (Az12) serbest –SH değerleri, 6 aylık azaserin grubundan (Az12) fazla bulunmasına ( $1,37 \pm 0,06$ ;  $1,24 \pm 0,15$  ) karşın anlamlı değildir (Şekil 4.16.).

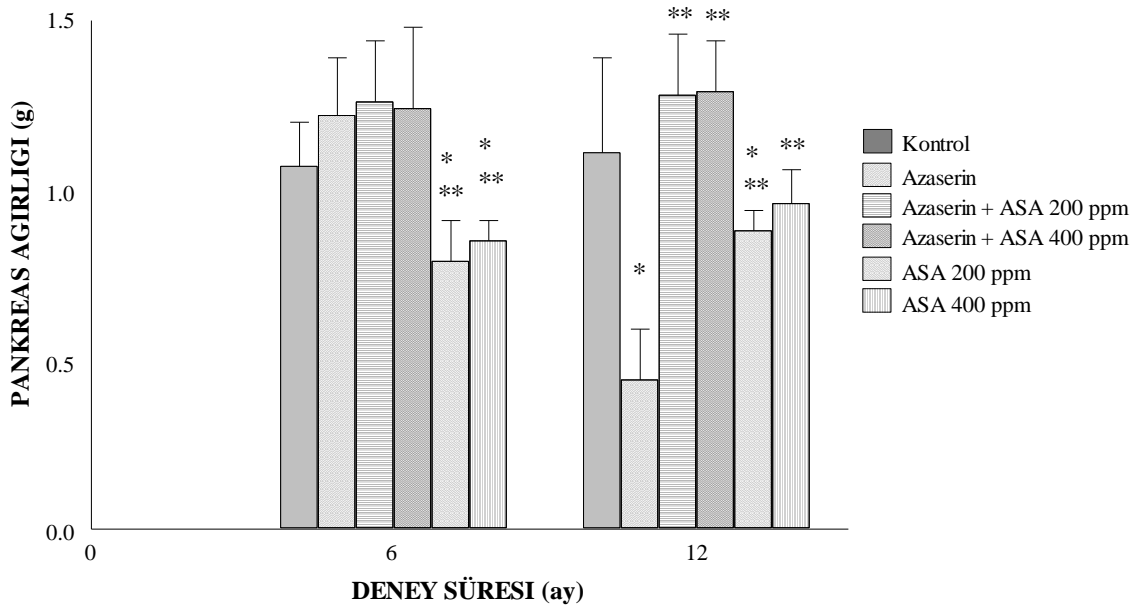


Şekil 4.12. Deney hayvanları vücut ağırlıkları

$p < 0,05$

\* Kontrol grubundan farklı değer

\*\* Azaserin grubundan farklı değer

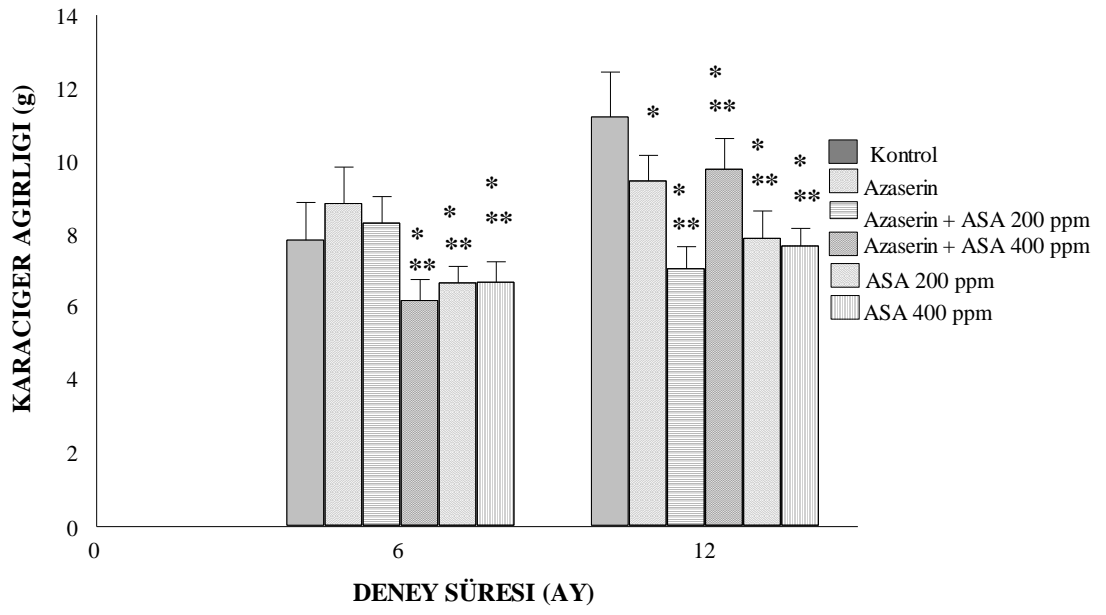


Şekil 4.13. Deneysel hayvanların pankreas ağırlıkları

$p < 0,05$

\* Kontrol grubundan farklı değer

\*\* Azaserin grubundan farklı değer

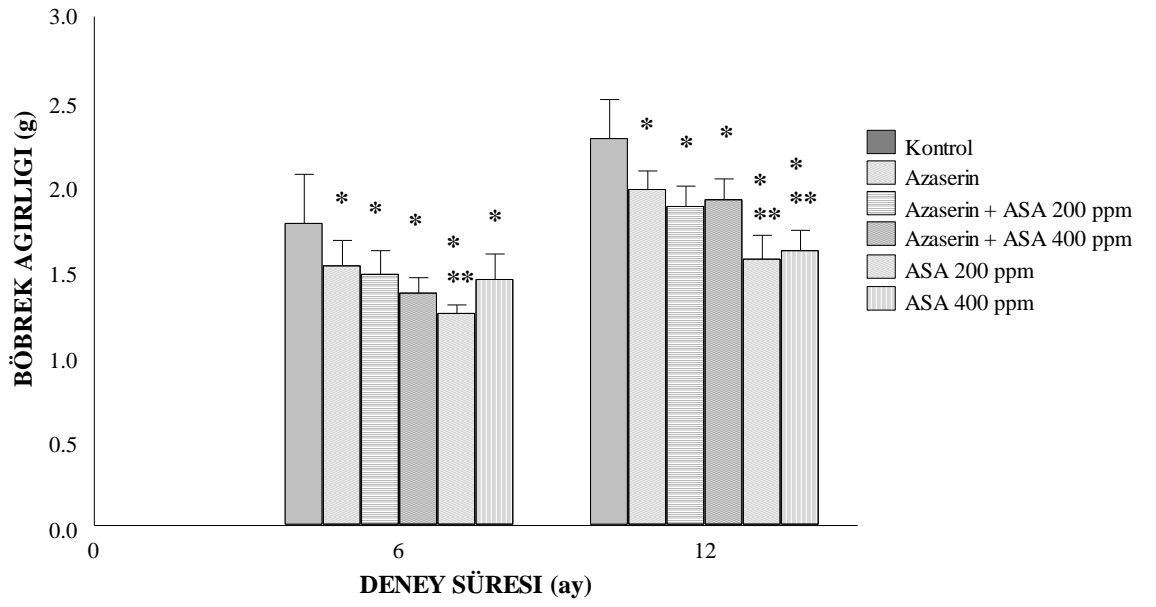


Şekil 4.14. Deney hayvanları karaciğer ağırlıkları

$p < 0,05$

\* Kontrol grubundan farklı değer

\*\* Azaserin grubundan farklı değer

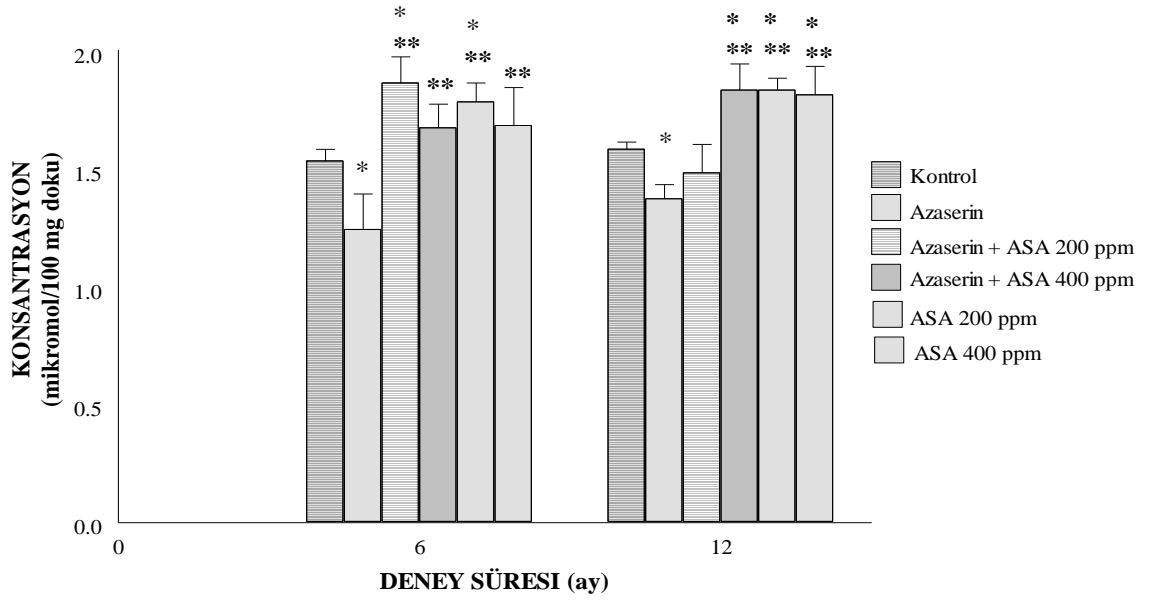


Şekil 4.15. Deney hayvanları böbrek ağırlıkları

$p < 0,05$

\* Kontrol grubundan farklı değer

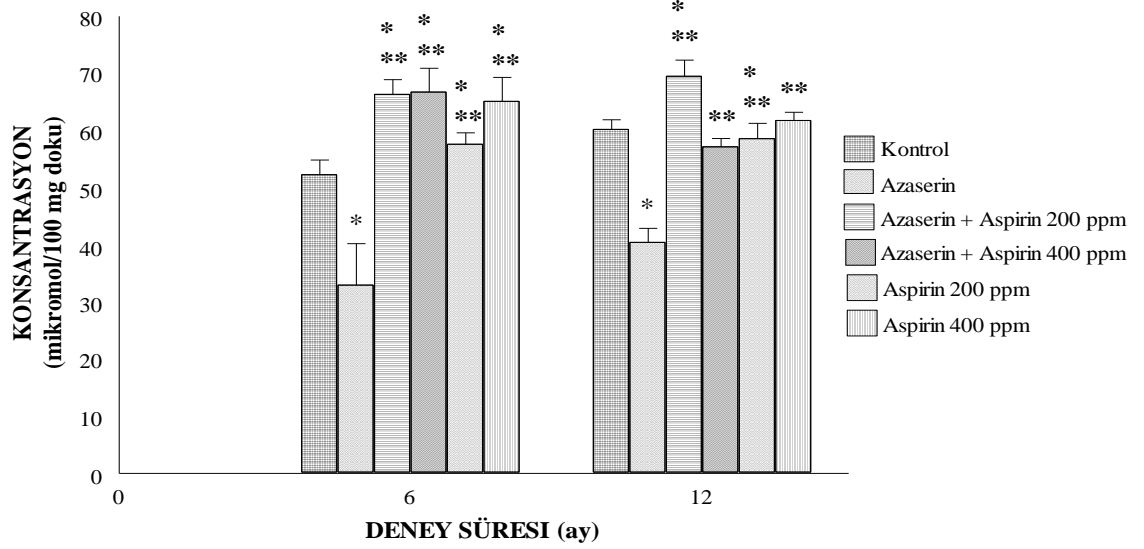
\*\* Azaserin grubundan farklı değer



Şekil 4.16. Karaciğerde 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen serbest -SH konsantrasyon değerleri  $p < 0,05$

\* Kontrol grubundan farklı değer

\*\* Azaserin grubundan farklı değer



Şekil 4.17. Karaciğerde 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen proteine bağlı -SH konsantrasyonları değerleri  $p < 0,05$

\* Kontrol grubundan farklı değer

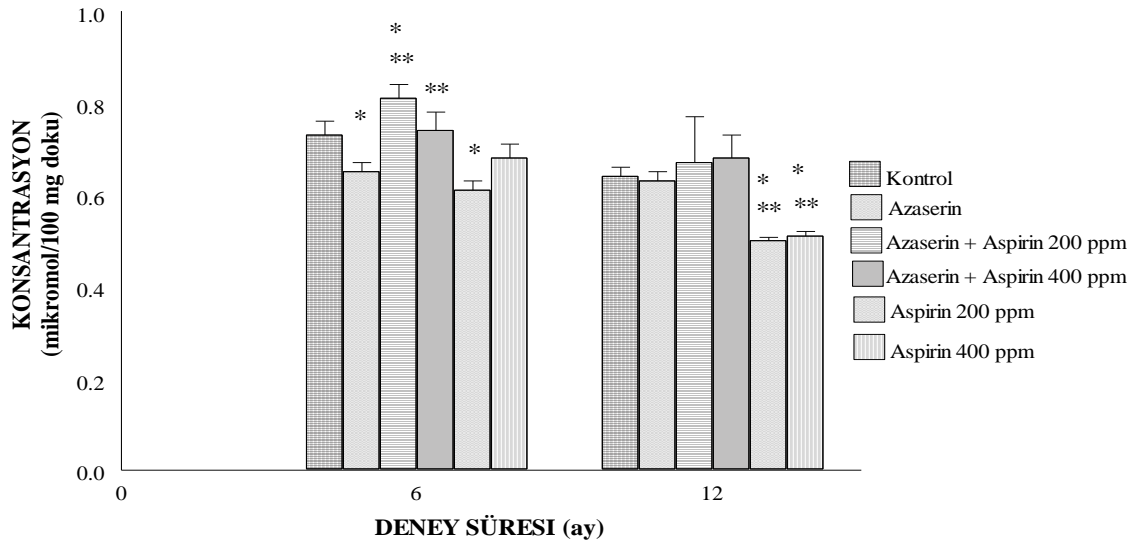
\*\* Azaserin grubundan farklı değer



Karaciğerde ölçülen proteine bağlı –SH konsantrasyonları 6 aylık kontrol (Kon6) grubunda, azaserin (Az6) grubuna göre daha yüksektir (Şekil 4.17.). ASA verilen (AzAsp206, AzAsp406, Asp206 ve Asp406) gruplarının sahip oldukları proteine bağlı –SH konsantrasyonları da azaserin grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Benzer şekilde 12 aylık değerler karşılaştırıldığında kontrol (Kon12) grubu, azaserin (Az12) grubuna göre anlamlı olacak şekilde yüksek bulundu. ASA verilen (AzAsp212, AzAsp412, Asp212 ve Asp412) gruplarda da yalnızca azaserin (Az12) verilen gruba göre daha yüksek –SH değerlerine sahiptir. 12 aylık azaserin grubunun (Az12) proteine bağlı –SH konsantrasyonu, 6 aylık azaserin grubuna (Az6) göre daha yüksek bulundu ( $40,42 \pm 2,47$ ;  $32,95 \pm 7,25$ ). AzAsp212 grubu en yüksek –SH konsantrasyonuna ( $69,51 \pm 2,81$ ) sahip grup olmuştur (Şekil 4.17.).

Deney hayvanlarına ait böbrek dokularında yaptığımız biyokimya çalışmalarında 6 aylık kontrol (Kon6) grubunda serbest –SH değerleri azaserin (Az6) grubundan anlam ifade edecek biçimde yüksek bulundu ( $0,73 \pm 0,03$ ;  $0,65 \pm 0,02$ ). Altı aylık azaserin ASA grupları (AzAsp206, AzAsp406) serbest –SH konsantrasyonları azaserin grubundan (Az6) anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $0,81 \pm 0,03$  ve  $0,74 \pm 0,04$ ;  $0,65 \pm 0,02$ ). Ancak yalnızca ASA verilen (Asp206 ve Asp406) gruplar ile azaserin grubu (Az6) arasında anlamsal olarak bir fark bulunmamıştır. Oniki aylık çalışma sonuçlarına göre kontrol (Kon12) ve azaserin (Az12) gruplarına ait serbest –SH değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur. Azaserin ASA grupları (AzAsp212 ve AzAsp412) –SH konsantrasyon değerleri, kontrol (Kon12) ve azaserin (Az12) gruplarından yüksek olsa da anlamlı değildir. Yalnızca ASA uygulanan grupların (Asp212 ve Asp412) –SH değerleri şaşırtıcı biçimde hem 6 aylık hem de 12 aylık diğer tüm gruplardan oldukça düşük konsantrasyona sahiplerdir ( $0,50 \pm 0,007$ ;  $0,51 \pm 0,01$ ) (Şekil 4.18.).

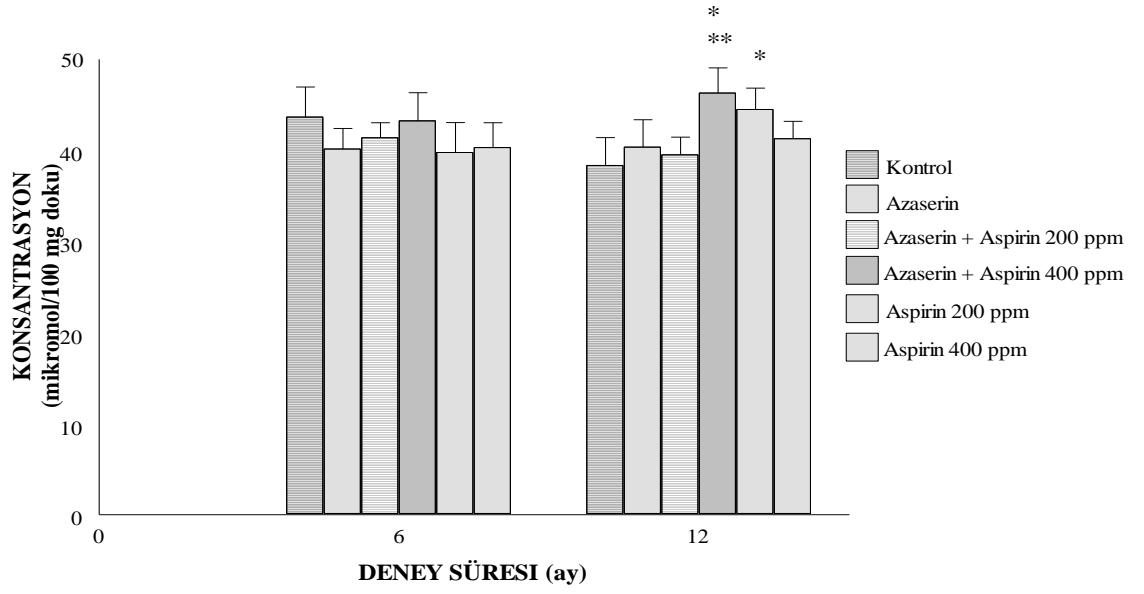
Böbrekte ölçülen proteine bağlı –SH konsantrasyonları 6 ve 12 aylık kontrol (Kon6 ve Kon12) grupları ile azaserin (Az6 ve Az12) grupları arasında fark bulunmamıştır. Yalnızca azaserin ASA (AzAsp412) grubu proteine bağlı –SH konsantrasyonları kontrol (Kon12) ve azaserin (Az12) gruplarından anlamlı olarak yüksek bulundu (Şekil 4.19.).



Şekil 4.18. Böbrekte 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen serbest -SH konsantrasyonları değerleri  $p < 0,05$

\* Kontrol grubundan farklı değer

\*\* Azaserin grubundan farklı değer



Şekil 4.19. Böbrekte 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen proteine bağlı -SH konsantrasyon değerleri  $p < 0,05$

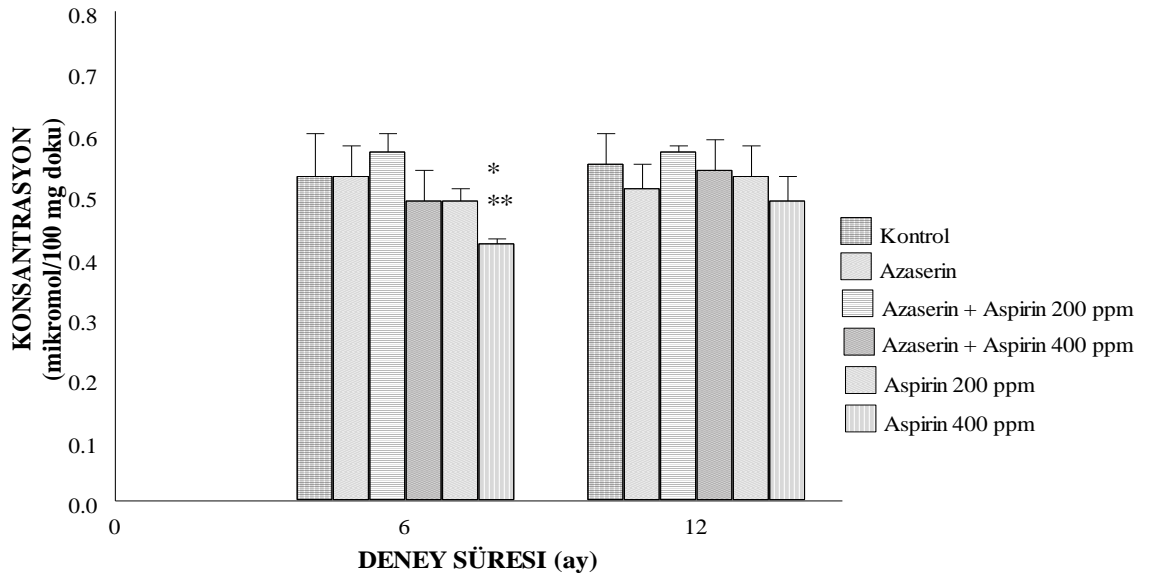
\* Kontrol grubundan farklı değer

\*\* Azaserin grubundan farklı değer

Pankreas dokusu homejenetından 100 mg'lık örnekler alınarak yapılan incelemelerde, serbest –SH konsantrasyonları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Azaserin ve 200 ppm ASA uygulanan 6 ve 12 aylık gruplarda serbest –SH varlığı en yüksek olarak ölçüldü (AzAsp206= 0,576 ve AzAsp= 0,574). Azaserin verilen 12 aylık deney grubunun (Az12= 0,51) serbest –SH konsantrasyonu, hem kontrol (Kon12= 0,55) hem de azaserin ASA (AzAsp212= 0,57) konsantrasyonundan daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 4.20.).

Pankreasın proteine bağımlı –SH değerleri kıyaslandığında 6 aylık gruplar içerisinde yalnızca AzAsp406 ve As406 grupları birbirlerinden farklıdır. Diğer tüm 6 aylık deney grupları istatistiki olarak aynıdırlar. 12 aylık gruplar içerisinde AzAsp212 grubu Az12 ve Kon12 gruplarından daha az konsantrasyona sahip bulundu (Şekil 4.21.).

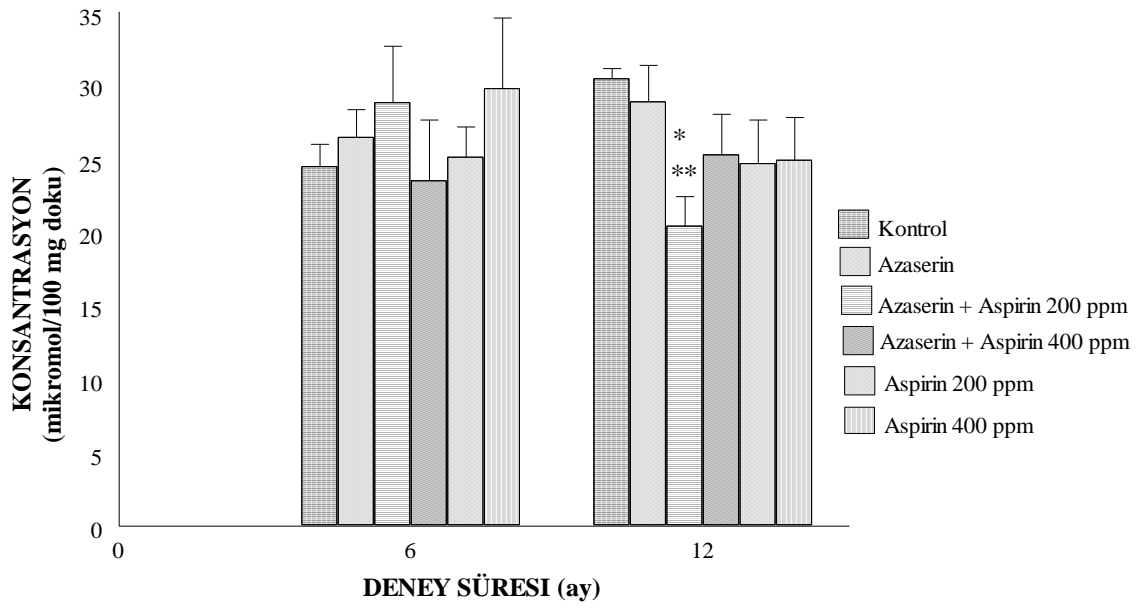
En yüksek serbest –SH grubu konsantrasyonları karaciğerde ölçüldü. Deney grupları karşılaştırıldığında böbrekte ölçülen serbest –SH değerleri aynı grupların pankreastaki değerlerinden daha yüksek (Asp212 hariç) bulunmuştur. Benzer şekilde proteine bağlı –SH konsantrasyonları incelendiğinde Az6 grubu hariç karaciğer en yüksek konsantrasyona sahip organ olarak bulundu. Proteine bağlı –SH konsantrasyonları tüm gruplar için en az pankreasta ölçülmüştür.



Şekil 4.20. Pankreasta 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen serbest -SH konsantrasyon değerleri  $p < 0,05$

\* Kontrol grubundan farklı değer

\*\* Azaserin grubundan farklı değer



Şekil 4.21. Pankreasta 6 ve 12 aylık deney süreleri sonunda her gruptan elde edilen proteine bağlı –SH konsantrasyonları değerleri  $p < 0,05$

\* Kontrol grubundan farklı değer

\*\* Azaserin grubundan farklı değer

## 4.2. Tartışma

Kanser tüm dünyada ölüm nedenleri arasında ikinci sırada olup yalnızca kardiovasküler hastalıklar daha yüksek bir ölüm oranına sahiptir (Şengelen, 2002; İzmirli ve ark., 2007). Tüm dünyada yaygın bir hastalık haline gelen kanserin, steroid olmayan anti inflammatuar ilaçların (NSAİİ) kullanılmasıyla önlenebileceği daha önce yapılan klinik, epidemiyolojik ve deneysel araştırmalarla ortaya konulmuştur (Kawamori ve ark., 1998; Giovanucci, 1999; Zhou ve ark., 2001).

Thun ve arkadaşları (1991), ASA kullanan bireylerde kolorektal kanserine yakalanan hastaların ölüm oranlarının, kullanmayanlara göre daha az olduğunu göstermişlerdir. Benzeri şekilde NSAİİ türevi kullanılarak yapılan deneysel çalışmada (Kawamori ve ark., 1998) NSAİİ'lerin kolon kanseri riskini yüksek oranda azalttığını ortaya koymuşlardır.

NSAİİ'lerin antitümör etkilerini açıklamak için ileri sürülen mekanizmalar arasında, hücre çoğalması ve anjiyogenezin inhibisyonu, apoptosisin stimüle edilmesi ve teşviki ile siklooksigenaz-2 inhibisyonu gibi etki mekanizmalarının etkili olabileceği ileri sürülmüştür. Bu mekanizmalar ASA'nın deneysel, epidemiyolojik ve klinik uygulamalar sonucu pankreas ve etkili olduğu bilinen diğer kanser türlerine karşı kemopreventif etkilerini açıklamada yararlı olabilir.

Genel olarak kabul gören mekanizmaya göre NSAİİ'ler etkilerini, prostaglandinlerin araşidonik asitten sentezi sırasında görev alan siklooksigenaz enzimlerinin inhibisyonu yoluyla göstermektedirler. Prostaglandinlerin immün fonksiyonlarının regülasyonu ve hücre proliferasyonunun kontrolünde etkili oldukları bilinmektedir (Lieshout ve ark., 1997). Kolon ve diğer birçok kanser türleri üzerinde yapılan çalışmalarda siklooksigenaz-2 enziminin kanser hücrelerinde yüksek konsantrasyona sahip olduğu gösterilmiştir (Gustafson-Svard ve ark., 1996).

ASA içeren NSAİİ grubu ilaçları *in vitro* kanser hücre kültürlerinde hücre bölünmesini inhibe ettiği ve apoptosize neden olduğu ve bu şekilde anti-tümör aktivite göstererek karsinogenezin önlenmesinde etkili bir mekanizma olduğu kabul edilmektedir (Zhou ve ark 2001).

Abbadessa ve ark. (2006), NSAİİ türevi olan salisilatın göğüs kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır.

Çalışmamızda karaciğer dokusunda kontrol grubu sıçanlarda, azaserin ile muamele edilmiş sıçanlarınkine göre daha yüksek serbest ve proteine bağlı –SH konsantrasyonu tespit edilmiştir. ASA verilmiş sıçanların karaciğerlerindeki serbest ve proteine bağlı -SH değerleri hem 6 aylık hemde 12 aylık deney sürelerinde azaserin gruplarından (Az6 ve Az12) daha yüksek bulundu. Azaserin enjekte edilmiş sıçanların karaciğer dokusunda ASA verilmiş gruplardakinden daha düşük serbest –SH ve proteine bağlı –SH konsantrasyonları gözlenmiştir. Bu durum böbrek dokusunda 6 aylık sonuçlar incelendiğinde aynı yönde olduğu görüldü. Pankreasta ASA verilen gruplardan yalnızca 200 ppm lik gruplarda serbest –SH değerleri yüksek bulunsa da istatistiki olarak anlamlı değildir.

Tiyol grubu içeren bileşiklerin neoplastik değişimler, mutasyon ve hücre proliferasyonu üzerindeki etkilerinin anlaşılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır (De Flora ve ark., 1991; Kumar ve ark., 1995; Lieshout ve ark., 1997; Nayak ve ark., 2007).

Hücre kültürleri ile yapılan deneyde NAC'in,  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , ve altı değerlikli kromum genotoksisitesini inhibe ettiği ve dolayısı ile bu toksisitenin neden olduğu mutajeniteyi de azalttığı, intraperitoneal olarak verilen kanserojen urethandan 15 gün önce diyetlerine eklenen NAC in akciğer tümörlerinde azalmaya neden olduğu, ayrıca NAC'in colon kanserine karşı koruyucu etkisinin var olduğu gösterilmiştir (De Flora ve ark., 1991).

Ortamdaki NAC konsantrasyonunun artışı ile sodyum nitrit, sodyum dikromat, hidrojen peroksit, 4-nitroquinoline-N-oxide (4NQO) ve N-methyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidine (MNNG) gibi oksidant ve mutagen olduğu bilinene moeküllerin bakterilerde meydana getirdiği genotoksisite arasında ters orantı olduğu, TA104 kültür hücrelerinin kullanıldığı deneyde, NAC serbest oksijen radikalleri üzerinde dozaja bağlı olarak bir inhibisyon meydana getirdiği ve benzer sonuçlara GSH ile  $\alpha$ -mercaptopropionylglycine kullanılarak da ulaşıldığı ortaya konulmuştur (De Flora ve ark., 1991).

Deney sonuçları incelendiğinde kontrol, azaserin ile ASA verilmiş grupların serbest ve proteine bağlı –SH değerleri incelendiğinde, konsantrasyon değerlerinin farklılık gösterdiği görülmüştür. Karaciğerde 6 ve 12 aylık ASA gruplarında –SH konsantrasyonlarının azaserin gruplarına göre arttığı, böbrek dokusunda serbest –SH değerleri 12 aylık ASA gruplarında, proteine bağlı –SH değerlerinde ise 6 aylık ASA



gruplarında bir artış gösterdiği görülmüştür. Pankreas dokusunda bazı 6 ve 12 aylık ASA gruplarında serbest -SH değerleri ve 6 aylık proteine bağlı-SH değerlerinde de bazı grupların konsantrasyonları yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildirlir.

Lieshout ve ark. (1997), çeşitli NSAİİ grubu ilaçların, glutatyon ve glutatyon transferaz konsantrasyonları üzerindeki etkilerini, gastrointestinal sistemin çeşitli organlarında incelemiştir. Bu çalışmaya göre, indomethacin, üst, orta ve arka barsakta glutatyon seviyesinde anlamlı bir değişikliğe neden olurken, piroxicam özefagusta, ASA ise orta barsakta anlamlı bir konsantrasyon değişimine neden olmaktadır. Glutatyon konsantrasyonunda NSAİİ ailesine ait farklı etken maddesine sahip ilaçlar, sindirim sisteminin değişik bölümlerinde farklı bir artışa neden oldukları görülmektedir. Çalışmamızda benzer şekilde ASA tiyol gruplarının konsantrasyonunu karaciğer ve pankreasta farklı şekilde etkilemiştir.

Kumar ve ark. (1995), karaciğerde kanserojen uygulamasını takiben GSH seviyesinin arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, artmış GSH miktarı gastrointestinal adenokarsinomada da rastlanmıştır. Ancak bazı araştırmacılar çeşitli neoplazilerde düşük GSH miktarı tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmalardan da anlaşılacağı üzere -SH içeren grupların konsantrasyonları çeşitli araştırmacılar tarafından farklı değerlerde ölçülmüştür.

Hücrelerde glutatyon seviyesinin düşmesine neden olabilecek birçok faktör vardır. Örneğin C vitamini eksikliği glutatyon seviyesinde bir düşüşe neden olur. Aynı şekilde yorucu egzersizler, diabet hastalığı, sistik fibrosiz ve HIV ile enfekte olunması da glutatyon seviyelerinin azalmasına neden olur (Jones ve ark., 2000). Kimyasallar kullanılarak oluşturulan oksidatif stres sonucu glutatyon seviyelerinin azaldığı bilinmektedir. Çalışmamızda daha önce yapılan benzeri çalışmaların bulgularını destekler nitelikte karaciğer ve böbrekte azaserin uygulaması sonucunda glutatyon değerlerinin Az6 grubunda kontrol ve ASA gruplarına göre daha düşük konsantrasyonlarda olduğunu gözlemledik.

Çalışmamız sonuçlarında 12 aylık deney süresi boyunca ASA uygulaması sonucunda AAHF'ları yükünde bir azalma meydana geldiği görüldü. Bu azalma 200 ve 400'ppm lik ASA uygulamalarının her ikisinde de gerçekleşmiştir. Bunun yanında 400 ppm'lik ASA uygulamasının AAHF' yükünün azalmasında daha etkili dozaj olduğu da

görülmüştür. Benzer şekilde fare modelleri üzerinde yapılan önceki çalışmalardan Barnes ve Lee (1998) yaptıkları deneyde, düşük (250 ppm) ve yüksek dozaj (500 ppm) aspirin kullanmış olup, yüksek dozajlı aspirin kullanımının etkili olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçların benzeri nitelikte yapılan önceki çalışmaların sonuçları ile örtüşmeke olduğu görülmektedir.

Sato ve ark. (1998), fare lenfoma kültür hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada sistin transport aktivitesinin yetersizliğinde glutatyon ve sistein miktarlarının belirgin olarak azaldığını rapor etmişlerdir.

Daha önce yapılan deneysel çalışmalarda kanserli dokularda tespit edilen glutatyon miktarlarının farklı olduğu bildirilmiştir. Çalışmamız sonuçlarına paralel olarak İnci ve ark. (1998), karaciğer kanseri hücrelerinde antioksidan savunma enzimlerini düşük saptamışlardır. Kanserli doku bitişik sağlam doku ile kıyaslandığında GSH seviyesinin anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ancak Daly ve ark. (1991), glutatyon S-transferaz enzimi ( $\pi$  klas) aktivitesini AAHF'lerinde daha yüksek bulmuşlardır. El-Sharabasy ve ark. (1993) göğüs kanseri hücrelerinde glutatyon ve glutatyon redüktaz aktivitesinin normal doku hücrelerinkinden daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir.

Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları incelendiğinde ASA verilen 6 ve 12 aylık grupların tümünde (As206, As406, As212 ve As412), kontrol ve azaserin gruplarına göre (Kon6, Kon12, Az6 ve Az12) istatistiksel olarak önemli bir azalma görülmüştür. Ancak, Lieshout ve ark., (1997) çalışmalarında, deney hayvanlarının vücut ağırlıklarında NSAİİ alımı sonucu bir artışın meydana gelmediğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda ASA alımı sonucunda deney hayvanlarının vücut ağırlıklarında meydana gelen bu azalma, zayıf asit özelliği gösteren ASA'in sindirim sistemi içerisindeki pH dengesini değiştirmesi ve buna bağlı olarak besin sindiriminin olumsuz etkilenmesi sonucunda meydana gelmiş olabilir.

Çalışmamızın sonucunda, azaserin enjeksiyonun 6 aylık süreç sonunda genel vücut ağırlığı, pankreas, karaciğer ve böbrek ağırlığının artışına önemli bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Bu veriler daha önce yapılan araştırma sonuçları ile aynı yönde olup (Roebuck ve ark., 1981) oniki aylık deney süresi sonunda azaserin ile muamele edilen hayvanların vücut ağırlığı, pankreas, karaciğer ve böbrek ağırlıklarında bir düşüş görülmüştür.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızdan elde edilen histolojik ve biyokimyasal sonuçların değerlendirilmesi sonucunda, asetilsalisilik asit etken maddesinin uzun süreli kullanımı, sıçanların ekzokrin pankreaslarında azaserin ile meydana getirilmiş atipik asinar hücre odaklarının miktar, alan ve hacimlerini azalttığı fikrini öne sürmek mümkündür.

Altı aylık bir zaman dilimi sıçanlar için erken bir dönem olarak kabul edilebileceği gibi bu araştırmada 6 aylık deney süresine sahip deney gruplarında 12 aylık deney süresine sahip gruplara göre ortalama kantitatif değerleri bakımından daha az AAHF yükü bulunması beklenen bir sonuç olarak kabul edilebilir.

Kantitatif sonuçlara göre AAHF yükünde, 12 aylık süre boyunca 200 ppm ASA kullanımına göre 400 ppm'lik ASA kullanımı sonucunda daha fazla bir azalmanın olduğu, böylece belirlenen seviyede yüksek dozaj kullanımının neoplastik değişimlerin oluşumunda önemli derecede bir azalmaya neden olabileceği görülmüştür.

Bu çalışmada, tiyol grubu bileşiklerinin konsantrasyonlarında gruplara göre değişen farklılıklar gözlenmiştir. Bu farklılıkların neoplastik gelişimin erken bir uyarıcısı olup olmayacağına dair yeni çalışmaların düzenlenmesi ve tiyol gruplarının kanser ile ilişkisinin detaylı olarak ortaya konulması için benzeri çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

**KAYNAKLAR**

- Aaronson, S., 1959. Mode of action of azaserine on *Gaffkya homari*. **J. Bacteriol**, (77): 548-551.
- Abbadessa, G., Spaccamiglio, A., Sartori, M., Nebbia, C., Dacasto, M., Di Carlo, F. and Racca, S., 2006. The aspirin metabolite, salicylate, inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-DNA adduct formation in breast cancer cells **International Journal of Oncology**, (28): 1131-1140.
- Anonim, 2006. "Kanser Yüku 2006" Raporu: **Türk Kanser Araştırma Kurumu**, Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü ve Ankara Ticaret Odası
- Baggott, J.E., Gorman, G.S. and Tamura, T., 2007. <sup>13</sup>C enrichment of carbons 2 and 8 of purine by folate-dependent reactions after [<sup>13</sup>C]formate and [<sup>2-13</sup>C]glycine dosing in adult humans. **Metabolism Clinical and Experimental**, (56): 708– 715.
- Barnes, C.J. and Lee, M., 1998. Chemoprevention of spontaneous intestinal adenomas in the adenomatous polyposis coli *Min* mouse model with aspirin. **Gastroenterology**, 114 (5): 873-877.
- Barnes, C.J. and Lee, M., 1999. Determination of an optimal dosing regimen for aspirin chemoprevention of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon tumours in rats. **Br. J. Cancer** Apr,79 (11-12):1646-1650.
- Bartz, Q.R., Elder, C.C. Frohardt, R.P. Haskel, T.H., Johannessen, D.W. and Ryder, A., 1954. Azaserine a new tumor inhibitory sustance isolation and characterization of azaserine. **Nature**, (173): 74-75.
- Beyazıt, N., 2009. **Yeni Tiyosüstitüe Dienler, Buteninler ve Butatrienlerin Sentezi**. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 40-110.
- Board, P.G., 1981. Transport of Glutathione S-Conjugate from Human Erythrocytes. **Febs Letters**, 124 (2): 21-526.
- Bockman, D.E., Black, O., Jr., Mills, L.R. and Webster, P.D., 1978. Origin of tubular complexes developing during induction of pancreatic adenocarcinoma by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. **Am. J. Pathol**, (90): 645-658.
- Boorman, G.A., Banas, D.A., Eustis, S.L. and Haseman J.K., 1987. Proliferative exocrine pancreatic lesions in rats. The effect of sample size on the incidence of lesions. **Toxicol. Pathol**, (15): 451-456.
- Clemens, M. R., Waller, H. D., 1987. Lipid peroxidation in erythrocytes. **Chemist. And Phy. of Lipids**, (45): 251-268.
- 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 ( $\mu$  class) as an early marker of azaserine-induced foci in the rat pancreas. **Carcinogenesis**, 12 (7): 1237-1240.
- De Flora, S., Izotti, A., D'Agostini, F. and Cesarone, C.F., 1991. Antioxidant activity and other mechanisms of thiols involved in chemeprevention of mutation and cancer. **The American Journal of Medicine**, 91 (3): 122-130.
- Dissin, J., Mills, L.R., Mains, D.L., Black, O. and Webster, P.D., 1975. Experimental induction of pancreatic adenocarcinoma in rats. **J. Nat. Cancer Ins**, (55): 857-864.

- Elder, D.J.E., Halton, D.E., Hague, A. and Paraskeva, C., 1997. Induction of apoptotic cell death in human colorectal carcinoma cell lines by a cyclooxygenase-2 selective non-steroidal anti-inflammatory drug: independence from cyclooxygenase-2 protein expression. **Clin. Cancer Res.**, (3): 1679-1683.
- El-Sharabasy, M.M., El-Dosoky, I., Horria, H. and Khalaf, A.H., 1993. Elevation of glutathione, glutathione-reductase and nucleic acids in both normal tissues and tumour. **Cancer Letters**, 72 (1-2): 11-15.
- Eustis, S.L. and Boorman G.A., 1985. Proliferative lesions of the exocrine pancreas: relationship to corn oil gavage in the National Toxicology Program. **J. Nat. Cancer Inst.**, (75): 1067-1073.
- Ewing, J., 1919. **Neoplastic Diseases**. Philadelphia and London: W.B. Saunders Co.
- Giovanucci, E., 1999. The prevention of colorectal cancer by aspirin use. **Biomed. and Pharmacother**, (53): 303-308.
- Griffith, O. W., 1999. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. **Free Radical Biology and Medicine**, (27): 922-935.
- Gustafson-Svard, C., Lilja, I., Hallbrook, O. and Sjødahl R., 1996. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 gene expression in human colorectal adenocarcinomas and in azoxymethane-induced colonic tumours in rats. **Gut**, (38): 79-88.
- Haddad, J., 1998. Lipoperoxidation As a Measure of Free Radical Injury in Otitis Media. **The Laryngoscope**, 108 (4): 524-530.
- Hamzaoğlu, O. ve Özcan U., 2005. Türkiye Sağlık İstatistikleri 2006. Türk Tabipleri Birliği Yayınları, 59 S. Ankara.
- Holland, J. F. and Frei, E., 2003. **Cancer Medicine 6**. BC Decker Inc Hamilton, 10-250. Ontario.
- Hruban, Z., Swift, H. and Selesers, A., 1965. Effect of azaserine on the fine structure of the liver and pancreatic acinar cells. **Cancer Research**, (25): 708-723.
- İnci, E., Seven, A., İnci, F., Civelek, S., Korkut, N. ve Burçak, G., 1998. Larenks Kanseri Olgularında Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Statü Göstergelerinin Dokularda İncelenmesi. **Türk Otolarengoloji Arşivi**, 36 (1-2): 33-36.
- İzmirli, M., Altın, S., Dernek, B.O. ve Ünsal, M., 2007. SSK Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Onkoloji Merkezi'nin 1999-2004 Yılları Kanseri İstatistikleri. **Türk Onkoloji Dergisi**, 22 (4): 172-182.
- Jemal, A., Siegel R. and Ward E.M., 2009. **Cancer Facts and Figures** American Cancer Society, Annual Publication. Atlanta, Georgia.
- Jones, D.P., Carlson, J.L., Mody, V.C., Cai, J. Lynn, M.J. and Sternberg, P., 2000. Redox state of glutathione in human plasma. **Free Radical Biology and Medicine**, 28 (4): 625-635.
- Kawamori, T., Rao, C.V., Seibert, K. and Reddy, B.S., 1998. Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, against colon carcinogenesis. **Cancer Res.**, (58): 409-412.
- Kristin, E. Anderson, Trista W. Johnson, Deann Lazovich, Aaron R. F., 2002. Association Between Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Use and the Incidence of Pancreatic Cancer. **J Natl Cancer Inst.**; (94):1168-71
- Kumar, A., Sharma, S., Pundir, C.S., Sharma, A., 1995. Decreased plasma glutathione in cancer of the uterine cervix. **Cancer Letters**, (94): 107-111.
- Kumar, V., Cotran, S.R. and Robbins, S.L., 2003. **Robbins Basic Pathology**. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.Şti., 166-210. Philadelphia.

- Kune, G. A., Kune, S. and Watson L.F. 1988. Colorectal cancer risk, chronic illnesses, operations, and medications: case control results from the Melbourne colorectal study. **Cancer Res.**, (48): 4399-4044.
- Labella, E., Sinch, S.V., Srivastava, S.K. and Awasthi, Y.C., 1986. Dinitro Phenyl Glutathione Efflux from Human Erythrocytes is Primary Active ATP-Dependent Transport. **Journal Biochemistry**, (238): 443-449.
- Langman, M. and Boyle, P., 1998. Chemoprevention of colorectal cancer. **Gut.**;43(4): 578-585.
- Langman, M.J.S., Cheng, K.K., Gilman, E.A. and Lancashire, R.J., 2000. Effect of anti-inflammatory drugs on overall risk of common cancer: case-control study in general practice research database. **BMJ.** (320):1642-1646.
- Levenberg, B., Melnick, I. and Buchanan J.M., 1957. Biosynthesis of the purines XV. The effect of aza-L-serine and 6-diazo-5-OXO-L-norleucine on inosinic acid biosynthesis *de novo*. **J Biol Chem.**, 224 (2):1005-1018.
- Lieshout, E.M.M., Tiemessen, D.M., Peters, W.H.M. and Jansen, J.B.M., 1997. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on glutathione S-transferases of the rat digestive tract **Carcinogenesis**, 18 (3): 485-490
- Lilja, H.S., Hyde, E., Longnecker, D.S. and Yager J.D., 1977. DNA damage and repair in rat tissues following administration of azaserine. **Cancer Res.**, (37): 3927-3931.
- Longnecker, D.S. and Curphey, T.J., 1975. Adenocarcinoma of the pancreas in azaserine-treated rats. **Cancer Res.**, (35): 2249-2258.
- Longnecker, D.S. and Webb, J.N., 1980. Dysplastic acinar cell foci in human pancreas. **Hum. Pathol.**, (11): 86-87.
- Longnecker, D.S., Roebek, 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., 1987. The azaserine-induced model of pancreatic carcinogenesis in rats. **In Experimental pancreatic carcinogenesis**. Eds D.G. Scarpelli, J.K. Reddy and D.S. Longnecker. Boca Raton, Florida: CPR Press. Pp. 117-130
- Longnecker, D.S. and Millar, P.M., 1990. **Pathology of tumours in laboratory animals**. Tumours of the rat. Tumours of the pancreas. IARC. Sci. Publ. 241-257.
- Marnett, L.J., 1992. Aspirin and the Potential Role of Prostaglandins in Colon Cancer **Cancer Research**, (52): 5575-5589.
- Mazzor, D., Golan, E., Philip, V., Katz, M., Jafe, A., Ben-Zvi, Z. and Meyerstein, N., 1996. Red Blood Cell Permeability to Thiol Compounds Following Oxidative Stress. **European Journal of Hematology**, (57): 241-246.
- McGuinness, E.E., Morgan, R.G.H., Levinson, D.A., Hopwood, D. and Wormsley, K.G., 1981. Interaction of azaserine and raw soya flour on the rat pancreas. **Scand J. Gastroenterology**, (16): 49-56.
- McGuinness, E.E., Hopwood, D. and Wormsley, K.G., 1982. Further studies of the effects of raw soya flour on the rat pancreas. **Scand J. Gastroenterol.**, (17): 273-277.
- Mehanna, A., 2003. NSAIDs: Chemistry and Pharmacological Actions. **Am J Pharm Educ.** 67 (2): 63.

- Morgan, R.G.H., Levinson, D.A., Hopwood, D., Saunders, J.H.B. and Wormsley, K.G., 1997. Potentiation of the action of azaserine on the rat pancreas by raw soya flour. **Cancer Lett.**, (3): 87-90.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., 1996. **Harper'in Biyokimyası**. Barış Kitabevi/ Appleton ve Lange, 937 S. İstanbul.
- Nayak, B.S. and Pinto, S., 2007. Protein thiols and thiobarbituric aci reactive substance status in colon cancer patiens. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, (42): 848-851.
- O'driscoll, M., Macpherson P., Xu Yao-Zhong and Karran, P., 1999. The cytotoxicity of DNA carboxymethylation and methylation by the model carboxymethylating agent azaserine in human cells **Carcinogenesis**, 20 (9): 1855-1862.
- Oshima, M., Dinchuk, J.E., Kargman, S.L., Oshima, H., Hancock, B. and Kwong, E., 1996. Suppression of intestinal polyposis in pc716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2). **Cell**; (87): 803-809.
- Özaydın, A., Onaran, İ., Ulutin, T., 2004. GSST1 Null Genotipinde Eritrosit Glutasyon Konjugant Transportu. **Kocatepe Tıp Dergisi**, (5): Ek Sayı 59-61.
- Öztaş, H., 1993. **The modulation of exocrine pancreatic carcinogenesis, a quantitative stereological and electron microscope study**. Ph.D. Thesis Universty of Bristol, Bristol
- Parsa, I., Longnecker, D.S., Scarpelli, D.G., Pour, P., Reddy, J.K. Lefkowitz, M., 1985. Ductual metaplasia of human exocrine pancreas and its association with carcinoma. **Cancer Res.**, (45): 1285-1290.
- Rao, M.S., Upton, M.P., Subbarao, V. and Scarpelli, D.G., 1982. Two populations of cells with differing proliferative capacities in atypical acinar cell foci induced by 4-hydroxyaminoquinoline-1-oxide in the rat pancreas. **Lab. Invest.**, (46): 527-534.
- Perugini, R.A., McDade, T. P., Vittimberga, J., Duffy, A.J. and Callery, M.P., 2000. Sodium salicylate inhibits proliferation and induces gl cell cycle arrest in human pancreatic cancer cell lines. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, (4): 24-33
- 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.
- Rose, V.C., 1984. New Aspects of Glutathione Biochemistry and Transport-Selective Alteration of Glutathione Metabolism. **Nutrition Reviews**, 42 (12): 397-410.
- Rosenberg, L., Palmer, J.R., Zauber, A.G., Warshauer, M.E., Stolley, P. D. and Shapiro, S., 1991. A Hypothesis: Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Reduce the Incidence of Large-Bowel Cancer. **J Natl Cancer Inst.**, (83): 355-358
- Sato, H., Matsumura, K.K., Siow, R.C.M., Ishii, T., Bannai, S., Mann, G.E., 1998. Induction of cystine transport via system X<sub>c</sub> and maintance of intracellular glutathione levels in pancreatic acinar and islet cell lines. **Biochimica et Biophysica Acta**, (1414): 85-94.
- Sedlak, J. and Lindsay, R.H., 1968. Estimation of total, protein-bound and nonprotein bound sulfhydryl groups in tissue with ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, (25): 192-205.
- Scarpelli, D.G., Rao, M.S. and Reddy, J.K., 1991. Are acinar cells involved in the pathogenesis of ductual cycle adenocarcinoma of the pancreas? **Canc. Cells**, 3 (7): 275-277.

- Shiff, S.J., Shivaprasad, P. and Santiniy, D.L. 2003. Cyclooxygenase inhibitors: drugs for cancer prevention. **Curr. Opin. Pharmacol.**, 3 (4): 352-61.
- Sies, H., 1999. Glutathione and its role in cellular functions **Free Radical Biology and Medicine**, (27): 916-921.
- Skrzydłowska, E. and Farbiszewski, R., 1999. Protective Effect of N-Acetylcystein on Reduced Glutathione, Reduced Glutathione-Related Enzymes and Lipid Peroxidation in Methanol Intoxication. **Drug and Alcohol Dependence**, (57): 61-67.
- 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. 7<sup>th</sup> edition 674-675.
- Şengelen, M., 2002. Türkiye'de Kanser İstatistikleri. **Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kanser Epidemiyolojisi Yüksek Lisans Tezi**, Ankara.
- Tannock, I. and Hill, R.P., 1992. **The basic science of oncology**. Second edition, 7-119. Toronto, Canada.
- Taketo, M.M., 1998. Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis. **J Natl Cancer Inst.**, (90): 1609-1620.
- Thun, M. J., Namboodiri, M.M., Calle, E.E., Flanders, W.D. and Heath C.W.J., 1991. Aspirin use and risk of fatal cancer. **Cancer Res.**, (53): 1322-1327.
- Tsuchida, S. and Sato, K., 1992. Glutathione transferases and cancer. **Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.**, 27 (4-5): 337-384.
- Tüzün, C., 1999. **Organik Kimya**. Palme Yayın Dağıtım, Ankara. 270-290
- Ulakoğlu, E. Z., Gümüştaş, M. K., Belce, A., Altuğ, T. ve Kokoğlu, E., 1998. Strese Bağlı Mide Mukozası Hasarında Endojen Glutasyon Tükenişinin Enerji Metabolizması ile ilişkisi. **Cerahpasa J.Med.**, 29 (3): 127-131.
- 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., Koç, A., Öztas, H., Yıldız, D., 2008. A possible inhibitory effects of aspirin on azaserine initiated rat pancreatic carcinogenesis, **Indian Veterinary Journal**, (85): 187-190
- Wong, B.C.Y., Zhu, G. H. and Lam S.K., 1999. Aspirin induced apoptosis in gastric cancer cells. **Biomed & Pharmacothekr**,(53): 315-318.
- Woutersen, R.A., Van Garderen, H., Bax, J., C.B. and Scherer, E., 1991. Early indicators of exocrine pancreas carcinogenesis produced by non-genotoxic agents. **Mutat. Res.**, (248): 291-302.
- Wu, G., Fang, Y. Z., Yang, S., Lupton, J. R., Turner, N. D., 2004. Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. **Journal Nutrition**, (134): 489-492.
- Zhang, S. M., Willett, C. W., Sehub, J., Manson, J. E., Colditz, G. A. and Hankinson, S.E., 2003. A prospective study of plasmtotal cysteine and risk of breast cancer. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevent.**, (12): 1188-1193.
- Zhou, X. M., Wong, B.C.Y., Fan, X.M., Zhang, H.B., Lin, M.C.M., Kung, H.I., Fan, D.M., and Lam, S. K., 2001. Non-steroidal anti-inflammatory drugs induce apoptosis in gastric cancer cells through np-regnlation of bax and bak. **Carcinogenesis**, 22 (9): 1393-1397.



## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, çalışmalarım boyunca fikir ve katkılarıyla yönlendiren danışman hocalarım Prof.Dr. Haydar ÖZTAŞ ve Doç.Dr. Deniz YILDIZ'a saygı ve teşekkürlerimi arz ederim.

Histoloji laboratuvar çalışmaları ve preparat teknikleri konusunda Doç. Dr. Ahmet KOÇ'a, hayvan uygulamaları sırasında yardımlarını esirgemeyen Veteriner Fakültesi öğretim üyeleri Yrd. Doç. Dr. Yeşim AKAYDIN BOZKURT, Yrd. Doç. Dr. Sevinç ATEŞ ve Yrd. Doç. Dr. Tolunay TURAN KOZLU'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Laboratuvar uygulamalarında yardımlarını gördüğüm Uzman Hüseyin DOĞRU'ya, Yeliz ÇAKIR'a, Erkan DELİGÖNÜL'e ve tüm bölüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim süresince her türlü yardımlarını benden esirgemeyen yoğun çalışma temposuna motive eden, eşim Gülşen YILDIZ'a, anneme, babama ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim. Bu tezin bitirilmesi, onların özverisiyle mümkün oldu.

## ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Mersin’de doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Mersin’de yaptım. Yüksek öğrenimime 1997 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde başladım. 1999 yılında Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’ne yatay geçiş yaparak 2001 yılında Biyolog ünvanı ile mezun oldum. Aynı yıl eylül ayında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde yüksek lisansa başladım. 2004 yılında yüksek lisansımı tamamlayarak aynı yıl doktora başladım. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde 2001 yılı aralık ayından itibaren araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

## EKLER

### EK 1. Ayrıntılı istatistiksel veriler

Vücut Ağırlıklarının gruplara göre istatistiksel olarak kıyaslanması (Yes: istatistiksel olarak fark var, No: istatistiksel olarak fark yok p<0,05)

	As206	As406	AzAs406	As212	AzAs206	As412	AzAs212	Kon6	Az6	Az12	AzAs412
As406	No										
AzAs406	Yes	Yes									
As212	Yes	Yes	No								
AzAs206	Yes	Yes	No	No							
As412	Yes	Yes	Yes	No	No						
AzAs212	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No					
Kon6	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No				
Az6	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No			
Az12	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes		
AzAs412	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	
Kon12	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes

Böbrek Ağırılıklarının gruplara göre istatistiksel olarak kıyaslanması (Yes: istatistiksel olarak fark var, No: istatistiksel olarak fark yok  
p<0,05)

	As206	AzAs406	As406	AzAs206	Az6	As212	As412	Kon6	AzAs212	AzAs412	Az12
AzAs406	No										
As406	Yes	No									
AzAs206	Yes	No	No								
Az6	Yes	No	No	No							
As212	Yes	No	No	No	No						
As412	Yes	Yes	No	No	No	No					
Kon6	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes				
AzAs212	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No			
AzAs412	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No		
Az12	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	
Kon12	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes

Karaciğer Ağırlıklarının gruplara göre istatistiksel olarak kıyaslanması (Yes: istatistiksel olarak fark var, No: istatistiksel olarak fark yok p<0,05)

	AzAs406	As206	As406	AzAs212	As412	Kon6	As212	AzAs206	Az6	Az12	AzAs412
As206	No										
As406	No	No									
AzAs212	No	No	No								
As412	Yes	No	Yes	No							
Kon6	Yes	Yes	Yes	No	No						
As212	Yes	Yes	Yes	No	No	No					
AzAs206	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No				
Az6	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No			
Az12	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No		
AzAs412	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	
Kon12	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes

Pankreas Ağırılıklarının gruplara göre istatistiksel olarak kıyaslanması (Yes: istatistiksel olarak fark var, No: istatistiksel olarak fark yok p<0,05)

	Az12	As206	As406	As212	As412	Kon6	Kon12	Az6	AzAs406	AzAs206	AzAs212
As206	Yes										
As406	Yes	No									
As212	Yes	No	No								
As412	Yes	No	No	No							
Kon6	Yes	Yes	Yes	No	No						
Kon12	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No					
Az6	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No				
AzAs406	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No			
AzAs206	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No		
AzAs212	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No	No	
AzAs412	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No	No	No

Karaciğerde serbest –SH değerlerinin gruplara göre istatistiksel olarak kıyaslanması (Yes: istatistiksel olarak fark var, No: istatistiksel olarak fark yok p<0,05)

	Az6	Az12	AzAs212	Kon6	Kon12	AzAs406	As406	As206	As412	As212	AzAs412
Az12	No										
AzAs212	Yes	No									
Kon6	Yes	No	No								
Kon12	Yes	Yes	No	No							
AzAs406	Yes	Yes	Yes	No	No						
As406	Yes	Yes	Yes	No	No	No					
As206	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No				
As412	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No			
As212	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No		
AzAs412	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No	No	
AzAs206	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No	No	No

Karaciğerde proteine bağlı –SH değerlerinin gruplara göre istatistiksel olarak kıyaslanması (Yes: istatistiksel olarak fark var, No: istatistiksel olarak fark yok p<0,05)

	Az 6	Az12	Kon6	AzAsp412	As206	As212	Kon12	As412	As406	AzAs206	AzAs406
Az12	Yes										
Kon6	Yes	Yes									
AzAsp412	Yes	Yes	Yes								
As206	Yes	Yes	Yes	No							
As212	Yes	Yes	Yes	No	No						
Kon12	Yes	Yes	Yes	No	No	No					
As412	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No				
As406	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No			
AzAs206	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No		
AzAs406	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	
AzAs212	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No



Böbrekte serbest -SH değerlerinin gruplara göre istatistiksel olarak kıyaslanması (Yes: istatistiksel olarak fark var, No: istatistiksel olarak fark yok p<0,05)

	As212	As412	As206	Az12	Kon12	Az6	AzAs212	AzAs412	As406	Kon6	AzAs406
As412	No										
As206	Yes	Yes									
Az12	Yes	Yes	No								
Kon12	Yes	Yes	No	No							
Az6	Yes	Yes	No	No	No						
AzAs212	Yes	Yes	No	No	No	No					
AzAs412	Yes	Yes	No	No	No	No	No				
As406	Yes	Yes	No	No	No	No	No	No			
Kon6	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No		
AzAs406	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No	
AzAs206	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes

Böbrekte proteine bağlı -SH değerlerinin gruplara göre istatistiksel olarak kıyaslanması (Yes: istatistiksel olarak fark var, No: istatistiksel olarak fark yok p<0,05)

	Kon12	AzAs212	As206	Az6	As406	Az12	As412	AzAs206	AzAs406	Kon6	As212
AzAs212	No										
As206	No	No									
Az6	No	No	No								
As406	No	No	No	No							
Az12	No	No	No	No	No						
As412	No	No	No	No	No	No					
AzAs206	No	No	No	No	No	No	No				
AzAs406	No	No	No	No	No	No	No	No			
Kon6	No	No	No	No	No	No	No	No	No		
As212	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No	No	
AzAs412	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	No

Pankreasta serbest -SH değerlerinin gruplara göre istatistiksel olarak kıyaslanması (Yes: istatistiksel olarak fark var, No: istatistiksel olarak fark yok p<0,05)

	As406	As206	AzAs406	As412	Az12	As212	Kon6	Az6	AzAs412	Kon12	AzAs212
As206	Yes										
AzAs406	No	No									
As412	No	No	No								
Az12	Yes	No	No	No							
As212	Yes	No	No	No	No						
Kon6	Yes	No	No	No	No	No					
Az6	Yes	No	No	No	No	No	No				
AzAs412	Yes	No	No	No	No	No	No	No			
Kon12	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No		
AzAs212	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No	No	
AzAs206	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No

Pankreasta proteine bağlı -SH değerlerinin gruplara gre istatistiksel olarak kıyaslanması (Yes: istatistiksel olarak fark var, No: istatistiksel olarak fark yok p<0,05)

	AzAs212	AzAs406	Kon6	As212	As412	As206	AzAs412	Az6	AzAs206	Az12	As406
AzAs406	No										
Kon6	No	No									
As212	No	No	No								
As412	No	No	No	No							
As206	No	No	No	No	No						
AzAs412	No	No	No	No	No	No					
Az6	Yes	No	No	No	No	No	No				
AzAs206	Yes	No	No	No	No	No	No	No			
Az12	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No		
As406	Yes	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No	
Kon12	Yes	Yes	No	No	No	No	No	No	No	No	No