

768284

T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANA BİLİM DALI
Başkan : Prof.Dr.A.Ulvi Özkan

BRACHYDANIÖ RERİÖ TÜRÜ UFAK BALIKLARIN KİMYASAL
KARSİNOGENEZİSDE DENENMESİ

(N - NİTROZODİETİLAMİN, N - NİTROZODİMETİLAMİN,
N - METİL - N' - NİTRO - N - NİTROZOGUANİDİN VE
N - NİTROZOSİMETİDİN'LE ALINAN SONUÇLAR)

Dr. N. Engin Aydın

(UZMANLIK TEZİ)

ANKARA - 1983

Yetişmende emeği geçen sayın hocalarım ve deneylerde
kullanılan kimyasal maddeleri sağlayan Sayın Doç.Dr.Ali Esat
Karakaya'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Dr.N.Engin Aydın

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1
AMAÇ	9
GEREK VE YÖNTEM	10
BULGULAR	14
TARTIŞMA	26
SONUÇLAR	36
ÖZET.....	37
KAYNAKLAR.....	38

G İ R İ Ő

Canlı organizmada hücrelerin yeterli farklılaşmaya uğramadan kontrolsuz bir şekilde hızla çoğalmaları ve organizmaya yayılmaları ile kendini gösteren patolojik gelişme olarak tanımlanan kanser hastalığı günümüzde tedavi şansı en az olanlardan biridir.

A.B.D'de kanserden ölümlerin kalp ve damar sistemi hastalıklarından sonra ikinci sırada (38), Türkiye'de kentsel bölgeleri kapsayan istatistikler sonucunda dördüncü sırada yer aldığı bildirilmektedir (6,59). Buna karşın sağlıkla ilgili kayıtların daha düzenli olduğu Ankara, Etimesgut bölgesinde kansere bağlı ölümlerin üçüncü sırada ve 25-49 yaş grubunda ise birinci sırada yer aldığı görülmüştür (6).

Her tür kanserde genetik ve çevresel faktörler, bazılarında her ikisi bazende biri daha baskın olarak yer almaktadır. Bu iki uçtan birincisininin hakim olduğu türe örnek olarak retinoblastom, diğerininkine ise ilk kez kimyasal karsinogen etkisininin düşünüldüğü baca temizliyicilerininin skrotum kanserleri örnek olarak verilebilir (19).

Günümüzde çoğunlukla kabul edilen bir görüş, kanserin nedeninde %80 veya daha yüksek bir oranda çevresel etkenlerin rol oynadığıdır (8,19,38,57). Epidemiyolojik ve deneysel gözlemler sonucunda bu çevresel etkenler başlıca, kimyasal maddeler, viruslar ve radyasyon şeklinde toplanabilmıştır (14,33,38). Bunların arasındada en fazla kimyasal maddelerin önemi olduğuna inanılmaktadır.

I.Virusler

Viruslerin insanlarda kanser oluşturabileceğini ileri sürenlerin yanısıra bunların sadece hayvanlarda önem taşı-
dığı, insanda henüz kesin bir kanıtın bulunmadığı ģeklinde
iki ayrı görüş mevcuttur (33,38).İlk kez tavuklarda 1908'
de hcrenden arınmış filtratlarla lösemi geçişinin göste-
rilmesinden bu yana hayvanlarda tümöre yol açabilen iki-
yüzden fazla virus bulunmuştur.Bunlara onkojenik virus a-
dı verilmekte,gerek RNA gerekse DNA tiplerinin ikisinde ko-
nak genomuna DNA parçası olarak katılabilme yeteneğine sa-
hip bulunmaktadır (38,39).RNA viruslerinde bu özellik
"reverse transcriptase" enzimi sayesinde olabilmektedir,
(5,55).Onkojenik RNA virusleri genellikle onkorna virus-
leri olarak adlandırılmakta ve elektron mikroskopik,biyo-
lojik özellikleri ile B ve C tipi olarak ayrılmaktadırlar,
(33,38).çeşitli destekleyici bulgulara karşın,henüz insan
veya başka bir türün hücresini dönüşüme (transformasyona)
uğratabilecek bir insan RNA virusu tanımlanmamıştır (38).

Onkojenik DNA viruslerinde ise insanlarda siğil ve la-
rinks papillomlarına neden olduğu ortaya konmuş olan pa-
pilloma virusleri başta gelmektedir.Ayrıca herpes simpleks
II,(HSV-II),virusunun serviks kanseri,Ebstein-Barr,(EBV),
virusunun Burkitt lenfoması ve nazofarenks kanserinde et-
ken olabilecekleri düşünülmektedir (33,38,39).

II.Radyasyon

Yapısı farklılıklar gösteren (X-ışınları,nükleer parçalanma,güneş ışınları) iyice kanıtlanmış bir etkidir.Bu konu ile ilgili başlıca gözlemler,Kseroderma pigmentozumlu hastalarda güneş ışınları sonucu gelişen deri kanserleri,atom bombası sonucu,tedavi amacı ile veya mesleki olarak ionize edici radyasyona maruz kalanlarda gelişen çeşitli kanserlerdir (33,38).

Radyasyondada biyomoleküler seviyede mekanizmanın hücre DNA'sında oluşan mutasyonlar olduğuna inanılmaktadır.

III.Kimyasal karsinojenler

İlk kez çevresel etkenlerin insanda kansere neden olabileceği düşüncesi 1775 yılında baca temizliyicilerinin sık olarak skrotum kanserine yakalandıklarını gözleyen ve bunu katranla sürekli ilişkiye bağlayan Sir Percival Pott'a aittir (38,57).

Bu gözlemden uzun bir süre sonra Japon araştırmacılar Yamagiwa ve Ishikawa 1915'de tavşan kulağına kömür katranı sürerek ilk kez bir kanser modeli geliştirmeyi başardılar (33,38).Daha sonraları kömür katranı içinde dibenzant-rasen,3-metilkolantren ve benzo(a)piren gibi karsinojenik maddelerin bulunduğu saptandı (38).

Bu gelişmeleri takip eden araştırmalarda insanların maruz kalabileceği çok sayıda kimyasal maddenin bulunması ve yapılan deneysel çalışmalarda kanser hakkında bu günkü temel bilgilerin ortaya çıkışı ile kimyasal karsinogene-

zis konusu oldukça önem kazanmış oldu.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1965 yılında kurulmuş olan Uluslararası Kansere Araştırma Kuruluşu, (International Agency for Research on Cancer, Lyon), tarafından 21 kimyasal madde veya (spesifik maddenin saptanamadığı) endüstriyel işlemin insanlara direkt karsinojenik etkide bulunduğu, ayrıca 18 kimyasal maddeninde karsinojenik olma riskinin bulunduğu bildirilmiştir (20). Bak. Tablo I.

Kimyasal karsinojenler içinde N-nitrozo bileşiklerinin yeri ve çalışmamızda kullanılan maddeler:

N-nitrozo bileşikleri olarak adlandırılan maddeler kimyasal karsinojenler içinde önemli bir grubu oluştururlar. Bu bileşiklerden ilk kez N-nitrozodimetilamin'in (NDMA) 1956 yılında sıçanlarda karsinojenik etkisinin gösterilmesinden bu yana (31), şimdiye dek denenmiş 130 N-nitrozo bileşiği içinden 100 kadarının deney hayvanlarında en az bir organda tümör şekillendirdiği görülmüştür (13). Bu bileşiklerin çok çeşitli yapı taşımalarına karşın çoğunluğunun karsinojenik olduğu izlenmektedir.

N-Nitrozo bileşikleri,
$$\begin{array}{c} R_1 \diagdown \\ \quad \quad \quad N-NO \\ R_2 \diagup \end{array}$$
 genel formülü ile

gösterilebilirler. Burada asıl yapı N-NO olmakta ve R_1, R_2 şeklinde yan gruplar (metil, etil vb.) değişmektedir.

Deneylerimizde bu bileşiklerden N-nitrozodimetilamin, N-nitrozodietilamin, N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin ve N-nitrozosimetidin kullanılmıştır, (Bak. Gereç ve Yöntem).

Tablo I. İnsanlara karsinojenik etkide oldukları bildirilen maddeler

I. İnsanlara karsinojenik olan kimyasal maddeler, endüstriyel işlemler veya endüstriler

- | | |
|---|---|
| 1. 4-Aminobifenil | 11. Dietilstilbestrol |
| 2. Arsenik ve bileşikleri | 12. Mobilya endüstrisi |
| 3. Asbest | 13. Hematit madenciliği
(radon?) |
| 4. Auramin (üretimi) | 14. İzopropil alkol
(kuvvetli asit yöntemiyle üretimi) |
| 5. Benzen | 15. Melfalan |
| 6. Benzidin | 16. Mustard gazı |
| 7. N,N-Bis(2-kloroetil)-
naftilamin | 17. 2-Naftilamin |
| 8. Bis(klorometil)eter ve
klorometil metil eter'in
teknik ürünü | 18. Nikel arıtılması |
| 9. Çizme ve ayakkabı yapımı
ve onarımı | 19. Katran ve kurum |
| 10. Krom ve bazı bileşikleri | 20. Vinil klorür |
| | 21. Konjuge estrogenler |

II. İnsanlara muhtemelen karsinojenik olan kimyasal maddeler

A. Daha fazla kanıtın yer aldığı maddeler

- | | |
|------------------------------------|---------------------------------|
| 1. Aflatoksinler | 4. Siklofosfamid |
| 2. Kadmiyum ve bazı
bileşikleri | 5. Nikel ve bazı
bileşikleri |
| 3. Klorambusil | 6. Thiotepa |

B. Daha az kanıtın yer aldığı maddeler

- | | |
|------------------------------------|----------------------------|
| 1. Akrilonitril | 7. Dimetilsulfat |
| 2. Amitrol | 8. Etilenoksit |
| 3. Berilyum ve bazı
bileşikleri | 9. Demir dekstran |
| 4. Karbon tetraklorür | 10. Oksimetolon |
| 5. Dimetil karbamil klorür | 11. Fenasetin |
| 6. Auramin | 12. Poliklorine bifeniller |

Kaynak: International Agency for Research on Cancer,
Annual Report 1980, I.A.R.C., Lyon, 1980.

N-Nitrozodimetilamin ve N-nitrozodietilamin bir çok hayvan türünde karsinojenik etki göstermekte olup, başlıca tümör gözlenen organlar doza ve verilmiş yoluna bağlı olarak karaciğer, solunum sistemi ve böbreklerdir, ikinci bileşikte ayrıca üst gastro intestinal kanalda etkilenmektedir (21,22,32,57).

N-Metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin ise nispeten yakın zamanlarda karsinojenik özelliği bulunmuş bir N-nitrozo bileşiğidir. İlk önce sıçanlarda deri altına verilmişinde fibrosarkomların oluştuğunun gözlenmesini (52) takiben, oral yolla verildiğinde gastro intestinal kanalda karsinojen olduğu görülmüştür (16,45,50,51). Sıçanlarda ön midede yassı hücreli kanserlere yol açmasından (45) daha önemli bir bulgu alt seviyelerde adenokarsinomların ortaya çıkışıyla bu maddenin mide kanseri için oldukça uygun bir model oluşturmasıdır (16,50,51).

Simetidin bir H_2 reseptör antagonisti olarak 1976 yılının sonlarında ortaya çıkışından bu yana milyonlarca insan tarafından kullanılan bir mide ilacıdır (25,30). Bu ilacın alınmasından sonra mide barsak kanalında -şimdiye dek in vivo gösterilememiş olmasına karşın- nitrozolanma olasılığı mevcuttur (11,15). Böyle bir nitrozolanma özelliği nedeni ile simetidin tedavisi altında iken mide kanseri oluştuğu gözlenmiş hastalarda rol oynamış olabileceği iddia edilmiştir (12,37,54).

Bu ilacın nitrozolanması sonucu ortaya çıkan bileşik yukarıda değindiğimiz gibi, sıçanlarda mide barsak kanalında

etkin karsinojenik özellik taşıyan N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin'le kimyasal yapı benzerliği taşımaktadır. Ayrıca bu madde ve N-nitrozosimetidin ile yapılan bir çalışmada her iki maddenin in vitro DNA metilasyonu oluşturduğu gösterilmiştir (25).

Mevcut durumda N-nitrozo bileşiklerinin insana doğrudan karsinojenik olduğuna dair bulgular yoksada, insan yaşamında bu bileşiklerin gerek çevrede gerekse organizmada bulunduğu veya oluşabileceği bildirilmiştir (20,22,38).

İnsanlar için söz konusu olabilecek çevresel karsinojenleri tanımlamada en geçerli yöntem epidemiyolojik çalışmalara dayanmaktaysada bu yol hem güç sonuçlanmakta hem de pahalı olmaktadır (8,22). Buna alternatif yolda insanların maruz kaldığı kimyasal maddeleri deney hayvanlarında teste tabi tutmaktır (57). Böylece çeşitli hayvan türlerinde yapılan testlerden toplanan bulgularla insanlar için risk oluşturabilecek maddeler saptanmaya çalışılmaktadır. Bu konuda bazı maddeler için ilginç olarak deney hayvanlarındaki bulgular epidemiyolojik çalışmalardan veya vaka bildirilerinden önce saptanmıştır (aflatoksinler, dietilstilbestrol, melfalan, 4 aminobifenil, mustard gazı ve vinil klorür), (22).

Bu deneysel çalışmalarda genellikle uygulanan araştırmalar laboratuvar memeli hayvanlarının kullanıldığı uzun süreli ve pahalı yöntemlerdir. Pratik açıdan her yıl sayıları artan kimyasal maddelerin bu yönden taranması gerek kaynaklar gerekse zaman yönünden olarak dışı gözükmekte-

dir. Bu nedenle daha geniş boyutlara ulaşabilecek tarama yöntemlerini geliştirme fikri ortaya çıkmış ve uygulamaya konmuştur (1,8,34,49). Bunlar arasında en başta gelenler memeli ya da bakteri DNA'sında kimyasal maddelerce meydana gelebilecek mutasyonları inceliyenlerdir. Salmonella typhimurium'dan elde edilen mutant suşların kullanıldığı Ames testi en çok uygulanan ve bilinen karsinojenik maddelerin %90'ının pozitif sonuç verdiği bir tarama testi olarak ortaya çıkmıştır (1,34,49). Mutajen maddelerin bulunduğu ortamda bu suşlar mutasyona uğrayarak besi yerinde histidin olmadanda üreyebilme özelliği kazanmakta, bu mekanizma ile mutajenik etki ve dolayısıyla karsinojenik etkili maddeler ortaya konabilmektedir.

İnsan yaşamında çeşitli amaçlar için kullanılan kimyasal bileşiklerin sayısının her geçen gün artması, ve bu kadar çok sayıda bileşiğin karsinojenik etki yönünden taramasının ancak kısa süreli karsinojenite testleri ile mümkün olabileceği düşüncesiyle balıklar üzerinde yapılan karsinogenezis çalışmalarının zaman ve olanaklar yönünden olumlu yönler taşıdığı görülmüş, bu konuda değişik araştırmalar gerçekleştirilmiştir (2,23,24,36,40,45,46,47).

A M A Ç

Giriş kısmında değinildiği gibi N-nitrozo bileşiklerinin çoğunluğu değişik hayvan türlerinde çeşitli tümörlere neden olan karsinojenik maddelerdir. Bu bileşikler içinden N-nitrozodimetilamin, N-nitrozodietilamin ve N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin'in çeşitli türde deney hayvanlarında karsinojenik etkileri gösterilmiştir. N-Nitrozosimetidin ise yaptığımız literatür taramasında karsinojenik etkisinin gösterilmediği ve N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin'le kimyasal yapı benzerliği gösteren bir bileşiktir.

Bu çalışmamızda kemirici türü deney hayvanlarına oranla daha az zaman alıcı, daha ekonomik olma ve çevreyle kontaminasyonun daha iyi kontrol edilebilme özellikleri nedeniyle *Brachydanio rerio* türü ufak balıklar üzerinde yukarıda belirtilen maddeleri karsinojenik etkileri yönünden inceledik.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hayvan:

Brachydanio rerio veya Zebra danio, Cyprinidae familyasından ufak fakat oldukça dayanıklı, küçük akvaryumlarda iki yıldan fazla yaşayabilen ve bir gram ağırlığa ulaşabilen bir balık türüdür (46).

Bu çalışma için üç, dört aylık büyüklükte Zebralar bir üreticiden elde edilerek kloru uçurulmuş musluk suyu içeren onar litrelik tanklarda yaklaşık otuzarlık gruplar şeklinde tutuldular. Her bir tankda süngerli bir hava filtresi sürekli olarak çalıştı. Sıcaklık termostatlarla 22-26°C arasında sabit tutuldu. Balıklar piyasadan sağlanan kuru yemler yanısıra on günde bir canlı Tubifekle beslendiler.

Zebralar için dış görünüşle güvenilir bir cinsiyet ayırımı yapılamadığından tanklarda karışık olarak tutuldular. Deneylere balıklar laboratuvarımızda otuz gün kaldıktan sonra bağlandı.

Deney sırasında dıştan tümörlü oldukları gözlenenler, hastalananlar veya zayıflayan balıklar feda edildi, bunun dışındakiler deney bitiminde öldürülüp incelendiler. Balıkların karın boşlukları açılarak diseksiyon mikroskobu altında inceleme yapıldı, daha sonra tümü ile %10 nötral formalin solusyonuna konup parafin bloklar hazırlandı. Histopatolojik inceleme için 5-6 mikron kalınlığında sagittal düzlemde çeşitli seviyelerde kesitler alındı ve doku kesitleri rutin olarak Hematoksilen eosin boyası ile incelendi, gerektiğinde özel boyalar uygulandı.

Kimyasal Maddeler:

I. Grup deneyde kullanılanlar

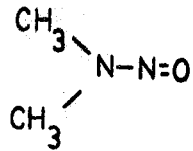
N-Nitrozodimetilamin (NDMA), (Aldrich, A.B.D.) ve N-nitrozodietilamin (NDEA), (Eastman, A.B.D.) şeklinde iki ayrı N-nitrozo bileşiği kullanıldı. Bu maddeler ve molekül ağırlıkları Şekil 1'de gösterilmiştir (22). Bu bileşikler balyıkların sularına eriyik halinde katılmak suretiyle karsinogenik etkileri gözlemlendi. Deney gruplarında şu şekilde kuruldu:

I. NDEA, 50 ppm

II. NDMA, 50 ppm

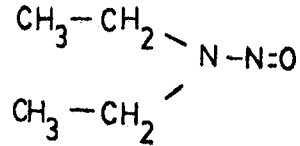
III. NDEA ve NDMA karışık olarak 50'şer ppm

Bu deney gruplarının suları üçer hafta arayla aynı dozda karsinogen içeren şekilde toplam dokuz hafta süreyle değiştirildi. Bu sürenin bitiminde balyıklar normal suya kondu ve deney bitimine dek dört haftada bir suları değiştirildi. Deney 22-23 üncü haftalarda sonlandırıldı.



MA. 74.1

NDMA



MA.102.1

NDEA

Şekil 1. Birinci grup deneyde kullanılan maddeler

II. Grup deneyde kullanılanlar

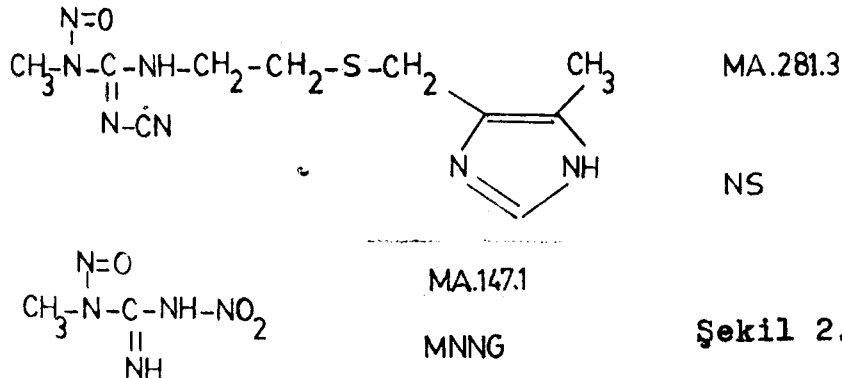
N-Metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin (MNNG), (Sigma, A.B.D) ve N-nitrozosimetidin (NS), (Simetidin, Smith Kline and French, İngiltere'den sağlanıp Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Laboratuvarında nitrozo bileşiği oluşturuldu). Bu bileşiklerin formülleri ve molekül ağırlıkları Şekil 2'de gösterilmiştir. Her iki maddede su da güç çözüldüğünden organik bir eritici olan dimetilsulfoksit (DMSO), (Merck, A.B.D.) içinde eritilerek balıkların sularına konuldular. Deney gruplarında şu şekilde kuruldu:

I. MNNG, 4 ppm (2ml DMSO eriyiğinde)

II. NS ,150 ppm (2 ml DMSO eriyiğinde)

III. DMSO, 2ml/10L

Bu grup deneydeki kimyasal maddelerin dozları ilk gruptaki N-nitrozo bileşikleri ile eşdeğer miktarda ayarlamak amacı güdüldüysede MNNG'de bu dozlar ileri derecede toksik etki gösterdi. Bu nedenle tolere edilebilen doz MNNG için 4 ppm olarak uygulandı. Her iki maddenin ilk deney grubundakilere oranla suda daha hızlı dekompoze oldukları göz önüne alınarak (21) kimyasal maddeleri içeren su değişimi iki haftada bir yapıldı. Bu şekilde bir uygulamayla toplam 18 haftalık bir süre balıklar bu maddelere maruz bırakıldılar. Bu grup deney 40 ıncı haftada sonlandırıldı.



Koruyucu Önlemler:

Karsinojenlerle yapılan çalışmalar gerekli önlemler alınmazsa önemli biyolojik sorunlar yaratabilmektedir. Bu nedenle kimyasal maddeleri içeren gruplar sürekli olarak bir aspiratörün çalıştığı kapalı bir bölmede tutuldular.

Tek kullanımlık polietilen eldivenlerle balıklarla ilgili işlemler yapıldı. Nitrozo bileşiklerinin katıldığı sular plastik bidonlarda HCl asitle (pH 1) üç gün dekompoze edilip daha sonra nötralizasyona tabi tutulup atıldı (23).

Tablo II. Deney grupları ve yöntemleri

Deney Grubu	Toplam Süre (hafta)	Konsantrasyon	Uygulama (maddenin verilışı)
NDEA	23	50 ppm	ilk 9 hafta 3 haftada bir
NDMA	23	50 ppm	
NDEA ve NDMA	22	50 ppm (her ikisi)	
MNNG	40	4 ppm	ilk 18 hafta 2 haftada bir
NS	40	150 ppm	
DMSO	40	2 ml/10l	

B U L G U L A R

A. NDEA ve NDMA deney grupları

I. Toksisite ve erken lezyonlar

Deney süresince sularına NDEA, NDMA veya her iki nitrozamin'in katıldığı haftalarda ve bundan sonraki bir kaç hafta içinde balıklarda spontan ölümler izlendi. Bunların bir kısmı süratli otoliz nedeniyle incelemeye faydalı bir bulgu vermedi. Bu sürede halsizleşmeleri veya zayıflamaları nedeniyle öldürülen balıklarda yapılan incelemelerde karaciğerin ufaldığı ve mikroskopide düzensiz bir yapı içinde kübik veya fuziform hücrelerden oluşan rejenerasyon alanlarının bulunduğu görüldü. Dejeneratif değişikliklerle sinuzoidlerde kollaps, parankim hücrelerinde düzensizlik ve sitoplazmik vakuolizasyon, bir kısmında eosinofilik globuller izlendi.

Bu deney grubu ile ilgili mortalite Şekil 3'de gösterilmiştir. En belirgin toksisite her iki karsinojenin birlikte verildiği grupta daha sonra NDEA ve NDMA grubunda görülmüştür. Bu mortaliteyle orantılı olarakta gruplarda tümör sıklığında farklılıklar taşımaktadır.

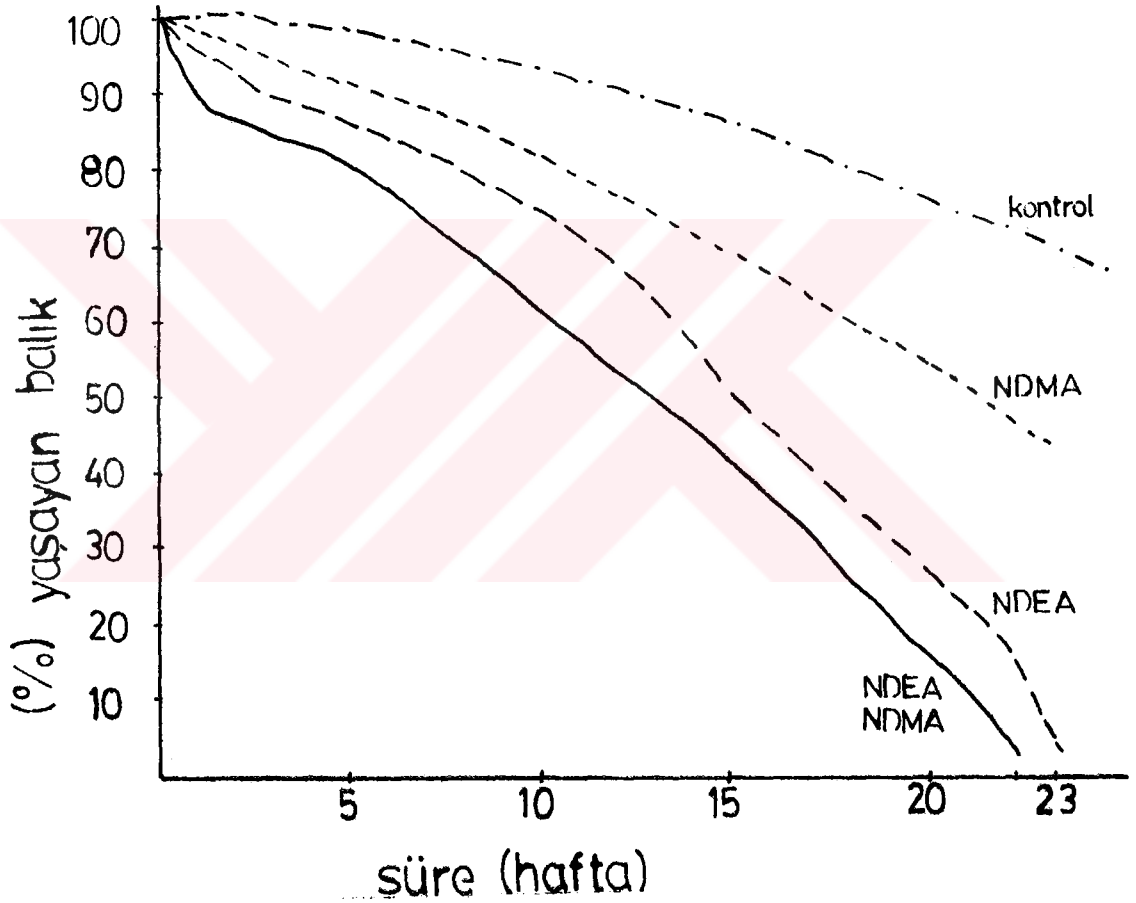
II. Tümör oluşması

1) Tümörlerin ortaya çıkış süreleri ve sıklığı

İlk tümörler her iki karsinojenin birlikte uygulandığı grupta 12., NDEA grubunda 13 üncü, NDMA grubunda 22. haftada görüldü. Ortalama latent sürede iki karsinojenin bulunduğu grupta 17, NDEA grubunda 19, NDMA grubunda 23 hafta

olarak bulundu.

NDEA grubunda %40, NDMA grubunda %25 ve her iki karsinojenin birlikte verildiği grupta %56 oranında hepatoma oluştuğu görüldü. Kontrol grubunda tümöral bir gelişme saptanmadı, ayrıca karaciğer dışında diğer organlardan kaynaklanan bir yeni gelişme izlenmedi. (Bak. Tablo III)



Şekil 3. I. Grup deneyde mortalite oranı

ii) Morfolojik bulgular

a. Kontrol grubu

Kontrol grubu karaciğerlerinin incelenmesinde memelilerin aksine lobuler bir yapının bulunmadığı ve karaciğer

parankim hücrelerinin diffuz bir yapıda kordonlar şeklinde dizelendikleri izlendi. Bu kordonlar genellikle tek sıra hücrelerden oluşmakta ve her iki tarafta sinuzoidler bulunmaktaydı. Belirgin portal aralık mevcut değildi ve safra kanalları dağınık olarak yerleşmişti. Hepatositler beslenmeyle değişen bir şekilde geniş granule sitoplazmalı, yuvarlak nükleuslu ve belirgin nükleollü idi (Resim 1,2).

GRUP	HAYVAN SAYISI	KARACİĞER TÜMÖRÜ (%)	Histolojik Tümör Tipi		
			T	K	M
NDEA	30	12 (40)	10	—	2
NDMA	28	7 (25)	2	1	4
NDEA NDMA	27	15 (56)	6	—	9
KONTROL	28	—	—	—	—

T: trabeküler K: kolanjioler M: mikst

Tablo III. NDEA ve NDMA gruplarında tümör insidansı ve tipleri.

b. Deney grubu

Dışardan pektoral solungaçlar ardında şişlik şeklinde tümörleri belirtenler ve deney bitiminde incelenenlerde diseksiyon mikroskopunda karaciğerin büyük, noduler ve kontrol grubuna oranla daha açık kahverengi görünüm taşıdığı dikkati çekti (Resim 3,4).

Gelişen karaciğer tümörlerinin (hepatoma) değişik histolojik görünümününün bulunduğu izlendi, ve bunlar sıçanlarda (26,48) ve insanlardakine uygulanan (10,42) sınıflandırmalara uyacak şekilde yapıldı. Buna göre deney grubunda izlenen karaciğer tümörleri üç histolojik tipe ayrıldı:

- i. Trabeküler hepatoma
- ii. Kolanjioler hepatoma, (kolanjioma)
- iii. Mikst tip hepatoma

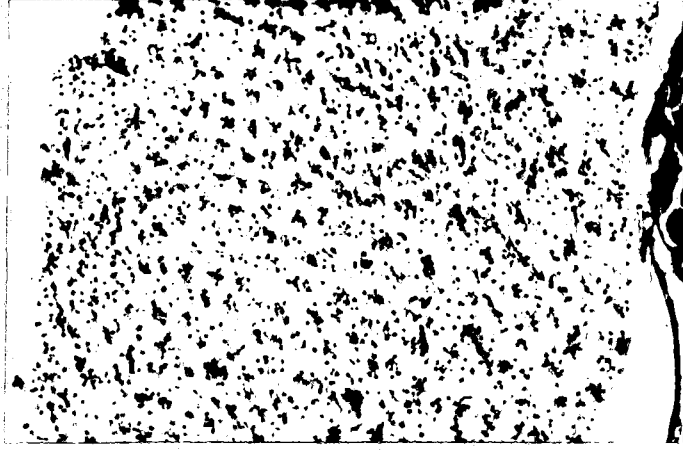
En sık görülen tümör tipik trabeküler hepatoma olup, bir kaç hücre kalınlığında geniş hücre kordonları ve arada geniş sinuzoidler içeren bir yapı taşımaktaydı (Resim 5).

Hücreler hiperkromatik büyük nukleus, belirgin nukleol ve dar eosinofilik sitoplazma içermekteydi. Bu hücre atipisi farklılıklar göstermekte, bir kısım neoplastik gelişmelerde alabalıklarda izlenen hepatomaları andıran nispeten uniform bir yapı taşımaktaydı.

Ayrıca, safra kanalı epitel hücrelerini andıran ufak kuboid yapıda hücrelere sahip çoğunlukla fibroz bir stroma gösteren tümörlerde izlendi. (Resim 6,7). Bunlar adenoid yapılar, ufak tubuller veya kordonlar meydana getirmekteydi.

Gerek trabeküler gerekse kolanjioler gelişim gösteren karaciğer tümörleride mikst tip olarak sınıflandırıldı.

Tümörlerin bir kısmında hücrelerde belirgin atipi özellikleri yanısıra gerçek türde malign olduklarını gösteren invaziv gelişmelerde mevcuttu (Resim 8).



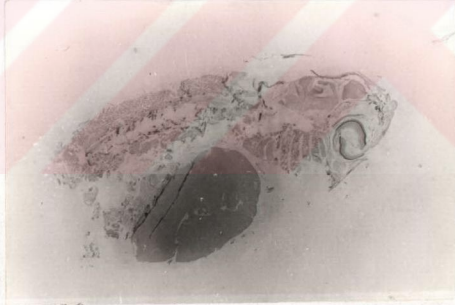
Resim 1. (H.Ex100) Normal balık karaciğerinin görünümü. Portal aralıklar içermiyen diffuz bir yapı izlenmektedir.



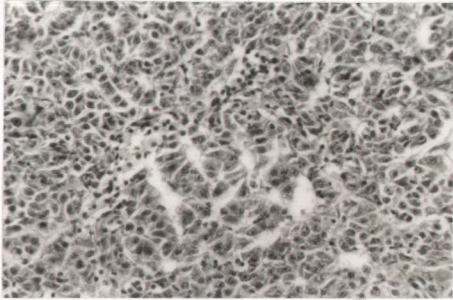
Resim 2. (H.E.x250) Normal balık karaciğerinin daha üst büyütmeye görünümü. Geniş sitoplazmalı karaciğer hücreleri ve seyrek safra kanalları izlenmekte.



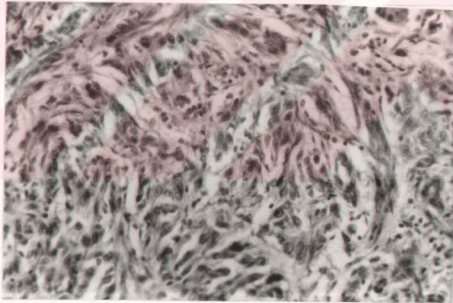
Resim 3. (NDEA,NDMA-13) Solungaçların ardında büyük,noduler ve soluk görünümde izlenen karaciğer(karın duvarı kesilerek gösterilmiştir).



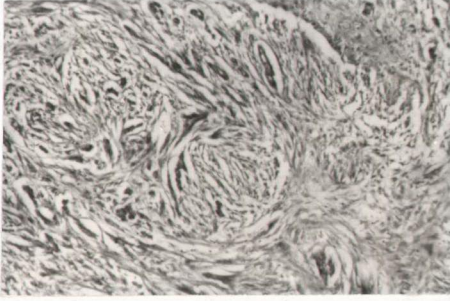
Resim 4. (H.E.x10),(NDMA-25) Karaciğer karın içini kaplıyan tümüyle büyük bir nodül şeklinde görülmüyor.



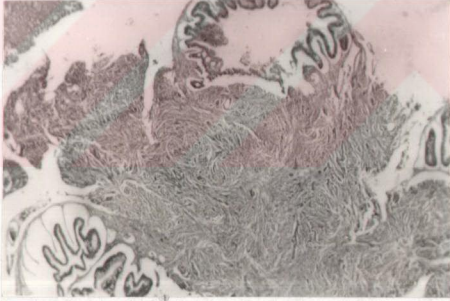
Resim 5. (H.E.x250) Resim 3'deki karaciğer tümörünün mikroskopik görünümü. Trabeküller bir dizilim gösteren neoplastik hücreler izlenmekte.



Resim 6. (H.E.x250) Resim 3'de gösterilen balıktaki tümörde diğer bir alanda kolajnioller tipte fibroz stromadan zengin yapı görülmekte.



Resim 7. (H.E.x100),(NDMA-24) Fibroz stromadan zengin adenoid ve tubuler yapılar meydana getiren tümöral gelişim.

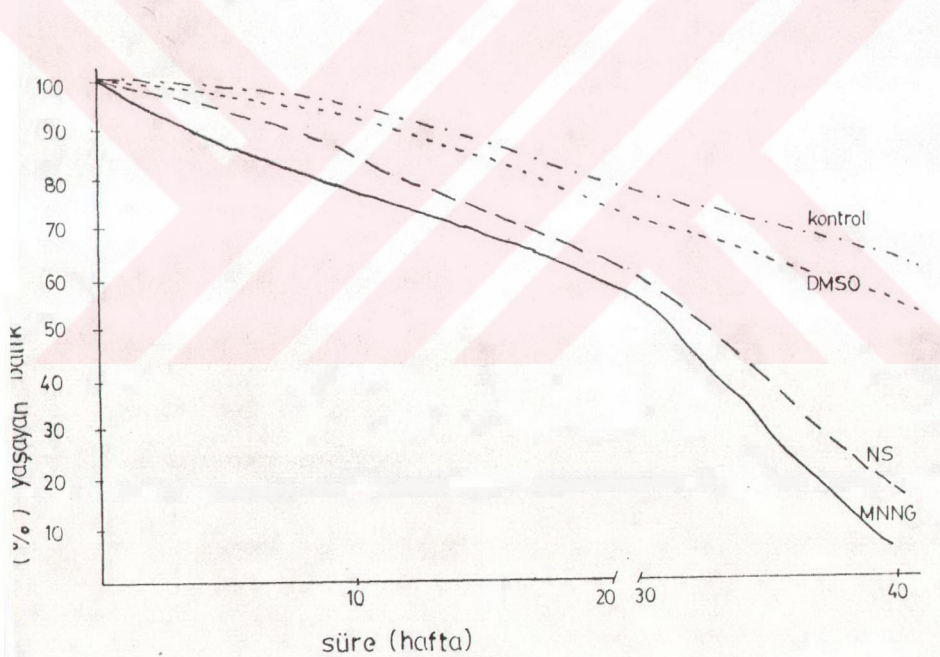


Resim 8. (H.E.x30),(NDMA-24) Resim 7'deki tümörün genel görünümü. Barsak duvarına invazyon izlenmekte.

B. MNNG ve NS deney grupları

I. Toksisite ve erken lezyonlar

Şekil 4 bu grup deneyde mortalite oranlarını göstermektedir. Görüldüğü gibi oldukça sabit bir hızla giden mortalite bulunmaktadır. Bu mortalitenin çeşitli organlarda iltihabi reaksiyonlar, kanama, solungaçlarda epitel proliferasyonu gibi non-spesifik nedenlerden oluştuğu görülmüştür. Diğer bir deyişle ilk deney grubundaki belirgin hepatotoksik etki izlenmemiştir.



Şekil 4. II. Grup deneyde mortalite oranı

II. Tümör oluşması

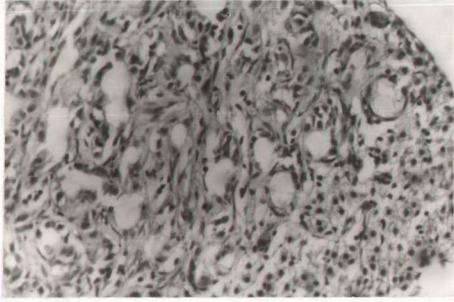
Bu grup deneyde sadece sularına MNNG katılan balıklardan ikisinde tümöral gelişim izlendi. Diğer maddelerin katıldığı hayvanlarda herhangi bir tümöral lezyon görülmedi.

MNNG grubunda birinci tümör 27. haftada karnında şişlik görülen bir balıkta, ikinci tümörde 32. haftada spontan olarak ölen ve otolize uğramadan inceleme fırsatını bulduğumuz bir balıkta izlendi.

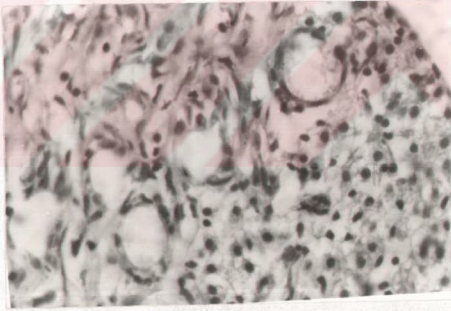
Her iki tümöral gelişimde safra kanalı epitelinden köken almış olup, birinci tümör karaciğerde iki ayrı odakta yer alan, ekspansif gelişen, belirgin büyük adenoid yapılar oluşturan özellikteydi. İkinci tümör ise barsak duvarında ufak adenoid yapıların proliferasyonu ile karakterize, infiltratif gelişme izlenimi veren bir yapıdaydı (Resim 9, 10, 11, 12). Birinci tümörde adenoid yapıları oluşturan hücreler kuboid yapıda yuvarlak geniş nukleuslu ve belirgin sitoplazmalı iken ikincide hücreler daha ufak, hiperkromatik oval nukleuslu özellik taşıymaktaydı.

GRUP	HAYVAN SAYISI	KARACİĞER TÜMÖRÜ (%)	TÜMÖR TİPİ
MNNG	25	2 (%8)	kolanjioler
NS	25	—	—
DMSO	25	—	—

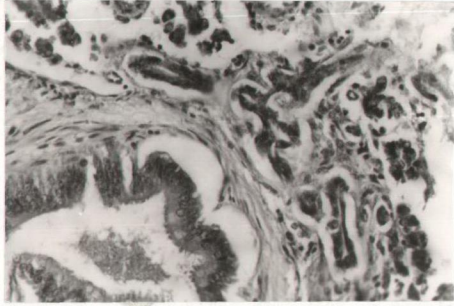
Tablo IV. MNNG ve NS gruplarında tümör insidansı, tipi.



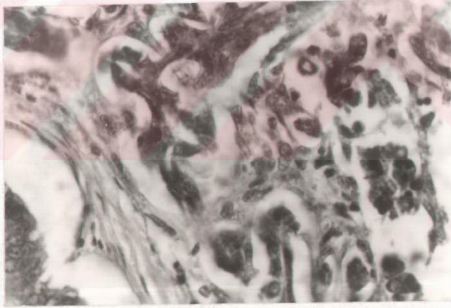
Resim 9. (H.E.x250),(MNNG-10) Belirgin büyük adenoid yapılar oluşturan kolanjioller gelişim.Sağ alt kısımda normal karaciğer dokusu izlenmektedir.



Resim 10. (H.E.x400),(MNNG-10) Daha üst büyütmadaki görünüm.Hücrelerde belirgin sitoplazma ve büyük nükleus bulunmaktadır.



Resim 11. (H.E.x250),(MNNG-16) Barsak duvarında adenoid yapılar meydana getiren gelişim izlenmekte.



Resim 12. (H.E.x400),(MNNG-16) Daha üst büyütmadaki görünüm.Hücreler dar sitoplazmalı hiperkromatik nükleuslu özellik taşımaktadır.

T A R T I Ő M A

Deneylerimizin sonunda iki dialkilnitrozamin,NDEA ve NDMA'nın Brachydanio rerio türü balıkların sularına 50 ppm dozlarda üçer hafta arayla toplam dokuz hafta katılmasıyla yüksek oranda karaciğer tümörlerinin ortaya çıktığı görüldü.Toplam 23 haftalık deney sonunda NDEA grubunda %40,NDMA grubunda %25 oranında hepatoma saptandı.Bu bileşiklerin her ikisinde 50'şer ppm katıldığı grupta ise 22 hafta sonunda %56 oranında bir sıklık görüldü.

MNNG 4 ppm,NS'in ise 150 ppm tarzında önce 2 ml dimetilsulfoksit'de eritilerek katıldığı deney gruplarında ise MNNG grubunda %8 oranında bir kolangioma izlendi.NS ve kontrol gruplarında tümöral bir gelişim saptanmadı.

Günümüzde değişik türde balıkların gerek bilinen gerekse yeni ortaya çıkarılan karsinojenlere olan duyarlılıkları çeşitli araştırmalara konu olmaktadır (2,3,18,23,24,36,40,41,45,46,47,53,56,58).Bu araştırmaların çoğunluğunda denenen karsinojenlerin değişik tür balıklarda olumlu sonuç verdiği görülmüştür.Buna karşın NDEA gibi etkin bazı kimyasal karsinojenlerle olumsuz sonuç bildiren yayınlar da mevcuttur (41,53).

Mevcut durumda çeşitli türde balıkların bilinen karsinojenlere olan duyarlılıklarını kıyaslamak araştırmaların kısıtlı oluşu ve farklı deneysel koşullar nedeniyle olanak dışı gözükmektedir (53).

1955'li yıllarda çiftliklerde yetiştirilen alabalıklarda "epidemi" tarzında hepatomaların ortaya çıktığının gözlenmesinden sonra, bunlarda etkenin balıkların yemlerindeki küflenmeyle oluşan aflatoksinler olduğu anlaşıldı (3, 56, 58). Aflatoksinler bugün insanlarda çok değişik coğrafi farklılıklar gösteren karaciğer kanserlerindedir büyük bir olasılıkla rol oynadıklarına inanılan hepatotoksik maddelerdir (20, 38, 42).

Daha sonraları doğada yaşayan balıklarla ilgili gözlemler bunlarda spontan tümörlerin izlendiğini gösterdi (7, 9, 17). Bunlarda etkenin öncelikle çevre kirlenmesi nedeniyle oluşan karsinojenik maddeler olduğuna inanılmaktadır (7, 9). Yakın zamanlarda bu konuyla ilgili ilginç bir gözlem, bir bakır madeni atıklarının döküldüğü gölde iki ayrı balık türünde yüksek oranda (bir türde %100 şeklinde) karaciğer tümörlerinin bulunması olmuştur (7).

Tüm bu gözlemler doğada yaşayan veya çiftliklerde yetiştirilen balıklarda rastlanan tümörlerin çevre kirlenmesinde bir biyolojik gösterge olabilecekleri fikrini akla getirmektedir. Diğer bir noktada çeşitli karsinojenlere duyarlı olan bu hayvanlardan daha uygun şartlarda, yani laboratuvar ortamında faydalanma sorunudur. Bu konuda ilk araştırmayı *Brachydanio rerio* türü ufak balıkları NDEA'ye maruz bırakan Stanton adındaki araştırmacı yapmıştır (46).

Stanton 1965 yılında *Brachydanio rerio* türü ufak akvaryum balıklarının sularına 10, 20 ve 100 ppm şeklinde NDEA'yı iki haftada bir sekiz hafta süresince katarak karaciğer

tümörleri oluşturdu (46). Böylece laboratuvar ortamında ufak balıklar üzerinde uygun bir şekilde karsinogenezis çalışmalarının gerçekleştirilebileceği görüldü. Bu balıklar kimyasal maddelerin toksik etkilerine dayanabilmeleri ve kemirici türü deney hayvanlarında oluşanlardan pek farklı gözükmeyen karaciğer tümörleri göstermelerinin yanısıra kısa süre içinde (10-30 hafta) karsinojenik etkiye cevap verebilmekteydiler.

Bu deneyi takiben Stanton hem *Brachydanio rerio* hem de *Lebistes reticulatus* türü ufak balıklarda sikasın'in karaciğerde malign neoplasm özelliğinde odaklar oluşturduğunu bildirdi (47).

Daha sonraları karsinogenezis çalışmalarındaki gelişmeler, memeli türü deney hayvanlarında alışıl gelmiş deneylere karşın daha kısa süreli tarama testleri oluşturma fikri ve bunlardan Ames testi gibi bakterilerde mutajeniteyi inceliyenlerin uygulamaya geçmesi (1, 8, 34, 49), ufak balıklarla ilgili çalışmaların canlanmasına yol açtı (24, 27, 36, 40, 45, 53).

Bu konuda en detaylı araştırmaları Pliiss ve Khudoley *Brachydanio rerio* ve *Lebistes reticulatus* türü ufak balıklarda gerçekleştirmiştir (27, 36).

Bu araştırmacılar NDEA ve NDMA yanısıra diğer çeşitli kimyasal karsinojenlerin etkilerini balıklarda yeme ve suya katarak inceleme dışında, parenteral yolla veya deriye sürme (3-metil kolantren, 7-12 dimetilbenz(a)antrasen) şeklindedey uygulamışlardır. Yaptıkları deneylerde 3-metil-

kolantren,7-12 dimetilbenz(a)antrasen ve benzidin'le tümör oluşmadığı,N-2 fluorenilasetamid,o-aminoazotoluen, 4-dimetilaminoazobenzen,NDEA,NDMA ile başlıca karaciğerde olmak üzere tümörlerin geliştiğini bildirmişlerdir (27, 36).

3-Metilkolantren,7-12 dimetilbenz(a)antrasenle ortaya çıkan olumsuz bulguların balıklarda bu maddeleri metabolize eden enzim aktivitelerinin düşük olması nedeniyle olabileceği ve bu konunun detaylı çalışmalara açık olduğu fikrini taşımaktadırlar.

Sato ve arkadaşlarıda *Lebistes reticulatus* türünde yemlerine katılan aflatoksin B₁,NDMA,N-2 fluorenilasetamid'le karaciğer tümörlerinin oluştuğunu gösterdiler (40).Olumlu sonuçlara karşın karsinojenin uygulanma yoluna ve deney hayvanlarındaki düzensiz alıma bağlı olarak hepatoma oluşması 13 aya dek uzamaktaydı.

Bu gelişmelerin ardından Japon araştırmacılar *Oryzias latipes* (medaka) türü balıklarında karsinojenlere kısa sürede duyarlı olduklarını bildirdiler (2,23,24).

Ishikawa ve arkadaşları her hafta karsinojen içeren suyun 8 hafta boyunca değişimiyle 15,45,135 ppm dozlarda NDEA ile yüksek oranda *Oryzias latipes* türü balıklarda karaciğer tümörleri oluşturdular (23).Deneylerinin bitimide 9 ve 12. haftalarda dıştan tümöral şişkinliklerin belirlenmesiyle 13 hafta gibi oldukça kısa bir süreyi kapsamaktaydı.

Aoki ve Matsudaira'da aynı tür balıklarda ilk kez Stanton'un *Lebistes reticulatus* ve *Brachydanio rerio* türü balıklarda denediği sikasin (metilazoksümetanol asetat)'in etkilerin incelediler (2). Bulgular arasında en ilgi çekici olanı 2 ve 3 ppm'lik sikasin dozuna bir gün maruz kalan balıklarda 60-90 günde karaciğer tümörlerinin ortaya çıkışıydı.

Oryzias latipes'lerde NDEA'nın değişik doz ve sürelerde deneylerin tekrarlanması tümörlerin 5 haftada ortaya çıkabileceğini ve yüksek konsantrasyonlarda hemen hemen tüm balıklarda 6-8 hafta sonra tümörlerin oluştuğunu gösterdi (24).

Simon ve arkadaşları da yaptıkları deneylerde *Lebistes reticulatus* türü balıklarda NDEA'nın çeşitli dozlarda karsinojenik etki gösterdiğini bir ön çalışma olarak bildirmişlerdir (45).

Bu olumlu sonuçlara karşılık Scherf tarafından *Lebistes reticulatus* türünde NDEA'nın sularına katılmasıyla 8 ay sonunda bile tümör meydana gelmediği gözlenmiştir (41).

Ayrıca *Carassius auratus*, *Acheilonthus lanceolata* (yairitanago) türü balıklardada NDEA ile tümör oluşmadığı bildirilmiştir (53).

Görüldüğü gibi değişik tür balıkların karsinojenlere duyarlılıkları değişmekte ve verilme yolu, süresi ilede tümör ortaya çıkış süresi, sıklığı değişmektedir. Bu nedenle değişik çalışmaları karşılaştırma olanağı henüz mevcut değildir (53).

Yapılan deneylerde varılan ortak noktalardan biride normal balık karaciğerinin memeli karaciğerinden yapısal olarak farklı olmasına karşın oluşan karaciğer tümörlerinin sıçanlarda ve insanlarda oluşanlardan çok farklı gözükmemesi ve böylece memelilerdeki gibi bir sınıflandırmanın yapılabilmesidir (24,36,46,53).

Bu karsinogenezis çalışmalarında balıklarda başlıca karaciğer tümörleri gözlenmişse de seyrek olarak diğer organlardada tümörlere rastlanmıştır. Stanton'un ilk çalışmasında *Brachydanio rerio* türünde NDEA ile karaciğer tümörü dışında bir bulgu yoktur (46). Buna karşılık Sato ve arkadaşları NDMA içeren yemler verilen *Lebistes reticulatus*'larda mezenter leiomyosarkomu bildirmişlerdir (40). Pliss ve Khudoley'de benzer bir bulguya nitromorfolin'le *Brachydanio* türü balıklarda rastlamışlar ve aynı grup içinde barsak adeno karsinomlarının da gözlemişlerdir (36).

Kimyasal karsinojenlerin çoğunluğu organizmada enzimatik değişim sonucunda etkin bileşikler haline geçmektedir. Bu özellikte olanlara prokarsinojen veya prekarsinojen terimlerinde kullanılmaktadır (14,57). Genel olarak karaciğer prokarsinojenlerin metabolizmasında en aktif ve etkin organdır. Bu maddelerin metabolitleride DNA ve diğer makromoleküllerle etkileşme yeteneğine sahiptir. Buna karşın kimyasal yapı olarak reaktif veya elektrofilik olan karsinojenlerin böyle bir metabolik değişime gerek duymadan doğrudan karsinojenik etkiye bulunabilmeleri söz konusudur (14,57).

Deneylelerimizde kullanılan dialkilnitrozaminler (NDEA, NDMA) kimyasal karsinojenler içinde prokarsinojenler grubuna girmektedirler ve etkilerinden metabolitleri sorumludur (14,22,57). Bu bileşiklerin metabolizmasıyla oluşan karbonyum iyonu nükleik asit bazlarını özellikle guanini alkillemekte ve karsinojenik etkinin bu mekanizmaya dayandığı düşünülmektedir (14,44,57).

Total olarak karaciğeri çıkarılmış sıçanlarda ve karaciğeri harabiyete uğramış hayvanlardaki deneyler (32), ve çeşitli hayvanlardan alınan doku dilimlerinde NDEA ve NDMA'nın metabolizmalarının in vitro ölçülmesi sonucu bu iki maddenin metabolik aktivasyonunda ana yerin karaciğer olduğu görülmüştür (22,35).

NDMA'nın metabolizması üzerine yapılan bir çalışmada alabalık ve Japon balığı karaciğer dilimlerinin bu maddeyi metabolize edebildiği ve kemirici türü hayvanlara oranla daha az da olsa nükleik asit metilasyonunun oluşabildiği gösterilmiştir (35). Bu nedenle dialkilnitrozaminlerle memelilerde görülen karsinojenik etkinin balıklardada gözlenebilmesi şaşırtıcı olmamaktadır.

NDEA ve NDMA ile elde ettiğimiz bulgularda daha önce bildirilen literatüre uymakta, yüksek oranda karaciğer türlerinin oluştuğu izlenmektedir.

MNNG dialkilnitrozaminlerin aksine metabolik aktivasyona gerek duymayan doğrudan etkili bir kimyasal karsinojenik maddedir (57). Kemiricilerde deri altına verilisinde fibrosarkomlar ve oral yolla verilisinde mide barsak

kanalına lokalize karsinomlar ortaya çıkmaktadır (16,43, 50,51,52).Bu son etkisi nedeniyle mide adeno kanseri için uygun bir model oluşturmaktadır.Fare,sıçan,hamster ve köpeklerdeki deneylerde karsinojenik etkisi görülmüştür (21).

NS'le MNNG arasında belirgin bir kimyasal yapı benzerliği mevcuttur.Bu iki bileşiğinde in vitro olarak DNA metilasyonu oluşturabildiği gösterilmiştir (25).Yaygın olarak kullanılan simetidin'in midede nitrozo bileşiği haline dönüşebileceği ve oluşan NS'in karsinojenik risk taşıdığı iddia edilmiştir (12,37,54).Buna karşın bu maddenin muhtemel karsinojenik etkisinin laboratuvar ortamında denenerek bildirildiği yayınlar bilgilerimiz ışığında mevcut değildir.Bu konuda süregelen bir çalışmada son sonuçların elde olmamasına karşın 50 ve 500 mg/kg oral yolla haftada iki kez bir yıl süreyle NS verilen kemirici türü deney hayvanlarında 600 gün sonunda bir karsinojenik etkinin gözlenmediği bildirilmiştir (11).Ayrıca simetidin'in çeşitli dozlarda her gün iki yıl süreyle sıçanlara verildiği bir çalışmada ilacın oral yolla verilmiş olmasına karşın mide barsak kanalında tümöral bir gelişim saptanmadığı,yüksek oranda benign Leydig hücre tümörlerinin olduğu yayınlanmıştır (30).

MNNG ve NS deney gruplarımızda sadece MNNG verilen balıklarda kırk haftalık deney süresi sonucunda safra kanalı kökenli iki tümöral gelişim izledik.Bu deney grubu içinde %8'lik bir oranı oluşturmaktadır.

MNNG ile ilgili olarak balıklarda gerçekleştirilen ça-

lışmalarda oldukça kısıtlıdır.Hendricks alabalık yavrularında başarılı sonuçlar bildirmektedir (18).Embriyo döneminde MNNG'ye maruz kalan alabalıklarda karaciğer,mide, böbrek ve yüzme kesesi tümörlerin oluştuğunu gözlemiş olan bu araştırmacı dışında erişkin balıklarda bildirilen çalışmalar mevcut değildir.

Gerek deneylerimizde gerekse literatürdeki çalışmalarda karsinojenlere maruz kalma sürekli olmamakta,bu belli zaman aralıklarıyla gerçekleştirilmektedir.Bu konu ile ilgili olarak balıkların sularına katılan kimyasal maddelerin suda zamanla hidrolize uğrayıp parçalanması maruz kalma süresini azaltabilecektir.Bu sorun kullandığımız maddeler içinde en çok MNNG için geçerlidir (21,22).Bu bileşin musluk suyu içinde yarı ömrü 50 saattir (21).Buna karşın ilk grup deneyde kullandığımız NDEA ve NDMA suda,karanlık ortamda ve oda ısısında 14 gün stabil kalabilmektedir (22).

Çalışmamızda MNNG ile elde edilen tümör oranının iki haftada bir yerine daha sık maruz kalma süreleri ile daha fazla izlenebileceği düşünülebilir.Bu grupta toplam olarak karsinojene maruz kalma süresi 18 hafta,NDEA ve NDMA gruplarında 9 hafta olarak tutulmuştur.Önemli olan bir noktada MNNG'nin tek doz olarak verililişinde bile sıçanlarda mide kanseri oluşabilmesidir (43).

Küçük balıkların nispeten kısa ömürlü olmaları (23) ve istatistiki olarak bu tip balıklarda bir karaciğer hücre-sinin tümör hücresine dönüştürülmesinin fare ve sıçandaki-ne oranla (bunlarda kabaca 100-1000 misli fazla karaciğer hücre-si yer almasından dolayı),daha fazla olabileceği fik-ri (53) bu hayvanlarda tümör oluşumundaki kısa süreyi a-çıklamak için ileri sürülmüştür.

Önemli bir noktada kemiricilerde karsinojenik olan tüm kimyasal maddelerin balıklarda karsinojenik etki gösterdi-ğinin bildirilmiş olmasıdır (29).

Görüldüğü gibi ufak balıklar değişik karsinojenik etki-lere duyarlılık göstermekte,böylece daha masraflı diğer deney hayvanlarına karşı balıkların kullanılabilceği fik-ri doğmaktadır.

S O N U Ç L A R

1. N-Nitrozodietilamin (NDEA),N-nitrozodimetilamin (NDMA) veya her ikisinin birlikte uygulanışı Brachydanio rerio türü balıklarda yüksek oranda karaciğer tümörü oluşturmaktadır.

2. N-Metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin'le (MNNG),yapılan deneyde %8 oranında kolanjioma görülmüştür.N-Nitrozosimetidin'le (NS),tümöral bir gelişme saptanmamıştır.

3. Bu karsinojenik maddelerle bu tür balıklarda kemiricilere oranla daha kısa sürede tümörler oluşmaktadır.

4. Histolojik incelemeler meydana gelen hepatomaların insanlar ve sıçanlardaki histolojik örneklere benzediğini göstermiştir.

5. Ufak akvaryum balıklarının (Brachydanio rerio) karsinogenezis çalışmalarında duyarlı ve ekonomik bir model oluşturdukları görülmüştür.

6. Balıklarda görülen tümörlerin izlenmesi çevre kirlenmesinde bir biyolojik gösterge olarak değerlendirilebilir.

Ö Z E T

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalında yapılan bu çalışmada Brachydanio rerio türü ufak akvaryum balıklarının kemiricilerde etkin karsinojen olan bazı kimyasal maddelere karşı duyarlılıkları incelenmiş ve bu arada böyle bir etkisi gösterilmemiş olan N-nitrozosimetidin'de incelenmiştir.

Bu amaçla ilk dokuz hafta üçer hafta arayla sularına 50'şer ppm N-nitrozodietilamin (NDEA),N-nitrozodimetilamin (NDMA) ve her iki maddenin katıldığı deney gruplarında 22-23 haftalık toplam deney süresinde sırası ile %40,%25 ve %56 oranında karaciğer tümörleri gözlenmiştir.

Önce dimetilsulfoksit'de eritilip 18 hafta boyunca ikişer hafta arayla 4 ppm N-metil-N'-nitro-N-nitrozoguanidin (MNNG) ve 150 ppm N-nitrososimetidin'in (NS) katıldığı deney gruplarında 40 haftalık toplam deney süresinde sadece MNNG grubunda %8 oranında kolanjioma görülmüştür.

Sonuçta kemirici türü deney hayvanlarına oranla daha kısa sürede tümörlerin oluştuğu ve normal balık karaciğerinin memelilerdekinden farklı bir yapı taşımasına karşın oluşan karaciğer tümörlerinin insanlar ve sıçanlarda oluşanlara benzediği görülmüştür.Böylece bu tür çalışmalarda ufak balıkların duyarlı ve ekonomik bir model olabilecekleri,ayrıca balıklarda gözlenen tümörlerin çevre kirlenmesinde bir biyolojik gösterge olarak değerlendirilebileceği düşünülmüştür.

K A Y N A K L A R

1. Ames, B.N., Lee, F.D., Durston, W.E.: An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 70: 782-786, 1973
2. Aoki, K., Matsudaira, H.: Induction of hepatic tumors in a teleost (*Oryzias latipes*) after treatment with methylazoxymethanol acetate. J.Natl.Cancer Inst. 59: 1747-1749, 1977
3. Ashley, L.M.: Animal model, liver cell carcinoma in Rainbow trout. Am.J.Pathol. 72:345-348, 1973
4. Ashley, L.M.: Pathology of fish fed aflatoxins and other antimetabolites, in A Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes, Ed. Stanislas F. Snieszko, p.366-379 American Fisheries Society, Washington, D.C., 1970
5. Baltimore, D.: Viral RNA dependent DNA polymerase. Nature 226:1209, 1970
6. Bilir, N.: Kanser epidemiyolojisi ve kanser savaşının ilkeleri, Klinik Onkoloji'de, Ed. M.N.Küçüksu, Ş.A.Ruacan, s.17-36, Nüve Matbaası, Ankara, 1978
7. Black, J.J., Harsbarger, J., Zeigel, R.F., Bock, F.G.: Tumors in fish from a copper contaminated lake. Proc. 72nd Annu. Meet. Am. Assoc. Cancer Res., 70th Annu. Meet. Am. Soc. Clin. Oncol., Washington, D.C., Vol.22, p.134 (abst.), 1981
8. Bridges, B.A.: Short term screening tests for carcinogens. Nature 261:195-200, 1976

9. Dawe, J.C., Stanton, M.F., Schwartz, F.J.: Hepatic neoplasms in native bottom-feeding fish of Deep Creek Lake, Maryland. *Cancer Research* 24:1194-1201, 1964
10. Edmondson, H.A.: Tumors of the Liver and Intrahepatic Bile ducts, Atlas of Tumor Pathology, Section VII, Fascicle 25, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C., 1958
11. Eisenbrand, G., Schmahⁿ, D.: Nitrosation of drugs, in Topics in Pharmaceutical Sciences, Ed. D.D. Breimer, P. Speiser, p.291-305, Elsevier North Holland, Amsterdam, 1981
12. Elder, J.B., Ganguli, P.C., Gillespie, I.E.: Cimetidine and gastric cancer. *Lancet* 1:1005, 1979
13. Ember, J.B.: Nitrosamines, assessing the relative risk. *Chem. Eng. News* March 31, 20-26, 1980
14. Farber, E.: Chemical carcinogenesis. *N. Eng. J. Med.* 305: 1379-1389, 1981
15. Foster, A.B., Jarman, M., Manson, D., Schulten, H.R.: Structure and reactivity of nitrosocimetidine. *Cancer Lett.* 9:47-52, 1980
16. Fujimura, S., Kogure, K., Sugimura, T., Takayama, S.: The effect of limited administration of N-methyl-N¹-nitro-N-nitrosoguanidine on the induction of stomach cancer in rats. *Cancer Research* 30:842-848, 1970
17. Harsbarger, J.C.: Work of registry of tumors in lower animals with emphasis on fish neoplasia. *Syp. Zool. Soc. Lond.* 30:285-303, 1972
18. Hendricks, J.D., Meyers, T.R., Casteel, J.L.: Rainbow trout *Salmo gairdnerii* embryos in carcinogenicity testing,

- in A Symposium on the Use of Small Fish Species in Carcinogenicity Testing, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, (abst.), 1981
19. Hopps, H.C.: Geographic pathology, in Pathology, 7th ed., Vol. 1, Ed. W.A.D. Anderson, J.M. Kissane, p.692-736, The C. V. Mosby Co., St. Louis, 1977
 20. International Agency for Research on Cancer: Annual Report 1980, p.63, I.A.R.C., Lyon, 1980
 21. -----: Some aromatic amines, hydrazine and related substances, N-nitroso compounds and miscellaneous alkylating agents, I.A.R.C. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man, Vol.4, I.A.R.C., Lyon, 1974
 22. -----: Some N-nitroso compounds, I.A.R.C. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans, Vol.17, I.A.R.C., Lyon, 1978
 23. Ishikawa, T., Shimamine, T., Takayama, S.: Histologic and electron microscopy observations of diethylnitrosamine induced hepatomas in small aquarium fish (*Oryzias latipes*). *J.Natl.Cancer Inst.* 55:909-916, 1975
 24. Ishikawa, T., Takayama, S.: Importance of hepatic neoplasms in lower vertebrate animals as a tool in cancer research. *J.Toxicol.Environ.Health* 5:537-550, 1979
 25. Jensen, D.E., Magee, P.N.: Methylation of DNA by nitrosocimidine in vitro. *Cancer Research* 41:230-236, 1981
 26. Journal of the National Cancer Institute: Histological Typing of Liver Tumors of the Rat. *J.Natl.Cancer Inst.* 64:

180-206,1980

27. Khudoley, V.V.: The induction of hepatic tumors by nitrosamines in aquarium fish (*Lebistes reticulatus*).
Vopr.Onkol. 17:67-72,1971
28. Kligerman, A.D.: Fishes as biological detectors of the effects of genotoxic agents, in Mutagenicity: New Horizons in Genetic Toxicology, p.435-456, Academic Press, N.Y., London, 1982
29. Kraybill, H.F., Shimkin, M.B.: Carcinogenesis related to foods contaminated by processing and fungal metabolites. Adv.Cancer Research 8:191-248, 1964 (Kaynak 45'den alınmıştır)
30. Leslie, G.B., Noakes, D.N., Pollitt, F.D., Roe, J.C., Walker, T.F.: A two year study with cimetidine in the rat: Assessment for chronic toxicity and carcinogenicity. Tox.Appl. Pharm. 61:119-137, 1981
31. Magee, P.N., Barnes, J.M.: The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. Brit.J.Cancer 10:114-122, 1956
32. Magee, P.N., Barnes, J.M.: Carcinogenic nitroso compounds, in Advances in Cancer Research, Vol.10, Ed. A.Haddow, S. Weinhouse, p.164-238, Academic Press, N.Y., London, 1967
33. Meissner, W.A., Diamandopoulos, G.Th.: Neoplasia, in Pathology, 7th ed., Vol. 1, Ed. W.A.D.Anderson, J.M.Kissane, p.640-692, The C.V.Mosby Co., St.Louis, 1977
34. Montesano, R., Bartsch, H., Tomatis, L.: Screening Tests in Chemical Carcinogenesis, I.A.R.C. Scientific publications No.12, I.A.R.C., Lyon, 1972

35. Montesano, R., Ingram, A.J., Magee, P.N.: Metabolism of dimethylnitrosamine by amphibians and fish in vitro. *Experientia* 29:599-601, 1973
36. Pliss, G.B., Khudoley, V.V.: Tumor induction by carcinogenic agents in aquarium fish. *J.Natl.Cancer Inst.* 55: 129-136, 1975
37. Reed, P.I., Cassell, P.G., Walters, C.L.: Gastric cancer in patients who have taken cimetidine. *Lancet* 1:1234-1235, 1979
38. Robbins, S.L., Cotran, R.S.: *Pathologic Basis of Disease*, p.141-212, 2nd ed., W.B.Saunders Co., Philadelphia, London, Toronto, 1979
39. Rowe, W.P.: Genetic interactions between tumor viruses and host cells. *Cancer* 49:1958-1962, 1982
40. Sato, S., Mathushima, T., Tanaka, N., Sugimura, T., Takashima, F.: Hepatic tumors in the guppy (*Lebistes reticulatus*) induced by aflatoxin B₁, dimethylnitrosamine and 2-acetylaminofluorene. *J.Natl.Cancer Inst.* 50:765-778, 1973
41. Scherf, H.R.: Toxikologische Wirkungen von Diäthylnitrosamin (DaNA) beim guppy (*Lebistes reticulatus*). *Z.Krebsforsch.* 86:155-163, 1976 (Kaynak 45'den alınmıştır)
42. Scheuer, P.J.: Pathogenesis and morbid anatomy of human primary liver cancer, in *Liver Cancer*, I.A.R.C Scientific Publications No.1, p.13-20, I.A.R.C., Lyon, 1971
43. Schoental, R.: Carcinogenic activity of N-methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine. *Nature* 209:726-727, 1966
44. Shank, R.C.: Toxicology of N-nitroso compounds. *Toxicol. Appl.Pharmacol.* 31:361-368, 1975

45. Simon, K., Tajti, L., Lapis, K.: Hepatic lesions in *Lebistes reticulatus* induced by N-nitrosodiethylamine, in N-Nitroso Compounds: Analysis, Formation and Occurrence, Ed. E.A. Walker, L. Griciute, M. Castegnaro, M. Börzsönyi, p. 717-727, I.A.R.C. Scientific Publications No. 31, I.A.R.C., Lyon, 1980
46. Stanton, M.F.: Diethylnitrosamine induced hepatic degeneration and neoplasia in the aquarium fish, *Brachydanio rerio*. *J. Natl. Cancer Inst.* 34:117-130, 1965
47. Stanton, M.F.: Hepatic neoplasms of aquarium fish exposed to *Cycas circinalis*. *Fed. Proc.* 25:661 (abst.), 1966
48. Stewart, H.L., Snell, K.C.: The histopathology of experimental tumors of the liver of the rat. *Acta Un. Int. Cancer* 8:769-803, 1957
49. Sugimura, T.: Mutagens, carcinogens and tumor promoters in our daily food. *Cancer* 49:1970-1984, 1982
50. Sugimura, T., Fujimura, S.: Tumour production in glandular stomach of rat by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Nature* 216:943-944, 1967
51. Sugimura, T., Fujimura, S., Baba, T.: Tumor production in the glandular stomach and alimentary tract of the rat by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer Research* 30:455-465, 1970
52. Sugimura, T., Nagao, M., Okada, Y.: Carcinogenic action of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Nature* 216:962-963, 1966
53. Takayama, S., Ishikawa, T.: Comparability of histological alterations during carcinogenesis in animals and man,

- with special reference to hepatocarcinogenesis in fish, in Air Pollution and Cancer in Man, Ed. U. Mohr, D. Schmähl, L. Tomatis, p. 271-286, I.A.R.C Scientific Publications No. 16, I.A.R.C., Lyon, 1977
54. Taylor, T.V., Lee, D., Hawatson, A.G., Anderson, J., MacLeod, I.B. Gastric cancer in patients who have taken cimetidine. Lancet 1:1235-1236, 1979
55. Temin, H.M., Mizutani, S.: RNA dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. Nature 226:1211, 1970
56. Wales, J.H.: Hepatoma in Rainbow trout, in A Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes, Ed. Stanislas F. Snieszko, p. 351-365, American Fisheries Society, Washington, D.C., 1970
57. Weisburger, J.H., Williams, G.M.: Chemical carcinogens, in Casarett and Doull's Toxicology, Ed. J. Doull, C.D. Klaassen, M.O. Amdur, p. 84-138, Macmillan Publishing Co., N.Y., 1980
58. Wood, E.M., Larson, L.P.: Hepatic carcinoma in Rainbow trout. Arch. Pathol. 71:471-479, 1961
59. World Health Organisation: Health Services in Europe, Vol 2, Country Reviews and Statistics, 3rd ed., W.H.O Regional Office for Europe, Copenhagen, 1981