

**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**MERAM TIP FAKÜLTESİ**  
**GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**GEÇİRİLMİŞ EKİNOKOKOSİS ENFESTASYONU KARSİNOM HÜCRELERİNİN**  
**BÜYÜMESİNİ BASKILAR MI?**  
**(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Serhat DOĞAN**

**KONYA - 2015**



**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**MERAM TIP FAKÜLTESİ**  
**GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**GEÇİRİLMİŞ EKİNOKOKOSİS ENFESTASYONU KARSİNOM HÜCRELERİNİN**  
**BÜYÜMESİNİ BASKILAR MI?**  
**(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Serhat DOĞAN**

**Tez Danışmanı**

**Prof.Dr. Adil KARTAL**

**KONYA – 2015**

## ÖZET

### GEÇİRİLMİŞ EKİNOKOKOSİS ENFESTASYONU KARSİNOM HÜCRELERİNİN BÜYÜMESİNİ BASKILAR MI?

**AMAÇ:** Pankreas kanseri günümüzde sık görülen tedavisi güç olan ve maalesef mortalite oranları yüksek olan hastalıktır. Ekinokokus granulosus (EG) ülkemizde sık rastlanan bir parazittir. EG ile pankreas kanseri arasında olumlu veya olumsuz bir etkileşimin olup olmadığı ile ilgili yapılmış herhangi bir deneysel araştırma yoktur. Paraziter hastalıkların tümör olgularında daha az görüldüğü ve tümör gelişimini baskıladığı bazı literatür çalışmalarında gözlemlenmiştir. Bu durumun nedeni olarak immün sistem aktivasyonunun kanser hücrelerini baskıladığı düşünülmektedir. Tedavi araştırmaları devam etmektedir. Çalışmamızın amacı pankreas kanseri ve ekinokok enfestasyonu ile arasındaki ilişkiyi saptamak elde edeceğimiz sonuçları literatür eşliğinde tartışmaktır.

**GEREÇ-YÖNTEM:** Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi Konüdam Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezi 'nde gerçekleştirildi. Çalışmada 45 adet winster albino cins rat kullanıldı. Çalışmada kullanılan ratlar 4 gruba ayrıldı. Azaserin enjekte edilen bir grup, *Ekinokokus* verilen diğer bir grup, önce azaserin sonra ekinokokus enjekte edilen başka bir grup ve kontrol grubundan oluşmaktaydı. Beş aylık takip sonucunda ratlardan alınan doku örnekleriyle patolojik preparatlar hazırlandı. İmaj analizer denen bir bilgisayar programı ile hücrelerin tümöral yoğunlukları, Atipik asiner hücre odakları (AAHF) belirlendi, istatistiksel olarak değerlendirildi.

**BULGULAR:** Azaserin ve Ekinokok'un birlikte verildiği deney grubunda (Grup 4) premalign atipik asiner hücre odakları (AAHF) sayısının sadece Azaserin muamele edilen gruba (Grup 2) göre istatistiksel olarak daha az olduğunu tespit ettik. Kontrol grubu (Grup1 ) ve sadece ekinokok grubunun (Grup 3) da herhangi bir AAHF odağına rastlamadık.

**SONUÇ:** Elde ettiğimiz veriler ışığında pankreatik atipik asiner hücre odaklarının Ekinokok enfestasyonuna bağlı olarak azalttığını saptadık. Daha uzun vadeli çalışmalar konuya yeni bir boyut kazandıracaktır. Deneysel çalışmalara dayalı klinik yorum yapmanın sakıncalarını

bilerek çalışmadan elde edilen sonuçların klinikte bu alanda yapılacak çalışmalara ışık tutabilecek nitelikte olduğu kanısındaız.

**Anahtar kelimeler:** Ekinokokosis granulosus, pankreatik kanser, Azaserin

## ABSTRACT

### CAN ECHINOCOCCUS GRANULOSUS INFECTIONS INHIBIT NEOPLASTIC DEVELOPMENT OF CARCINOMA CELLS?

**AIM:** Pancreatic cancer is a common disease which treatment is difficult with highly mortality rates. Echinococcus granulosus (EG) is an endemic disease of our country. EG can inhibit some tumoral developments. Still, there is no experimental research about interaction between pancreatic cancer and EG dealing with its positive or negative effects. The aim of this experimental study is to investigate the effect of EG on pancreatic cancer in rats.

**MATERIAL AND METHOD:** The study was carried out in Necmettin Erbakan University Konuğam Experimental Medicine and Research Center. Forty five wistar albino rats divided into 4 groups: Group 1 : Injected azaserine, Group 2 : Injected protoscolex suspension, Group 3: First azaserine and then protoscolex suspension injected group, Group 4 : Control group. Five months later animals were sacrificed then post mortem laparotomy was done. Pancreas was dissected and removed for pathological evaluation. Determining the density of tumor cells by a computer program called Image analysis was evaluated statistically.

**RESULTS:** The number of pre carcinogen atypical acinar cells foci ( AACF ) in group 4 (Azaserine plus EG) was lower than in group 2 (Azaserine only). There was a statistically difference between two groups. are less than only azaserine treated group ( Group 2), The control group ( Group 1) and only echinococcosis group ( Group 3) did not encounter any AACF .

**CONCLUSION:** Depending on these data , we established that the number of AACF reduced due to EG infestations. This is an experimental study . In order to make clear decision we need some expanded animals and clinical studies.

**Keywords:** Echinococcus granulosus, pancreatic cancer, Azaserine

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
<b>1- ÖN BÖLÜM</b>	
1.1 Tez Kapağı .....	i
1.2 İç Kapak .....	ii
1.3 Özet.....	iii
1.4 Abstract .....	vi
1.5 İçindekiler .....	ix
1.6 Tablolar Dizini.....	xi
1.7 Şekiller Dizini.....	xiii
1.8 Simgeler ve Kısaltmalar.....	xv
<b>2- TEZ METNİ .....</b>	<b>1</b>
2.1 Giriş ve Amaç.....	1
2.2 Genel Bilgiler.....	2
2.2.1 Pankreas Kanseri .....	
2.2.2 Azaserin .....	
2.2.3 Ekinokokus Granulosus .....	
2.3 Gereç Yöntem .....	
2.3.1 Doku örneklerinin alınması	
2.3.2 Patoloji preparatlarının hazırlanması	
2.3.3 Patoloji preparatlarının değerlendirilmesi	
2.3.4 Deney esnasında oluşacak atıkların kontrolü ve imhası	

## 2.4 İstatiksel Analiz

### **3- BULGULAR**

### **4- TARTIŞMA**

### **5- SONUÇLAR**

### **KAYNAKLAR**

## **TABLÖLAR**

**Tablo 1:** Denek tüm vücut ve pankreas ağırlıklarının karşılaştırılması

**Tablo 2:** Tablo 1'in grafik ile gösterilişi

**Tablo 3:** Denekle Deneklerin pankreas ağırlıklarına göre karşılaştırılması

**Tablo 4:** Gruplarda AAHF sayısının gruplara göre dağılımı

**Tablo 5:** Grupların AAHF larının alanlarının toplamı ve ortalama değerleri

**Tablo 6:** Grupların AAHF çap ortalamalarına göre karşılaştırılması

**Tablo 7:** Grupların AAHF'lerinin intensitelerinin karşılaştırılması.

## ŞEKİLLER

**Şekil 1:** Azaserin enjeksiyonu ile pankreas kanserinin oluşum mekanizmaları

**Şekil 2:** Azaserin i.p. enkesiyonu

**Şekil 3:** Canlı protoskoleks

**Şekil 4:** Ölü protoskoleks

**Şekil 5:** Protoskoleks i.p. enjeksiyonu

**Şekil 6:** Laparotomiye hazırlık

**Şekil 7:** Laparotomi görünüşü diseksiyonla

**Şekil 8:** Pankreasın diseksiyonu

**Şekil 9 :** Pankreas çıkarılmış

**Şekil 10:** Deneklerden çıkarılmış karaciğer

**Şekil 11:** Azaserin grubunda (Grup 2) Atipik asinar hücre fokusu işaretli (x20 büyütmede )

**Şekil 12:** Azaserin grubunda (Grup 2) aynı atipik asinar hücre fokusu işaretli (x20 büyütmede) atipik asinar hücre fokusunun x 50 büyütmede görünümü

**Şekil 13:** Azaserin grubunda (Grup 2) aynı atipik asinar hücre fokusu işaretli (x20 büyütmede) atipik asinar hücre fokusunun x 100 büyütmede görünümü.

**Şekil 14:** Azaserin grubunda (Grup 2) atipik asinar hücre fokusu işaretli (x20 büyütmede )

**Şekil 15:** Azaserin grubunda (grup 2) atipik asinar hücre fokusu işaretli (x 50 büyütmede)

**Şekil 16:** Azaserin + Ekinokok grubunda (Grup 4) atipik asinar hücre fokusu işaretli (x50 büyütmede )

**Şekil 17:** Azaserin + Ekinokok grubunda (Grup 4) aynı atipik asinar hücre fokusunun x100 büyütmedeki görünümü. Bazofilik boyanma özelliği göstermektedir.

**Şekil 18:** Azaserin + Ekinokok grubunda (Grup 4) atipik asinar hücre fokusu işaretli (x50 büyütmede )

## SİMGELER ve KISALTMALAR

EG	Ekinokokkus granulosus
PDAC	Pankreatik kanal adenokarsinomu
PanIN	Pankreatik intraepitelial neoplazi
AAHF	Atipik asiner hücre fokusu
PET	Pozitron emisyon tomografisi
FDG	<sup>18</sup> F-florodeoksiglukoz
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
pH	Hidrojen gücü
IgG	İmmunoglobulin G
IgM	İmmunoglobulin M
IgE	İmmunoglobulin E
kg	Kilogram
mg	Miligram
%	Yüzde
ml	Mililitre
i.p.	İntraperitoneal
cc	Santimetreküp
gr	Gram
U	Ünite
HE	Hemotoksilen Eoin

NEÜ Necmettin Erbakan Üniversitesi

KONÜDAM Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi

kRAS Tümör baskılayıcı genler

CDKN2A Tümör baskılayıcı genler

TP53 Tümör baskılayıcı genler

DPC4 Tümör baskılayıcı genler

BRCA2 Tümör baskılayıcı genler

MRG Magnetik Rezonans Görüntüleme

Sc Subkutan

Dk Dakika

Th T lenfosit Helper hücresi

## 2. TEZ METNİ

### 2.1. GİRİŞ ve AMAÇ

*Ekinokokus granulosus* (EG) ülkemizde sık görülen paraziter bir hastalıktır. Epidemiyolojik çalışmalar EG gibi bir kısım parazitler ile kanserlerin gelişimi arasında bir bağlantının olduğunu göstermektedir (1). Pek çok tümörün etiyolojisinde bakteri ve yassı kurt benzeri parazitlerin önemli bir rol oynadığını bilinmekte ve literatürde bu konu hakkında birçok yayın bulunmaktadır (2-5).

Tümör etiyolojisi ile ekinokok arasındaki ilişki net olarak değerlendirilememiştir. EG enfestasyonlarının yaygın olduğu bölgelerde yapılan cerrahi müdahalelerden sonra elde edilen sonuçlar; EG tarafından meydana getirilen hidatik kistlerin mevcudiyeti ile kanser oluşumu arasında negatif bir ilişkinin olduğunu ortaya koymuştur (3-5). Tümörlerin etiyolojisinde bakteri ve parazitlerin önemli bir rol oynadığını vakalar ortaya koymaktadır. EG ve kanser arasındaki antijenik benzerliği literatürde bahsedilmiştir (4).

Deney hayvanlarında meydana getirilen neoplastik hücrelerin, enfeksiyon yapan bazı bakteriler (*Listeria monocytogenes*, *Cornebacterium parvum*) ve tek hücreli canlılar olan *Toxoplasma gondii* ve *Besnoitia jellison* gibi patojenlerle inhibe edildiği bilinmektedir. Bu patojenlerle karşı organizmanın immun sistemini uyardığı ve bu yolla neoplastik gelişimi inhibe ettiği öne sürülmektedir. İmmun cevap oluşturması (non spesifik makrofaj aktivasyonunun tümör hücrelerini öldürmesi ve anjiogenezin sistemik inhibisyonu gibi) bu gözlemi desteklemektedir (5).

İlginç bir nokta olarak tümör ve EGenfestasyonunun antijenik özelliklerinin benzer olduğu rapor edilmiştir (6). Başka bir çalışmada da EG'dan kaynaklanan mürsin benzeri peptitlerin anti tümör aktiviteyi artırdığı gösterilmiştir (7).

İnsanlarda bulunan parazitlere bağlı ortaya çıkması muhtemel çeşitli kanser türlerinin etiyolojilerinin belirlenmesi ve etkilerinin araştırılması önemlidir. Parazitlerin *in vivo* hayvan deneylerinde pankreasta nasıl bir histopatolojik değişime yol açtığı bilinmemektedir. Bu nedenle EG ile iyi bilinen bir deneysel hayvan modeli yardımıyla pankreas kanser oluşumuna neden olabilecek herhangi bir neoplastik değişime sebep olup olmadığının araştırılması önemli görülmektedir. Hatta bu oluşan kanserli hücrelerin miktarını azaltıp azaltmadığı veya artırıp artırmadığını araştırılmak istenmiştir.

Bu bulgular eşliğinde kansere ayrı bir bakış açısı kazandıracak ve yeni tedavi planlarının temelini oluşturacak bilgiler elde edilebilecektir. Çalışmanın amacı kanser için yeni tedavi olanaklarını araştırmak, bulmak ve sonuçları tıp literatürüne kazandırmaktır.

## **2.2. GENEL BİLGİLER**

### **2.2.1. PANKREAS KANSERİ**

Kanser, günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biridir. Sık görülmesi ve mortalitesinin yüksek olması nedeniyle de bir halk sağlığı sorunudur. Tanı olanaklarının gelişmesi ve sağlık kuruluşlarından yararlanma olanaklarının artması ile her yıl daha çok kanser vakası teşhis edilmektedir.

Ülkemizde 1970'li yıllarda sebebi bilinen ölümler arasında 4. sırada yer alan kanser, son yıllarda kardiyovasküler sistem hastalıklarından sonra 2. sıraya yükselmiştir. Kanserın ölüm nedenleri arasındaki yeri bilinmesine rağmen hastalığın görülme sıklığı konusunda güvenilir bilgi mevcut değildir. Kanser, Sağlık Bakanlığı'na "bildirimi zorunlu" bir hastalık olmasına rağmen ülkemizde gerçek kanser insidansı bilinmemektedir.

Türkiyede 2004 de pankreas kanseri görülme oranı %0,004 tür. Bu oran 2011 de %0,008 e çıkmıştır. Erkeklerde görülen en sık kanserler arasında 8. sırada yer almaktadır. Ortalama görülme yaşı erkeklerde 63, kadınlarda 67 dir (26).

Dünyada pankreas kanseri, her yıl teşhis edilen 232 000 yeni vakayla dünya genelindeki en yaygın 13 üncü kanserdir. Pankreas kanserinde toplam 5 yıllık sağkalım oranı, %3 ile % 5 dir. ABD'de pankreas kanseri, erkeklerde ve kadınlarda kanserler arasında 4. ölüm nedenidir (27).

Pankreas kanseri insidans ve mortalite oranları dünya genelinde çeşitlilik göstermektedir. İnsidans ve mortalite, Amerika kıtasında, Avrupa'da, Avustralya ve Japonya'da genellikle daha yüksektir. Dünya genelinde en yüksek oranlar Afrikalı Amerikalı erkeklerde, Yeni Zelanda'daki Maorilerde (özellikle kadınlar), Koreli Amerikalılar'da, Havai'nin yerli kadınlarında ve Kazakistan'daki erkek popülasyonunda sıktır. Dünya çapında

insidans ve mortalite oranlarının en düşük olduğu yerler Hindistan, Afrika, Güneydoğu Asya ve Ortadoğu'nun bazı bölgeleridir (28).

Cerrahi tekniklerin gelişmesine ve kemoterapide kullanılan tekniklerin iyileştirilmesine, moleküler tedavilere rağmen pankreas kanserinden ölüm oranının son yıllarda fazla değişmediği görülmektedir.

Pankreas kanserinin insidansı 11.4/100 000 civarında olup kansere bağlı ölüm nedenleri arasında dördüncü sırayı almaktadır. Beş yıldan fazla yaşama oranının %1-2 civarında olduğu bilinmektedir (8,9). Ellili yaşlar pankreas kanseri vakalarının en sık rastlandığı yaş grubu olarak bilinmektedir. Pankreas kanserinin en sık görüldüğü orta yaş grubu ise 66-68 yaş arasındadır. Bu kanser türü erkeklerde kadınlara göre daha yüksek oranda görülür.

Cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi pankreas kanseri hastalarının yaşam sürelerinin iyileştirilmesi için çoğunlukla başvurulan tedavi yöntemleridir. Cerrahi tedavi, erken yakalanmış vakalarda en seçkin tedavi yöntemidir. Cerrahi tedaviden sonra yaşam süresi diğer tedavi türlerine oranla daha yüksektir.

Preoperatif kemoradyoterapinin uygulanmasından sonra pankreatik tümörlerin küçüldüğü ve böylece cerrahi operabiliteyi sağlayacağı ifade edilmektedir (10,11) Uzun süreli yapılan kemoterapi uygulamalarının hastaların yaşam sürelerini 8-16 ay arasında uzattığı sonucuna varılmıştır (12).

Pankreatik kanal adenokarsinomu'nun (PDAC) öncü bir lezyondan kansere gelişim sürecini birçok basamakla tamamladığı varsayılmaktadır (13). Pankreatik intraepitelyal neoplazi (PanIN); pankreas kanseri hastalarının pankreaslarında çoğunlukla görülen öncü lezyonlardır. Bu vakaların % 80' inde pankreasta preneoplastik yapıların bulunduğu saptanmıştır (13).

kRAS onkojeni iyi bilinen değişime uğramış bir gen dir ve pankreatik kansere sebep olur. kRAS onkojeni tümör supressor genler olan *CDKN2A*, *TP53*, *DPC4* ve *BRCA2*'nin inaktivasyonuna neden olmaktadır. Bu onkojenin aktivasyonunun olduğu pankreas kanseri vakalarında kromozom kaybı, gen amplifikasyonu ve telomer kısaltmaları genel olarak gözlenen anormalliklerdir (14).

PDAC'nin gelişiminde asinar hücrelerde ve kanallarda meydana gelen değişim pankreas kanserinin gelişimi için kritik öneme sahiptir (15). Bununla birlikte değişime

uğramış asinar hücrelerin PanIN' a sebep olmasının yanında; kRAS onkojenin aktivasyonu dain vivo ortamlarda pankreas kanserine yol açabilir (16,17).

Gen çalışmaları, proteinlerle ilgili çalışmalar, mikroRNA veya epigenetik modifikasyona bağlı çalışmalar pankreas kanseri çalışmalarında önemli bir yer tutmaktadır. Pankreas kanserine yol açan öncü lezyonların tanınması, erken teşhis ve pankreas kanseri ile mücadelede önemli yer tutmaktadır. Magnetik rezonans görüntüleme(MRG)nin, tomografininve invaziv olmayan tümörlerin tespitine yönelik tekniklerin PanIN'lerin teşhisinde iyi sonuç vermediği gözlenmiştir. Pozitron emisyon tomografisi (PET) fonksiyonel bir görüntüleme modeli olup, tümörlerde meydana gelen morfolojik değişimleri saptayabilir. Radyoaktif <sup>18</sup>F-florodeoksiglukoz (FDG) PET görüntülemesi amacıyla geniş olarak kullanılmaktadır. Malign dokularda çevresindeki dokulara göre oldukça fazla bir glukoz metabolizması gözlenir.Bu artan metabolizma sonucunda PET'te artan bir fokal FDG alanı görülür. Premalign tümör hücrelerinde artan glukoz metabolizması PET yöntemi ile erken teşhise olanak sağlayabilir. Eser ve arkadaşlarının 2011 yılında kullandıkları bir teknik yardımıyla PanIN' in in vivo katepsin temeline dayalı bir moleküler görüntüleme yöntemi ile premalign lezyonların teşhisinde ilerleme kaydetmişlerdir (18).

Longnecker ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada insan pankreasında saptanan kanserlerin bir kısmının asinar hücrelerden kaynaklandığını ifade etmişlerdir (22). Flaks ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada pankreas kanserinin büyük kısmının asinar hücrelerden kayanklandığını, başlangıçta asinar hücrelerin değişime uğrayarak kanal ve kanalsı hücrelere benzer bir yapı kazanarak pankreas kanserinin ortaya çıkmasına neden olduğunu iddia etmiştir (33).

Pakreas kanserinin orijini halen tartışmalıdır. Azaserin – sıçan modelinde pankreas kanseri oluşumunda iki hücre yapısı etkili olmaktadır. Bunlardan ilki asiner hücrelerdir. Asinar atipik hücre odakları (AAHF ) oluşmakta daha sonra asinar hücre nodülleri, sonrası adenom ve en sonundada asiner karsinom gelişmektedir. Tübül hücrelerinden ise önce intratubuler hiperplazi, sonra atipik hiperplazi ve sonunda tübüler karsinom gelişmektedir (Şekil1).

Bu deneysel araştırmanın sonucu pankreas kanserinde yeni tedavi yaklaşımlarının önünü açacaktır.

## 2.2.2. AZASERİN

Azaserin (o-diazoacetyl-L-serin) *Streptomyces* kültürlerinden izole edilebilen bir antimetabolit olup, *Salmonella typhimerium* testine göre mutajenik bir özelliğe sahip bir kimyasaldır ve sıçanlarda pankreas kanser meydana getirilmesi amacıyla ilk olarak 1975 yılında kullanılmıştır.(19) Daha sonra yapılan bir çok çalışmada azaserin-rat modeli güvenilir bir model olarak karşımıza çıkmaktadır (20,21).

Azaserin memeli hücrelerinde pirodoksala bağlı bir enzim sistemi ile aktif hale getirilmekte olup, bu madde ile muamele edilmiş hücrelerde N-7-karboksimetilguaninin formasyonu ile deoksiribonükleik asit (DNA) 'de mutasyona neden olduğu gösterilmiştir (22).



Şekil 1: Azaserin enjeksiyonu ile pankreas kanserinin oluşum mekanizmaları

Azaserin-sıçan modeli ekzokrin pankreasta bulunan asinar hücrelerden kaynaklanan neoplastik değişimlerin modifikasyonu için öneml bir deney modeli olarak kullanılmaktadır (22).

## 2.2.3. EKİNOKOKUS GRANULOSUS

Ekinokokus sestod sınıfının *Cyclopylldea* takımının *Taenidea* familyasına ait bir parazit olup bugün için kabul edilen 4 alt cinsi bulunmaktadır. Bunlar *Ekinokoku Granulosus*, *Ekinokokus Multilocularis*, *Ekinokokus Vogeli* ve *Ekinokokus Oligarthus*'dur. İnsanda ilk iki tipin patojen formları bulunmakta olup en sık *Ekinokoku Granulosus* (EG) hastalık yapmaktadır.

Kist hidatik, *Ekinokokus granulosus* etkeninin insanda çeşitli doku ve organlara yerleşmesiyle oluşan paraziter bir enfestasyondur. Kist hidatik hastalığının ilk tanımı Hipokrat tarafından yapılmıştır. Hayvan yetiştiriciliği ile uğraşan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Klinik prezantasyonlardan sorumlu iki alt türü vardır. *Ekinokokus granulosus* ve daha malign bir form olan *Ekinokokus multilokularis*. Ülkemizde EG ile meydana gelen enfestasyonlar daha siktir (29,35). *Ekinokokus granulosus* en sık olarak karaciğere yerleşmektedir. Nadir olsada özellikle endemik bölgeerde, karaciğere yerleşmeden vücudun diğer bölgelerinde yerleşebildiği gösterilmiştir (36).

Kist sıvısı, kist kavitesini kaya suyu olarak da adlandırılan hidatik sıvı ile doludur. Berrak, renksiz ve kokusuzdur. Hidatik sıvı, kistin endojen salgı ürünüdür. Kaya suyu 1008-1015 dansitede, hafif alkali ( pH değeri 6,7-7,2 dir) ve elektrolit değerleri konakçı serumu ile eşdeğer yapıdadır. Bu sıvı bazı aminoasit, lipit ve proteinleri içerir. Spesifik antijen özelliğine sahiptir. EG'ye ait esas olarak iki adet lipoprotein yapısında antijen saptanmıştır. Antijen A (antijen 5), germinal membranda ve protoskolekslerin zar altındaki hücrelerinde bulunur. Kist sıvısına da geçmektedir. Antijen B, yoğun olarak protoskolekslerin zarında lokalize olmuştur. B lenfositlerinin aktivasyonu ile IgG, IgM ve IgE yapısında antikorlar oluşur(23).

Bu çalışma ile kanser ve EG arasındaki ilişki ortaya konmaya çalışılacaktır.

### **2.3 GEREÇ–YÖNTEM:**

Çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi (NEÜ) Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulundan onay alınarak (Etik Kurul Karar No: 2013- 207) Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama Ve Araştırma Merkezi'nde (KONÜDAM) deneysel bir çalışma olarak gerçekleştirildi.

*Ekinokokus granulosus* parazitinin *in vivo* ortamda oluşmuş pankreas neoplastik değişimlerin saptanabilmesi amacıyla KONÜDAM 'de üretilen 45 adet *Winstler albino* ırkı erkek sıçanlar kullanıldı. Ağırlıkları ortalama 245 gr'dı. Kontrol grubu dışındaki gruplara intraperitoneal azaserin enjeksiyonu yapıldı. EG ile enfekte olan kesimlik hayvanların karaciğerindeki hidatik kistlerden alınan protoskoleks süspansiyonu sıçanlara intraperitoneal olarak verildi. Sıçanlar standart koşullarda gruplar halinde kafeslerde muhafaza edildi. Deneyde kullanılan sıçanlar aşağıdaki şekilde gruplandırıldı.

## GRUPLAR

**Grup 1:**Kontrol grubu (azaserinle muamele edilmemiş ve EG ile enfekte edilmeyen grup ( n=7);

**Grup 2:**Yalnız Azaserin (i.p) (30mg/kg )enjekte edilmiş grup (n=8);

**Grup 3:**Yalnız protoskoleks süspansiyonu (i.p.) (1cc ) enjekte edilmiş grup (n=15);

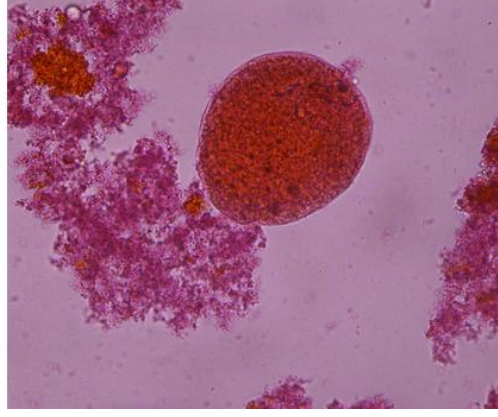
**Grup 4:**Hem Azaserin (i.p)(30mg/kg ) hem de protoskoleks süspansiyonu (i.p.) (1cc ) enjekte edilmiş grup (n=15).

Sıçanların pankreasında neoplastik değişimlerin başlatılabilmesi amacıyla 14 günlük erkek sıçanlara haftada bir kere üç hafta süreyle30 mg/kg *i.p.* Azaserin enjekte edildi.(Şekil1)

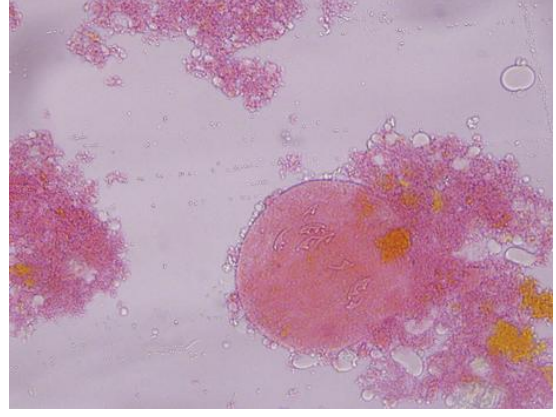


**Şekil 2:** Azaserin i.p. enkesiyonu

Ekinokokkus granulosus enfeksiyonu için protoskoleksler Konya Et Kombinasi'nda kesilen koyunların karaciğerlerindeki uniloküler tipte ekinokok kistlerinden elde edildi. Kistli karaciğerler en kısa sürede steril kaplarda laboratuvara getirilmiş ve kistlerden steril koşullarda bir enjektör yardımı ile kist sıvısı çekilerek steril bir cam kaba alındı. Protoskolekslerin kabın dibine çökmesinden sonra üstteki sıvı döküldü protoskoleks çöktüsüiki kez serum fizyolojik ile yıkandı. Protoskolekslerin canlılığı hematoksileneozin ile boyandı. Boyananlar ölü, boyanmayanlar canlı olarak değerlendirildi (24,25,34).(Şekil 3,4)



**Şekil 3:** Canlı protoskoleks



**Şekil 4:** Ölü protoskoleks

Protoskolekslerin canlılık boyamaları uzman parazitolog tarafından gerçekleştirildi.

Daha sonra her sıçan bu protoskoleks süspansiyonundan insülin enjektörüyle 1 cc *i.p.* verildi.



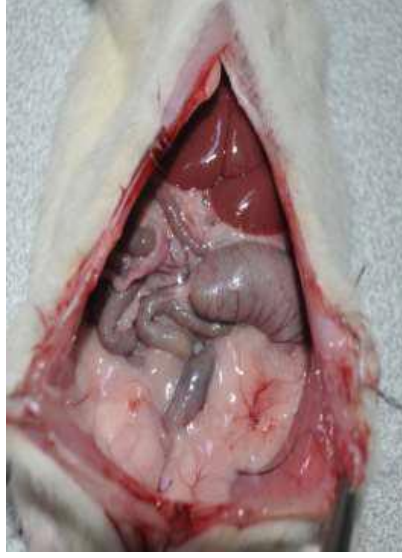
**Şekil 5:** Protoskoleks *i.p.* enjeksiyonu

Son enjeksiyondan sonra sıçanlar beşerli olarak kafeslere yerleştirildi ve normal standart diyetle beslendi.

Sıçanlara verilecek diyetler günlük olarak hazırlandı.

### 2.3.1. Doku örneklerinin alınması

Beş aylık deney süresi boyunca sıçanların sağlıklı oldukları gözlemlendi. Her hangi bir ölüm gözlenmedi. Sakrifikasyon öncesinde tüm hayvanlara 50mg/kg (sc) *Ketamin HCl* ve 15 mg/kg dozunda *Xylasin HCL* (sc) ile anestezi sağlandı. Sonra servikal dislokasyonla sakrifiye edildi. Hemen ardından postmortem laparotomi yapıldı. (Şekil 6,7,8)



**Şekil 6:** Laparotomiye hazırlık

**Şekil 7:** Laparotomi görünüşü diseksiyonla

Tüm gruplarda bulunan sıçanların pankreasları bir bütün olarak çıkarıldı. (Şekil 9,10)



**Şekil 8:** Pankreasın diseksiyonu



**Şekil 9:** Pankreas çıkarılmış



**Şekil 10:**Deneklerden çıkarılmış karaciğer

Her sıçanın pankreasları ayrı ayrı tartılarak ağırlıkları kaydedildi.

### 2.3.2 Patoloji preparatlarının hazırlanması

Her denekten çıkarılmış olan pankreas %10'luk formol içerisinde 24 saat süreyle tutularak tespit edildi. Sonra dokular sert parafinde bloklandırıldı ve hazırlanan bloklardan rotary mikrotom (Thermo Scientific, Shandon Finesse 325) ile 5 µm kalınlığında alınan kesitlere rutin hematoksilin ve eozin boyası uygulandı.

### 2.3.3 Patoloji preparatlarının değerlendirilmesi

Hazırlanan preparatlar, NEÜ Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesinde bulunan ZEISS İmaj Analizer Programı kullanılmıştır. Zeiss İmaj Analizer Paket Programı ile bilgisayar ortamında Prof. Dr. Haydar Öztaş'ın (Necmettin Erbakan Üniversitesi Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi, Biyoloji Anabilimdalı Öğretim Üyesi) denetim ve gözetiminde bu preparatlardaki atipik asinar hücre odakları saptanarak sayıldı. Odakların büyüklükleri, çapları ve hücresel yoğunlukları (intensiteleri), yüzde oranları ve diğer ölçüm işlemleri gerçekleştirildi. Bu veriler kayıt altına alındı.

### 2.3.4 Deney esnasında oluşacak atıkların kontrolü ve imhası

Çalışma esnasında oluşabilecek tıbbi atıklar:

**1: Enfeksiyöz Atıklar:** Hayvanların dokuları, organları, anatomik parçalar, bu tür materyal ile bulaşmış eldiven, örtü, çarşaf, bandaj, tamponlar, enfekte hayvanların leşleri ve bunlara temas etmiş her türlü malzeme.

**2: Patolojik Atıklar:** Hayvanların cerrahi girişim ve otopsi sonucu ortaya çıkan dokuları, organları, vücut parçaları ve cesetleri,

**3: Kesici-Delici Atıklar:** Şırınga, enjektör ve diğer tüm deri altı girişim iğneleri, lanset, bisturi, bıçak, serum seti iğnesi, cerrahi sütür iğneleri, biyopsi iğneleri, intraket, kırık cam, ampul, lam-lamel, kırılmış cam tüp ve petri kapları gibi batma, delme, sıyrık ve yaralanmalara neden olabilecek atıklar.

**4: Farmasötik Atıklar:** Hayvanların anestezi, sedasyon ve postop analjezisinde kullanılacak olan ilaçlardan kaynaklı atıklar,

şeklinde kategorize edildi ve bunlar 22.07.2005 tarihli resmi gazetede yayımlanan tıbbi atıkların kontrolü yönetmeliğine uygun olarak ayrı şekilde toplandı. Tıbbi atık depolama ünitesine uygun şartlarda taşınması ve bertaraf edilmesi sağlandı.

#### **2.4. İstatistiksel Analiz:**

Verilerin istatistiki analizinde *SPSS 15.0* paket programı kullanıldı. Non parametrik testler ve sayısal değişkenler arasındaki ilişkiyi tespit etmek amacıyla Spearman's Rho korelasyon testleri kullanılmıştır. Analizlerde  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

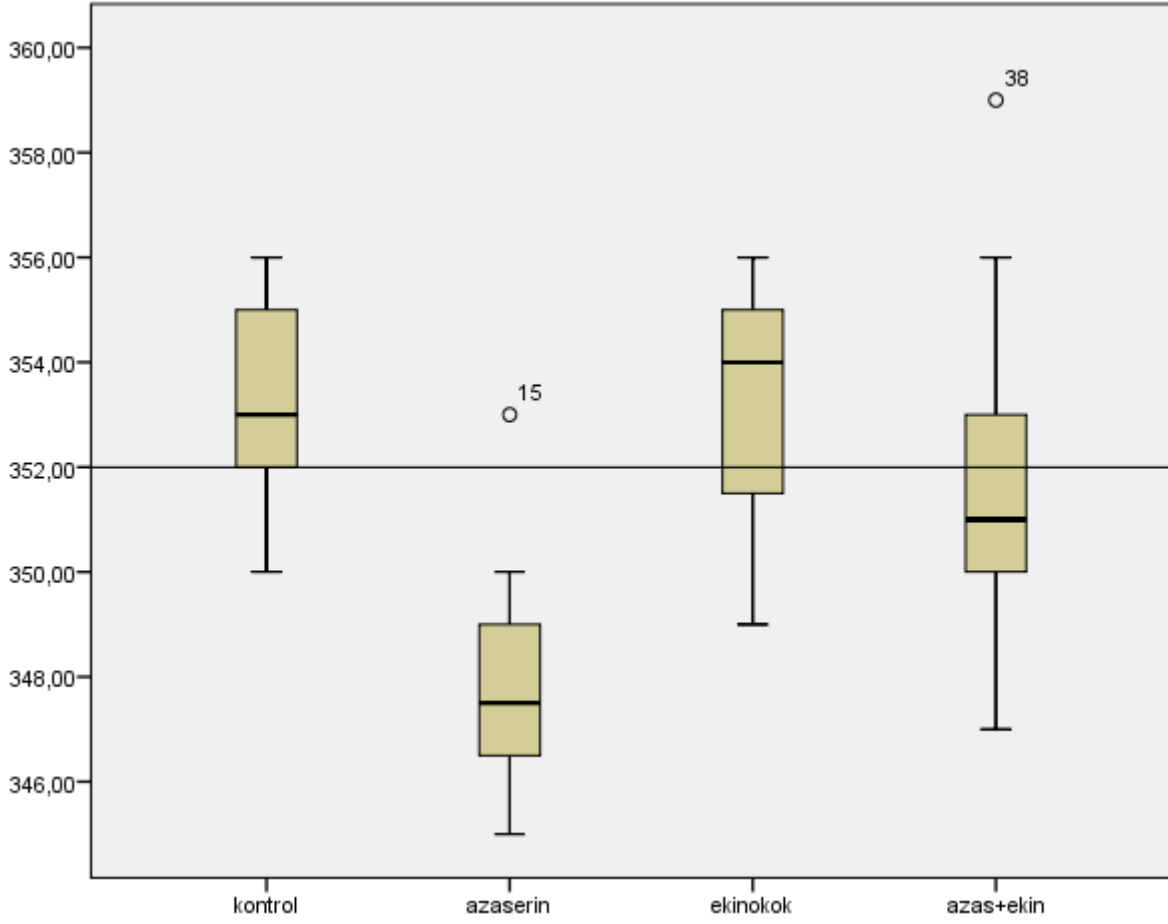
### 3- BULGULAR:

Laparatomi sonrası yapılan eksplorasyonda karaciğer normal görünümdeydi. Peritoneal kavitede kistik herhangi bir oluşumla karşılaşılmadı. Asit yoktu. Makroskopik olarak gözükten herhangi bir patolojiye rastlanmadı. Pankreas titiz bir diseksiyonla çıkarıldı. Sakrifikasyon öncesi ve sonrası deneklerden herhangi bir kan numunesi alınmadı. Deneklerin hiçbirinde gözle görülen herhangi bir kiste rastlanmadı. Deney hayvanlarının karaciğerlerinde herhangi bir kistik yapıya rastlanmadı. Deney hayvanlarının başlangıçtaki ağırlıkları ortalama 245 gr'dı. Deney hayvanlarının ortalama ağırlıkları 6. ayın sonunda 347,5 gr idi. Grup 1 350 gr, Grup 2 340 gr, Grup 3 348 gr ve Grup 4 352 gr olarak tartıldı. Sadece grup 2 deneklerde vücut ağırlıklarında diğer gruplara göre istatistiksel olarak düşme görüldü. ( $p < 0,05$ ) (Tablo 1).

**Tablo 1:** Denek tüm vücut ve pankreas ağırlıklarının karşılaştırılması

	Kontrol (n=7)	Azeserin (n=8)	Ekinokok (n=15)	Azaserin + Ekinokok (n=15)
Tüm Vücut Ağırlıkları (gr)	353.2857±2,13809	348.0±2,50713 *	353.0±2,61861	351.4667±3,13657
Pankreas Ağırlıkları (gr)	0.8614±0,02968	0.8613±0,02031	0.8621±0,02293	0.8607±0,02056

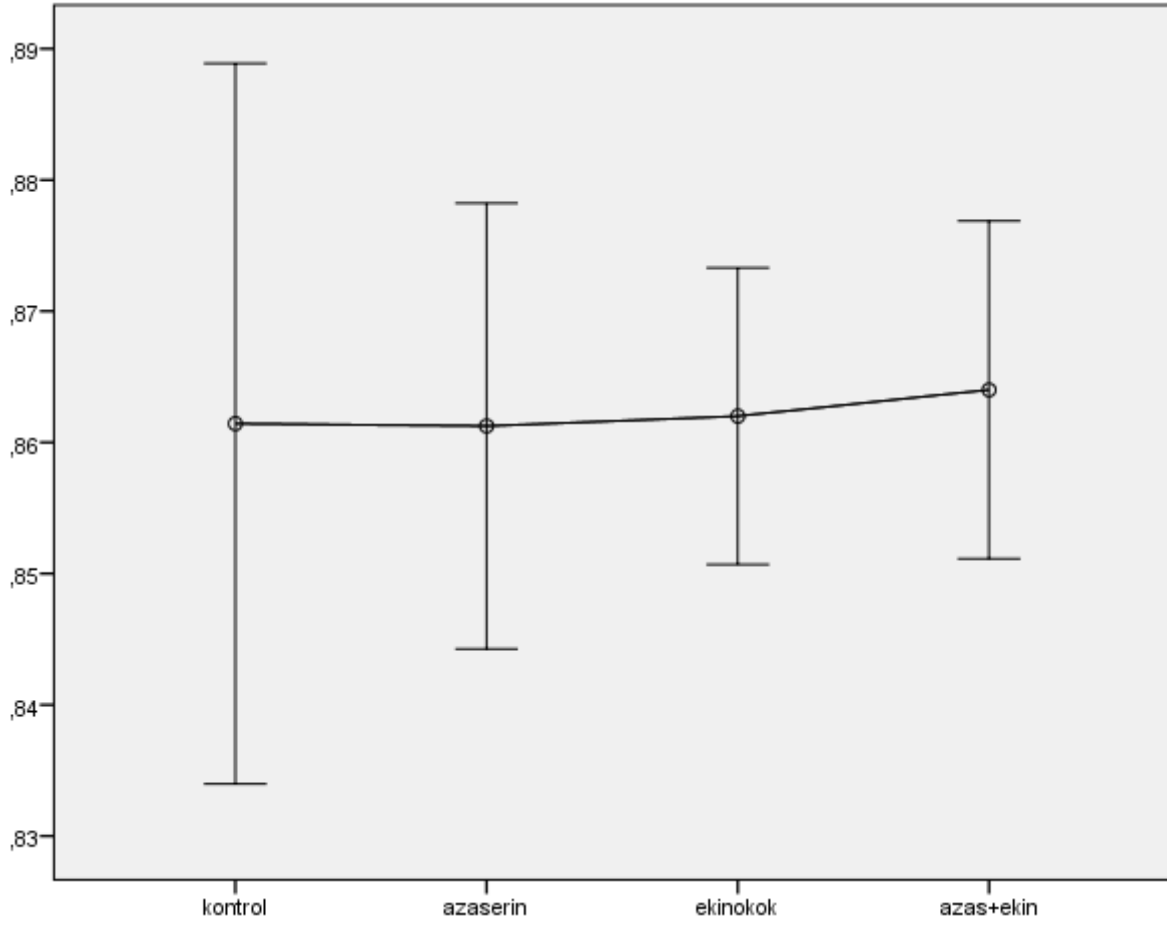
**Tablo 2:** Tablo 1'in grafik ile gösteriliŒi



Grupların ortalama pankreas ağırlıkları 0,86 gramdı. Grupların pankreas ağırlıkları sırasıyla Grup 1 de 0,88 gr Grup 2 de 0,89 gr Grup 3 de 0,84 gr Grup 4 de 0,86 gramdı. Pankreas ağırlıklarında da anlamlı bir istatistiksel fark yoktu ( $p>0,05$ ).

Pankreas ağırlıklarının toplam vücut ağırlığına oranı ortalama olarak % 0,248 dir. Ayrıca tek tek yüzdeleri alınca grup1 de % 0,241 'i de grup 2 de % 0,253'ü Grup 3 de % 0,251'i Grup 4 de ise % 0,247 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3).

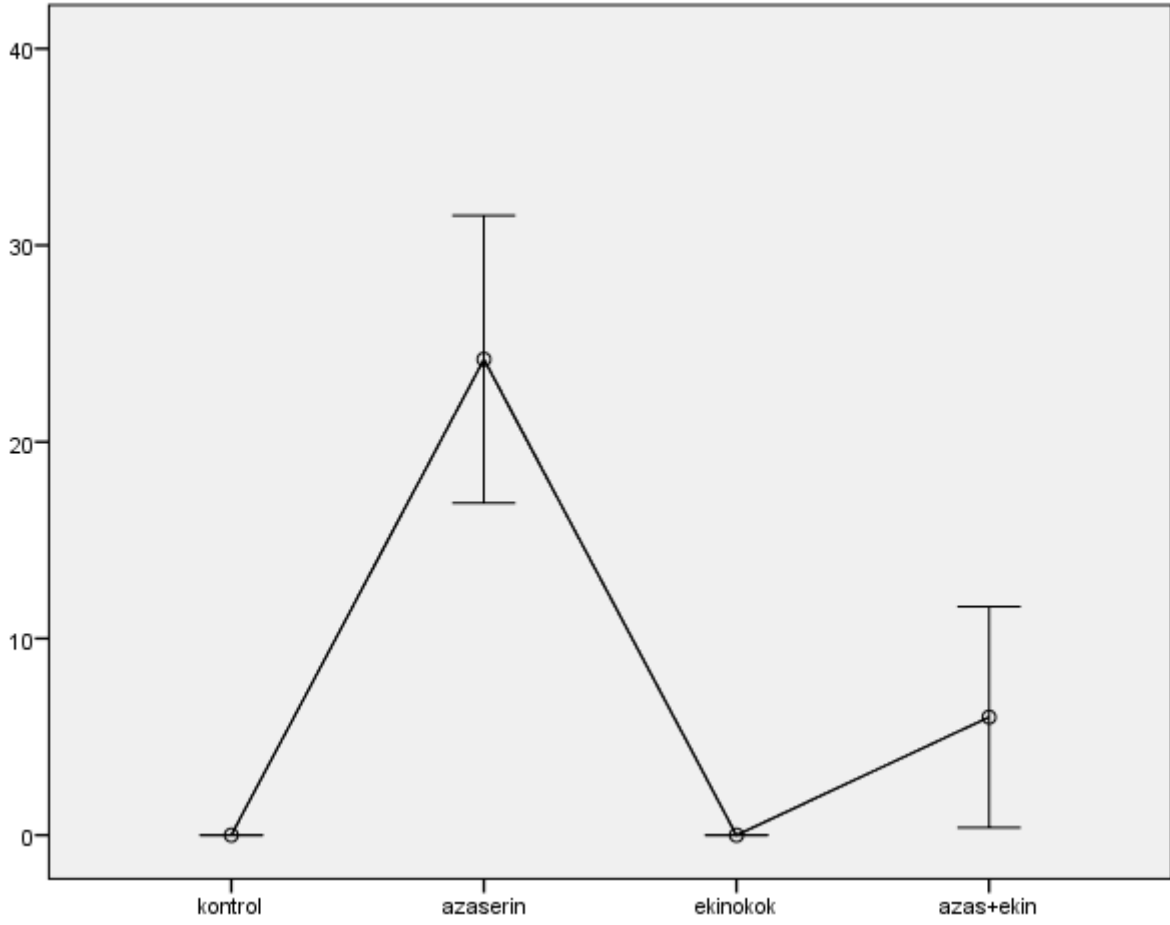
**Tablo 3:** Deneklerin pankreas ağırlıklarına göre karşılaştırılması



Deney hayvanlarından sadece azaserin verilen grup (Grup 2 ) ile azaserin + ekinokok verilen gruplardan (Grup 4) alınan preparatların değerlendirilmesinde atipik asinar hücre odaklarının (AAHF) sayısının anlamlı olarak farklı bulundu ( $p < 0,05$ ). Sadece Azaserin verilen grupta (Grup 2 ) de bu sayı daha fazlaydı.Yani prekanserojen odaklar anlamlı olarak daha fazla tespit edildi.

Azaserin verilen grupta kanser öncülü olarak değerlendirdiğimiz AAHF sayısının Grup 2 de yani sadece Azaserin verilen her preparat için ortalama 25 adet olduğu görülürken Grup 4 yani Azaserin + Ekinokok grubunda bu sayının sadece 6 olduğunu tespit ettik. Kontrol grubu (Grup1 ) ve sadece Ekinokok (Grup 3) olan gruplarında ise her hangi bir AAHF odağına rastlamadık.

**Tablo 4:** Gruplarda AAHF sayısının gruplara göre dağılımı

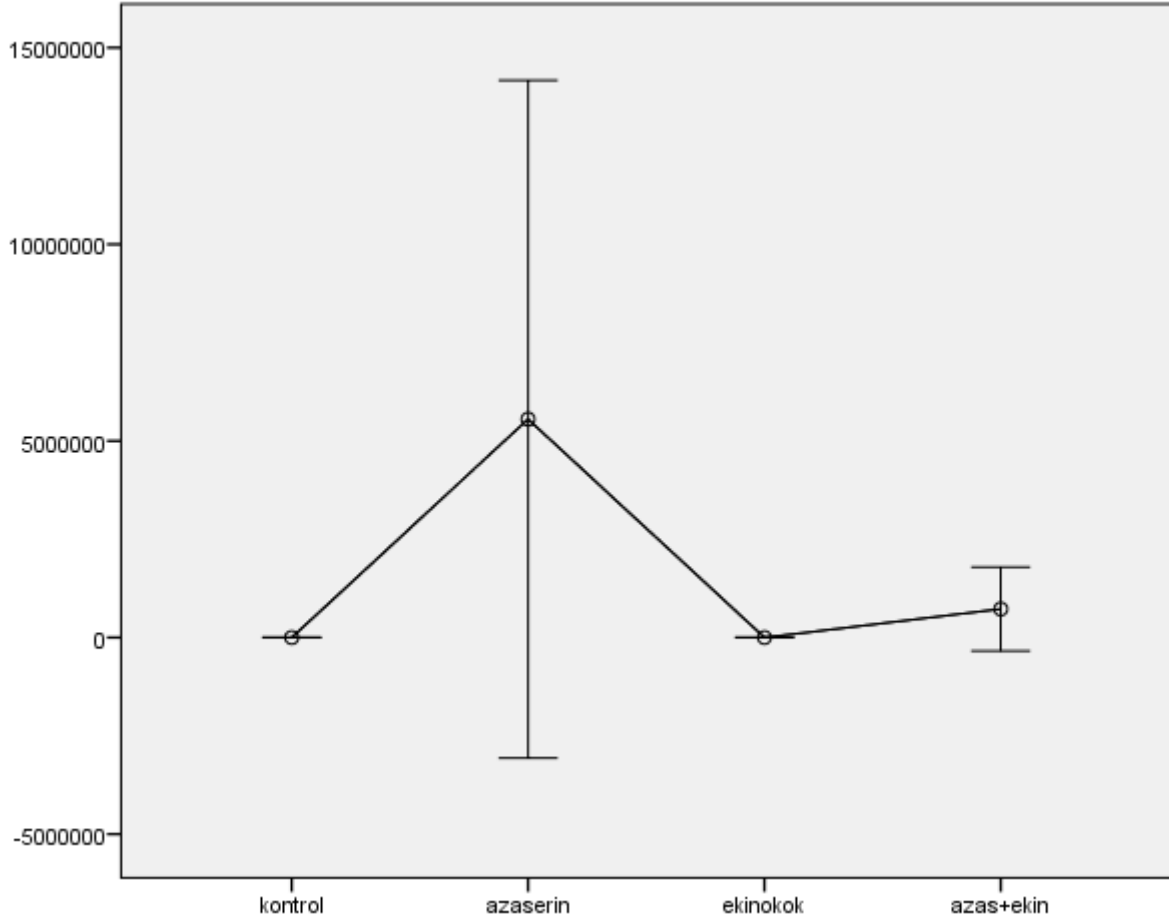


Yapılan mikroskopik ölçümlerde, Kontrol (Grup 1) ve sadece ekinokok enfestasyonu olan (Grup 3) grupta AAHF'a rastlanmadı.

Azaserin mumamele edilmiş grupta (Grup 2) ortalama AAHF'ların alanlarının toplamının tüm pankreas alanına oranı %10,23 olurken, Azaserin + Ekinokok grubunda (Grup4) %1,61 olduğunu gördük. Aralarında anlamlı bir fark mevcuttu ( $p < 0,05$ ).

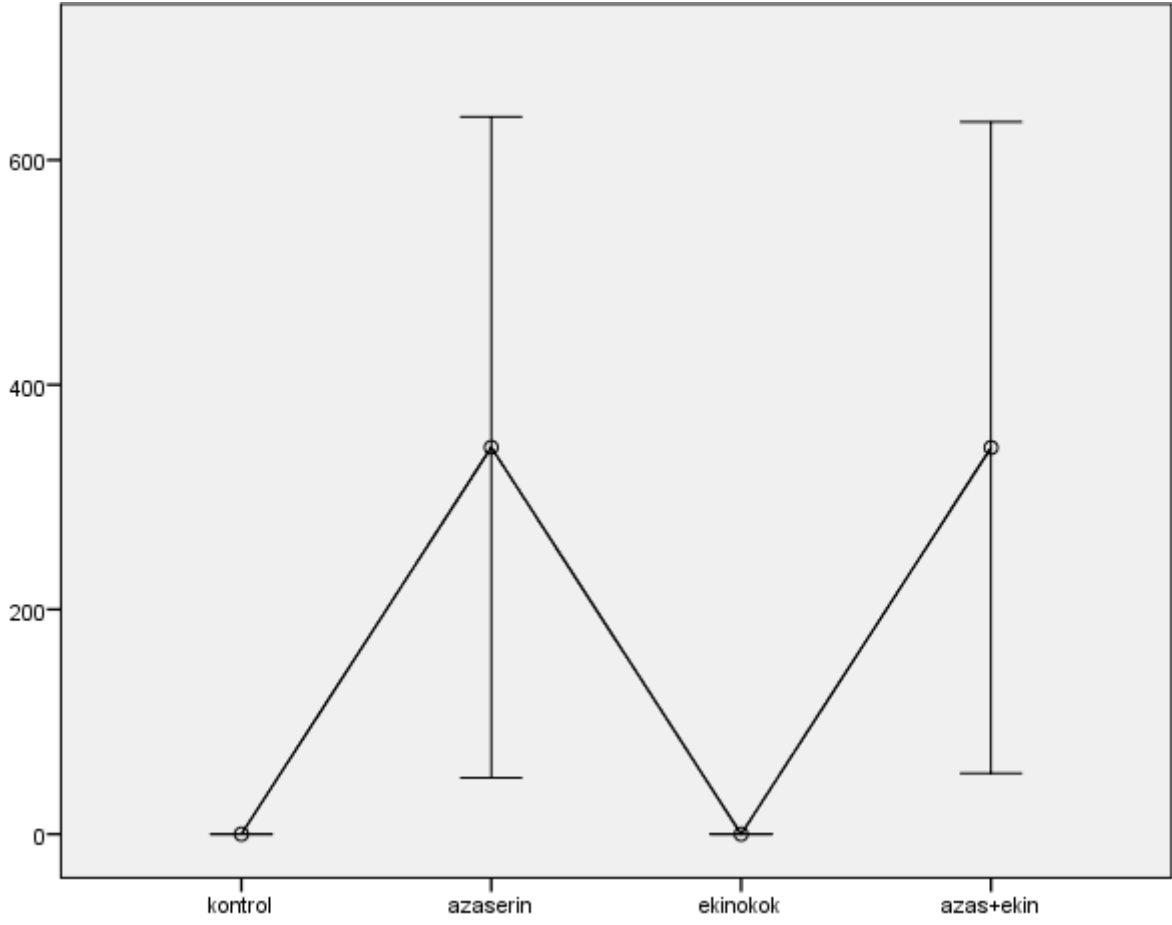
Azaserin grubunda (Grup 2) AAHF'nin toplam alanı 27.765.107  $\mu\text{m}^2$  ( $p < 0,05$ ) iken, Azaserin + Ekinokok grubunda (Grup 4) AAHF'nin toplam alanı 4.360.084  $\mu\text{m}^2$  olarak ölçtük. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p < 0,05$ ). (Tablo 5)

**Tablo 5:** Grupların AAHF larının alanlarının toplamı ve ortalama değerleri



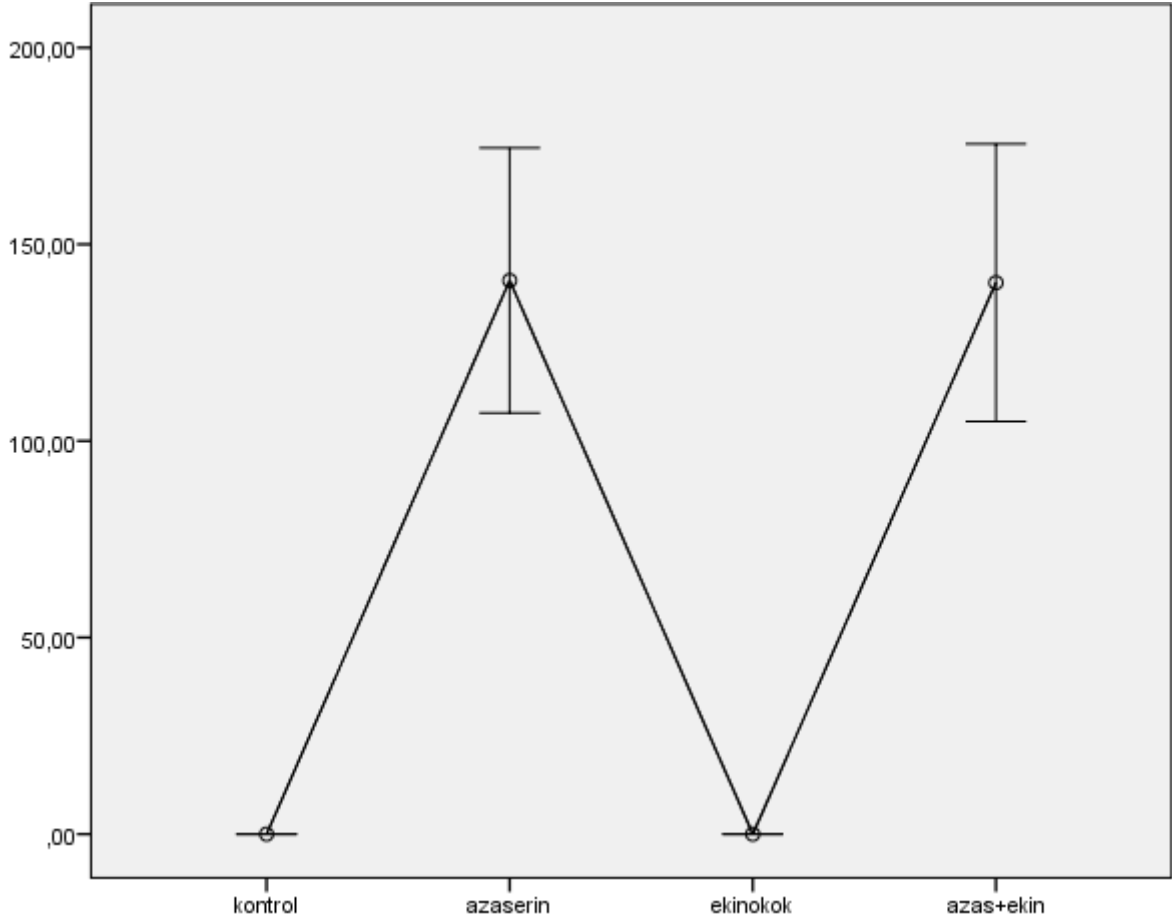
İncelenen pankreas dokusunda tespit edilen AAHF'lerin çaplarının ortalaması kontrol grubunda (Grup 1) ve Ekinokok grubunda (Grup 3) AAHF'ye rastlamadığı için "0". Azaserin grubunda (Grup2) 344µm, Azaserin +Ekinokok grubunda (Grup4) 340 µm olarak ölçüldü. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ) (Tablo6).

**Tablo 6:** Grupların AAHF çap ortalamalarına göre karşılaştırılması



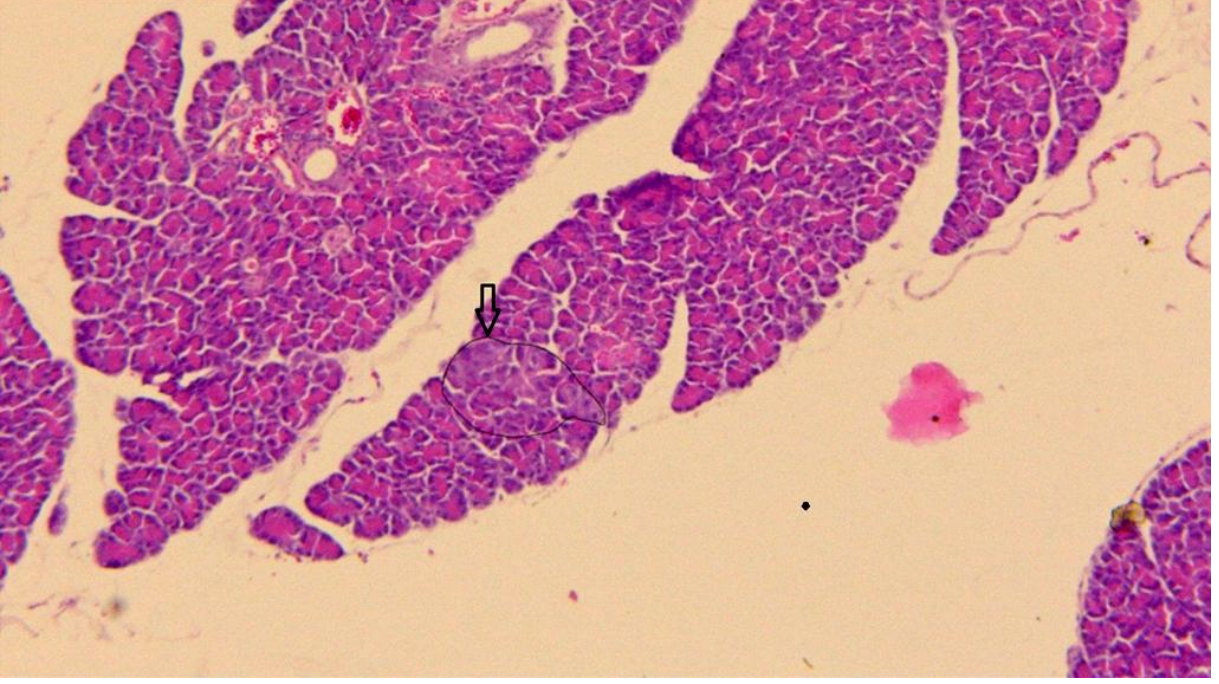
AAHF'lerinin intesite değerleride Azaserin (Grup 2) ile muamele edilmişlerde 150,8 Azaserin+ Ekinokok grubunda (Grup 4) ise 148,8 olarak ölçtüğ. İstatiksel olarak anlamlı bir fark bulamadık ( $p>0,05$ )(Tablo 7)

**Tablo 7:** Grupların AAHF'lerinin intensitelerinin karşılaştırılması.

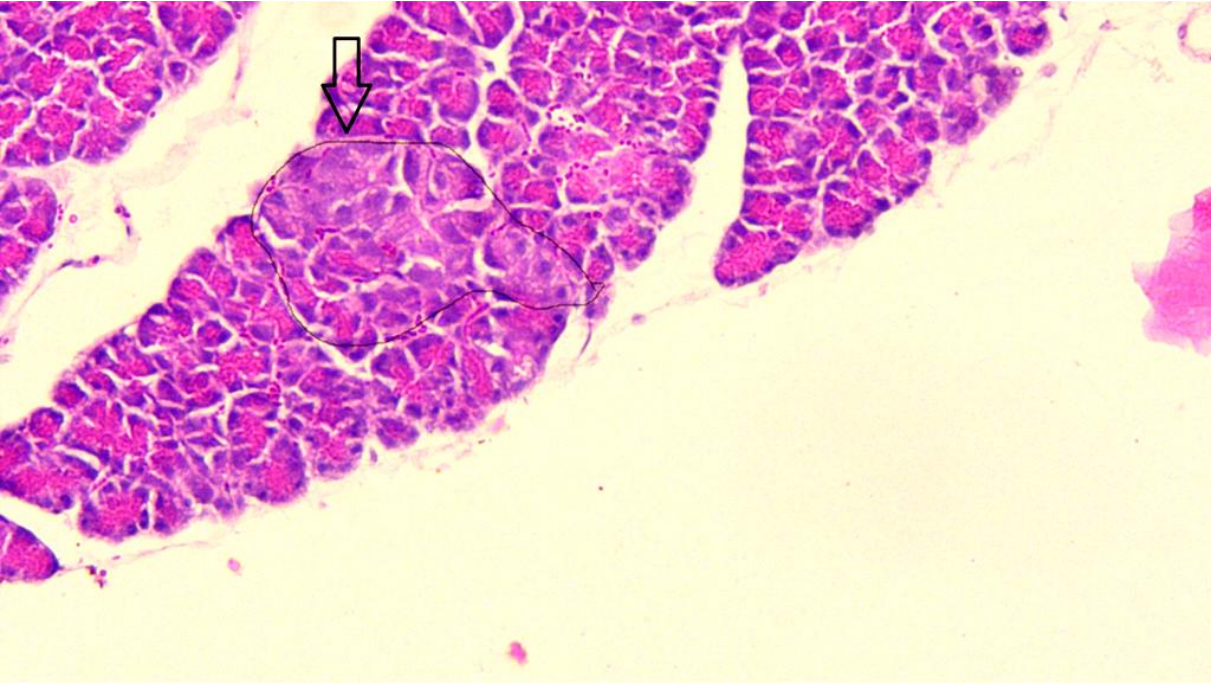


İncelenen pankreas doku alanlarının Kontrol grubunda (Grup 1) de 275.254.542  $\mu\text{m}^2$  Azaserin grubunda (Grup 2) 271.371.160  $\mu\text{m}^2$  Ekinokok grubunda (Grup3) 276.254.658  $\mu\text{m}^2$  Azaserin +Ekinokok grubunda (Grup 4) 270.092.561  $\mu\text{m}^2$  olarak ölçtüğ. İncelenen pankreas alanlarının arasında istatiksel olarak anlamlı bir fark saptamadık ( $p > 0,05$ ).

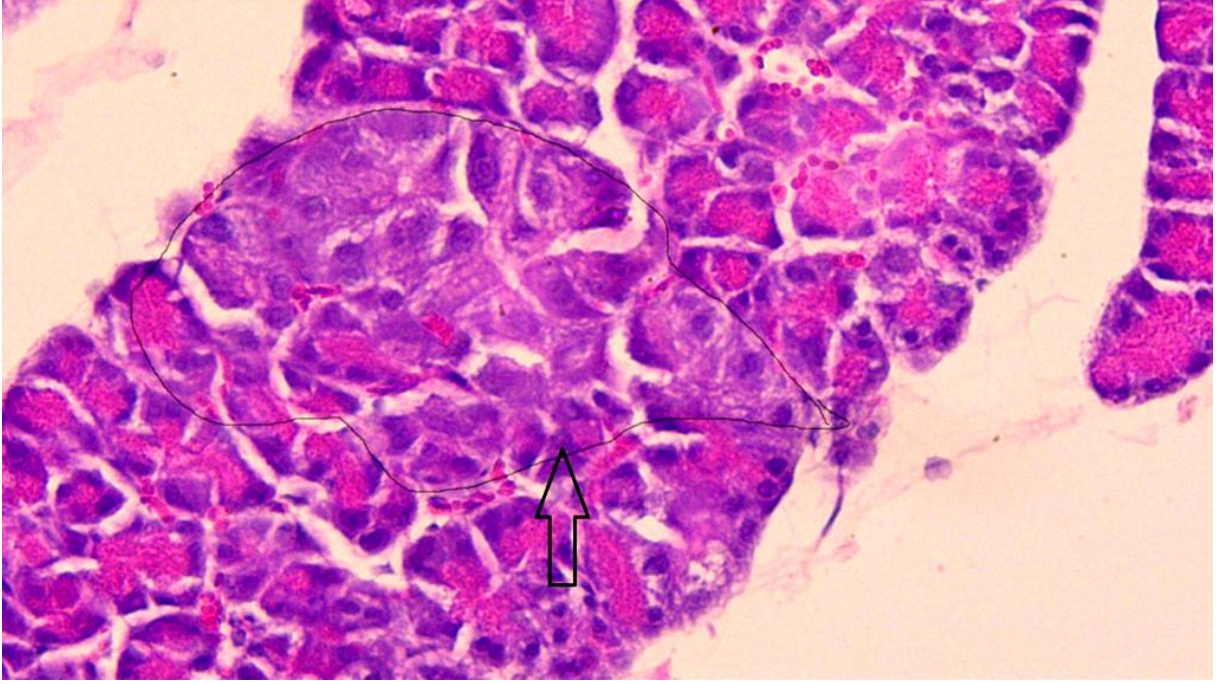
AAHF larının mikroskopik görüntüleri ayrı ayrı değerlendirildi. Azaserin (Grup 2) grubunda elde edilen preparatın 20 büyütmedeki hali. İşaretli olan kısım AAHF (Şekil 11). Preparatın 50 büyütmede görünümü (Şekil 12). Aynı preparatın 100 büyütmede görünümü (Şekil 13).



**Şekil 11:** Azaserin grubunda (Grup 2) Atipik asinar hücre foku işaretli (x20 büyütmede )



**Şekil 12:** Azaserin grubunda (Grup 2) aynı atipik asinar hücre foku işaretli (x20 büyütmede) atipik asinar hücre fokusunun x 50 büyütmede görünümü

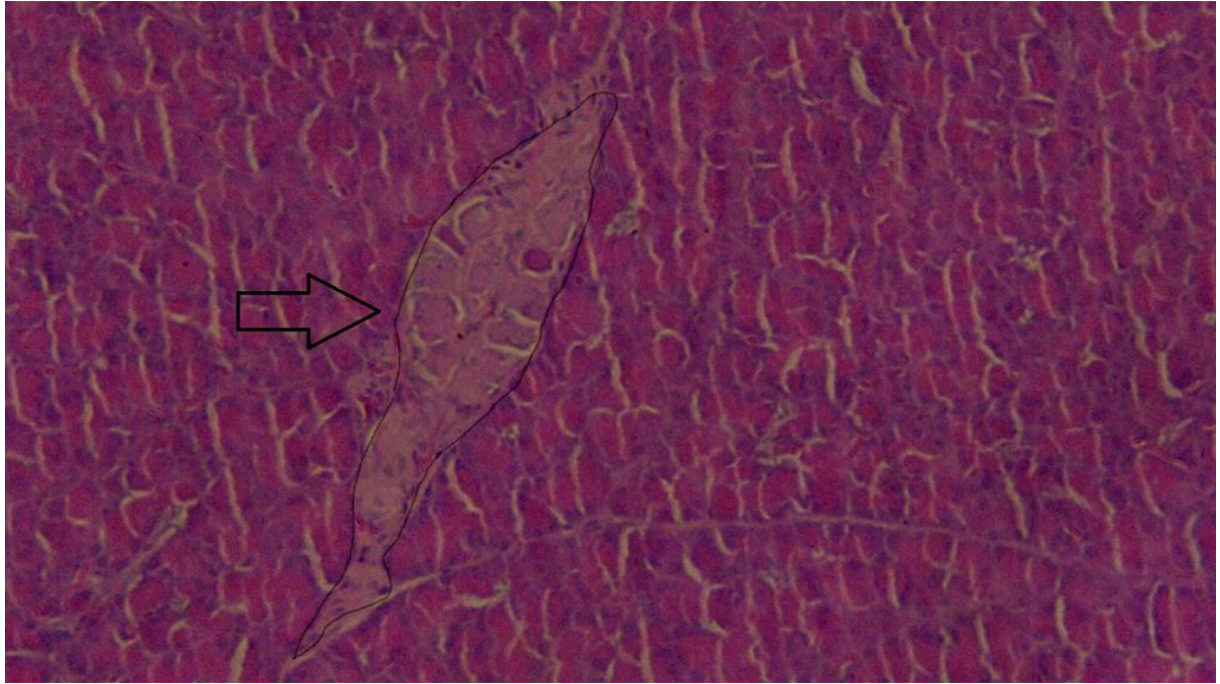


**Şekil 13:** Azaserin grubunda (Grup 2) aynı atipik asinar hücre fokusu işaretli (x20 büyütmede) atipik asinar hücre fokusunun x 100 büyütmede görünümü.

AAHF'larında bulunan hücrelerin morfolojik yapılarında değişim gözlenmekte olup, neoplastik gelişmenin bir göstergesi olarak hücrelerde bazofilik boyanma özelliğinin arttığı görülmektedir (Şekil 14,15). Normal asinar hücrelerin ise fokus çevresinde daha fazla eozinofilik özelliğe sahiptir.



**Şekil 14:** Azaserin grubunda (Grup 2) atipik asinar hücre fokusu işaretli (x20 büyütmede )

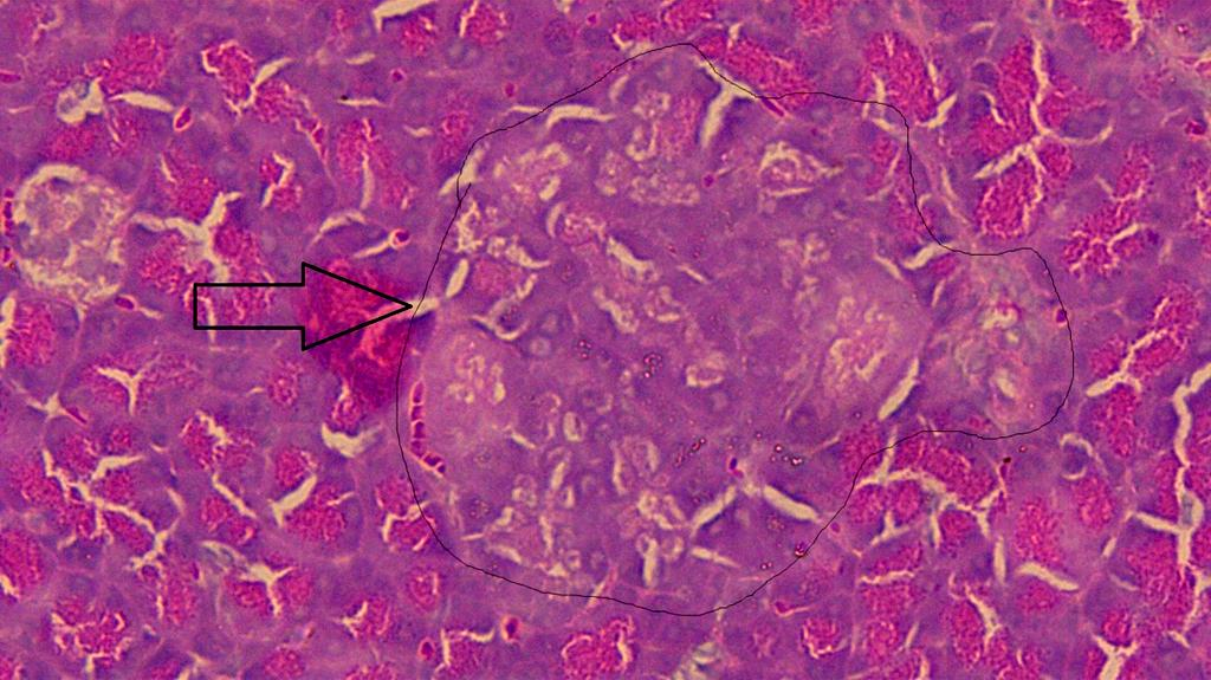


**Şekil 15:** Azaserin grubunda (Grup 2) atipik asinar hücre fokusu işaretli (x 50 büyütmede)

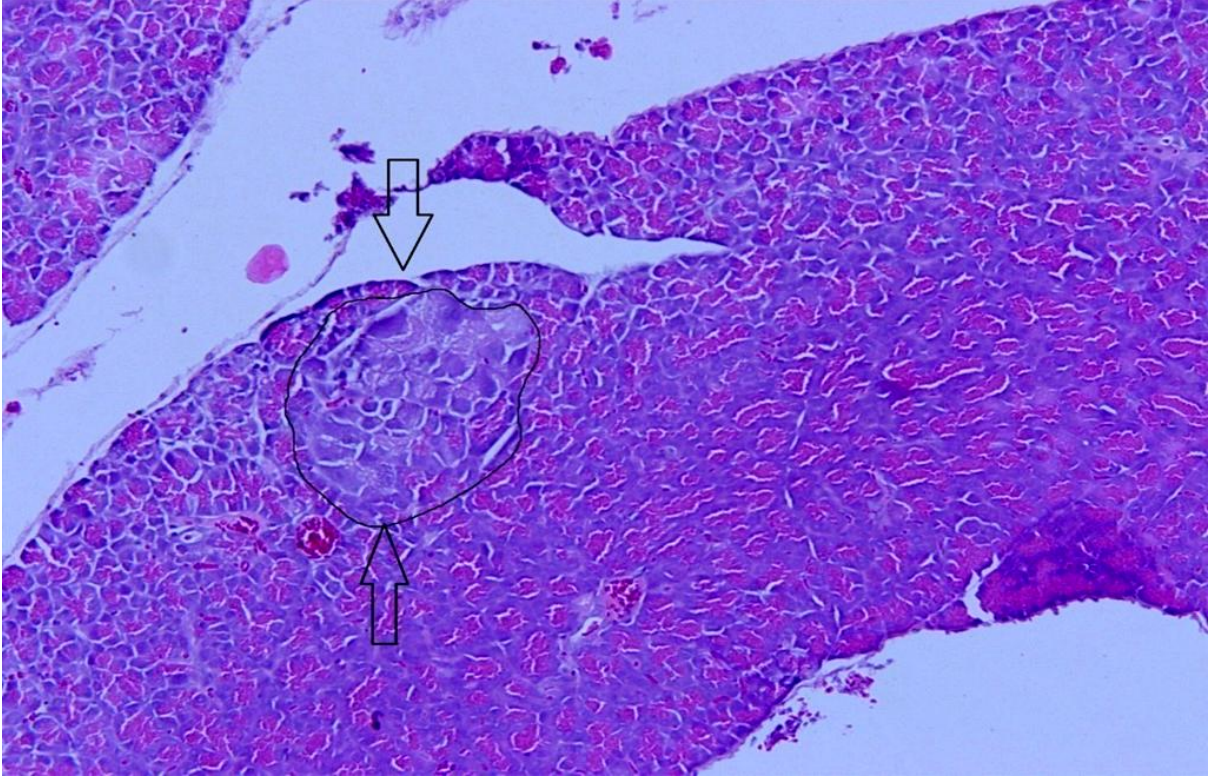
Azaserin+ ekinokok grubunda (Grup 4) alınan tespit edilen AAHF larının preparat görüntüleri. Bu görüntülerde tümör öncüllerinin daha bazofilik olarak boyandığını görmekteyiz. Bir AAHF nun 50 büyütmedeki görüntüsü işaretli (Şekil 16 ). Aynı AAHF 'nin 100 büyütmedeki görüntüsü (Şekil 17). Bir başka preparatta başka bir AAHF' nin 50 büyütmedeki görüntüsü (Şekil 18)



**Şekil 16:** Azaserin + Ekinokok grubunda (Grup 4) atipik asinar hücre fokusu işaretli (x50 büyütmede)



**Şekil 17:** Azaserin + Ekinokok grubunda (Grup 4) aynı atipik asinar hücre fokusunun x100 büyütmedeki görünümü. Bazofilik boyanma özelliği göstermektedir.



**Şekil 18:** Azaserin + Ekinokok grubunda (Grup 4) atipik asinar hücre fokusu işaretli (x50 büyütmede). Bazofilik boyanma özelliği net olarak görülmektedir.

Projede düşülmesine rağmen yüksek mali portresi nedeniyle ekinokok protoskolekslerinin antijenik yapısını gösterecek immüno histokimyasal çalışma yapılamadı.

Karaciğerin makroskopik değerlendirilmesinde kistik herhangi bir oluşumla karşılaşılmadı. Karaciğerden yapılan değerlendirmede mikroskopik düzeyde karaciğer kisti lehine bir bulguya rastlanmadı.

#### 4- TARTIŞMA:

Pankreas kanserinde kısa sağkalım süresinin nedenleri arasında bu tümörlerin çoğunlukla sinsi ve agresif özelliklere sahip olması, geç teşhis, düşük rezeksiyon oranları ve etkin tedavi yokluğu yer almaktadır.

Ekinokokus granulosus ülkemizde sık görülen paraziter bir hastalıktır. Bazı yayınlarda bu parazitin çeşitli kanserleri engellediği belirtilmiştir (3).

Çalışmamızda Ekinokok ve kanser birlikteliği daha az olarak tespit ettik. Parazitlere karşı vücutta gelişen immünitenin kanserli hücreleri baskıladığı kanaatindeyiz. Yani parazitlere karşı bağışıklık sisteminin cevabı kanser hücrelerinin baskılanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Literatürde bu bulgularımızı destekler çalışmalar mevcuttur.

Paraziter hastalıkların yapısındaki bazı yapı elemanları kanser hücreleri arasında benzerlik göstermekte ve buna karşı gelişen immun cevap kanserli hücrelere de etki etmektedir. Ekinokokus granulosus'un skolekslerinin yapısında bulunan müsin benzeri peptidlerin kanseri baskıladığını Noya ve arkadaşları tarafından gösterildi (7).

Ayrıca Noya ve arkadaşları skolekslerin yapısındaki mucin-like peptidin kanseri engellediğini bildirmişlerdir. Bu çalışma ile parazitlerin yapısında bulunun moleküllerin bazılarının kanseri baskılayabileceği ve kanser tedavisinde aşı uygulamalarının kullanılabileceği ifade edilmiştir. Parazitlerin yapısının iyice aydınlatılması ve moleküler düzeyde kansere karşı etkilerinin çalışılması gerektiği vurgulanmıştır. (7).

2013 yılında Berriel ve arkadaşları Uruguay'da yaptıkları çalışmada hidatik kist sıvısının kolon kanserine karşı antitümör etkinliğini gösterdi. Çalışmada tavşanlar kullanılmış ve murine kolon kanseri modeli uygulanmıştır. Çalışma sonucunda kanser hücrelerinin baskılandığı tespit edildi. EG ile kolon kanseri hücrelerinin arasında benzer yapılar tespit edildi. Böylece kanser tedavisinde yeni bir modalite olarak aşı ile tedavi sağlanabileceğinden bahsedilmiştir (30).

Ancak literatürde Turhan ve arkadaşlarının meme kanserinde ekinokok enfestasyonu ile karaciğerde metastaz sayısının arttığı tezini kabul etmeyip metastazların ekinokokus granulosus enfestasyonu sonrası organizmadaki Th1 hücre tiplerinin sayısındaki azalmayla birlikte arttığını ifade etmişlerdir (32).

Yukarıda ki çalışmanın aksine yeni literatürde Akgül ve arkadaşlarının yapmış oldukları deneysel çalışmalarında ekinokok ile kanser birlikteliğini çok nadir olarak görmüşler, kanserin erken aşamalarında ekinokokus enfestasyonunun etki ettiğini, tümöral benzerlikle oluşan immunité sonucu kanseri engellediğini savunmuşlardır (3).

Bu bilgilere benzer olarak Berriel ve arkadaşları da bir proteomik analiz çalışması gerçekleştirmiş ve *E. granulosus* ile kolon kanseri hücreleri CT26 ile çapraz reaktivite tespit etmişlerdir. Bu çalışmada iki protein keşfetmişlerdir. Bunlar *mortalin* ve *kreatin kinaz M* tipidir. İlginç bir şekilde CT26 da bulunan mortalin proteini ile *E.granulosus*'un %60 benzerlik gösterdiği tespit etmişlerdir. Ayrıca Ekinokokus enfestasyonunun karsiyogenezin erken safhalarında (başlangıç, büyüme) engellediğini ve deneysel çalışmaların bu aşamalarında içine alacak şekilde dizayn edilmesinin bu konu hakkında daha fazla bilgi vereceği kanaatinde olduklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca kanser profilaksisinde EG ile olan antijenik benzerlikten yararlanarak aşı yapılabileceğinden söz edilmektedir (30).

Çalışmamızda kullanılan azaserin-rat modeli güvenilir bir model olup yaklaşık 40 yıldır kullanılmaktadır (19). Pankreas kanseri öcüllerinin AAHF'larının mikroskopik görünümüleri tipiktir. Patolojik preparatlar aynı uzman tarafından incelenmiş ve imaj analizer paket programı ile ölçümleri yapılmıştır.

Çalışmamızda Ekinokok ve kanser birlikteliği daha az olarak tespit ettik. Parazitlere karşı vücutta gelişen immüitenin kanserli hücreleri baskıladığı kanaatindeyiz. Yani parazitlere karşı bağışıklık sisteminin cevabı kanser hücrelerinin baskılanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Literatürde bu bulgularımızı destekler çalışmalar mevcuttur.

Kesimlik hayvanların karaciğerlerinden elde ettiğimiz kist hidatik sıvısında EG nun yapısında bulunan maddeler ile bu immüitenin sağlandığını ve kanseri baskıladığı kanaatindeyiz. Çalışmamızda bu protoskoleks ve kaya suyunun oluşturduğu immüinite ile pankreas kanserini baskıladığını tespit ettik. EG'ye ait esas olarak iki adet lipoprotein yapısında antijen saptanmıştır. Bunlar antijen A ve AntijenB dir. Antijen A (antijen 5) , germinal membranda ve protoskolekslerin zar altındaki hücrelerinde bulunur. Kist sıvısına da geçmektedirler. Ayrıca literatürde bu bulgularımızı destekler çalışmalarda vardır.

Antijen B, yoğun olarak protoskolekslerin zarında lokalize olmuştur. B lenfositlerinin aktivasyonu ile IgG, IgM ve IgE yapısında antikorlar oluşur(23).

*Ekinokokus granulosus* ve tümör hücreleri arasında antijenik benzerlikler mevcuttur. Tez ve arkadaşları EG enfestasyonunun kanser bağımlı *O-glycosylated Tn* antijeni benzerliği rapor etmiştir. Tn antijeninin ekspresyonunun kanserin erken evrelerinde (bütün malign kanserler ve bunlara meme kanseride dahil ) gerçekleştiğini ifade etmişlerdir (31).

Çalışmamızda eleştiri alabilecek tek konu deney hayvanlarında kist görülmemesi olarak düşünülebilir. Çalışmanın ikinci önemli nakisesi ise EG'ye özgü antijenik yapının serolojik olarak tanımlanmamasıdır. Proje aşamasında düşünülen ancak yüksek maliyet ve teknik imkansızlıklar nedeniyle gerçekleştirilemeyen bu deneyler çalışmamıza gölge düşürür niteliktedir.

Ama ne var ki deneklere canlı protoskoleks süspansiyonu verildiği bir realitedir. Nitekim grup 4' de bu süspansiyon enjeksiyonu pankreastaki AAHF sayısını anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Antitümör aktivite için deneklerin peritonlarında veya karaciğerlerinde kist olması şart değildir. Verilmiş olan süspansiyondaki ölü bile olsa, prosklokesin antijenik yapısına karşı denek immünitesi harekete geçer. Değerli ve arkadaşları yaptıkları çalışmada immünite sağlama için antijen A (antijen 5) ve antijen B nin gerekliliği vurgulanmıştır (23).

## 5- SONUÇLAR:

Çalışmamızda *Ekinokokus granulosus* skoleks ve kist hidatik sıvısına karşı gelişen immünitinin pankreas kanserini baskıladığı kanısındayız. Azaserin ve Azaserin - Ekinokok grupların da pankreas kanseri öncülü olan AAHF sayılarının istatistiksel olarak anlamı farklılığının ( $p < 0,05$ ) bulunması EG nin kanseri baskıladığını göstermektedir. Kontrol ve Ekinokok grubundada herhangi bir AAHF odağının saptanmaması da EG nin kanserojen bir yapıda olmadığını göstermektedir.

Günümüzde hızlı bir artış gösteren pankreas kanserinin tedavisine yönelik çalışmalar için çalışmamız primitif pilot bir çalışma özelliğine sahiptir. Elde edilen bulgular, deney sürecinin uzatılması ve daha çok deney hayvanının bu amaçla kullanılması ile deneysel pankreas kanseri çalışmalarında öncü olabilecek bir çalışma niteliğindedir. Azaserin- sıçan modeli günümüzde özellikle immünolojik ve moleküler biyoloji temelli çalışmalarla desteklenerek pankreas kanserinin sebepleri ile ilgili daha fazla bilgi edinmemize olanak sağlayabilecek niteliktedir. Çalışmamızın deneysel kanser tedavisinde yeni yöntemlere ışık tutacak bir çalışmadır. Daha uzun süreli, daha detaylı deneysel çalışmalar gereklidir.

## KAYNAKLAR:

1. Springer GF Immunoreactive T and Tn epitopes in cancer diagnosis, prognosis, and immunotherapy. *J Mol Med (Berl)* 1997 Aug;75(8):594-602
2. Yong WK, Heth DD, Savage T et al Echinococcus granulosus infection and malignancy *British Medical Journal* 1980
3. Akgül H, Tez M, Ünal A, et al Echinococcus against cancer: why not? *Cancer* 2003 / Volume 98 / Number 9 DOI 10,1002/cncr.11752
4. WK Yong, DD Heath, T Savage *Br Med J.* 1979 Jun 2; 1(6176): 1463–1464.
5. Hunter CA, Yu D, Gee M, et al Cutting Edge: Systemic Inhibition of Angiogenesis Underlies Resistance to Tumors During Acute Toxoplasmosis *The Journal of Immunology* May 15, 2001 vol. 166 no. 10 5878-5881 2001
6. Alvarez- Errico, Medeiros A, Miguez M et al. O-Glycosylation in Echinococcus granulosus: Identification and Characterization of the Carcinoma- Associated Tn Antigen . *Experimental Parasitology* 98,100-109 (2001)
7. Noya V, Bay S, Festari MF et al, Mucin-like peptides from Echinococcus granulosus induce antitumor activity. *International Journal of Oncology* DOI: 10,3892/ijo.2013,2000
8. Gudjonsson B. Cancer of the pancreas. 50 years of surgery. *Cancer* 1987; 60: 2284-2303
9. Bray F, Sankila R, Ferlay J, et al. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995. *Eur J Cancer* 2002;38: 99-166
10. Arnoletti JP, Hoffman JP, Ross EA, et al, Preoperative chemoradiation in the management of adenocarcinoma of the body of the pancreas. *Am Surg* 2002; 68: 330-335
11. Mehta VK, Fisher G, Ford JA, Poen et al. Preoperative chemoradiation for marginally resectable adenocarcinoma of the pancreas. *J Gastrointest Surg* 2001; 5: 27-35
12. Oettle H, Post S, Neuhaus P, et al. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 297: 267-277
13. Hruban RH, Maitra A, Goggins M. Update on pancreatic intraepithelial neoplasia. *Int J Clin Exp Pathol* 2008; 1: 306-316)
14. Vincent A, Herman J, Schulick R, et al. Pancreatic cancer. *Lancet* 2011; 378: 607-620

15. Rhim AD, Stanger BZ. Molecular biology of pancreatic ductal adenocarcinoma progression: aberrant activation of developmental pathways. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2010; 97:41-78.
16. Ji B, Tsou L, Wang H, et al. Ras activity levels control the development of pancreatic diseases. *Gastroenterology* 2009; 137: 1072-1082
17. Gourgou-Bourgade S, de la Fouchardière C, Bennouna J et al. Folfirinox versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2011; 364: 1817-1825
18. Eser S, Messer M, Eser P et al. In vivo diagnosis of murine pancreatic intraepithelial neoplasia and early-stage pancreatic cancer by molecular imaging. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 9945-9950
19. Longnecker DS, Lilja HS, French J et al. Transplantation of azaserine – induced carcinomas of pancreas in rats. *Cancer letters*, 7 (1979) ; 197-202
20. Longnecker D.S. & Curphey T.J. (1975) Adenocarcinoma of the pancreas in azaserine-treated rats. *Cancer Res* 35, 2249-2258.
21. O'connor P., Roebuck BD, Peterson J., et al (1989) Effect of dietary omega-3 and omega-6 fatty acids on development of azaserine-induced preneoplastic lesions of rat pancreas. *J. Nat. Cancer Inst.* 8 I, 858-863.
22. Zurlo, J., Roebuck, B. D., Rutkowski, J. V, et al. Effect of pyridoxal deficiency on pancreatic DNA damage and nodule induction by azaserine. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 23: 68 1982
23. Değerli Ü, Bozfkioğlu Y. Karaciğer hastalıkları, hidatik kist. *Cerrahi-2” Gastrointestinal”*. İstanbul. Nobel Kitapevi. 1990 295-9.
24. Burgu, A. (1975). *Echinococcus granulosus* proloskolekslerinin beyaz farelerde sekonder kist meydana getirme yeteneklerine radyasyonun etkisi. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 22: 137-148.
25. Tezok, Ü.F., Kılıçturgay, K., Toppare, S., et al. (1970). Deneysel kist hidatik teşekkülü ve tedavisi üzerine çalışmalar. 1. Deney hayvanlarında sekonder kist implantasyonu. *Mikrobiol. Bult*, 4: 207-214.
26. T.C.Sağlık Bakanlığı Sağlık istatistikleriyıllığı 2012 syf 31
27. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al.(2008) *Cancer Statistics, CA Cancer J Clin* 58: 71-96. 3.

28. Anderson KE, Mack TM, Silverman DT (2006). Cancer of the pancreas. In: Schottenfeld D, Fraumeni Jr JF, editörler, Cancer Epidemiology and Prevention. New York: Oxford University Press. 721-762.
29. Özçelik U, Göçmen A. Kist Hidatik Hastalığı Katkı Pediatri Dergisi 1992; (13) (3-4) 365-71
30. Berriel E, Russo S, Monin L, et all. Antitumor activity of human hydatid cyst fluid in a murine model of colon cancer. *ScientificWorldJournal*. 2013 Aug 18;2013:230176. doi: 10.1155/2013/230176. eCollection 2013.
31. Tez S, Tez M. Echinococcus and cancer: unsolved mystery. *Parasite Immunol*. 2015 Aug;37(8):426. doi: 10,1111/pim.12201.
32. Turhan N, Esendagli G, Ozkayar O, et all. Co-existence of Echinococcus granulosus infection and cancer metastasis in the liver correlates with reduced Th1 immune responses. *Parasite Immunol* 2015; 37: 16–22.
33. D. E. Khoo, B. Flaks, H. Oztas, et all. Effects of dietary fatty acids on the early stages of neoplastic induction in the rat pancreas. Changes in fatty acid composition and development of atypical acinar cell nodules. *Int J Exp Pathol*. 1991 Oct; 72(5): 571–580.
34. Kazez K, Sahin M, Vatansev C, et all. Experimentally developed secondary echinococcosis in pleural and peritoneal cavities and utility of serological tests during the follow-up. *Turk J Med Sci* 2000; 30: 101–107.
35. Tekin, A., Kucukkartallar, T., Kartal, A., et all . Clinical and surgical profile and follow up of patients with liver hydatid cyst from an endemic region. *Journal of gastrointestinal and liver diseases* 17.1 (2008): 33.
36. Gündeş E, Küçükkartallar T, Çakır M, et all. Ekstrahepatik yerleşimli primer intraabdominal hidatik kist olguları, *Journal of Clinical and Experimental Investigations*. 2013; 4 (2): 175-179