

Zarenca Adlı Bileşimin Fare Meme Kanseri Üzerindeki Tedavisi ile İlgili Ön Çalışma Raporu

1. Çalışmanın Amacı: Kanser tedavisinde etkili olduğu düşünülen Zarenca adlı ürünün, Balb/C farelerinde oluşturulan tümör modelinde tümör büyümesi üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Yöntem:

EAT (Ehrlich Asit Tümör) hücreleri, 8-10 haftalık Balb/C dişi fareler enjeksiyon yapılarak tümör modeli oluşturulmuştur.

2.1 Ön Çalışma İçin Oluşturulan Gruplar:

Grup1 (n=3): Tümör kontrol (PBS); Bu grupta bulunan tümörlü Balb/C dişi farelere herhangi bir takviye verilmemiştir.

Grup2 (n=3): Tümör (Zarenca uygulanan grup); Bu grupta bulunan tümörlü Balb/C dişi farelere 100 µL Zarenca (500 mL) gün aşırı gavaj yoluyla verilmiştir.

2.2 EAT (Ehrlich Asit Tümör) Hücrelerinin Balb/C Farelere Enjeksiyonu İçin Hazırlanması ve Enjeksiyonu

- EAT hücreleri (1×10^6 hücre/fare) 200 µL PBS (Phosphate Buffered Saline) (MULTICELL; 311-010-CL) içerisinde subkutan olarak Balb/C dişi farelere enjekte edilmiştir.
- Hayvanların enjeksiyondan önce tartımı yapılmıştır. Enjeksiyon yapılacak bölge %70 ethanol ile temizlendikten sonra tıraş edilmiştir. Hayvanlar, Sevofluran yardımı ile anestezi altına alındı. Hücre süspansiyonu, intraperitoneal olarak enjekte edildi.
- Enjeksiyondan hemen sonra hayvanların hareket kabiliyetleri takip edildi. Anormal durum gözlenmemesi ile birlikte oluşturulan gruplara göre hayvanlar kafeslere alındı.
- Enjeksiyonu takiben 200 µL Zarenca her gün gavaj yolu ile verilmiştir. 2 güne bir tartılan farelerde aşırı kilo kaybı ve ölüm gözlenmiştir. İlaç kullanımına bir müddet ara verilmiştir.
- İlaç dozunun tekrar hesaplanması ile enjeksiyon sonrası 6. günde farelere 100 µL Zarenca gün aşırı gavaj yolu ile verilmiştir.
- Enjeksiyonun 12. gününde fareler sakrifiye edilmiş, histopatolojik incelemeler için tümör dokuları alınmıştır.

2.3. Tümör Enjeksiyonu Gerçekleştirilen Hayvanlarda Ağırlık ve Tümör Hacmi Takibi

Tümör oluşumu enjeksiyonun 6. Gününden itibaren gözlenmeye başlandı. Tümör oluşumu ile birlikte iki grup olacak şekilde; tedavi uygulanan ve uygulanmayan farelerin 2 günde 1 olacak şekilde kumpas yardımıyla tümör boyutu ve fare ağırlıkları ölçülmüştür.

2.4. Deney Gruplarından Tümör Dokuların Alınması

Enjeksiyonun 12. Gününde hayvanların ağırlıkları ölçüldükten sonra anestezi altında sakrifiye edildi.

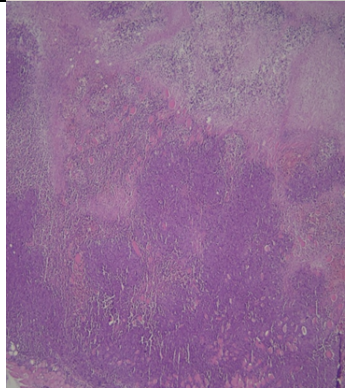
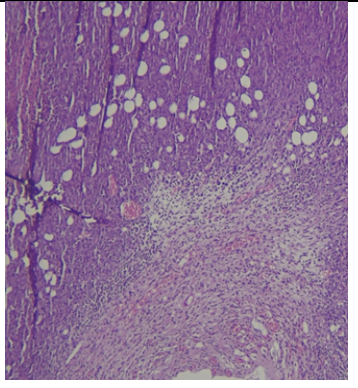
Tümör dokuları alındı ve tartımları yapıldı.

Alınan dokular %10 formalin içerisine bırakıldı. Histopatolojik araştırmalar için patolojiye gönderildi.

3. Bulgular

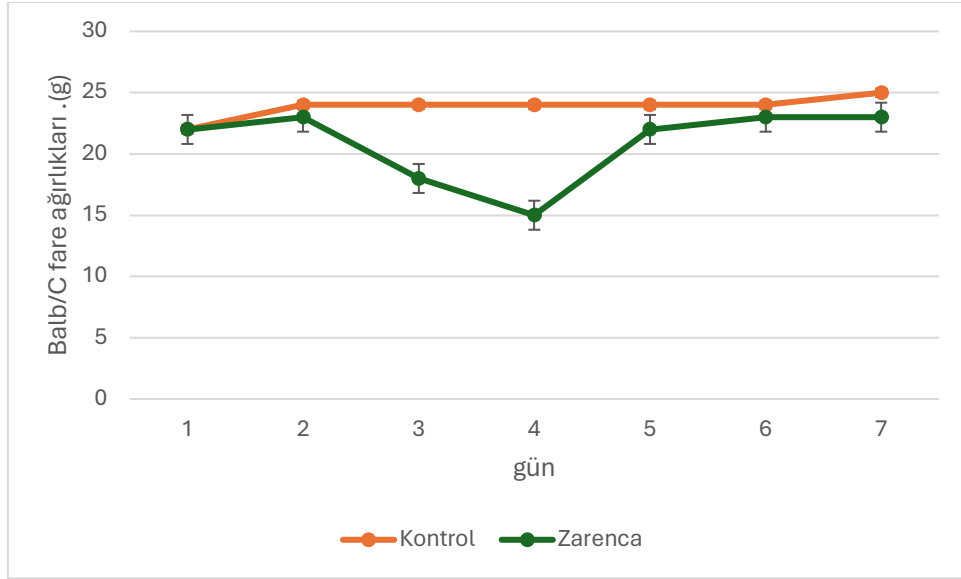
EAT ile tümör oluşturulan Balb/C dişi fareleri, alınan tümör dokuları ve histopatolojik bulguları karşılaştırılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1 EAT hücreleri ile tümör oluşturulan Balb/C dişi farelerde kontrol ve Zarenca gruplarının karşılaştırılması

Gruplar	Kontrol	Zarenca
EAT hücreleri ile tümör oluşturulan Balb/C dişi fareler. Zarenca verilen gruptaki farelerde palpe edilen tümör çapının daha düşük olduğu görülmektedir.		
Balb/C dişi farelerinden alınan Tümör dokuları. Zarenca verilen farelerdeki tümör çapının yarım cm kadar daha küçük olduğu görülmektedir.		
Balb/C dişi farelerinden alınan Tümör dokularının hematoksilin eosin ile boyanarak elde edilen mikroskopik görselleri. Zarenca verilen farelerde tümör dokusu içerisinde vakuoller oluştuğu, hücre ölümünü indüklediği görülmüştür.		

3.1. Vücut Ağırlığı

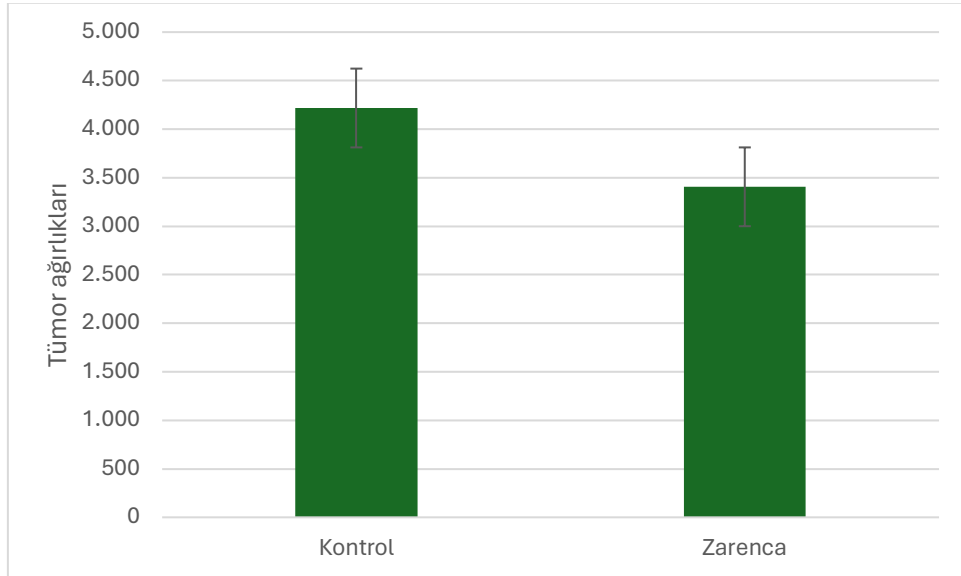
Zarenca verilen gruptaki hayvanların ağırlıkları, kontrol gruptaki hayvanlara göre daha düşük bulundu. Güne bağlı ağırlık takibinde ise anlamlı bir azalma gözlenmedi (Şekil 1).



Şekil 1. Balb/C dişi farelerinin 12 günlük ağırlık verileri.

3.2. Tümör Ağırlıkları

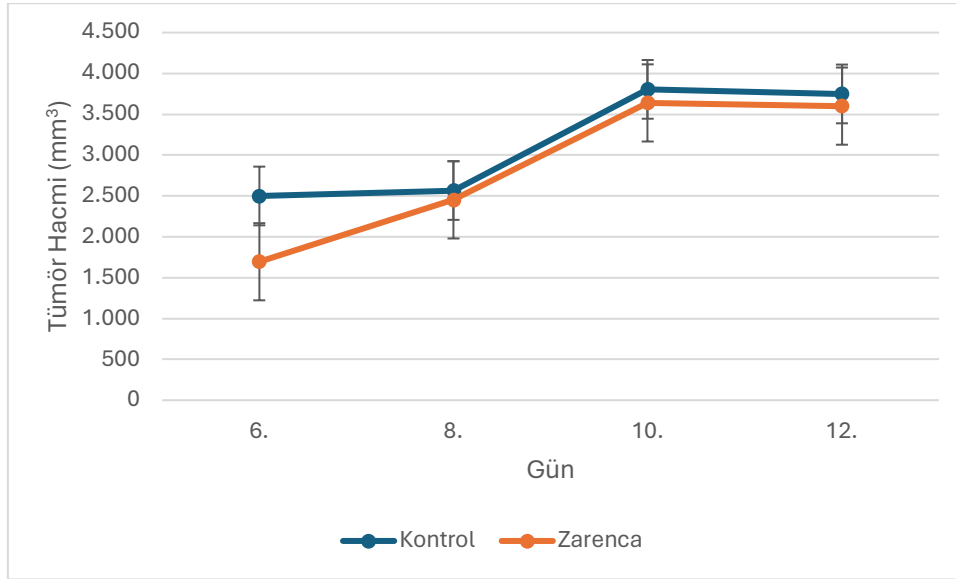
Zarenca verilen gruptaki hayvanların tümör ağırlıklarına bakıldığında, tedavi edilmeyen gruptaki hayvanların tümör ağırlıklarına göre daha düşük ortalamaya sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Tedavi edilen ve tedavi edilmeyen grupların tümör ağırlıkları.

3.3. Tümör Hacimleri

Tümör hacimlerine bakıldığında Zarenca verilen gruptaki tümör hacminin, tedavi edilmeyen gruptaki tümör hacmine göre %20 oranında daha düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Hayvanların enjeksiyon 6. Gününden sonra güne bağlı tümör hacmi değişimleri.

4. Değerlendirme ve Sonuç

Ehrlich Asit Tümör modeli oluşturulan Balb/C dişi farelerde yapılan çalışma sonucunda; kontrol grubundaki farelerin ağırlıklarının, Zarenca verilen farelere göre daha fazla olduğu gözlenmiştir. Ayrıca tümör boyutları da ağırlıklarına paralel olarak Zarenca grubunda azalmıştır. Ancak çalışmanın ilk aşamasında belirlenen doza bağlı olarak farelerde kilo kaybı ve ölümler gerçekleşmiştir. Buna bağlı olarak deney durdurulmuş ve doz hesaplamaları yeniden yapılmıştır. Ölen farelerin doku ve organları incelenmiş ve ölümlerinin sindirim sıkıntısı veya ilaç dozuna tolerans gösterememiş olabilecekleri düşünülmektedir. Bu durum göz önüne alınarak Zarenca'nın dozu 100 µL olarak düzenlenmiştir. Her gün uygulanması düşünülen bu doz 6. gün itibari ile gavaj yoluyla farelere verilmiş takip eden günde fareler tartıldığında kilo kaybı görülmüştür. Böylelikle Zarenca'nın gün aşırı uygulanmasına karar verilmiştir.

Zarenca Balb/C dişi farelerinde Tümör hacmini %20 oranında küçültmüştür. Bu çalışmanın verileri doğrultusunda güvenilirlik açısından Zarenca adlı bitkisel gıda takviyesi ürünün farklı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile de desteklenmesi önerilmektedir. Oluşturulan singeneik tümör modelinde hayvanın hiçbir şekilde immün savunma sistemi bastırılmamış olması nedeniyle tümör boyutundaki farklılıkların hayvanın savunma sistemi ile ilgili olarak değişiklik gösterebileceği düşünülmektedir. Buna ilave olarak Zarenca'nın farenin savunma sisteminde değişiklik yaparak tümör boyutunu azaltabileceği göz ardı edilmemelidir. Çalışma sırasında yaşanan güçlükler Zarenca'nın dozunun doğru hesaplanarak uygulanması gerektiğini göstermektedir. Bu nedenle yalnızca tümör büyüklüğü değil aynı zamanda sindirim sistemi üzerine etkilerinin de çalışılması gerektiği önerilmektedir.

Doç. Dr. Yasemin SAYGIDEĞER
ÇÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Translasyonel Tıp Anabilim Dalı